

Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel pour obtenir le grade de Docteur  
ès sciences par Kim-Lang Huynh

# Contribution à l'étude caryologique et embryologique des Phanérogames du Pérou

par  
HUYNH Kim-Lang

Sorti de presse en décembre 1965

Denkschriften der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft  
Mémoires de la Société Helvétique des Sciences Naturelles

Band / Vol. LXXXV

Publié avec l'appui financier de la Confédération, par la Commission des Mémoires  
(Président: Prof. Dr. M. Geiger-Huber, Schönbeinstrasse 6, Bâle)  
de la Société helvétique des Sciences naturelles  
(Präsident Prof. Dr. M. Geiger-Huber, Schönbeinstrasse 6, Basel)  
der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft

Druck von Gebrüder Fretz AG, Zürich  
Kommissionsverlag von Gebrüder Fretz AG, Zürich

1965

**UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL**  
Faculté des sciences

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel,  
sur le rapport de Messieurs les professeurs

Cl. Favarger, F. Chodat et Ch. Terrier

autorise l'impression de la présente thèse sans exprimer d'opinion  
sur les propositions qui y sont contenues.

## Sommaire

<p>I<sup>re</sup> Partie: Matériel et techniques</p> <p>Ouvrages cités . . . . . 163</p>	<p>Introduction . . . . . 4</p> <p>II<sup>e</sup> Partie: Etude monographique des taxa</p> <p>III<sup>e</sup> Partie: Considérations générales et discussion des résultats</p> <p>Explication des figures . . . . . 170</p>
<hr style="width: 50%; margin: 0 auto;"/>	
<p style="text-align: right;">Page</p> <p>Introduction . . . . . 5</p> <p>I<sup>re</sup> Partie: Matériel et techniques</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 1<sup>er</sup>: Matériel . . . . . 11</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 2: Techniques . . . . . 14</p> <p>II<sup>ème</sup> Partie: Etude monographique des taxa</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 3: Ephedraceae – Graminac – Cypereae – Bromeliaceae – Liliaceae Iridaceae . . . . . 23</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 4: Orchidaceae . . . . . 26</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 5: Piperaceae – Urticaceae . . . . . 34</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 6: Caryophyllaceae . . . . . 39</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 7: Ranunculaceae . . . . . 46</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 8: Berberidaceae – Capparidaccae – Cruciferae . . . . . 53</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 9: Rosaceae . . . . . 58</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 10: Leguminosae . . . . . 64</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 11: Geraniaceae . . . . . 67</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 12: Oxalidaceae . . . . . 72</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 13: Polygalaceae – Hypericaceae – Loasaceae . . . . . 79</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 14: Begoniaceae . . . . . 82</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 15: Lythraceae – Melastomaceae – Onagraceae – Umbelliferae . . . . . 86</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 16: Gentianaceae . . . . . 90</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 17: Asclepiadaceae-Verbenaceae . . . . . 100</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 18: Labiatae . . . . . 101</p>	<p style="text-align: right;">Page</p> <p>Chapitre 19: Solanaceae – Scrophulariaceae . . . . . 106</p> <p>Chapitre 20: Rubiaceae – Valerianaceae . . . . . 108</p> <p>Chapitre 21: Campanulaceae . . . . . 111</p> <p>Chapitre 22: Compositae . . . . . 118</p> <p>III<sup>ème</sup> Partie: Considérations générales et discussion des résultats</p> <p><i>A - Caryologie générale</i></p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 23: Structure du noyau – Le nucléole et les chromocentres paranucléolaires . . . . . 123</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 24: La communauté cytoplasmique et le synchronisme des noyaux – La méiose et la formation du pollen . . . . . 132</p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 25: Contribution à la connaissance des phénomènes endomitotiques . . . . . 139</p> <p><i>B - Cytotaxonomie de la flore péruvienne</i></p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 26: Contribution à la cytotaxonomie de la flore péruvienne – Le problème de la polyploidie . . . . . 148</p> <p><i>C - Conclusions</i></p> <p style="padding-left: 20px;">Chapitre 27: Aperçu général sur les résultats obtenus . . . . . 156</p> <p>Resumen . . . . . 160</p> <p>Ouvrages cités . . . . . 163</p> <p>Explication des figures . . . . . 170</p>

## INTRODUCTION

### I - Objet du présent travail

1° Dans leur récent ouvrage sur la taxinomie des Angiospermes, DAVIS et HEYWOOD (1963) constatent (page 194) que sur 250 000 Phanérogames connues actuellement, environ 20 000 seulement (soit le 10%) ont été l'objet d'une analyse cytologique. Si la flore des régions tempérées de l'Hémisphère Nord commence à être bien connue sous ce rapport, puisque par exemple, d'après LÖVE et LÖVE (1961 b) le 80% environ des espèces qui croissent au Centre et au Nord-Ouest de l'Europe ont été étudiées au point de vue cytologique, il n'en va pas de même des flores tropicales. On saisit d'emblée combien cette lacune de nos connaissances est préjudiciable non seulement à la taxinomie de nombreuses familles, mais aussi à la vérification des hypothèses qui ont été avancées sur le rôle de la polyploïdie.

Aussi lorsqu'en 1959 le professeur Ch. Terrier rapporta du Pérou une importante collection de Phanérogames, nous fûmes heureux de nous voir conférer leur étude cytologique. A l'époque où nous avons commencé notre travail, aucune étude de ce genre n'avait été faite sur la flore péruvienne. D'une manière générale, la flore de l'Amérique du Sud n'a presque pas été étudiée au point de vue cytologique. Parmi les travaux portant sur des végétaux de ces régions, mentionnons ceux de KRAPOVICKAS, de COVAS et de HUNZIKER sur les plantes argentines (cf. la partie bibliographique de DARLINGTON et WYLIE, 1955, et celle des « Index to Plant Chromosome Numbers » publiés par l'Université de North Carolina jusqu'en 1960). Au début de nos recherches, nous pensions pouvoir apporter une contribution de quelque importance à l'étude de la polyploïdie dans une chaîne de montagnes tropicales. Mais très tôt, il s'est avéré que cet objectif n'était pas réalisable avec le matériel dont nous disposions. En effet, d'assez nombreuses graines n'ont pas germé à Neuchâtel et plusieurs plantes ont péri avant que nous eussions pu les étudier. D'autre part, les graines rapportées par M. Terrier n'étaient pas assez nombreuses pour une étude statistique. En outre, ses récoltes provenaient non seulement de l'étage sans arbres des Hautes Andes mais aussi des vallées à climat plus ou moins tropical. Il ne faut pas oublier que l'expédition de M. Terrier avait pour objectif premier la récolte de champignons parasites.

En 1961 parut le travail de DIERS. Cet auteur, grâce à des fixations faites sur place dans trois des principaux étages de végétation du Pérou, était à même de tirer de ses comptages portant sur 208 espèces des déductions statistiques. La confrontation des listes de DIERS avec la nôtre nous a montré toutefois que quatre seulement des taxa étudiés par nous l'avaient été aussi par l'auteur allemand, et encore dans deux de ces espèces, sommes-nous arrivés à un résultat différent. Nous avons donc poursuivi nos recherches en pensant qu'elles apporteraient un complément utile à l'étude cytotaxinomique de la flore péruvienne.

D'autre part, le travail de DIERS portait exclusivement sur les numérations chromosomiques. Si dans une flore inconnue, celles-ci constituent la première marche d'approche indispensable à une étude cytologique complète, la connaissance précise du caryotype, celle de la structure du noyau nous ont paru également dignes d'intérêt. Enfin, chemin faisant, nous avons été amené à nous intéresser à des problèmes de caryologie générale et d'embryologie qui se posaient à propos de diverses particularités découvertes dans notre matériel (phénomènes endomitotiques, comportement du nucléole et des chromocentres, développement de l'albumen, etc.). A ces divers points de vue, les flores tropicales sont loin encore d'avoir livré tous leurs secrets et il ne faut pas oublier qu'en cytologie, la découverte d'un objet favorable peut éclairer maint problème encore obscur.

2° Notre travail sera divisé en trois parties. La première sera consacrée à l'origine du matériel et aux méthodes employées. Dans la deuxième, nous aborderons l'étude monographique des espèces rangées par familles classées suivant l'ordre adopté par ENGLER et PRANTL dans l'ouvrage « Die natürlichen Pflanzenfamilien ». En principe, chaque chapitre traite une famille déterminée. Nous avons cependant groupé dans un même chapitre des familles sur lesquelles nous n'avons qu'un nombre restreint d'observations à présenter. Enfin la troisième sera consacrée aux discussions générales.

3° Pour une compréhension rapide du contenu des chapitres ci-après, le lecteur est prié de retenir les remarques suivantes:

Dans l'étude monographique des espèces, nos observations seront généralement suivies d'interprétations qui feront l'objet d'un paragraphe à part intitulé *Discussion*.

Il nous sera utile de comparer de temps en temps nos observations avec celles d'autres auteurs sur d'autres matériels. Pour ne pas répéter inutilement les mêmes citations, nous ferons des renvois aux chapitres 23, 24 et 25 où le phénomène en question sera traité d'une façon plus complète sous ses divers aspects.

Dans le même but, des abréviations d'un emploi courant en cytologie se rencontreront fréquemment dans notre travail. Telles sont: CMP (= cellule-mère de grains de pollen), CME (= cellule-mère de sac embryonnaire), ADN (= acide désoxyribonucléique), ARN (= acide ribonucléique).

La lecture anticipée du chapitre 23 (sur « La structure du noyau ») pourrait être utile à la compréhension de certains détails caryologiques des espèces étudiées dans les divers chapitres de la II<sup>e</sup> Partie.

## II - Remerciements

1° Nos recherches ont été poursuivies à l'Institut de botanique de l'Université de Neuchâtel sous la direction du professeur C. FAVARGER. Jamais nous ne pourrions oublier l'accueil chaleureux qu'il nous a réservé à notre arrivée à Neuchâtel. Pendant plus de quatre ans de travail permanent, notre Maître nous a sans cesse entouré de sa généreuse sollicitude, nous a accordé toutes les facilités et son appui et nous a donné sans compter ses conseils clairs et sûrs. Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre profonde et sincère reconnaissance.

Notre matériel d'études provient d'échantillons rapportés du Pérou par le professeur Ch. Terrier. Non seulement il nous a permis l'utilisation d'une partie de sa collection, mais il a encore bien voulu nous fournir des renseignements précieux sur les particularités de la récolte. Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre vive reconnaissance.

La détermination de notre matériel n'aurait pas été possible sans l'appui du Conservatoire botanique de Genève, de sa riche bibliothèque et de ses très précieuses collections. Nous adressons une pensée de gratitude à la mémoire du professeur Ch. Bæhni qui nous a aimablement accueilli à Genève et à MM. les Conservateurs Weibel, Bocquet et Bernardi ainsi qu'à Mademoiselle Vauthier.

Nous remercions également Mademoiselle A. Lourteig, au Museum d'Histoire Naturelle de Paris (pour *Oxalis spiralis* et *O. ptychoclada*), Miss B. Schubert, au Gray Herbarium (pour *Desmodium canum*) et M. C. Schweinfurth (pour *Epidendrum brachyphyllum*). (1) Le professeur E. Asplund (Stockholm) a bien voulu vérifier pour nous les échantillons de *Salvia macrophylla*. Nous l'en remercions vivement.

Madame Hurel-Py, professeur à la Sorbonne, a eu la bonté de nous renseigner sur les qualités du Helly. Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre respectueuse reconnaissance.

Nous remercions aussi Mademoiselle Henriette D. Schotsman qui nous a communiqué la méthode à l'euparal dite « américaine ».

Pour les recherches bibliographiques, nous avons été très impressionné par la patience et l'amabilité de MM. les Membres du Service du prêt interurbain de la Bibliothèque de la Ville de Neuchâtel. C'est pour nous un agréable devoir de dire combien nous leur sommes reconnaissant.

Pour la culture de nos plantes, la haute compétence de MM. P. Correvoon et A. Nussbaum nous a été très précieuse. Qu'ils trouvent ici nos remerciements sincères.

Nous remercions également notre collègue à l'Institut de botanique, M. C. Farron, qui nous a aimablement communiqué ses notes bibliographiques sur le phénomène d'« endomitose Geitlerienne ».

Enfin, notre travail a été facilité d'une façon plus ou moins directe par nos camarades et par le personnel de l'Institut. Qu'ils soient assurés qu'aucun de leurs gestes amicaux n'est passé inaperçu et ne pourra s'effacer de notre mémoire.

2° C'est la tradition de réserver à la fin, dans un écrit scientifique, les remerciements relatifs aux problèmes financiers.

Nous avons été boursier du Gouvernement de La République du Viêt-nam de février 1960 jusqu'en septembre 1961. Depuis cette date jusqu'en mars 1965, La Confédération Helvétique nous a

accordé une bourse d'études qui nous a permis de mener à bien ce travail. Veuillez les deux Gouvernements trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Durant notre séjour d'études à Neuchâtel, le R. P. Cao-van-Luân, recteur de l'Université de Hué et président de l'« Aide aux étudiants vietnamiens à l'étranger » (« Hôi bao-tro du hoc-sinh Viêt-Nam »), nous a régulièrement apporté des secours financiers. Au Père Cao et à la Société nous désirons exprimer notre très vive reconnaissance.

Nos chaleureux remerciements vont aussi à MM. les Membres de la Commission Fédérale des bourses pour étudiants étrangers, en particulier le professeur L.-E. Roulet et le professeur J.-B. Grize, délégués de l'Université de Neuchâtel à la Commission.

3° La Commission des Mémoires de la S.H.S.N. nous fait le grand honneur de publier notre travail dans sa collection. Nous exprimons à son président, le professeur M. Geiger-Huber, notre respectueuse gratitude.

I<sup>ère</sup> PARTIE

MATÉRIEL ET MÉTHODES

## CHAPITRE PREMIER

---

### Matériel

#### A - Récolte du matériel au Pérou

Les plantes péruviennes étudiées dans ce travail ne représentent qu'une partie du matériel phanérogamique rapporté du Pérou par le professeur Ch. Terrier lors d'une expédition du Clup Alpin Suisse aux Andes en 1959, financée partiellement par le Fonds National de la Recherche Scientifique et à laquelle il a participé en qualité de cryptogamiste.

La récolte a été faite dans « la partie de la Cordillère de Vilcabamba limitée au sud et à l'ouest par la profonde coupure au fond de laquelle coule le Rio Apurimac, à l'est et au nord-est par la gorge encaissée du Rio Urubamba et au nord par la vallée de Vilcabamba et son prolongement en direction ouest » (TERRIER, 1960): voir carte à la page suivante. C'est donc une région faisant partie du versant oriental de la Cordillère sud-péruvienne et dont les hauteurs sont exposées directement aux vents d'est qui apportent des vapeurs d'eau à travers l'Amazonie. Les espèces étudiées dans ce travail ont été récoltées du 4 juin au 14 juillet 1959 entre 2000 m et 4750 m.

Tous les échantillons séchés sont déposés à l'herbier de l'Université de Neuchâtel. Il est nécessaire d'expliquer le système de numérotage de M. Terrier. Chaque espèce porte un numéro composé de cinq chiffres. Le premier indique le mois; les deux suivants, le jour du mois; et les derniers, l'ordre de récolte du jour. Ainsi, le n° 6 18 13 se rapporte à la treizième plante récoltée le 18 juin. Si le nombre se termine par 00, il n'existe pas de témoins séchés. Il est superflu d'insister sur l'intérêt que présente ce système de numérotage.

#### B - Détermination

La détermination et la vérification des espèces péruviennes étudiées dans ce travail ont été faites principalement par notre Maître. L'ouvrage de base était la « Flora of Peru » de MACBRIDE. Les collections « Das Pflanzenreich » de ENGLER, « Die natürlichen Pflanzenfamilien » de ENGLER et PRANTL, le « Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis » de DE CANDOLLE, le « Nova genera et species plantarum » de HUMBOLDT, BONPLAND et KUNTH ainsi que le « Chloris andina » de WEDDEL ont été aussi utilisés.

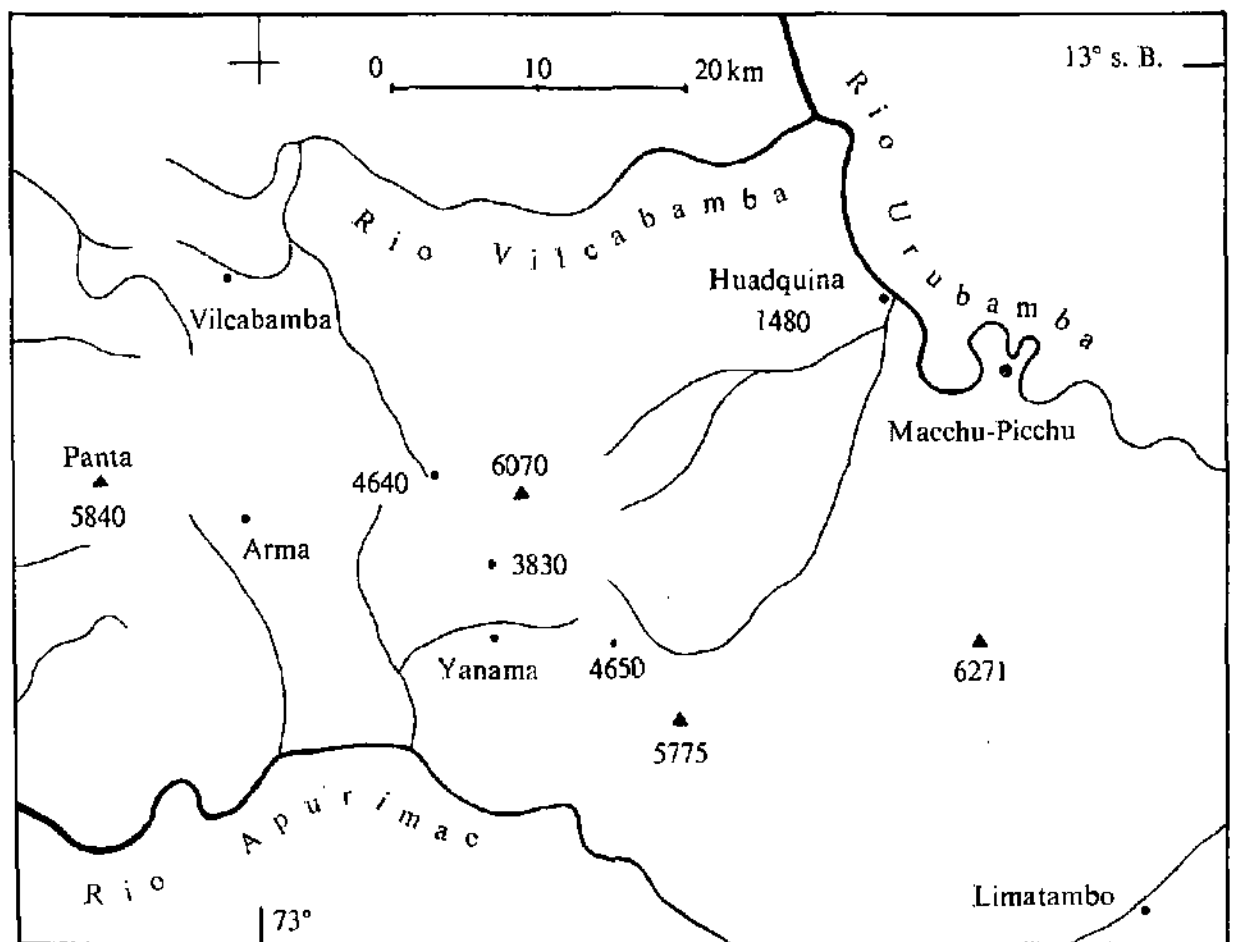
Dans un grand nombre de cas, la détermination a été vérifiée au Conservatoire botanique de Genève.

Dans l'état actuel de la connaissance des plantes péruviennes, on peut arriver dans un certain nombre de cas à une identification certaine, au niveau de l'espèce. Toutefois dans certains genres complexes comme *Lupinus*, *Peperomia*, *Solanum*, pourtant traités dans la flore de MACBRIDE, il subsiste une marge d'incertitude, lorsqu'il n'a pas été possible de trouver à Genève le type ou, à défaut, des échantillons dont la détermination fût assurée. Pour les groupes non traités encore dans la flore du Pérou (*Hypericum*, *Gnaphalium* et en général toutes les Composées), on doit se contenter souvent, en l'absence d'une monographie du genre, de parvenir au groupe d'espèces. L'essentiel est de posséder, grâce à la collection d'*exsiccata* de M. Terrier, des échantillons témoins de toutes les plantes étudiées, ce qui permettra par la suite de rectifier éventuellement le nom d'un taxon avec les progrès de la connaissance de la flore péruvienne.

#### C - Culture à Neuchâtel

1° A part les Orchidacées, toutes les plantes étudiées dans ce travail proviennent de graines mises en germination à Neuchâtel.

Les graines ont été mises à germer sur du papier-filtre placé dans des boîtes de Pétri dont le fond est tapissé avec de l'ouate. Ouate et papier-filtre sont humectés d'eau distillée.



Adaptation de la carte publiée à la page 13 de la « Revue du Club Alpin Suisse » 36 (avec l'obligeante autorisation du Club Alpin Suisse).

Pour les graines dont la testa est peu perméable, nous les laissons une nuit dans l'eau avant de les transporter dans les boîtes de Pétri. Malgré cette précaution, les graines des Légumineuses demandent généralement beaucoup de temps pour lever. Une légère incision sur la testa, du côté opposé au hile, facilite la pénétration de l'eau et par conséquent la germination.

Chez plusieurs espèces, les graines tardent à germer. On transporte alors la boîte de Pétri avec les graines dans un frigorifique entre 0° et 5° afin de réaliser la post-maturation. Il est nécessaire de maintenir l'humidité du milieu en ajoutant de temps en temps quelques gouttes d'eau distillée sur le papier. Dans ces conditions, certaines espèces ont germé au bout d'une année.

2° Généralement, toutes ces plantes se développent bien en serre tempérée (environ 20°, humidité environ 60%), c'est-à-dire qu'elles ont des feuilles normalement vertes et donnent des fleurs au bout d'un ou de deux ans.

Les espèces jugées « tropicales » sont cultivées en serre chaude (environ 25°, humidité environ 65%). Telles sont les Légumineuses et les Orchidées.

Quelques espèces peuvent fleurir dans les couches à l'air libre. Néanmoins, leur aspect est moins satisfaisant que celui des pieds cultivés en serre tempérée. Dans la plupart des cas, les espèces cultivées à l'air libre ne peuvent pas supporter les rigueurs de l'hiver à Neuchâtel. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'ici la température au cours de cette période peut descendre jusqu'à -15° alors qu'au Pérou, même à 4700 m au-dessus de la mer, la température hivernale ne descend jamais au-dessous de -4° (WEBERBAUER, 1907).

#### **D - Matériel d'études**

Il découle des objectifs que nous nous sommes fixés et qui ont été exposés dans l'Introduction, que notre matériel d'études se composait principalement de racines (prélevées soit sur de jeunes plantules en boîtes de Pétri, soit sur des plantes en pots) et d'organes reproducteurs (anthères et ovaires), plus rarement de pièces périanthaires ou de poils. Quelquefois, nous avons eu recours aux tissus nucellaires pour le comptage de chromosomes, car ces tissus sont généralement tendres – ce qui est favorable au squash – quand ils sont jeunes.

---

## *Techniques*

Au cours de notre étude, nous avons employé aussi bien la technique des squashes que la méthode des coupes.

Avant d'aborder les techniques, nous pensons qu'il est utile de dire quelques mots sur la récolte du matériel pour la fixation.

### **I - Récolte du matériel pour l'étude de la méiose**

1° Dans la majorité des cas, la méiose a été étudiée sur les CMP, étant donné la grande quantité qu'on peut en trouver sur une fleur et le petit nombre de pieds que nous avons de chacune de nos espèces.

Un grand avantage présenté par ces cellules-mères consiste dans le fait qu'elles subissent à peu près en même temps la méiose dans un sac pollinique et souvent même sur toutes les étamines d'un bouton floral. Ainsi, un « bon » bouton peut, dans certains cas, permettre de trouver tous les stades de la méiose.

Généralement, ce phénomène commence quelques jours avant le début de l'anthèse. En raison de la faible abondance de notre matériel, nous avons fait une étude préalable (par le squash d'anthères vivantes à l'acide acétique à 45% qui favorise l'étalement des cellules) pour déterminer exactement à quelle grandeur correspondait un stade défini de la microsporogénèse. Pour cela, nous avons choisi les stades les plus facilement « réparables » au microscope. a) D'abord, c'est celui de la maturation des CMP. Celles-ci ont alors une membrane très caractéristique. En effet, si on diminue l'intensité de la source lumineuse du microscope en réduisant l'ouverture du diaphragme ou en abaissant le condensateur, ces membranes *réfringentes et aux épaissements irréguliers* sautent aux yeux. Ces particularités permettent de distinguer facilement sur un squash les CMP des autres cellules. b) Le deuxième stade reconnaissable est la métaphase I, car le mouvement des bivalents est très visible. c) Le troisième est la métaphase II: même raison que pour le stade précédent. d) Le quatrième est la formation de tétrades. A cette étape, les anciennes CMP sont partagées par deux cloisons séparatrices aussi réfringentes que la membrane commune qui les entoure. e) Le dernier est la formation de grains de pollen. Ceux-ci ont parfois les mêmes dimensions que les CMP mais s'en distinguent par une membrane régulière.

Une fois ces cinq stades principaux identifiés préalablement chez une espèce, on fixe les boutons floraux seulement quand ils atteignent les grandeurs déterminées.

2° Pour la mégasporogénèse et la formation du sac embryonnaire, la méthode exposée ci-dessus n'est plus valable. Car il est difficile d'extraire entiers de l'ovule par le squash la cellule-mère du sac embryonnaire ou bien ce dernier.

Si chez *Foeniculum vulgare*, la méiose dans l'ovule a lieu plus tôt que la méiose dans les anthères (CARTIER, 1960), chez les plantes péruviennes étudiées, par contre, elle se produit toujours plus tard, généralement quelques jours après l'anthèse. Pour avoir tous les stades depuis l'entrée en méiose de la CME jusqu'à la formation du sac adulte, il suffit d'échelonner les fixations dans les deux semaines qui suivent l'épanouissement des boutons floraux.

Enfin, la formation de l'albumen adulte demande environ trois semaines, à partir du moment où s'achève la fertilisation. Celle-ci est d'ailleurs reconnaissable à la dégénérescence de la corolle et à la croissance visible de l'ovaire.

## II - Fixation

### A - Fixateurs employés

#### 1° - Pour le squash

Dans la majorité des cas, nous avons procédé au squash après coloration au carmin acétique pour le comptage des chromosomes comme pour l'étude de la microsporogénèse. A cet effet, le Carnoy 3:1 (= 3 parties d'alcool absolu, 1 partie d'acide acétique glacial) se montre un excellent fixateur<sup>1</sup>. Car par sa puissante pénétration, il convient à toutes les espèces étudiées. En principe, il doit être préparé *ex tempore*. Cependant, il est encore efficace après un ou deux mois, si le flacon est bien bouché.

#### 2° - Pour les coupes

Le Carnoy est défavorable à l'étude de la structure du noyau en raison de la forte proportion d'acide acétique qu'il contient, l'action coagulante de cette substance chimique n'étant plus à démontrer (voir DELAY, 1947). Aussi, avons-nous employé à cet effet le Nawaschine selon MÜNTZING (1932) et le Helly.

La présence de l'acide acétique, quoiqu'en proportion faible, dans le Nawaschine montre que ce fixateur n'est pas très indiqué pour l'étude de la structure du noyau. D'autres inconvénients ont été relevés chez ce fixateur par DELAY (1947). Cependant, comme il convient très bien à la coloration au violet cristal, nous l'avons employé quelquefois.

Avec le Helly, le cytoplasme présente un aspect très sale sur les préparations colorées au violet cristal. Par contre, il a un pouvoir pénétrant remarquable. Il convient plus ou moins bien à toutes les espèces quand la coloration est faite par la réaction de Feulgen. Il provoque moins de modifications dans la structure du noyau, à en juger par l'absence d'acide acétique dans sa composition et par la faible importance des auréoles périnucléolaires formées. D'autre part, d'après Madame Hurel-Py, le Helly, lorsqu'il est réussi, donne des structures plus fines, moins empâtées que le Nawaschine. Ces propriétés du Helly jointes à la faible abondance de notre matériel dans la majorité des cas expliquent l'emploi presque exclusif de ce fixateur au cours de notre travail.

Son unique inconvénient consiste dans le fait qu'il dépose des précipités sur le matériel pendant la fixation. Au moment de la confection des coupes, ils peuvent être entraînés sur elles par le rasoir. On en observe ainsi dans le noyau. Cependant, par leur coloration noire caractéristique, ces précipités se distinguent facilement de la chromatine. On empêche leur formation en évitant de prolonger inutilement la fixation (BUJART, 1950).

### B - Pour une meilleure fixation

Quelques procédés ont été employés pour améliorer la fixation.

#### 1° - Pour la fixation au Carnoy

a) Si les racines sont transportées directement dans le fixateur, ce dernier sera dilué. Il faut donc les laver préalablement dans une autre solution du même fixateur. Il est superflu d'ajouter qu'une quantité suffisante de fixateur est nécessaire, car il faut prévoir sa dilution partielle par l'eau provenant des tissus du matériel fixé.

Les boutons floraux sont fendus pour favoriser la pénétration du fixateur. En général, ils ne tardent pas à tomber au fond du flacon fixateur. Quelquefois, le recours à la trompe à eau est nécessaire pour hâter leur descente.

b) Plusieurs auteurs conseillent de transporter le matériel dans un frigorifique dès après sa mise dans le Carnoy. A notre avis, cette méthode est à déconseiller. En effet, les basses températures, dans

<sup>1</sup> Pour un volume de 20 cm<sup>3</sup> de fixateur, il est nécessaire d'ajouter 5-6 gouttes d'acétate de fer pour le mordantage; 7-8 gouttes de carmin acétique en supplément pour une coloration préalable seront utiles.

ces conditions, ralentissent certainement tout processus physico-chimique, donc la pénétration du fixateur. Or, la condition primordiale d'une bonne fixation est une pénétration rapide.

Ces considérations expliquent pourquoi la fixation de notre matériel a toujours été faite dans les conditions ambiantes du laboratoire où les températures au cours de l'année ne diffèrent pas beaucoup de celles d'une serre.

Ce n'est qu'après cinq jours, à partir de la mise du matériel dans le Carnoy – temps jugé largement suffisant pour l'achèvement de la fixation (qui demande généralement 24 heures) et du mordantage – qu'il doit être transporté dans le frigorifique. Cela, uniquement pour prévenir l'action corrosive de l'acide acétique et contre une formation excessive de précipités d'acétate de fer sur le matériel.

## 2° – Pour les fixations au Nawaschine et au Helly

Les précautions mentionnées ci-dessus (voir sous 1, a) sont également valables ici :

a) Dans le Nawaschine et le Helly, les boutons floraux restent généralement très longtemps à la surface du fixateur. La trompe à eau ne peut pas vaincre immédiatement les tensions superficielles.

Pour venir à bout de ce phénomène d'émersion, on a employé plusieurs mouillants (dont ceux préconisés par ARCHAMBAULT, 1934). Le Carnoy peut être utilisé à cet effet. Cependant, nous avons évité de recourir à l'emploi de ces substances afin de prévenir les altérations cytologiques éventuelles qu'elles peuvent entraîner (voir DEYSSON et TRÂN, 1959).

b) Ainsi, nous avons mis au point le procédé suivant pour vaincre les tensions superficielles. On emploie à cet effet des tubes de Caullery (= tubes de verre ouverts aux deux extrémités). Dans un de ces tubes dont une extrémité est fermée avec de la gaze hydrophile, on met les boutons floraux déjà fendus. On humecte légèrement la gaze avec du fixateur pour y augmenter l'adhérence des boutons. Puis on retourne le tube de sorte que la gaze où adhère le matériel se trouve en dessus. Ensuite, avec une paire de brucelles, on saisit délicatement le tube de verre par un coin de la gaze et on le trempe dans un flacon fixateur de forme cylindrique et dont le diamètre est plus grand que celui du tube. Le matériel à fixer se trouve ainsi emprisonné dans le tube par la gaze. On transporte ensuite cet ensemble (= flacon fixateur – tube de verre – matériel à fixer) dans la trompe à eau et on fait le vide. Dès que la pression normale est rétablie dans le flacon fixateur, les boutons descendent les uns à la suite des autres vers le fond. Ceux qui tardent à le faire seront maintenus par la gaze dans le fixateur. Ils se joignent aux autres après un certain temps. Alors, on peut enlever le tube. Ainsi, d'un bout à l'autre de la fixation, les boutons floraux se trouvent toujours au-dessous de la surface du fixateur.

## III - La coupe et le séchage des préparations

Quand il s'agit d'étudier la structure du noyau (sur la racine), les coupes ont été faites à une épaisseur de 10  $\mu$ . Pour l'étude embryologique, elles avaient toujours 15  $\mu$ .

Nous avons attaché une très grande importance au séchage des préparations. Car s'il est bien fait, le décollement des coupes à l'hydrolyse (réaction de Feulgen) ne se produit pas. Pour cela, les préparations doivent être séchées à l'étuve (environ 58° C) pendant 5 ou 6 heures; la fusion de la paraffine augmente considérablement l'adhérence des coupes aux porte-objets.

## IV - La coloration

### A - Pour le squash

1° Le squash après coloration au carmin acétique a été employé dans la plupart des cas pour le comptage des chromosomes et pour l'étude de la microsporogénèse en raison de sa simplicité et de son efficacité.

Dans le cas où l'on ne peut pas étudier dans un bref délai le matériel fixé, il faut remplacer le fixateur ancien (voir sous II, A, 1) par du Carnoy 3:1 pur, c'est-à-dire dépourvu de carmin acétique et d'acétate de fer. Car sinon, ce dernier se fixe à la longue sur le cytoplasme, ce qui diminue la visibilité des chromosomes au moment de l'étude.

a) On sait que c'est HEITZ (voir 1935) qui a mis au point la « Kochmethode ». Depuis lors, celle-ci a subi certaines modifications. OSTERGREN (1942) propose par exemple de colorer le matériel à la température ambiante pendant une nuit ou quelques jours, car la cuisson fait apparaître des précipités de carmin ou de fer-carmin.

Nous avons employé une méthode très usitée. On colore le matériel dans une capsule de carmin acétique sur une petite flamme pendant une ou deux minutes jusqu'à légère ébullition. Il se forme alors des précipités très fins dans le carmin. On transporte immédiatement le matériel déjà chauffé dans un autre carmin. Le matériel est prêt pour l'étude. Quelquefois, une « cuisson » supplémentaire est nécessaire: il suffit de mettre le matériel sous une ampoule électrique allumée pendant deux ou trois heures.

b) Pour étudier le matériel ainsi coloré, on en prend un petit morceau et on l'écrase dans une goutte d'acide acétique à 45% entre couvre- et porte-objet.

Généralement, on écrase avec du papier-buvard. A notre avis, ce procédé serait à déconseiller, car le buvard absorbe énergiquement la solution qui se trouve entre couvre- et porte-objet et provoque ainsi la formation de grandes bulles d'air difficiles à enlever par la suite. Pour remédier à cet inconvénient, nous avons employé une gomme élastique dont un coin a été taillé pour lui donner assez de prise sur le couvre-objet. Un autre avantage de ce procédé est que l'on peut mieux surveiller l'orientation du couvre-objet sur le porte-objet que si on le recouvre totalement avec du papier-buvard.

Dans le cas où des bulles d'air se forment sur le squash, on peut les éliminer en soumettant la préparation à la trompe à eau où on fait le vide. On favorise leur sortie en inclinant légèrement la préparation. Pour éviter le glissement du couvre-objet, il faut réduire au minimum la quantité d'acide acétique qui sert de bain au squash.

c) Pour l'étude de la méiose dans les anthères, on peut dépister rapidement les « bons » boutons floraux de la façon suivante:

On prend quatre ou cinq boutons à la fois. Sur chacun d'eux, on prélève seulement un petit fragment d'une anthère. Ces petits morceaux seront étudiés ensemble sous un même couvre-objet. Si sur l'un de ces derniers, on trouve des cellules-mères en méiose (voir leurs caractéristiques reconnaissables au microscope sous 1, 1), il y a de fortes chances de rencontrer tous les stades méiotiques sur les autres étamines du même bouton. Car généralement, la méiose a lieu presque simultanément dans toutes les anthères d'une même fleur. Alors, on prélève parcimonieusement de petits morceaux d'anthères de ce bouton pour les soumettre à l'étude.

Cette méthode permet de découvrir les « bons » boutons en très peu de temps. Elle présente néanmoins un inconvénient. C'est que pendant qu'on fait l'étude-sondage de la méiose sur les petits bouts d'anthères, les boutons floraux où l'on a prélevé ces derniers, se dessèchent. Pour empêcher cet accident, on les met dans un ordre voulu – afin de repérer facilement le « bon » bouton dans le cas où il existe – sur un porte-objet dans un peu de carmin acétique; le tout est placé ensuite dans une boîte de Pétri bien fermée et au fond de laquelle, on ajoute quelques gouttes d'acide acétique à 45% pour entretenir une atmosphère saturée de vapeurs d'acide acétique. Dans ces conditions, la dessiccation des boutons floraux ne se produit pas.

2° Le squash au Feulgen (MANTON, 1950a) a été utilisé dans les cas où la nature du nucléole et celle des chromocentres n'ont pas pu être mises en évidence d'une façon satisfaisante par le carmin acétique. Tel est le cas des noyaux endopolyploïdes des poils glanduleux de *Oxalis spiralis*.

### 3° – La conservation des squashes avec coloration au carmin acétique

a) On a proposé certaines méthodes pour rendre permanents les squashes ou les frottis avec coloration au carmin acétique.

Il y a celle de McCLINTOCK (1929) qui consiste à remplacer l'acide acétique situé entre couvre- et porte-objet par des solutions d'acide acétique-alcool absolu dans lesquelles la concentration de l'alcool augmente progressivement. Puis l'élimination de ce dernier se fait de la même façon avec des solutions xylol-baume. Enfin, une solution xylol-baume sert de milieu définitif au squash.

On peut aussi citer la méthode à l'euparal de WHITAKER (1939) qui consiste à utiliser la solubilité de cette substance dans l'alcool pour remplacer la solution d'acide acétique. Le milieu définitif du squash est l'euparal qui reste entre couvre- et porte-objet une fois l'évaporation de l'alcool terminée.

Les méthodes ci-dessus ont l'avantage de garder très longtemps les squashes. Cependant, elles

présentent plusieurs inconvénients. D'abord, quand on remplace une solution d'une substance par celle d'une autre, il se produit toujours, au moment où les deux solutions se rencontrent, des « tourbillons » qui peuvent porter à la dérive certaines cellules isolées. Ce départ est encore facilité quand on « inonde » – on ne peut pas faire autrement pour changer la solution – l'espace situé entre couvre- et porte-objet; alors plusieurs cellules bien étalées au moment de l'écrasement se relèvent, et par conséquent les figures n'y sont plus bonnes comme avant, surtout celles des métaphases. D'autre part, c'est une chose extrêmement délicate que de remplacer la solution d'acide acétique à 45% par une solution d'alcool sans provoquer de contraction sur les grandes cellules isolées lors de l'écrasement (comme les CMP ou les grains de pollen), quoiqu'on procède progressivement. Or, la contraction diminue considérablement la qualité des figures de noyaux qui se trouvent dans ces cellules, en particulier aux stades de divisions. Enfin, avec la méthode à l'euparal, le cytoplasme (surtout celui des CMP et des grains de pollen) subit une « surcoloration » chez la plupart de nos espèces étudiées, ce qui diminue la visibilité des chromosomes de métaphases qui s'y trouvent.

En somme, ces méthodes sont bonnes pour les racines dont les cellules ne montrent pas une sensibilité considérable à la contraction causée par l'alcool ainsi qu'à une « surcoloration » du cytoplasme provoquée par la solution d'euparal comme c'est le cas pour les CMP et les grains de pollen.

b) *Nous avons mis au point une technique simple et efficace pour conserver les squashes des CMP et des grains de pollen après coloration au carmin acétique. Il s'agit de garder ces squashes dans leur milieu naturel qui est l'acide acétique à 45%, condition d'un bon étalement des cellules. Comme le squash ne subit pas de changement de milieu, tous les détails observés sur le noyau seront respectés intégralement.*

D'abord, il faut empêcher la décoloration du squash. Pour cela, il suffit d'employer comme milieu du squash une solution d'acide acétique à 45% à laquelle on ajoute une forte dose de carmin acétique (entre 1/10 et 1/20).

Une fois l'excès de la solution-milieu du squash évaporé – cela, uniquement pour maintenir au maximum l'étalement des cellules –, on recouvre le pourtour du couvre-objet par du Cutex rouge, une sorte de vernis à ongle qu'on trouve facilement dans le commerce (la couleur rouge sert à rendre plus visible le Cutex). Grâce à sa solidification rapide, le Cutex ne s'introduit pas entre porte- et couvre-objet et ne peut donc pas soulever ce dernier; par conséquent, l'étalement des cellules est respecté. Ensuite, on recouvre la bordure de Cutex d'une couche de solution de baume du Canada, de telle manière que celle-ci dépasse celle-là. L'évaporation de la solution-milieu du squash à travers le Cutex est ainsi arrêtée. Une fois la solidification de la couche de baume terminée (cela demande un séjour d'environ 24 heures dans les conditions ambiantes du laboratoire), on laisse les préparations au frigorifique.

Cette méthode permet de garder les fines structures du noyau pendant six mois au moins. Pour la numération des chromosomes (métaphases somatiques, métaphases I, métaphases II...), les préparations faites d'après cette méthode sont encore utilisables après deux ans.

#### 4° – La récupération du matériel déjà coloré

Si pour une certaine cause on doit suspendre l'étude du matériel déjà coloré au carmin acétique, il est intéressant de le conserver.

Pour cela, on lave préalablement le matériel dans du Carnoy 3:1 pour enlever les traces de carmin qui y restent encore attachées. Ceci a pour but de prévenir la formation de précipités sur le matériel. Puis on le transporte dans un flacon rempli de solution de Carnoy qu'on bouche soigneusement. On met ensuite le flacon dans un frigorifique. Au moment de l'emploi, on lave rapidement le matériel dans de l'acide acétique à 45%. Puis on le met dans du carmin acétique pour le recolorer s'il le faut. A cet effet, il est utile d'exposer pendant trois ou quatre heures, sous une ampoule électrique allumée, le carmin dans lequel se trouve le matériel. Celui-ci est de nouveau prêt pour l'étude.

#### B - Pour les coupes: la méthode de Feulgen

1° Dans l'état actuel de nos connaissances, on ne sait que peu de choses sur le mécanisme véritable de la réaction de Feulgen.

Plusieurs auteurs ont essayé de comprendre le chimisme de cette réaction ou de l'améliorer. Nous renvoyons le lecteur à la revue bibliographique de LESSLER (1953).

La manipulation la plus délicate de cette méthode est l'hydrolyse avec HCl n/1 à 60 °C. Car la qualité de la coloration dépend de la durée optimale de l'hydrolyse qui dépend à son tour du fixateur. Pour le Carnoy, la courbe ( $x =$  temps;  $y =$  qualité de la coloration) monte rapidement, atteint le point maximum vers 12 min, puis descend aussi rapidement qu'elle est montée. Quant au Flemming, ce point se trouve vers 20 min, puis la courbe reste quasi horizontale jusqu'à 50 min (BAUER, 1932; DI STEFANO, 1948). De son côté, HILLARY (1939) conseille une hydrolyse de 6-30 min pour les fixateurs contenant de l'acide chromique et de 4-8 min si cette substance est absente.

2° Pour les manipulations, nous pensons qu'il est utile de reproduire ici les indications de FEULGEN lui-même (cité par SERRA, 1943):

- hydrolyse . . . . . 5-15 min<sup>1</sup>
- lavage dans eau distillée
- séjour dans le Schiff<sup>2</sup>: moins de . . . . . 90 min<sup>3</sup>

càr un séjour trop prolongé risque d'amener une hydrolyse supplémentaire par le colorant

- rinçage soigneux à l'eau sulfureuse
- montage<sup>4</sup> (avec les manipulations qu'il nécessite).

<sup>1</sup> Nous avons mis 12 minutes pour le matériel fixé au Nawaschine et 10 minutes s'il est fixé au Helly.

<sup>2</sup> Un Schiff peut être employé une cinquantaine de fois à condition de le filtrer (pour enlever les morceaux de tissus détachés éventuellement des préparations) après l'avoir employé et de le mettre ensuite à l'abri de la lumière. A cet effet, le Schiff peut être simplement contenu dans un flacon de verre jaune de préférence et que l'on garde dans une boîte de fer blanc vernissé. La couche de vernis jointe à la couleur jaune du flacon protège efficacement le Schiff. Il est bon de tapisser l'intérieur de la boîte d'une couche de paraffine ou de cire fondues pour prévenir l'action des gaz SO<sub>2</sub> (qui se dégagent inévitablement de ce colorant) sur l'oxydation du métal de la boîte.

<sup>3</sup> En raison de la nature pecto-cellulosique de la membrane de la cellule végétale, nous avons prolongé ce séjour pendant 4 heures.

<sup>4</sup> Avant le montage, nous avons toujours procédé à une coloration de fond au vert lumière à 1% pour différencier le nucléole et le cytoplasme.

II<sup>ème</sup> PARTIE

ÉTUDE MONOGRAPHIQUE  
DES TAXA

*Ephedraceae* – *Gramineae* – *Cyperaceae* – *Bromeliaceae* – *Liliaceae* – *Iridaceae*

*Ephedra rupestris* Benth.

Notre comptage nous a permis de confirmer le nombre  $2n = 14$  relevé chez l'espèce par HUNZIKER (1955).

*Chloris distichophylla* Lag.

A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° C'est un noyau réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont nombreux. Parmi eux, plusieurs sont paranucléolaires; cependant, leur numération est difficile car ils sont côtoyés assez étroitement par leurs compagnons en raison du grand nombre de ces derniers.

On observe généralement deux ou trois petits nucléoles. L'apparente difficulté dans laquelle ils se trouvent de fusionner en un nucléole unique paraît liée à la forte densité du réseau.

2° L'espèce a quarante chromosomes ( $2n = 40$ ). Ce nombre indique qu'elle est une forme tétraploïde, la forme diploïde ayant été découverte par KRISHNASWAMY (1940). Il semble donc qu'il existe deux races chromosomiques chez *C. distichophylla*.

La plupart des chromosomes de la forme  $4n$  possèdent un centromère qui reste encore très visible à la métaphase. Le fait que plusieurs d'entre eux sont sub-télocentriques rend difficile l'observation des satellites qui devraient être au nombre de quatre, étant donné que la forme diploïde en a deux (KRISHNASWAMY, *op. cit.*). Deux chromosomes présentent une constriction secondaire de forme effilée très caractéristique (fig. 3, à 2 heures).

Les chromosomes de la forme tétraploïde étudiée ici mesurent de  $1\mu$  à  $4\mu$ . Cela aide à comprendre la densité assez forte du réseau nucléaire (voir DELAY, 1948, page 195).

B - La méiose

1° A la diacinèse, les quarante chromosomes se rassemblent en vingt gemini.

Une particularité de la méiose de la forme  $4n$  est la tendance qu'ont les bivalents à se grouper par paires comme l'indique la figure 2. Des formations analogues peuvent s'observer de façon plus ou moins nette sur toutes les figures de métaphase hétérotypique. Il est probable que cette forme d'association secondaire se trouve sur tous les bivalents. Le fait que les chromosomes de *Chloris distichophylla* conservent encore la propriété de se grouper par quatre unités semble indiquer que la forme  $4n$  a pris naissance par autopolyploïdie.

2° Une autre caractéristique remarquée à la diacinèse sur cette espèce est l'existence d'un bivalent particulier qui est deux fois plus long que ses compagnons et affiche une étonnante plasticité de forme. Il peut se présenter sous la forme de deux portions chromatiques reliées par une commissure qui ne l'est pas. Parfois, cette commissure s'allonge (fig. 2). Quelquefois, le bivalent fait une inflexion au niveau de la commissure médiane (fig. 1). Ces particularités semblent indiquer que le bivalent en question est formé par les deux chromosomes qui présentent la constriction secondaire de forme effilée mentionnée ci-dessus.

3° Ces deux chromosomes particuliers sont-ils porteurs de satellites? L'existence d'une nette constriction secondaire sur chacun d'eux permet de le supposer. Cependant, il est certain qu'ils ne sont pas des chromosomes nucléolifères car le bivalent qu'ils forment ne s'accôle jamais au nucléole. Celui-ci est, par contre, toujours accompagné de deux bivalents paranucléolaires.

### C - L'accolement du noyau végétatif à la cellule reproductrice

Signalons en passant que dans les grains de pollen à deux comme à trois noyaux, on observe toujours une certaine attraction entre le noyau végétatif et la cellule reproductrice.

#### *Sporobolus Berteroanus*

(Trin.) Hitchc. & Chase

Noyau réticulé orné de quelques chromocentres. L'espèce possède environ quarante-quatre chromosomes:  $2n = \text{ca. } 44$ . Il est pensable qu'elle est un tétraploïde appartenant à la série polyploïde ayant pour nombre de base  $x = 11$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

#### *Carex pichinchensis* HBK

1° L'espèce a un noyau semi-réticulé à chromocentres. Ces derniers sont nombreux et généralement petits. Ils occupent toute la nucléolymphe, ce qui confère au noyau un aspect grossièrement granuleux. Quelques-uns d'entre eux ont des dimensions plus grandes.

Le nucléole unique est accompagné de quatre ou cinq chromocentres paranucléolaires qui peuvent rester accolés au nucléole, séparés de leurs compagnons par l'auréole périnucléolaire.

2° La plupart des chromosomes ont un aspect punctiforme. Ils mesurent entre  $0,3 \mu$  et  $0,8 \mu$ .

*C. pichinchensis* a pour nombre diploïde  $2n = 82-84$  (fig. 4). Nous pensons que ce nombre de chromosomes élevé compense leurs faibles dimensions. Sans cela, il serait difficile de comprendre la densité appréciable du réseau chromatique de son noyau.

3° Sans insister sur le rôle considérable joué par l'agmatoploïdie dans la spéciation du genre *Carex*, disons seulement qu'avec un tel nombre de chromosomes, l'espèce étudiée est certainement un « polyploïde » élevé.

#### *Puya Raimondii* Harms

1° *P. Raimondii* a un noyau aréticulé à prochromosomes. Ces derniers sont toujours répartis à la périphérie et appliqués contre la membrane nucléaire. Le nucléoplasme est donc presque inoccupé à part quelques prochromosomes qui ont une extrémité appuyée sur le nucléole toujours unique. Ce sont les prochromosomes paranucléolaires.

A la prophase somatique, les chromosomes s'individualisent à partir des prochromosomes. Les chromosomes prophasiques restent longtemps appuyés contre la membrane nucléaire. Ils émigrent ensuite vers le centre du noyau. Alors se forme la plaque équatoriale.

Tous ces caractères semblent indiquer un noyau à prochromosomes du type conçu par EICHHORN (1933) quoiqu'il soit impossible de dénombrer un nombre de ces éléments chromatiques égal à celui des chromosomes, étant donné les dimensions exigües d'un grand nombre d'entre eux.

2° L'espèce a comme nombre diploïde  $2n = 50$ . Les chromosomes sont petits et grêles (fig. 5). Ils mesurent entre  $0,6 \mu$  et  $1,2 \mu$ . Cela aide à comprendre la structure aréticulée du noyau et l'existence d'un nucléole toujours unique.

On a relevé également le nombre  $2n = 50$  sur deux autres espèces, à savoir *P. spathacea* (DARLINGTON et WYLIE, 1955) et *cardenasii* (DIERS, 1961). Cela joint au fait que ce genre est représenté seulement par quelque 25 espèces endémiques des Andes (WILLIS, 1960) fait penser que les *Puya* auraient tous le même nombre chromosomique et se seraient différenciés par « gradual speciation ». Leur nombre de base élevé ( $x = 25$ ) évoque une ancienne polyploïdie (paléopolyploïdes, FAVARGER, 1960).

#### *Anthericum glaucum* R. & P.

L'espèce possède quarante-huit chromosomes:  $2n = 48$ . C'est donc un hexaploïde à  $x = 8$ , un nombre de base signalé chez le genre *Anthericum* (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

## *Mastigostyla* aff. *cyrtophylla* Johnston

### A - Structure du noyau - Chromosomes - Polysomatie dans la racine

1° C'est un noyau euréticulé dépourvu de chromocentres. Les « grains » chromatiques ont tendance à se rassembler en des plages collectives qui affectent la plupart du temps un aspect zôné. Quelques-unes d'entre elles s'attachent aux nucléoles qui sont généralement au nombre de deux ou trois. Le Helly comme le Carnoy – à l'encontre des espèces à noyaux semi-réticulés ou aréticulés, étudiées dans ce travail – ne provoquent pas de formation d'auréoles périnucléolaires dans les noyaux somatiques de l'espèce, qui ont généralement un réseau très dense. Par contre, dans les noyaux haploïdes du sac embryonnaire qui ont des dimensions plus grandes – ce qui amène une diminution de la densité de leur réseau – les auréoles périnucléolaires s'observent toujours. Ainsi, il semble que l'un des facteurs déterminant la formation de ces vides autour des nucléoles est la faible densité du réseau nucléaire.

#### 2° Les chromosomes

a) L'espèce possède 28 chromosomes:  $2n = 28$ . C'est probablement un tétraploïde, car le nombre de base  $x = 7$  a été trouvé dans le genre voisin *Cypella* (DARLINGTON et WYLIE, 1955), genre dont a été détaché *Mastigostyla* (JOHNSTON, 1928).

b) Les chromosomes sont longs et épais. Ils mesurent entre  $3,6 \mu$  et  $14 \mu$ . Ces grandes dimensions expliquent la forte densité du réseau nucléaire et par là, la présence régulière de plus d'un nucléole dans le noyau. Deux chromosomes sont particulièrement longs.

c) Trois chromosomes au moins (probablement quatre) présentent une constriction secondaire très large (fig. 6). Il paraît certain qu'ils ne portent pas de satellites. Car généralement ceux-ci peuvent s'observer dans les noyaux en repos (dans le cas où leur existence est remarquée), étant donné leur nature hétérochromatique compacte, alors que chez l'espèce, le noyau est dépourvu de chromocentres.

Il semble que ces quatre chromosomes particuliers sont nucléolifères. En effet, on observe régulièrement deux bivalents paranucléolaires à la diacinèse. Donc il est vraisemblable que les nucléoles se forment au niveau des constriction secondaires de ces chromosomes.

#### 3° - Polysomatie dans la racine

Dans la racine de l'espèce étudiée, on observe très fréquemment l'existence de noyaux  $4n$ , soit au stade anaphasique, soit au stade métaphasique. Les chromosomes de ces noyaux sont plus trapus et plus ramassés que leurs homologues dans les noyaux diploïdes.

### B - Méiose - Formation du sac embryonnaire - Hypostase

1° La méiose est normale. A la métaphase hétérotypique, on observe quatorze bivalents normaux. Un bivalent aux dimensions plus développées que celles des autres (fig. 7, vers 3 heures) a ceci de particulier; c'est qu'il donne l'impression d'être composé de deux parties qui s'ajoutent l'une à l'autre, de façon qu'elles puissent être prises pour deux bivalents différents. Il est pensable que ce bivalent est formé par les deux longs chromosomes.

2° La formation du sac embryonnaire se fait d'après le type *Allium*.

3° On observe dans le nucelle, à la région chalazale, une hypostase du type décrit par VAN TIEGHEM (1901). Il est formé de cellules aux membranes lignifiées. Cette propriété suggère que l'hypostase en question servirait à arrêter la croissance démesurée du sac embryonnaire (ou celle de quelques-uns des éléments de ce dernier) vers la région chalazale. C'est ce que nous avons remarqué par exemple chez *Oxalis spiralis* et chez *Salvia macrophylla*. Cependant, l'absence de matériel avancé ne nous a pas permis d'observer des phénomènes analogues chez *M. aff. cyrtophylla*.

## CHAPITRE 4

---

### *Orchidaceae*

#### *Stelis concaviflora* Schweinf.

##### A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° C'est un noyau aréiculé à chromocentres. Ceux-ci, au nombre d'une quinzaine, ont des grandeurs très variées. Parmi eux, quatre ou cinq dont deux chromocentres paranucléolaires ont des dimensions dépassant largement celles des plus grands chromosomes (à comparer fig. 9 et fig. 8 dessinées à une même échelle); ce qui paraît indiquer une fusion de chromocentres.

Quant aux chromocentres paranucléolaires, ils sont rattachés au nucléole unique par des tractus qui franchissent l'auréole périnucléolaire. Comme l'existence de cette auréole est due à la contraction du nucléole sous l'action du fixateur, ces tractus ne représentent qu'un étirement d'un point chromatique par lequel le chromocentre paranucléolaire est en relation avec le nucléole.

2° Le noyau a trente-deux chromosomes. Ils sont développés dans le sens de la largeur. Les plus grands ne dépassent pas 1,4  $\mu$  et les plus petits (au nombre de deux) mesurent environ 0,5  $\mu$ .

Il est à noter que les *Stelis* connus jusqu'ici au point de vue cytologique ont tous  $2n = 32$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955; CHARDARD, 1963). Ils sont donc tous diploïdes ou paléopolyploïdes.

##### B - Méiose

Dans les conditions de culture précisées ci-dessus, la méiose est irrégulière en ce sens que les plaques de métaphase hétérotypique présentent presque toujours des « univalents ». Cela est dû certainement à une anaphase qui s'amorce trop tôt sur quelques bivalents alors que les autres sont encore en métaphase.

En effet, souvent un ou deux bivalents tardent à venir sur la plaque équatoriale (fig. 10), tandis que pour certains autres, l'anaphase a déjà commencé. Il s'en suit que ces bivalents retardataires, se comportant comme des « laggards », peuvent entraîner la formation d'un noyau de restitution. Ce qui explique l'existence fréquente de « microspores » qui ont des noyaux deux fois plus grands et un nombre de chromocentres double par rapport aux microspores normales (à comparer fig. 11 et fig. 12 dessinées à une même échelle). Le noyau de ces « microspores » diploïdes se remarque non seulement par ses dimensions développées et son nombre de chromocentres élevé mais encore par le fait qu'un ancien microsporocyte n'en contient que deux, séparés par une membrane (fig. 12). L'existence d'une membrane séparatrice dans une CMP dans une famille où le cloisonnement est simultanément prouvé que la division homéotypique est déjà terminée. Par conséquent, chacun de ces deux noyaux équivaut à deux noyaux de microspore normale. En d'autres termes, il est diploïde. À part ces anomalies, tous les grains de pollen ont les mêmes dimensions. Cela indique qu'il n'y a pas d'irrégularités dans l'appariement des chromosomes à la prophase hétérotypique (cf. chapitre 15: sous *Cuphea dipetala*).

#### *Epidendrum brachyphyllum* Lindley

#### *Epidendrum aff. brachyphyllum*

La première espèce (n° 7 13 09) a des fleurs roses tandis que la seconde (n° 7 13 08), des fleurs jaunes.

La détermination de l'échantillon n° 7 13 09 d'après SCHWEINFURTH (1959) conduit à *E. dichotomum* Presl. Il a été ensuite comparé avec des plantes du Conservatoire botanique de Genève classées sous *E. brachyphyllum* Lindley. D'après SCHWEINFURTH, ce binôme est synonyme de *E. dichotomum* Presl.

Quant à l'autre espèce (n° 7 13 08), elle ressemble assez à l'échantillon HARTWEG X1-42 présent à Genève et classé sous *E. ibaguense* HBK.

Chose intéressante, SCHWEINFURTH, après l'examen de nos exsiccata, déclare qu'ils appartiennent non à deux mais à une seule espèce, à savoir *E. brachyphyllum*. Cependant, l'existence de deux nombres chromosomiques différents se rapportant à deux nombres de base distincts ainsi que celle de deux structures nucléaires dissemblables (voir ci-après sous V:2 et sous II:2 et 3) indiquent qu'il s'agit de deux espèces différentes.

Laissant en suspens le problème taxinomique, nous appellerons donc l'espèce n° 7 13 09 *E. brachyphyllum* et celle qui porte le n° 7 13 08 *E. aff. brachyphyllum*.

Dans les conditions de culture indiquées ci-dessus, *E. aff. brachyphyllum* ne fleurit qu'une fois par an tandis que chez *E. brachyphyllum* la floraison s'étend sur toute l'année.

A part cette différence, les deux espèces présentent beaucoup de ressemblances entre elles et à plusieurs points de vue, morphologique, anatomique, organographique comme cytologique. Par conséquent, certains détails que nous n'avons pas pu observer chez *aff. brachyphyllum*, faute d'un matériel abondant, peuvent être élucidés par les caractéristiques correspondantes trouvées chez *brachyphyllum*. Ainsi, il est commode de les étudier ensemble.

## I - Organisation de l'androcée

### A - Description sommaire de l'anthère

1° Généralement, l'androcée ne comporte qu'une étamine comme chez d'autres représentants du genre *Epidendrum*. L'anthère a quatre sacs polliniques logeant quatre pollinies céracées formées de deux bras inégaux repliés l'un sur l'autre quand ils sont encore à l'intérieur du sac pollinique et disposés dans le sens antéro-postérieur de la fleur (fig. 16). A la déhiscence du sac, le bras le plus long sort le premier et forme un angle d'environ 60° avec l'autre qui reste encore à l'intérieur (fig. 13). Le bras court affecte une forme de massue; c'est la partie fertile de la pollinie ou la pollinie proprement dite. L'autre compte des grains de pollen enduits de cire dont l'ensemble présente un aspect hérissé qui, joint au fait que ce bras sort le premier du sac pollinique et par conséquent doit toucher le premier l'insecte pollinisateur, indique que ce bras constitue le caudicule de la pollinie. Nous verrons plus loin (voir sous IV) que les grains de pollen qui le composent ne germent pas.

2° Nous avons trouvé des fleurs à deux étamines chez les deux espèces. Leur proportion est assez élevée, environ 10%. Cependant, toujours une seule étamine se développe et, de ce fait, arrive à occuper une position centrale en repoussant l'autre de côté, soit à droite, soit à gauche. Celle-ci ne tarde pas à dégénérer, même après la formation du pollen.

Chez *E. brachyphyllum*, nous avons trouvé un cas où l'étamine normale est flanquée de part et d'autre par deux staminodes.

### B - Anatomie de la pollinie

1° La pollinie proprement dite ne compte que des microsporocytes. Ceux qui forment la couche périphérique sont plus développés et affectent une forme allongée dans le sens radial de la masse sporogène. Au stade des microspores, ils seront coiffés d'une couche de cire sur leur face externe (fig. 21). Cette couche cireuse dont la formation commence dès l'entrée en méiose des cellules-mères, voit sa couleur passer progressivement du blanc au jaune vif et son épaisseur atteindre jusqu'à 7  $\mu$  du côté qui regarde le tapis. Elle s'amincit peu à peu en pénétrant dans les interstices des CMP de la couche périphérique.

2° Le caudicule est composé de microsporocytes intercalés plus ou moins régulièrement avec des diverticules du tapis. Ces cellules-mères du caudicule qui ont une forme allongée s'étendent en certains endroits d'une extrémité à l'autre du diamètre transversal du caudicule (fig. 17).

A la méiose, tous les microsporocytes du caudicule, à l'encontre de la masse sporogène de la pollinie proprement dite, s'imprègnent de la substance cireuse précitée. Cette uniformité tient sans doute au voisinage étroit des cellules nourricières intercalées avec eux.

Après la résorption des cellules nourricières en-dedans comme en-dehors du caudicule, il ne reste dans ce dernier que les anciens microsporocytes reliés les uns aux autres par des connexions constituées par de la substance cireuse. Car malgré l'état compartimenté causé par la formation des microspores, la couche de cire enveloppant chacune de ces cellules-mères empêche ses microspores de se séparer (fig. 22). Grâce à ces points de connexion et à la forme allongée des anciens microsporocytes, ces derniers forment une sorte de réseau grossier mais suffisamment solide. Le transport de la pollinie est rendu ainsi possible.

3° L'assise mécanique est irrégulière (fig. 16). Elle va en se renforçant dans le sens antéro-postérieur de la fleur; ce dernier n'est autre que le sens de disposition des deux bras de la pollinie dans le sac pollinique.

Cette assise est nulle aux extrémités et sur le côté interne du caudicule (= le bras long). Sur le bord externe de ce dernier, elle est formée de deux ou trois couches faiblement lignifiées.

Quant à la pollinie proprement dite (= le bras court), elle est entourée de toutes parts par de l'assise mécanique; cependant, c'est sur son bord externe que cette dernière est le mieux développée, car là on peut compter quatre ou cinq couches fortement lignifiées.

Cette lignification différentielle explique pourquoi la déhiscence du sac pollinique commence toujours par l'extrémité du caudicule qui sort toujours le premier.

### C - Le tapis

Signalons en passant que le tapis est formé d'une seule couche de cellules qui peuvent être uni- ou binucléées.

## II - Structure du noyau - Les chromosomes

1° Ce sont des noyaux semi-réticulés à chromocentres. Ceux-ci offrent des contours arrondis et francs et sont au nombre d'une vingtaine dont quatre au moins sont paranucléolaires.

Les chromocentres varient de dimensions d'un noyau à l'autre. Cela paraît indiquer plusieurs fusions entre eux. Ce fait est net sur les chromocentres paranucléolaires.

En effet, sur des noyaux à deux nucléoles, chacun de ceux-ci retient deux petits chromocentres paranucléolaires. Sur d'autres, au nucléole unique peuvent s'accoler un chromocentre paranucléolaire petit et un autre, trois ou quatre fois plus volumineux.

Le noyau n'a généralement qu'un nucléole. Cependant, on rencontre fréquemment des noyaux qui en ont deux.

2° Une différence sépare les deux espèces. C'est que les chromocentres de *aff. brachyphyllum* sont dans l'ensemble plus volumineux que ceux de *brachyphyllum*.

3° Les chromosomes sont petits. Chez les deux espèces, ils ne dépassent pas 2  $\mu$ . Cela facilite la compréhension de la faible densité du réseau et par là, de l'existence du nucléole unique dans la majorité des noyaux.

*E. aff. brachyphyllum* a vingt-huit chromosomes (fig. 25) tandis que *E. brachyphyllum* en a soixante.

## III - La microsporogénèse

### A - La méiose et les nombres haploïdes

1° La méiose se produit en même temps dans toute la pollinie, que ce soit dans le caudicule ou dans la pollinie proprement dite. Cependant, sur chacune de ces parties, un asynchronisme plus ou moins accentué s'observe entre différents groupes de cellules.

Dans la pollinie proprement dite, cet asynchronisme est toujours léger. Par exemple, dans un groupe de microsporocytes c'est le stade leptotène alors que dans un groupe voisin, le stade pachytène. Ou bien, on observe le stade de prophase II chez l'un et la métaphase homéotypique chez l'autre.

Dans le caudicule, par contre, l'asynchronisme entre les CMP est parfois très prononcé. Ainsi, plusieurs fois nous avons remarqué toute une suite de stades, depuis le stade pachytène jusqu'au stade des tétrades. Ces stades se trouvent entremêlés ensemble de telle sorte qu'aucun d'eux ne se présente dans un « centre » composé de plusieurs CMP comme dans la pollinie proprement dite.

2° Au stade pachytène, on observe deux « filaments » qui passent par le nucléole flanqué alors de deux « grains » chromatiques (fig. 15) qui ne sont autres que les quatre chromocentres paranucléolaires appariés. Chez *aff. brachyphyllum*, les « grains » sont plus nets (fig. 14), cela probablement à cause du fait que ses chromocentres sont plus développés que ceux de *brachyphyllum*.

3° La méiose est normale. Il ne se forme que des bivalents. Toutefois, dans le caudicule, à l'anaphase hétérotypique, on trouve fréquemment des ponts de chromosomes (fig. 19 a) formés par des « laggards ». Cela confère aux noyaux-fils une apparence amitotique (fig. 19 b); cependant la télophase est toujours réussie (fig. 19 c).

### B - La disposition des microspores

La disposition des noyaux-fils provenant d'une CMP varie avec la forme de celle-ci.

Dans la pollinie proprement dite, chez les CMP centrales, par le fait qu'elles prennent une forme quasi sphérique, cette disposition se fait d'après le mode tétraédrique. Elle peut par contre être linéaire (fig. 20) chez les CMP de la couche périphérique car celles-ci sont généralement plus longues que larges. Il en est de même pour celles qui composent la masse sporogène du caudicule (fig. 22).

### C - Le pollen à deux noyaux

Nous avons compté les nombres haploïdes des deux espèces sur des plaques de première métaphase pollinique. *E. brachyphyllum* et *E. aff. brachyphyllum* ont respectivement pour nombres haploïdes  $n = 30$  (fig. 26) et  $n = 14$  (fig. 24).

Le noyau reproducteur est plus petit que le noyau végétatif et par conséquent plus chromatique. Ce dernier a une forme sphérique. Quant à l'autre, il affecte généralement une forme de calotte dont la face concave coiffe étroitement la vacuole du cytoplasme toujours visible (fig. 23). Jamais la vacuole ne se trouve sur la face convexe de la calotte. Ces faits semblent indiquer que la forme de calotte du noyau reproducteur n'est qu'un effet de la proximité excessive entre lui et la vacuole. Nous avons observé le même phénomène sur les noyaux des synergides hypertrophiées de *Geranium ayavacense* (chapitre 11) et de *Salvia macrophylla* (chapitre 18).

Le noyau reproducteur est toujours bordé d'une mince ceinture de cytoplasme très dense, à en juger par son pouvoir de prendre le vert lumière. Entre elle et le cytoplasme végétatif environnant, on observe une couche achromatique, réfringente et uniformément épaisse. Il est pensable qu'elle est la membrane de la cellule reproductrice.

## IV - La germination du pollen

L'existence, chez les deux *Epidendrum* étudiés, de CMP, ainsi que le déroulement normal de la méiose et la formation du pollen, dans une partie anatomique destinée à être stérile comme le caudicule de la pollinie soulèvent nécessairement cette question: ces grains de pollen peuvent-ils germer comme leurs homologues situés dans la pollinie proprement dite?

### A - Technique

Pour la mise en germination de ces grains de pollen, nous avons employé des verres de montre remplis d'une « solution » de gélose glucosé refroidie et placés dans des boîtes de Pétri.

La germination du pollen de ces espèces nécessite trois conditions: une forte humidité, une température aux environs de 30 °C et surtout l'oxygène en abondance.

La température de 30 °C fait pousser rapidement les tubes polliniques. Cela est compréhensible car ces Orchidées sont des espèces tropicales.

Pour maintenir une forte humidité, il faut ajouter un peu d'eau au fond de la boîte de Pétri avant de la fermer, de manière que l'eau n'envahisse pas le milieu de germination. Il se forme dans la boîte une atmosphère saturée de vapeurs d'eau. Sans cela, le pollen passe à une vie ralentie et meurt ensuite.

Quant au besoin d'oxygène, nous avons constaté que si on ouvre la boîte une ou plusieurs fois par jour, les pollinies germent rapidement. Au bout de vingt-quatre heures, on peut observer plusieurs tubes polliniques à trois noyaux. Par contre, si on ne pratique pas ce genre d'aération, les pollinies restent toujours au stade de douze heures (germination dans les conditions normales), même après une semaine. Pour empêcher le développement des champignons, il est nécessaire de renouveler régulièrement le milieu de germination.

## B - Résultats obtenus par la mise en germination du pollen

1° Seul, le pollen de la pollinie proprement dite germe. Celui du caudicule ne donne aucun signe de germination malgré tous les essais.

Les grains de pollen dont une face est imprégnée de la substance cireuse, pollen provenant des CMP de la couche périphérique de la pollinie proprement dite, germent toujours par une face qui n'a pas pris cette substance; ce qui indique que l'existence de la substance cireuse empêche la poussée du tube pollinique. Cela explique pourquoi les grains de pollen issus des CMP enrobées de cire du caudicule ne germent pas.

2° Les squashes des tubes polliniques révèlent l'existence de grains de pollen anormaux dans la pollinie proprement dite. L'origine de ces anomalies est due à la formation de cloisons défectueuses qui séparent les microspores d'une CMP.

a) Ces grains de pollen se rencontrent sous les quatre formes suivantes (voir tableau représenté par la figure 27). D'abord, ce sont des grains doubles à deux noyaux reproducteurs et deux noyaux végétatifs (tableau 27: A): un grain double (à cloison incomplète) donne un tube pollinique qui peut loger ces quatre noyaux. En second lieu, il y a des grains de pollen simples mais qui ont aussi deux noyaux reproducteurs et deux noyaux végétatifs (tableau 27: B); ils donnent des tubes polliniques à deux noyaux reproducteurs et deux noyaux végétatifs (fig. 28). A côté, on observe un grain de pollen vide issu de la même CMP (tableau 27: B). Enfin, on observe des grains de pollen doubles mais qui n'ont qu'un noyau reproducteur et un noyau végétatif; ces noyaux sont logés dans la partie du grain double qui se développe en tube pollinique (tableau 27: C).

Il en découle qu'après la deuxième division pollinique, il y a des tubes qui contiennent quatre noyaux reproducteurs et deux noyaux végétatifs.

Quant au mécanisme de la formation de ces grains de pollen anormaux, on peut les rapporter à des anomalies de la mise en place des cloisons, comme le montre le tableau.

b) Il est intéressant de savoir à quelle zone de la pollinie appartiennent ces grains de pollen anormaux.

Pour cela, la technique des coupes s'avère impuissante. Car elle ne permet pas d'observer un tube pollinique tout entier. D'autre part, ce dernier, pour sortir de la pollinie, peut faire des détours difficiles à suivre sur des coupes successives. On peut éventuellement débiter une pollinie en tranches très minces puis procéder à l'écrasement au carmin acétique après une fixation préalable au Carnoy. Cependant, on risque d'amputer les tubes polliniques des tranches suivantes.

Pour remédier à ces inconvénients, nous avons procédé de la façon suivante: mettre simultanément en germination plusieurs pollinies apparemment de même âge, puis en prélever une ou deux toutes les douze heures et les fixer au Carnoy pour le squash au carmin acétique.

Les raisons suivantes permettent de croire que ces grains de pollen anormaux appartiennent aux couches externes de la pollinie. D'abord, beaucoup d'entre eux sont coiffés d'un capuchon de cire et sont, par conséquent, issus des CMP de la couche périphérique de la pollinie. En deuxième lieu, les grains de pollen anormaux décrits ci-dessus ont toujours un volume relativement plus grand que celui des autres; or, dans la pollinie, les CMP augmentent de taille du centre à la périphérie et il en est de même pour les grains de pollen qui en proviennent. Ensuite, lors de la germination de la pollinie, nous avons toujours remarqué que les tubes ramifiés (issus des grains de pollen doubles) sont parmi les premiers à émerger de la surface de la pollinie, ce qui indique que ces grains de pollen doivent être très près de cette surface. Enfin, tous les types de grains de pollen anormaux décrits ci-dessus germent toujours parmi les premiers alors qu'à un stade fort avancé, les grains de pollen situés au

centre de la pollinie, caractérisés par des dimensions plus petites, ne germent pas encore car leur position dans l'ensemble de la pollinie rend leur approvisionnement en substances nutritives plus difficile.

c) La proportion des grains de pollen anormaux est assez élevée, au moins 20%, chez les deux *Epidendrum* étudiés.

## V - Discussion

### 1° - La structure nucléaire du genre *Epidendrum*

C'est M<sup>me</sup> EFTIMIU-HEIM (1941) qui s'est la première intéressée à la structure du noyau des Orchidées. D'après ses descriptions, le noyau y est plus ou moins visible et on peut distinguer plusieurs catégories de structure. Les chromocentres font défaut chez divers genres notamment *Listera*, *Angraecum*... et sont remplacés par « certaines régions ou zones plus chromatiques que le reste du réseau » ou par des « taches foncées, structurées alternant avec des espaces plus clairs... »

Sur les *Epidendrées* et les *Vandées*, elle a noté des noyaux au « réseau fin, peu chromatique, ... à chromocentres... » et aux « chromosomes courts ».

Selon la même auteur, il y a une relation entre l'habitat et la structure du noyau. Ainsi, tandis que les Orchidées terrestres ont « un noyau pourvu d'un réseau plus ou moins puissant avec ou sans chromocentres évidents », les Orchidées épiphytes ou lianes « présentent un réseau très léger et peu distinct ».

Les résultats du travail de CHARDARD (1963) sur quatre *Epidendrum* se rapprochent beaucoup de ceux de l'auteur précédente.

Quant aux deux espèces étudiées par nous, leur noyau correspond au type décrit chez le genre *Epidendrum*.

### 2° - Nombres de base du genre *Epidendrum*

Peu de numérations ont été faites parmi ce genre riche en espèces (750, selon CHARDARD, *op. cit.*).

a) La majorité des nombres chromosomiques rapportés sont des multiples de 20. Cela semble expliquer pourquoi ce nombre a été pris comme nombre de base pour le genre *Epidendrum*:  $x = 20$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955). *E. brachyphyllum* appartient donc à cette série polyploïde et il représenterait un triploïde.

Cependant, plusieurs raisons permettent de penser que cette espèce est un hexaploïde au nombre de base  $x = 10$ . D'abord, l'appariement de ses soixante chromosomes en trente bivalents normaux indique que ce n'est pas un triploïde. Ensuite, un nombre de base aussi élevé que 20 chez les Angiospermes est peu probable. Enfin, le nombre  $x = 10$  est fréquent chez des genres archaïques tels que *Spiranthes*, *Pleione*...

b) Deux autres nombres de base, à savoir  $x = 12$  et  $x = 14$ , se révèlent avec *E. mosenii* ( $2n = 24$ ) d'une part et *E. ellipticum*, *elongatum*, *lindenii* et *purpureum* ( $2n = 56$ ) d'autre part (BLUMENSCHNEIDER, 1960, cité par CHARDARD, *op. cit.*). *E. aff. brachyphyllum* se rapporte donc au second nombre et constitue un diploïde.

Si on admet le nombre  $x = 10$  comme nombre de base initial du genre *Epidendrum*, le nombre  $x = 12$  en aurait tiré son origine par aneuploïdie, phénomène très fréquent chez les Orchidées (CHARDARD, *op. cit.*). Et il n'est pas illogique de supposer par la suite le même mécanisme en ce qui concerne l'origine de  $x = 14$  à partir de  $x = 12$ .

### 3° L'origine sporogène du caudicule des *Orchidaceae* et l'évolution de l'androcée chez les deux *Epidendrum* étudiés

Chez *E. brachyphyllum* et *E. aff. brachyphyllum*, l'androcée revêt encore quelques imperfections, si on le compare avec celui d'autres *Monandres*.

a) D'abord, la réapparition fréquente des deux staminodes latéraux indique que l'ancêtre de ces deux espèces en particulier et des *Epidendrum* et probablement des *Monandres* en général est une souche à trois étamines.

A ce point de vue, l'opinion de SWAMY (1949 b) est intéressante. Cet auteur, après une étude sur l'embryogénèse des *Orchidaceae*, arrive à y dégager la phylogénèse suivante. L'ancêtre de ce groupe

de plantes serait *Newiedia*, espèce répandue actuellement en Malaisie, à trois étamines et à périanthe actinomorphe. Il donnerait naissance à deux lignées différentes. La première compte des espèces à deux étamines fonctionnelles, l'étamine médiane ayant disparu. La seconde forme le groupe des Monandres à une étamine fonctionnelle par résorption des étamines latérales. Ainsi, le fait que ces dernières réapparaissent souvent chez *E. brachyphyllum* et *E. aff. brachyphyllum* qui sont deux espèces fonctionnellement monandres semble confirmer, dans une certaine mesure, l'hypothèse de cet auteur. Il prouve en outre que si l'évolution fonctionnelle de l'androcée a atteint son stade final chez ces deux espèces, son évolution morphologique est encore en cours.

b) Une autre caractéristique de cet androcée appuie cette supposition. C'est l'existence de pollen incapable de germer dans le caudicule.

Une étude comparative à ce point de vue serait utile. Prenons entre autres le cas de *Orchis maculata* L. que nous avons étudié à titre de comparaison. Chez cette espèce, les cellules du caudicule présentent beaucoup de ressemblances avec celles du tapis. Elles n'offrent par contre aucune identité avec la masse des CMP de la pollinie. Elles ne subissent jamais la méiose et se résorbent en une substance visqueuse dès l'achèvement de la méiose dans ces cellules.

Chez *E. brachyphyllum* et *E. aff. brachyphyllum*, par contre, le caudicule loge encore des CMP sur toute sa longueur. La méiose ainsi que la formation du pollen s'y déroulent normalement. Cependant, la formation d'une couche de cire qui entoure le groupe de quatre grains de pollen provenant d'une cellule-mère les empêche de germer. Tout un long processus conduisant à la formation du pollen n'est pour ainsi dire d'aucune utilité.

Tous ces faits semblent indiquer l'origine sporogène du caudicule des *Orchidaceae* et le caractère encore peu évolué de celui des deux *Epidendrum* étudiés. Par conséquent, il serait intéressant d'étudier la formation et le développement de cette partie anatomique chez les autres représentants du genre *Epidendrum* en particulier et sur les Orchidées en général.

c) A notre connaissance, aucun auteur n'a signalé l'existence de cellules en méiose dans le caudicule des Orchidées.

#### 4° - Une preuve en faveur d'une origine sporogène du tapis

Nous ne discuterons pas ici les opinions ou les preuves diverses concernant l'origine somatique ou sporogène du tapis. Nous renvoyons le lecteur aux recherches bibliographiques de PY (1932).

Nous insisterons seulement sur un fait qui peut constituer une preuve solide en faveur d'une origine sporogène du tapis. C'est la formation d'une sorte de « tapis interne » au cœur même de la masse sporogène.

Ainsi, dans le caudicule de *E. brachyphyllum* et de *E. aff. brachyphyllum*, les cellules-mères sont intercalées avec des cellules nourricières. Cela explique pourquoi la formation de la couche cireuse sécrétée par ces dernières n'épargne aucun grain de pollen dans le caudicule alors qu'elle n'affecte que la couche de cellules-mères périphériques de la pollinie proprement dite. Cette « promiscuité » apparaît dans toute sa clarté après le dépôt de la substance cireuse autour de la membrane des anciennes CMP du caudicule, phénomène qui débute dès leur entrée en méiose. Car sur une coupe longitudinale du caudicule, entre ces dernières caractérisées alors par des noyaux très peu chromatiques (stade de microspores), à chromocentres petits et par une couche de cire jaune autour de leur membrane, se détachent nettement d'autres cellules dont la membrane reste normale et dont le noyau beaucoup plus chromatique est pourvu de chromocentres plus développés, probablement collectifs. Ces cellules, en somme, présentent toutes les ressemblances avec celles du tapis qui entourent encore le caudicule à ce stade.

Chez *Orchis maculata*, nous avons remarqué aussi des diverticules du tapis - reconnaissables à la forte chromaticité du cytoplasme et du noyau de leurs cellules, chromaticité identique à celle des cellules nourricières - au sein de la masse des cellules-mères de la pollinie (fig. 18) qu'ils compartimentent en plusieurs blocs. Ceux-ci, de ce fait, s'enrobent d'une substance cireuse identique à celle dont s'enduit la membrane des CMP périphériques en contact avec le tapis: une preuve de plus en faveur de la nature nourricière de ces diverticules. Leur résorption précoce survenue avant la méiose libère ces blocs que les insectes pollinisateurs prennent un à un après la maturation du pollen.

Un cas semblable est présenté par le « Balkentapetum » de *Gentiana cruciata* et de *Impatiens glandulifera* (STEFFEN et LANDMANN, 1957). Ce tapis est constitué en effet par des cloisons formées de cellules nourricières et qui compartimentent la masse sporogène mâle.

Des cas analogues ont été signalés par maints auteurs sur maintes espèces, notamment ROSENBERG sur *Zostera*, VENKATASUBBAN sur *Kigelia*, GUÉRIN chez les Gentianacées (MAHESHWARI, 1950, page 40).

Nous pensons que toutes ces formations dont le résultat est la nutrition des microsporocytes ont valeur de « tapis interne ». La présence de ce genre de cellules nourricières au sein d'une masse qui n'est composée normalement que de cellules sporogènes montre que celles-ci peuvent se transformer en celles-là. Par conséquent, ce ne serait pas illogique de penser qu'une ou deux couches externes de la masse sporogène de l'anthere peuvent donner le tapis dont le rôle nourricier n'est mis en doute par personne.

Ainsi, l'existence d'un tapis interne constituerait à notre avis la preuve la plus solide en faveur d'une origine sporogène du tapis.

*Piperaceae – Urticaceae*

*Peperomia galioides* HBK

Dans son traitement du genre *Peperomia* pour la « Flora of Peru » de MACBRIDE, TRELEASE décrit un grand nombre d'espèces nouvelles. *P. galioides* par contre n'y figure pas et cela laisse supposer que cette espèce a été démembrée. Malheureusement, on n'en trouve aucune trace dans la synonymie. Cette absence paraît s'expliquer par le fait que jusqu'à une date très récente, dans les flores de la moitié septentrionale de l'Amérique du Sud, l'espèce a été signalée seulement en Colombie, en Equateur, au Venezuela et dans les Iles Galapagos (TRELEASE et YUNCKER, 1950). Cependant, sa présence au Pérou a été remarquée par DIERS (1961).<sup>1</sup>

A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° C'est un noyau très peu réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont en nombre dépassant celui des chromosomes; ils ont généralement une forme arrondie et se répartissent uniformément dans le réseau. Quelques-uns d'entre eux ont des dimensions plus développées que les autres.

2° La faible densité réticulaire est d'ailleurs en rapport avec la taille des chromosomes dont aucun ne dépasse 1,6  $\mu$  (voir DELAY, 1948, page 195). Les plus petits mesurent 1  $\mu$  (fig. 29).

Le noyau diploïde possède vingt-deux chromosomes ( $2n = 22$ ). Les plus grands affectent la forme d'un V ou d'un J. Les petits et les moyens sont généralement droits.

Sur le matériel récolté dans le versant occidental, DIERS (*op. cit.*) rapporte  $2n = 24$  comme nombre diploïde de l'espèce. Averti par ce résultat, nous avons multiplié nos observations. Cependant, sur un grand nombre de plaques de métaphase très bonnes où les chromosomes sont séparés un à un, nous n'avons jamais pu en compter plus de vingt-deux. Ainsi, nous croyons que notre matériel qui a été récolté dans le versant oriental possède réellement  $2n = 22$ . Il semble donc que *P. galioides* est représenté au Pérou par deux races chromosomiques différentes suivant leur répartition géographique.

B - La méiose

La méiose chez *P. galioides* présente les mêmes particularités que celles observées sur d'autres représentants du genre (dix-sept espèces) par BLOT (1960). La méiose s'y déroulait en effet « avec une grande uniformité ». Nous renvoyons le lecteur au travail synoptique de cette auteur.

Chez l'espèce étudiée, il se forme à la diacinèse onze bivalents dont un s'accole régulièrement au nucléole unique (fig. 30). C'est le bivalent paranucléolaire.

La métaphase I n'offre pas souvent de figures où les onze bivalents sont nets. On y voit le plus souvent quelques bivalents dont les conjoints commencent déjà à se séparer (fig. 32). Par conséquent, la numération basée sur la métaphase I risquerait d'être erronée. Ainsi, le nombre chromosomique a dû être vérifié sur des plaques de métaphase II et de mitose somatique.

Malgré la régularité de la première partie de la division hétérotypique – du début de la prophase jusqu'à la fin de la métaphase –, la répartition des éléments chromatiques à l'anaphase ne se fait pas toujours normalement. Preuve en est l'existence fréquente d'un micronucleus à côté des deux noyaux-fils issus de la télophase I, et cela dans une proportion assez élevée, de l'ordre de 20% au moins. Ce qui entraîne la formation d'environ 5% de grains de pollen anormaux.

<sup>1</sup> La *Peperomia galioides* H. B. K. var. *aromatica* C. A. C. a été trouvée aussi dans la Cordillera blanca par Weberbauer (cf. O. Velarde, *Agronomia* 28, 1961).

Parfois le micronucleus provient d'une microspore mal formée à la télophase II comme l'indique la figure 33.

### C - Le sac embryonnaire

Chez *P. galioides*, nous avons retrouvé le caractère tétrasporique de la formation du sac embryonnaire qui a seize noyaux haploïdes à la fin. C'est le type de sac commun aux représentants du genre.

Depuis le stade à deux noyaux jusqu'à la forme adulte (seize noyaux), les divisions des noyaux du sac sont toujours synchrones.

La répartition des noyaux dans le sac adulte mérite une attention particulière chez l'espèce étudiée. Malgré l'existence des vacuoles qui rendent délicate l'identification des noyaux formant des groupes définis dans le sac embryonnaire, il est permis de croire que les seize noyaux se répartissent en trois groupes. L'un, composé de huit noyaux, occupe la partie chalazale; ces noyaux se trouvent d'abord disséminés à un même niveau du sac embryonnaire; après quoi, ils se rapprochent les uns des autres et forment le noyau central (fig. 31). Des huit noyaux qui restent, se détache le groupe micropylaire formé de quatre unités. Quant aux quatre autres, ils sont répartis entre le groupe micropylaire et celui qui forme le noyau central.

### D - Discussion

La cytologie des représentants du genre *Peperomia* étudiés jusqu'ici présente bien des caractères communs et des points divergents.

Parmi les points cytologiques identiques, on peut citer le fait qu'à l'anaphase de la division hétérotypique, certains éléments chromosomiques « prennent précocement le départ vers les pôles, de sorte que, si l'on ne prend pas garde à ce détail, on aboutit à une numération erronée ». Une autre caractéristique est constituée par le nombre « fort élevé » d'anomalies méiotiques qui existent « pour des raisons inconnues » et qui entraînent le même pourcentage de pollen anormal (BLOT, *op. cit.*, page 523).

Cependant, ce qui est particulièrement intéressant chez les *Peperomia* reste sans doute la structure variée du noyau et la répartition des noyaux du sac embryonnaire adulte suivant des modalités diverses.

#### 1° - Structure du noyau des *Peperomia*

À part son caractère réticulé, la structure du noyau des *Peperomia* varie suivant l'espèce.

Ainsi, sur les quelques dix-sept espèces étudiées, BLOT (*op. cit.*) signalait deux types de noyau interphasique: l'un, sans chromocentres - c'est le cas le plus fréquent -, l'autre, pourvu de quelques chromocentres. Le réseau peut être soit extrêmement ténu, donc peu chromatique, soit moyennement dense, soit extrêmement dense. D'autre part, le noyau quiescent est dépourvu de chromocentres (page 525).

De son côté, DELAY (1948, page 131) remarque chez *P. prostrata* « des plages plus chromatiques tendant parfois à former une calotte proximale ».

Il semble donc logique de considérer le noyau de *P. galioides* comme un quatrième type de structure. En effet, à part son réseau ténu qui le rapproche du noyau d'autres *Peperomia*, celui de l'espèce étudiée compte un assez grand nombre de chromocentres; ceux-ci semblent un peu plus nombreux que les chromosomes. Le noyau quiescent en a aussi, à cette différence près que leur nombre en est moindre que dans le noyau interphasique. Il ne se forme jamais de calotte.

#### 2° - La répartition des noyaux dans le sac embryonnaire adulte

La répartition des noyaux dans le sac embryonnaire adulte présente chez les *Peperomia* plusieurs modalités.

Ainsi, chez *P. pellucida*, FAGERLIND (1939) cité par MAHESHWARI (1950) remarquait deux modes de répartition suivant la forme du sac embryonnaire. S'il est sphérique, il a huit groupes de deux noyaux chacun. Dans le cas où il est pyriforme, les seize noyaux sont répartis en un groupe micropylaire de quatre éléments et six autres groupes composés de deux noyaux chacun.

*P. hispidula* présente un deuxième type de sac adulte. Ses noyaux forment deux groupes différents : l'un, le groupe micropylaire, composé de quatre noyaux, l'autre, le groupe chalazal, de douze (JOHNSON, 1914).

Le sac adulte de *P. galioides*, par ses différences avec les deux cas précédents, pourrait être considéré comme un autre type de sac embryonnaire du genre *Peperomia*.

## *Urtica Macbridei* Killip

Dans le matériel rapporté du Pérou par le professeur CH. TERRIER, cette espèce est représentée par un seul échantillon (n° 7 10 16) constitué par quelques branches portant uniquement des fleurs femelles. Des graines prélevées sur ce matériel et mises en germination ont donné quelques plantules cultivées ensuite en serre tempérée. Développement normal dans ces conditions. La floraison, qui eut lieu après deux ans, n'a produit que des fleurs femelles.

La détermination de l'échantillon n° 7 10 16 d'après la « Flora of Perou » de MACBRIDE conduit à *Urtica Macbridei* Killip avec cette différence que cette dernière est monoïque alors que l'espèce péruvienne étudiée dans ce chapitre semble dioïque.

La confrontation de l'échantillon n° 7 10 16 avec des fragments ainsi qu'avec une photographie de l'échantillon original (n° 4271) de J. F. MACBRIDE présents au Conservatoire botanique de Genève révèle une ressemblance frappante quant aux détails des feuilles (forme, nervation, pubescence...) et de la tige. Il est donc pensable que la seule divergence, à savoir la monœcie-dioécie, n'empêche pas de considérer l'échantillon n° 7 10 16 comme *Urtica Macbridei* Killip<sup>1</sup>; ou il s'agirait d'une espèce très voisine qui serait dioïque. Il serait utile de signaler que l'échantillon de J. F. MACBRIDE a été récolté à 2400 m (KILLIP, 1925), tandis que celui de Monsieur TERRIER croissait à 3400 m.

### A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° C'est un noyau semi-réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont nombreux et difficiles à compter exactement, car ils offrent une gamme de grandeurs progressives allant jusqu'aux simples « grains » chromatiques qui marquent les « nœuds » du réseau. Parmi eux, une dizaine se font remarquer par leurs dimensions plus développées.

Deux chromocentres paranucléolaires s'observent nettement par le fait qu'ils sont les chromocentres les plus volumineux. Ils peuvent rester éloignés l'un de l'autre, chacun appuyé sur un petit nucléole. Dans ce cas, le noyau a deux nucléoles. Le plus souvent, ils se trouvent accolés au nucléole unique dans deux positions diamétralement opposées. Quelquefois, le nucléole unique n'est flanqué que d'un seul chromocentre paranucléolaire mais aux dimensions plus développées. Cela indique que ce dernier résulte d'une fusion préalable des chromocentres paranucléolaires.

2° Les chromosomes sont au nombre de vingt-six ( $2n = 26$ ). Ils ont l'air ramassé; aucun ne dépasse  $1,6 \mu$  (fig. 34). Cependant, ils sont développés dans le sens de la largeur. Cette compensation expliquerait l'existence d'un réseau assez dense dans un noyau aux chromosomes aussi courts. Ainsi, il faudrait ajouter à l'importance de la longueur des chromosomes – condition de la présence et de la densité d'un réseau nucléaire d'après DELAY (1948, page 195) – un autre facteur, à savoir leur largeur. Cela revient en somme à attribuer au volume maximum que les chromosomes d'un noyau peuvent avoir, le rôle principal dans le déterminisme de l'existence et de la densité de son réseau.

### B - Formation des noyaux polyploïdes dans les poils stigmatiques

L'ovaire de l'espèce étudiée est surmontée d'une touffe de poils qui font office de stigmates. Ce sont des poils unisériés et progressivement renflés à la base. La cellule basale est plus développée que celles qui la surmontent; il en est de même de son noyau (fig. 35). Parfois cependant, une cellule médiane est devenue plus développée que les autres; son noyau suit le même rythme de croissance.

<sup>1</sup> Le même problème se rencontre chez *Mercurialis annua* L. ssp. *Huetii* (Harry) Müll. (NOZERAN, 1955, page 107) et chez *Ecballium elaterium* (GALÁN, 1950).

La comparaison du volume de ces noyaux si développés avec celui des noyaux somatiques (diploïdes) en suivant les principes de mesure que nous avons mis au point successivement dans le chapitre 11 (: Discussion, 2) et le chapitre 16 (:IV, F, 3) montre que ce sont des noyaux hypertrophiés et par conséquent polyploïdes. Le degré de polyploïdie estimé y est fréquemment  $8n$  et même plus. D'ailleurs, des plaques de métaphase ou des fins de prophase comme celle indiquée par la figure 38 où le nombre total des chromosomes est voisin de 104 en fournissent autant de preuves. Ces chromosomes sont groupés deux par deux et nous paraissent devoir être interprétés comme des diplochromosomes. Sur la dite figure, on trouve donc 52 diplochromosomes.

Il paraît certain que trois mécanismes différents confèrent à ces noyaux leur polyploïdie. D'abord, c'est l'« endomitose à diplochromosomes », ensuite la formation de membranes séparatrices défectueuses et enfin, probablement une forme d'« endomitose Geitlerienne ».

### 1° - Polyploïdie tirant origine de l'« endomitose à diplochromosomes »

a) Au moment où ces poils n'ont encore qu'une cellule, leur noyau en métaphase présente fréquemment des cas où l'on voit 26 diplochromosomes à partenaires disposés parallèlement (fig. 37). Ces figures de chromosomes groupés en paires de skis sont le signe du phénomène d'endomitose remarqué dans le tapis (WITKUS, 1945) et dans la racine (DE LITARDIÈRE, 1923) de *Spinacia*. Une autre caractéristique de ces chromosomes est qu'ils sont souvent courts même en prophase, stade reconnaissable à la chromaticité encore faible des chromosomes. Car dans les noyaux où ces derniers ne présentent pas de fissuration d'aspect endomitotique, ces éléments figurés sont trois ou quatre fois plus longs au même stade.

Ensuite, nous avons trouvé des poils encore au stade unicellulaire, mais dont les noyaux en fin de prophase présentaient 52 paires de chromosomes (fig. 38). A la fin de cette endomitose, le noyau aura  $8n$ . On comprend donc que si désormais le phénomène d'endomitose ne se répète plus dans le poil qui va prendre naissance de cette cellule  $8n$ , celles qui le composent par la suite auront au moins ce degré de polyploïdie, sous réserve des divisions défectueuses qui peuvent encore élever localement le degré de polyploïdie dans certains noyaux (voir ci-dessous, partie 2) de ces poils.

b) Cependant, il existe des poils déjà au stade pluricellulaire dont un noyau en métaphase offre seulement 26 chromosomes. Cela suggère que l'endomitose n'a pas affecté leur cellule initiale comme dans le cas mentionné ci-dessus.

Ainsi s'explique la différence de taille entre les poils stigmatiques. Car celle-ci dépend étroitement du degré de polyploïdie que peuvent avoir les noyaux d'un poil et par conséquent du phénomène d'endomitose qui peut s'y produire ou faire défaut.

Or, parmi les poils formant la touffe stigmatique, ce sont généralement ceux qui occupent le centre qui sont les plus développés, non seulement par le nombre de leurs cellules mais aussi par les dimensions de ces dernières. Les poils du centre de la touffe semblent donc être particulièrement sujets à cette forme d'endopolyploïdisation.

c) Ce phénomène peut d'autre part s'observer sur une seule cellule au stade où le poil en compte déjà plusieurs. La position de la cellule en question dans l'ensemble du poil semble ne jouer aucun rôle dans le déterminisme de cette endomitose « locale ».

### 2° - Origine de certains noyaux aux dimensions fortement accrues des poils stigmatiques

Sur ces poils, c'est la cellule basale qui est généralement la plus développée; il en est de même de son noyau. Quelquefois, c'est une cellule médiane qui présente le noyau le plus grand.

a) Pour des raisons inconnues, les cloisons qui suivent les mitoses peuvent être défectueuses dans certaines parties du poil, surtout à la base. Elles peuvent faire défaut ou être incomplètes, ce qui donne des cellules binuclées et des cellules sans noyau. Cependant, l'observation de celles-ci est rendue difficile par le fait que la membrane extérieure des poils peut présenter des plis à la suite de la fixation ou de l'écrasement, de sorte qu'on ne peut pas toujours savoir réellement s'il y a entre deux cellules ou parties de cellules une membrane transversale ou pas.

Par contre, il y a des cas où les cloisons sont parfaites mais où les deux noyaux-fils forment un noyau de restitution à leur entrée en repos (fig. 36). A la suite de plusieurs mitoses successives de ce type, des noyaux hautement polyploïdes finissent par se former.

b) Cependant, dans la majorité des cas, on observe dans la cellule basale un noyau de forme parfaite, c'est-à-dire ne donnant pas l'impression d'un noyau de restitution. Les chromocentres y présentent les mêmes dimensions que ceux de n'importe quel autre noyau somatique. Néanmoins, leur nombre augmente. En dehors des troubles de la cytodierèse mentionnés ci-dessus, il y a lieu de croire donc à l'existence, dans ces noyaux hypertrophiés, d'une des formes d'« endomitose Geitlerienne » se rapportant au second groupe défini par Geitler lui-même (cf. chapitre 25: II, A, 1).

## CHAPITRE 6

---

### *Caryophyllaceae*

#### *Cerastium viscosum* L.

(= *C. glomeratum* Thuill.)

#### **I - Structure du noyau - Nombre chromosomique et méiose**

1° C'est un noyau semi-réticulé à chromocentres. Parmi ces derniers, cinq ou six sont plus grands et se trouvent au voisinage du nucléole auquel deux d'entre eux sont toujours accolés. Souvent ces chromocentres forment une plage collective qui adhère au nucléole.

2° La méiose est normale. A la métaphase I, les cellules-mères de grains de pollen offrent des plaques équatoriales formées seulement de bivalents. A la métaphase II, nous avons trouvé trente-six chromosomes. Le nombre haploïde de l'espèce est donc  $n = 36$ .

#### **II - Croissance du noyau des cellules apicales des poils glanduleux du calice et du pédicelle**

Les poils glanduleux du calice et du pédicelle de l'espèce étudiée sont des poils unisériés composés d'environ huit cellules. Seule, la cellule apicale assure la fonction sécrétrice, à en juger par la forte chromaticité de son cytoplasme et de sa caryolymphe.

Pendant la croissance du poil, le cytoplasme des cellules qui le constituent s'accroît aussi. Cependant, seul le noyau de la cellule apicale se développe dans la même proportion tandis que ceux des cellules sous-jacentes augmentent peu de volume; ce qui cause une grande différence dans le rapport nucléo-plasmique  $\frac{N}{P}$  du noyau apical et de celui des autres cellules. En même temps, les éléments hétérochromatiques de ce noyau augmentent de volume (fig. 39, à comparer les deux noyaux). Cet accroissement est des plus nets sur les deux chromocentres paranucléolaires par le fait qu'ils sont les seuls chromocentres compacts du noyau. D'autre part, en dépit de l'augmentation de volume du noyau apical, son réseau a au moins la même densité que sur les noyaux des cellules sous-jacentes. Tout cela suggère que l'accroissement de volume nucléaire dans la cellule apicale n'est pas une conséquence d'un phénomène d'absorption d'eau - ce qui peut donner le même résultat - mais bien l'effet d'un phénomène de multiplication de la matière chromatinienne (voir Discussion).

Malgré sa croissance, le noyau de la cellule apicale garde généralement une forme plus ou moins sphérique. Cela favorise le calcul du rapport entre les volumes qu'il a avant et après cet accroissement (pour le principe de cette mesure, voir chapitre 11: Discussion, 2). Ce rapport est d'environ 1/14. La chromatine du noyau de la cellule apicale a donc augmenté d'au moins quatorze fois.

Une des caractéristiques de ce noyau est que son nucléole est plus développé que celui des noyaux sous-jacents (toutes proportions gardées). Cet accroissement du volume nucléolaire paraît indiquer une activité intense du noyau de la cellule apicale.

Cependant, le trait le plus remarquable de ce noyau géant est le fait qu'il peut changer de structure, à en juger par les types de structure (au moins trois) qu'il laisse voir. L'un (fig. 39) offre des centres chromatiques diffus mais chromophiles et par conséquent nets, et régulièrement répartis dans la nucléolymphe. Ces « chromocentres » sont formés de petits « grains » qui se rassemblent. Ainsi, le nombre des « grains » d'un « chromocentre » augmente en même temps que celui-ci s'accroît. Dans un second type de structure (fig. 41), ces « chromocentres » affectent des formes allongées et sont

quatre ou cinq fois plus longs que larges. Enfin, on peut trouver également des noyaux (troisième type de structure) où ces « chromocentres » ne s'observent plus, à l'exception des deux seuls chromocentres paranucléolaires toujours compacts (fig. 40). Dans tous ces types de structure, la nucléolymphe présente une chromaticité toujours très forte.

## *Cerastium mollissimum* Poir.

### I - Structure du noyau - Nombre chromosomique et méiose

1° C'est un noyau réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont au nombre d'une quinzaine. Ils ne sont pas compacts, à l'exception des chromocentres paranucléolaires; ils peuvent former des chromocentres collectifs.

2° La méiose est normale. A la métaphase I, les cellules-mères de grains de pollen ne présentent que des bivalents. A la division II, nous avons trouvé des CMP dont les plaques métaphasiques avaient chacune dix-sept chromosomes. Les nombres diploïde et haploïde de l'espèce étudiée sont donc respectivement  $2n = 34$  et  $n = 17$ .

### II - Croissance du noyau de la cellule apicale des poils glanduleux du calice et du pédicelle

Ces poils ont la même constitution que dans le cas de *C. viscosum* avec quelques différences.

#### A - L'accroissement du noyau de la cellule apicale

Cet accroissement est plus poussé chez *C. mollissimum*. La forme toujours presque sphérique de ce noyau a facilité l'appréciation de sa capacité d'accroissement (même principe de mesure que pour le cas de *C. viscosum*). Nous avons dessiné à la chambre claire des noyaux qui marquent tous les stades de cette hypertrophie et nous avons mesuré leur plus grand diamètre. Pour le stade précédant ce phénomène, nous avons choisi des cellules apicales dont la chromaticité du noyau est encore faible, car l'hypertrophie lui confèrera une nette augmentation de la chromaticité. Voici les mesures (exprimées en unités de mesure à la chambre claire) qui correspondent aux divers stades de cette croissance:

Stade	Grand diamètre (= D)	$D^3$	Degré de polyplôidie présumé	Remarques
1	5,2	141	$2n$	avant l'hypertrophie
2	6,7	301	$4n$	
3	8,7	659	$8n$	
4	11	1331	$16n$	
5	14	2744	$32n$	
6	(?)	(?)	$64n$	non trouvé
7	21	9261	$128n$	croissance max.

#### B - Accroissement progressif du volume des chromocentres du noyau apical

En rapport avec les divers stades mentionnés ci-dessus, les chromocentres du noyau apical augmentent progressivement de volume, aboutissant à la formation de chromocentres très développés et fortement chromatiques (fig. 44) ressemblant fort aux chromocentres géants des noyaux endomitotiques.

1° Tout d'abord, le réseau se présente sous la forme de plages chromatiques diffuses qui ont valeur de chromocentres collectifs. Quatre chromocentres paranucléolaires relient le reticulum au nucléole excessivement développé (fig. 42); l'un d'eux peut se dédoubler.

2° A mesure que le volume du noyau augmente, des centres chromatiques s'individualisent et, en contre-partie, les plages chromatiques se disloquent; en même temps, la chromophilie des éléments chromatiques augmente.

Nous avons observé à ce stade au moins quatre types de structure nucléaire différents:

a) D'abord, on observe des noyaux où les « chromocentres » aux dimensions gigantesques présentent une consistance assez solide (fig. 43). Cela signifie qu'ils donnent l'impression d'être formés par un assemblage de petits « grains » serrés les uns contre les autres mais dont l'individualité reste visible, ce qui contraste de façon frappante avec les chromocentres paranucléolaires dont la nature compacte apparaît dans toute sa netteté par le fait qu'ils ont augmenté de dimensions. Dans ce type de structure nucléaire, les « chromocentres » sont presque aussi longs que larges. Chacun d'eux est enveloppé dans une sorte de poussière mince formée de « grains » chromatiques très fins. Ce stade de raccourcissement extrême des « chromocentres » favorise leur numération. Leur nombre semble constant car il est toujours approximativement de trente-quatre.

b) Il y a aussi des noyaux (fig. 44) semblables à ceux rencontrés dans le premier type de structure, à part quelques différences. Les « chromocentres » géants y présentent en effet une consistance moins compacte. Ils affectent d'ailleurs des formes allongées (deux ou trois fois plus longs que larges) et sont prolongés de part et d'autre par des « queues » formées de grains chromatiques très fins.

c) Dans le troisième type de structure, on croit observer des portions de « chromosomes géants », neuf ou dix fois plus longues que larges. Elles sont très chromatiques, bien individualisées et uniformément épaisses sur toute leur longueur malgré les contours sinueux qu'elles décrivent dans la caryolymphe et en dépit des enchevêtrements qu'elles forment entre elles. Le segment chromatique à gauche de la figure 46 porte d'ailleurs un satellite très net, bien défini et de consistance compacte. Ces portions de « chromosomes géants », par leur aspect alvéolaire, donnent l'impression d'être formées par un tressage de filaments chromatiques entortillés les uns autour des autres. En outre, elles sont prolongées aux deux extrémités par deux traînées de grains chromatiques qui s'ouvrent à mesure qu'on s'éloigne des extrémités des dites portions de « chromosomes géants ».

d) Enfin, il y a des noyaux où ces portions de « chromosomes géants » perdent progressivement leur individualité. A gauche de la figure 45, une de ces portions de « chromosomes géants » reste encore très nette. La plupart d'entre elles s'associent en des plages chromatiques stelliformes. Ce mode d'association d'éléments chromatiques visibles est très proche des plages chromatiques formées fréquemment dans le noyau somatique quiescent normal de l'espèce. En même temps, la chromaticité des plages chromatiques du noyau endomitotique diminue. Cependant, jamais elle n'est moindre que celle des plages chromatiques formées dans le noyau normal.

## *Drymaria pauciflora* Bartl.

### I - Structure du noyau

C'est un noyau semi-réticulé à chromocentres. Deux de ces derniers sont plus grands et se trouvent toujours accolés au nucléole. Ce sont les chromocentres paranucléolaires.

### II - La méiose

La méiose est normale. A la métaphase I, il se forme dix-huit bivalents. A la division II, nous avons trouvé sur les CMP des cas où les deux plaques métaphasiques avaient chacune dix-huit chromosomes. L'espèce a donc pour nombre haploïde  $n = 18$  et pour nombre diploïde  $2n = 36$ .

## *Drymaria grandiflora* Bartl.

### I - Structure du noyau - Méiose et nombre chromosomique

1° C'est un noyau semi-réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont généralement petits. Une grande partie d'entre eux peuvent se rassembler en cinq ou six plages chromatiques reliées ensemble par des anastomoses; l'ensemble offre l'aspect d'un reticulum partagé par des trabécules chromatiques qui

traversent le noyau d'un bout à l'autre. Parfois, on n'observe qu'une seule plage chromatique. Ces chromocentres collectifs ont un aspect échancré et une structure lâche.

Des chromocentres se trouvent toujours accolés au nucléole: ce sont les chromocentres paranucléolaires. Ils sont au nombre d'au moins quatre. Cependant, dans les microspores (noyaux haploïdes), nous avons trouvé souvent quatre nucléoles situés à la périphérie du noyau et retenus au reticulum chacun par un point chromatique, ce qui permet de croire que le noyau diploïde aurait huit chromocentres paranucléolaires.

2° La méiose est normale. Les plaques de métaphase hétérotypique de microsporocytes ne présentent que des bivalents. Plusieurs plaques de métaphase II indiquent  $n = 36$  comme nombre haploïde de l'espèce. Ces chromosomes sont plus petits qu'au stade correspondant sur *D. pauciflora* dont le nombre haploïde est  $n = 18$ .

## II - Le sac embryonnaire

Nous avons observé deux cas où le stade de synizesis apparaissait presque au même moment sur deux CME d'un même ovule (fig. 48). Bien avant, ces deux cellules peuvent être remarquées sur des ovules jeunes à leur caractéristique d'avoir un volume nettement plus développé que celui des cellules du nucelle qui les entourent; leur noyau est aussi plus grand et par conséquent la densité du réseau est moindre. Jamais nous n'en avons observé plus de deux. L'archesporium femelle de *D. grandiflora* serait bicellulaire.

Le plus souvent, une seule CME se développe et subit la méiose.

La formation du sac embryonnaire est du type normal. Les antipodes subissent cependant des transformations ultérieures. De trois au début, leur nombre peut être amené à cinq par des mitoses ordinaires. Les antipodes définitives peuvent être uni- ou binucléées. Leurs noyaux deviennent ensuite très chromatiques. Cette chromatocité persiste jusqu'à leur dégénérescence.

## III - Un cas favorable à l'étude de l'adhérence véritable du nucléole aux chromocentres paranucléolaires

Comme il a été mentionné ci-dessus, il est probable que le noyau diploïde de l'espèce étudiée possède huit chromocentres paranucléolaires. Cependant, il est difficile de les observer tous sur un même nucléole, car souvent ils se concentrent en deux, parfois trois ou quatre gros chromocentres accolés au nucléole.

L'adhérence du nucléole aux chromocentres paranucléolaires est des plus nettes au stade du synizesis. En effet, à ce stade de « contraction », les coupes montrent toujours un nucléole exclus du peloton chromatinien auquel il n'est retenu que par quelques filaments qui s'appuient sur lui au niveau des seuls chromocentres paranucléolaires (fig. 48).

Les squashes permettent d'autre part d'apprécier l'intensité de cette force d'adhésion. En effet, la pression exercée sur le noyau par l'écrasement en a fait sortir le nucléole. Celui-ci reste pourtant attaché au peloton chromatinien, soit en emportant avec lui une partie de la matière nucléaire (fig. 47), soit par un étirement de la matière nucléolaire qui forme ainsi un pont (fig. 49) moins chromatique que le reste du nucléole. Dans les deux cas, la liaison entre le noyau et le nucléole se fait toujours au niveau des chromocentres paranucléolaires.

## *Arenaria lanuginosa*

(Michx.) Rohrb.

### I - Structure du noyau et méiose

L'espèce a un noyau semi-réticulé à chromocentres.

La méiose est normale. A la diacynèse, les quarante-quatre chromosomes se groupent en vingt-deux paires et deviennent vingt-deux bivalents à la métaphase I. L'espèce a donc pour nombre diploïde  $2n = 44$  et pour nombre haploïde  $n = 22$ . Celui-ci a d'ailleurs été vérifié sur des plaques de métaphase II.

## II - L'adhérence mutuelle entre les éléments hétérochromatiques à la prophase hétérotypique

Au stade pachytène, la majorité des éléments hétérochromatiques se rassemblent en deux ou trois groupes collectifs (parfois un) sans arriver pourtant à une fusion complète entre les différents éléments constitutifs de groupes (fig. 50).

Cette affinité survenue soudainement au stade pachytène entre des éléments hétérochromatiques différents du noyau de la cellule-mère - il s'agit ici des CMP - est très caractéristique chez *A. lanuginosa*. Elle a été observée aussi chez *Oxalis spiralis* et *O. ptychoclada* (chapitre 12). Cependant, chez l'espèce étudiée, jamais tous les éléments hétérochromatiques ne se rassemblent en un groupe unique comme dans le cas des *Oxalis*, sans doute à cause du nombre élevé des chromocentres.

### *Arenaria parvifolia* Benth.

Cette espèce possède aussi un noyau semi-réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont au nombre d'une vingtaine.

Les chromosomes sont petits. Ils mesurent entre 1  $\mu$  et 2,4  $\mu$ . Cela expliquerait la structure peu réticulée du noyau (voir DELAY, 1948, page 195). Ils sont au nombre de quarante-quatre dont deux chromosomes satellitaires (fig. 51). Le nombre diploïde est donc  $2n = 44$ .

Le même nombre a été relevé par BEAMAN et coll. (1962) sur du matériel mexicain.

### Discussion

#### I - Nombres chromosomiques trouvés et cytotaxinomie des Caryophyllacées étudiées

A notre connaissance, peu de Caryophyllacées d'Amérique du Sud ont été étudiées au point de vue cytologique.

##### A - Le nombre $n = 17$ de *C. mollissimum*

Dans ses « recherches cytotaxinomiques sur le genre *Cerastium* », SÖLLNER (1954) considère que les *Cerastium* à  $n = 17$  et à  $n = 19$  tireraient simultanément leur origine de la non-disjonction d'un des dix-huit bivalents suivie de son émigration à un pôle. Cet événement, d'après le même auteur, serait survenu à une période très reculée, étant donné que la branche à  $n = 19$  s'est bien diversifiée et que *C. comatum* ( $n = 17$ ) « avec aire disjointe (Méditerranée orientale - Corse) n'est pas une espèce récente » (page 336). La diversification de plusieurs *Cerastium* à  $n = 17$  en Amérique - à savoir *C. mollissimum* étudié dans ce travail et six autres espèces signalées par BEAMAN et coll. (1962) au Mexique et au Guatemala - parlerait aussi en faveur d'une origine ancienne de ce phénomène de spéciation.

D'autre part, il semble que la branche à  $n = 17$  s'est mieux diversifiée dans le Nouveau Monde que dans l'Ancien, à en juger par les nombres chromosomiques connus: sept espèces (voir ci-dessus) contre deux (SÖLLNER, *op. cit.*).

Si l'hypothèse de SÖLLNER, à savoir que  $n = 17$  dérive de  $n = 18$ , s'avère juste, ce phénomène pourrait s'être produit indépendamment à divers endroits et sans doute à des époques différentes. Mais le mécanisme imaginé par cet auteur est sans doute trop simple. Car il est également probable que le passage de  $n = 18$  à  $n = 17$  ait eu lieu à la suite d'interchanges segmentaires suivis de fusions. On pourrait aussi imaginer chez les *Cerastium* primitifs les nombres de base  $x = 8$  et  $x = 9$ . Par amphidiploïdie, ces espèces primitives qui paraissent avoir disparu auraient pu donner aussi bien  $n = 17$  que  $n = 18$ . Faisons remarquer à ce propos que les nombres de base 8, 9 existent chez *Minuartia* (FAVARGER, non publié).

## B - Le degré de polyploïdie de *C. viscosum*, *D. pauciflora* et de *D. grandiflora*

Le premier, avec  $n = 36$ , est un octoploïde. Il est intéressant de noter que cette espèce cosmopolite présente partout le même nombre chromosomique: Algérie, Suisse, Hongrie (SÖLLNER, *op. cit.*), Islande (LÖVE et LÖVE, 1956) et Amérique du Sud. Quant à *D. pauciflora* ( $2n = 36$ ) et *D. grandiflora* ( $2n = 72$ ), ils peuvent être regardés le premier comme un tétraploïde, le second comme un octoploïde. Nos recherches apportent le premier comptage chromosomique dans le genre *DRYMARIA*, car le nombre publié pour *D. cordifolia* (voir DARLINGTON et WYLIE, 1955) l'a été par suite d'une erreur. Il s'agissait de *C. chloraefolium* (ROHWEDER, 1939).

## C - Le degré de polyploïdie de *Arenaria lanuginosa* et de *A. parvifolia*

Ces espèces, avec leurs quarante-quatre chromosomes, sont des tétraploïdes à  $x = 11$ .

Les recherches de FAVARGER (1962) ont montré que le genre *Arenaria* possédait plusieurs nombres de base parmi lesquels  $x = 11$  est particulièrement fréquent. Les deux espèces que nous avons étudiées, à savoir *A. lanuginosa* et *A. parvifolia*, appartiennent toutes les deux au sous-genre *Leiosperma* McNeill, section *Leiospermae* Williams (MCNEILL, 1962). Cette section paraît caractérisée par le nombre de base  $x = 11$ . Un autre comptage a été fait par les mêmes auteurs américains cités ci-dessus chez *A. bryoides*, du sous-genre *Dicranilla* (Fenzl) Williams. Il est malheureusement peu précis (ca. 54).

Chose intéressante, aucun *Arenaria* diploïde ( $2n = 22$ ) n'a encore été rencontré dans les Andes; il est vrai qu'assez peu d'espèces ont été étudiées. Le fait que le genre *Arenaria* n'est représenté dans les Andes que par un nombre de base unique et que toutes les espèces étudiées jusqu'ici sont polyploïdes donne à penser que les Andes représentent un centre secondaire de spéciation du genre *Arenaria*.

## II - Mécanisme de l'accroissement en volume du noyau apical des poils glanduleux de *C. viscosum* et de *C. mollissimum*

A- Plusieurs indices permettent d'attribuer cet accroissement à un phénomène d'« endomitose Geitlerienne » (voir chapitre 25: II, A).

D'abord, la multiplication progressive de la chromatine dans le noyau apical de ces poils ne fait pas de doute. Elle est nette surtout chez la seconde espèce où les dimensions des « chromocentres » fortement chromatiques augmentent de façon spectaculaire. Chez la première, elle se manifeste clairement sur les chromocentres paranucléolaires dont la taille s'accroît au fur et à mesure que le volume du noyau augmente.

D'autre part, au cours de l'accroissement en volume du noyau apical, ce dernier offre une gamme de grandeurs progressives (voir tableau de mesures sous *C. mollissimum*). Cela fait penser à un accroissement rythmique du volume nucléaire, une des caractéristiques du phénomène d'« endomitose Geitlerienne ». La comparaison entre un noyau qui a atteint son maximum de croissance et un autre qui ne manifeste encore aucun signe d'hypertrophie – ces noyaux ayant en apparence une même densité réticulaire – permet de croire que ce phénomène peut conférer à ces noyaux apicaux un degré de polyploïdie de  $128n$  dans le cas de *C. mollissimum* et de  $32n$  pour celui de *C. viscosum*. Il va sans dire que la matière nucléolaire du noyau s'accroît en même temps.

Au cours de l'accroissement en volume du noyau apical des poils glanduleux de ces espèces, on observe le retour périodique de plusieurs types de structure nucléaire définis, dont le « stade de poudroissement » (« Zerstäubungsstadium »).

B- Ce stade, signalé çà et là par divers auteurs sur le noyau en cours d'endomitose, est hors de doute dans le cas de *C. viscosum*, à en juger par la disparition soudaine et périodique des endochromocentres, à part les deux chromocentres paranucléolaires qui restent toujours fortement compacts. Cette exception paraît indiquer que ces chromocentres particuliers sont des satellites. Car ces derniers, en dehors de leur nature fortement chromatique (TISCHLER, 1951, page 176), ne subissent pas le « poudroissement » endomitotique (voir chapitre 25: II, B, 1, c).

Par contre, dans le cas de *C. mollissimum*, nous n'avons pas la preuve certaine d'une disparition même partielle de l'hétérochromatine (endochromocentres) suivie d'une répartition uniforme de cette matière dans la caryolymphe au cours de l'endomitose, malgré un matériel très abondant et très varié.

C- Il est difficile d'agencer chronologiquement les différents types de structure nucléaire observés dans le noyau apical des poils glanduleux de ces espèces au cours du phénomène d'endomitose. Cependant, leur retour périodique est certain.

#### D - Le nombre de «chromocentres» dans les noyaux endopolyploïdes et le nombre diploïde

1° Chez *C. mollissimum*, le noyau  $2n$  ne compte pas plus d'une quinzaine de chromocentres de consistance lâche, à l'exception des quatre chromocentres paranucléolaires. Par contre, dans les noyaux endopolyploïdes des poils glanduleux, ce nombre atteint de façon constante environ trente-quatre et il y a un stade où ces « chromocentres » présentent une structure particulièrement compacte. Tous ces faits observés dans le noyau endopolyploïde font penser au nombre diploïde ( $2n = 34$ ) de l'espèce. Cette coïncidence semble indiquer que chaque « chromocentre » représente un chromosome dont il constituerait alors le centre de spiralisation endomitotique. Des remarques analogues ont été faites dans les noyaux d'antipodes endomitotiques de *Papaver Rhoeas* (HASITSCHKA, 1956) et des *Aconitum* (TSCHERMAK-WOESS, 1956).

2° Dans le cas de *C. viscosum*, il est pensable que chaque « chromocentre » du noyau endomitotique représente aussi un chromosome. Cependant, le nombre de « chromocentres » observés ici est bien inférieur au nombre diploïde ( $2n = 72$ ) de l'espèce. La plupart du temps, il est voisin de trente. On pourrait donc penser que chez cette espèce la spiralisation endomitotique n'est pas aussi poussée que chez *C. mollissimum*, de sorte qu'elle passe inaperçue sur certains chromosomes.

E. L'existence de « chromocentres » géants et fortement chromatiques remarquée seulement dans le cas de *C. mollissimum* semble liée à la présence de la structure réticulée de son noyau, à l'encontre de la structure semi-réticulée de celui de *C. viscosum*.

F. Ici se pose le problème de la nature de la chromatine des parties hétérochromatiques qui restent toujours compactes au cours des cycles d'endomitose, à savoir les chromocentres paranucléolaires. Dans les deux cas, ces éléments hétérochromatiques, par leur aspect toujours compact, contrastent décidément avec les autres qui peuvent être très développés, comme dans le cas de *C. mollissimum*, mais gardent néanmoins une constitution lâche. On pourrait donc attribuer aux chromocentres paranucléolaires une structure semblable à l'hétérochromatine  $\alpha$  et aux autres chromocentres, celle analogue à l'hétérochromatine  $\beta$  (voir HEITZ, 1934). On peut rapprocher ici les remarques de GEITLER (1938) à propos des satellites de *Sauromatum*. Par conséquent, ce n'est pas illogique de penser que les chromocentres paranucléolaires des deux *Cerastium* étudiés sont des satellites quoiqu'il soit impossible de le prouver.

### III - Composition complexe du nucléole

La figure 49 où le nucléole synzésytique chassé du peloton chromatinién par le squash y reste pourtant attaché par un pont formé d'une matière nucléolaire moins chromatique que le reste du nucléole semble indiquer que ce dernier se compose de deux parties: une partie centrale, de nature compacte, à en juger par la forte chromatocité et le manque de plasticité qu'elle affiche et une partie périphérique, mince, de nature moins dense mais plus fluide. Cela rappelle la «nucleonema» et la « pars amorpha » du nucléole animal (voir chapitre 23: 2<sup>e</sup> part.).

## CHAPITRE 7

---

### *Ranunculaceae*

### *Anemone helleborifolia* DC

#### A - Structure du noyau - Les chromosomes - La méiose

##### 1° - Structure du noyau

C'est un noyau euréticulé avec une quinzaine de chromocentres granuleux<sup>1</sup>. Ses traits les plus frappants sont d'abord la structure filamenteuse observée souvent sur les noyaux somatiques et ensuite la multiplicité des nucléoles due à l'apparente difficulté qu'ils ont à fusionner.

Ce dernier caractère mérite une attention spéciale. Dans les tissus somatiques, le nombre des nucléoles, variable d'une cellule à l'autre, peut atteindre six. Il peut être de deux, et dans quelques cas relevés dans les noyaux des poils tecteurs aux dimensions plus élevées, on n'observe qu'un seul nucléole central.

Dans les grains de pollen, le noyau reproducteur en possède trois tandis qu'à côté, le noyau végétatif n'en a qu'un seul (fig. 55). Les différents noyaux de la lignée femelle, depuis l'archéspore jusqu'aux noyaux du sac embryonnaire (fig. 61) en passant par le stade de la macrospore et celui du sac à deux noyaux, ont toujours un seul nucléole à l'exception de ceux des antipodes.

Cette variabilité du nombre des nucléoles est sans doute liée à un mécanisme bien précis (voir Discussion: 1).

##### 2° - Les chromosomes

Le noyau a quarante-huit chromosomes mesurant de 5  $\mu$  à 10  $\mu$ . L'espèce est donc un hexaploïde du groupe dont le nombre de base est  $x = 8$  à côté de l'autre possédant  $x = 7$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

Quatre d'entre eux paraissent porteurs de satellites. Car à la prophase dans l'oosphère non fécondée (noyau haploïde), nous avons trouvé deux chromosomes satellitifères (fig. 65).

Dès la fin de la prophase somatique, les chromosomes présentent une fissuration très nette. Cela indique l'existence de chromosomes longs, ce qui explique la forte densité du réseau chromatique du noyau.

##### 3° - La méiose

A la fin du stade leptotène, il n'y a qu'un seul nucléole refoulé à la périphérie du peloton chromatinien. Il disparaît au stade pachytène.

En général, la méiose est normale. A la diacinèse, il se forme vingt-quatre bivalents normaux. Donc,  $n = 24$ .

Nous avons observé une anthère où toutes les cellules-mères présentaient une anomalie méiotique bizarre caractérisée d'une part par le blocage du stade diplotène et, par conséquent, de la diacinèse et d'autre part par le manque de simultanéité dans le déroulement de la méiose dans les différentes parties d'un même noyau. En effet, la figure 52 montre un noyau au peloton chromatique formé de deux parties distinctes: à gauche, ce sont des chromosomes déjà fortement chromatiques et bien individualisés - caractéristique des chromosomes métaphasiques - qui, par leur disposition les uns à la

---

<sup>1</sup> Cf. DELAY (1948, page 137): « *Anemone pulsatilla* L. ( $2n = 32$ ), *A. pulsatilla* Halleri Willd ( $2n = 32$ ), *A. hepatica* L. ( $2n = 14$ ), *A. virginiana* L. ( $2n = 16$ ): noyaux euréticulés; quelques chromocentres granuleux. »

suite des autres, donnent l'impression des fragments d'une spire continue; à droite, on voit encore quelques spires au stade leptotène enserrant le nucléole unique. Cette hétérogénéité conduit nécessairement à une métaphase disparate (fig. 53) où les chromosomes précocement individualisés passent déjà aux pôles tandis que ceux qui se forment plus tard restent encore sur la plaque équatoriale. Tout cela offre l'aspect d'un noyau métaphasique à trois groupes chromosomiques distincts dont le nombre total est d'environ quarante-huit. Ce qui permet de penser que les stades où s'apparient les chromosomes homologues dans la prophase hétérotypique normale, à savoir le zygotène et le pachytène, font défaut dans ces cellules.

## B - Le pollen

Différents mécanismes affectant le noyau végétatif et le noyau reproducteur conduisent à la formation de plusieurs noyaux dans le grain de pollen.

### 1° - Phénomènes affectant le noyau végétatif

Chez cette espèce, le noyau végétatif peut se diviser mitotiquement (fig. 55): phénomène vraiment rare. Aussi est-il nécessaire de mettre en évidence les caractéristiques permettant de distinguer ce dernier du noyau reproducteur. Celui-ci est nettement plus petit, plus chromatique, la plupart du temps de forme lenticulaire et surtout entouré d'une mince pellicule de cytoplasme observé par maints auteurs chez différentes espèces.

Nous basant sur ces critères distinctifs, nous avons observé deux fins de prophase du noyau végétatif sur deux grains de pollen dans deux anthères différentes. Nous ne savons pas si cette mitose pourra arriver à bonne fin. Cela paraît très probable car dans les mêmes anthères, nous avons trouvé un nombre assez élevé de grains de pollen à deux noyaux végétatifs de dimensions à peu près égales: ce qui suggère l'idée d'une mitose effective du noyau végétatif.

Un autre mécanisme contribue aussi à la multiplicité des noyaux végétatifs dans le grain de pollen. C'est la formation de « pseudopodes », due certainement à une question de tensions superficielles. La plupart du temps, ces tentacules du noyau végétatif sont projetés vers le noyau reproducteur, ou plus précisément la cellule reproductrice, pour s'y accoler fortement (fig. 54). Dans quelques cas, ils peuvent s'isoler de la masse principale pour devenir autant de petits noyaux aux dimensions très différentes (fig. 58).

Parfois, le noyau végétatif s'étire en forme d'haltère. Deux noyaux-fils égaux pourraient résulter d'une telle amitose.

### 2° - Phénomènes concernant le noyau reproducteur

Si le noyau végétatif affiche une grande plasticité, il n'en est rien du noyau reproducteur.

Ce dernier tend parfois à entourer le noyau végétatif (phénomène réciproque de celui mentionné plus haut), mais il n'arrive jamais à épouser longtemps la courbure imposée par la cellule reproductrice dans son accollement au noyau végétatif (fig. 56) et se casse toujours en deux ou trois morceaux.

Un autre fait complique encore davantage le mécanisme. C'est que ces débris de noyau reproducteur peuvent à leur tour donner naissance à des « pseudopodes » dont le stade ultime est la fragmentation du noyau reproducteur initial en un grand nombre d'îlots chromatiques.

Malgré cette pulvérisation du bagage chromatinien, il est certain que la cellule reproductrice reste indivise. Car ces particules du noyau reproducteur se divisent d'une façon rigoureusement synchrone à la deuxième division pollinique (fig. 57). Cela indique qu'elles ont un cytoplasme commun (voir Discussion: 2).

## C - Le sac embryonnaire

### 1° - La mise en place des premiers éléments du sac

L'archéspore unique devenue cellule-mère de sac embryonnaire et située immédiatement sous le tégument subit la méiose. La quatrième macrospore, la plus inférieure, donne le sac embryonnaire qui aboutit après trois divisions successives à un sac à huit noyaux dont les trois inférieurs se détachent

très tôt pour donner trois antipodes. La formation du sac est donc du type monosporique. Les antipodes subissent bientôt après une mitose qui en fera des cellules binucléées (fig. 61) aux noyaux parfaitement séparés.

### 2° – Les divisions ultérieures dans les antipodes binucléées

Dans les antipodes ainsi binucléées, une ou deux divisions ultérieures se succèdent suivant le mode « sticky » (MAHESHWARI, 1950, page 34) et cela (fig. 59), toujours simultanément dans les deux noyaux d'une même antipode. Par contre, d'une antipode à l'autre, les divisions peuvent ne pas être synchroniques (fig. 62). Le résultat final est la présence dans chaque antipode de deux gros noyaux en forme d'haltère. Ces derniers peuvent en outre être en prophase, ce qui annonce une nouvelle division. En définitive, le degré de polyploidie (jugé d'après le nombre total des chromosomes) est  $4n$  ou éventuellement  $8n$ .

### 3° – Les transformations dans les noyaux des synergides

a) Pendant que le degré de polyploidie s'accroît dans les antipodes, les noyaux des synergides subissent la prophase sans que la membrane nucléaire et le nucléole ne disparaissent (fig. 64). Les chromosomes y sont peu chromatiques, longs et grêles et enchevêtrés les uns dans les autres autour du nucléole unique. Cet état de prophase initiale durerait assez longtemps, à en juger par l'accroissement en volume du noyau de l'oosphère d'un même sac embryonnaire.

b) Puis cette structure de prophase ne s'observe plus. Par contre, les chromocentres s'accroissent en dimensions, en chromaticité et en nombre. En même temps, les noyaux ont considérablement augmenté de volume, passant de 1 à 2 fois en dimensions linéaires, c'est-à-dire de 1 à 8 fois en volume. A la fin, dans ces mêmes noyaux, on observe parfois des formations assimilables aux « chromosomes géants ». Dans quelques cas favorables, on arrive à comprendre un peu la structure de ces chromosomes particuliers. Ainsi, sur la figure 66 qui représente une coupe tangentielle d'un de ces noyaux, quelques tronçons de ces chromosomes indiquent que ces derniers sont formés de quatre « filaments » chromatiques jalonnés régulièrement sur toute leur longueur par des corpuscules chromatiques (vraisemblablement des chromomères) bien visibles au microscope. D'autre part, ces « filaments » chromatiques d'un « chromosome géant » affichent nettement un parallélisme deux à deux et sont reliés principalement au niveau du centromère. Ces « filaments » baignent dans une substance chromatique diffuse. La constitution lâche des grands chromocentres trouvés dans la même figure suffit pour donner une idée du manque de compacité des « chromosomes géants » de l'espèce étudiée.

Dans ces noyaux géants, la nucléolymphie montre une chromaticité très intense à la réaction de Feulgen. La membrane nucléaire ainsi que le nucléole s'observent toujours. Ce dernier reste toujours unique et centrique. Cependant, son volume s'accroît en même temps que celui du noyau.

Il est intéressant de noter que les noyaux des synergides d'un même sac embryonnaire présentent toujours les mêmes volumes.

### 4° – La structure prophasique permanente du noyau de l'oosphère

Durant l'espace de temps séparant la mise en place des premiers éléments du sac embryonnaire jusqu'à la fécondation (?) se déroule une prophase progressive très particulière dans le noyau de l'oosphère. Le premier stade de cette prophase se voit sur la figure 60. Le noyau augmente ensuite de volume. En même temps, les chromosomes prennent définitivement leur forme longue et effilée quoiqu'ils restent encore peu chromatiques (fig. 63). Puis le noyau de l'oosphère reste à ce stade.

Cet état prophasique du noyau de l'oosphère suggère inévitablement l'idée de première prophase du noyau de l'embryon, c'est-à-dire de l'oosphère déjà fécondée. Pour parer à cette objection, nous avons fait l'expérience suivante. Dès l'éclosion de la toute première fleur parmi les pieds cultivés en serre, nous en avons enlevé soigneusement toutes les étamines de façon à ne pas en faire sortir le pollen. Elles ont été ensuite examinées une à une à la loupe afin de nous assurer de leur non-déhiscence. La fleur ainsi castrée a été ensuite encapuchonnée avec de la gaze. Parmi les ovules vierges, nous avons trouvé une oosphère dont le noyau était très près du stade métaphasique (fig. 65). En effet, on n'y voit plus le nucléole; d'autre part, les chromosomes deviennent parfaitement chromatiques, plus larges mais moins longs. Donc, il paraît évident que c'est la castration qui a accentué l'état prophasique du noyau de l'oosphère vierge de *Anemone helleborifolia*.

Que devient-il pendant et après la fécondation? Il nous est impossible de le dire. Car nous avons procédé à la pollinisation artificielle (ici, autopolinisation) mais sans succès. La fécondation croisée est sans doute nécessaire ici.

Le fruit se forme pourtant, même sans fécondation (chez la fleur qui a subi la castration: expérience ci-dessus). Il arrive à terme mais sans graines; celles-ci sont remplacées par un espace vide.

## D - Discussion

### 1° - Variabilité du nombre des nucléoles

Si les cas de « bourgeonnement » des nucléoles signalés çà et là par maints auteurs pouvaient, de par leur absence de chronologie, être l'objet de certaines critiques, leur fusion progressive après la télophase ne soulève actuellement aucune objection.

a) La fusion des nucléoles dépend de la structure du réseau du noyau au repos de l'espèce. DELAY (1948), après une étude synoptique sur les noyaux quiescents des Phanérogames, remarque que « dans les noyaux aréticulés à euchromocentres ou semi-réticulés, il n'y a presque toujours qu'un seul nucléole tandis que dans les noyaux réticulés ou euréticulés, on en observe généralement plusieurs; on peut penser que, dans ce dernier cas, la résistance des filaments du réseau est suffisamment grande pour empêcher une fusion complète de ces organites » (page 211). Or comme *Anemone helleborifolia* possède un noyau généralement euréticulé, le fait que son noyau présente plusieurs nucléoles dans la majorité des cas ne serait pas étonnant.

D'autre part, l'étude de la fusion des nucléoles chez cette espèce fournit des preuves intéressantes en faveur de l'hypothèse de DELAY exposée ci-dessus. En effet, certains de ses tissus possèdent des noyaux dont les volumes prennent des dimensions plus grandes sans que cela paraisse résulter d'une endopolyploïdisation. Il s'en suit logiquement une diminution dans la densité du réseau nucléaire. Alors, on n'observe qu'un nucléole. Tel est le cas des noyaux des poils tecteurs, de ceux des CME et des éléments du sac embryonnaire, à l'exception des antipodes (fig. 61). Enfin, le fait que dans le grain de pollen, le noyau reproducteur plus petit possède plus de nucléoles que le noyau végétatif dont le volume est plus grand (fig. 55) est aussi très significatif à ce point de vue.

Dans le noyau euréticulé de *Mastigostyla aff. cyrtophylla* (chapitre 3), nous avons remarqué des exemples analogues.

b) Cependant, une énigme persiste dans le phénomène de la fusion nucléaire chez *Anemone helleborifolia*. C'est que les noyaux des antipodes présentent toujours deux ou trois nucléoles (fig. 61 et fig. 62) alors que ceux des synergides n'en possèdent qu'un seul. Dans ces noyaux respectifs, on observe pourtant les mêmes degrés de densité sur les réseaux chromatiques.

### 2° - La formation de « pseudopodes » dans les noyaux du pollen

La pluralité des noyaux reproducteurs ou des noyaux végétatifs, ou celle des deux à la fois, a été signalée par différents auteurs, notamment CHAMBERLAIN (1897) chez *Lilium tigrinum*, UMIKER (1920) chez *Helosis guyanensis* et FEDORTSCHUK (1931) chez *Cuscuta epithimum*. Ce dernier se contente de signaler le phénomène sans en commenter le mécanisme de formation. Pour CHAMBERLAIN, c'est par amitose que ces noyaux se multiplient car l'auteur y a observé différentes formes de bourgeonnement.

Ces « bourgeois », nous en avons observé aussi sur les noyaux reproducteur et végétatif du pollen de *Anemone helleborifolia*, surtout dans les anthères des étamines destinées à dégénérer, c'est-à-dire celles se trouvant au bas du réceptacle entre les pièces périnthaires et les étamines fertiles. Ils seraient dus selon nous à des modifications de tensions superficielles à la surface de la membrane nucléaire et seraient comparables à la formation des pseudopodes chez les amibes.

De tels « pseudopodes » s'observent aussi chez les noyaux avancés et dégénérescents des antipodes de *Halenia umbellata* (chapitre 16). Aussi n'est-il pas étonnant d'en observer chez les noyaux en dégénérescence du pollen de *Anemone helleborifolia*.

D'autre part, il semble que chez l'espèce étudiée, les « bourgeois » nucléaires détachés des noyaux végétatif et reproducteur résultent d'un phénomène de fragmentation. Preuve en est la présence de petits « noyaux » reproducteurs aux dimensions différentes dans un même cytoplasme (fig. 56) et le

fait qu'à la deuxième métaphase pollinique, la somme des chromosomes de ces noyaux ne dépasse jamais le nombre haploïde  $n = 24$  (fig. 57). Cela indique clairement qu'il n'y a pas d'augmentation de matière chromatinienne.

Malgré les divers degrés de pulvérisation du noyau reproducteur, il est certain que ces fragmentations n'entraînent pas une division du cytoplasme reproducteur. Car à la deuxième division pollinique, ces fragments de l'ancien noyau reproducteur se trouvent toujours rigoureusement aux mêmes stades (fig. 57). Ainsi, cette loi (= La communauté cytoplasmique et le synchronisme des noyaux : voir chapitre 24) nous a aidé à résoudre la question de l'existence d'une relation cytoplasmique entre les différents fragments du noyau reproducteur dans le cas où celle-ci est imperceptible. Car, les exemples comme celui de la figure 56 où ces fragments nucléaires sont reliés par des ponts de cytoplasme nets ne s'observent pas régulièrement.

### 3° - L'existence du phénomène d'« endomitose Geitlerienne » et la formation de « chromosomes géants » dans les synergides

a) La formation de « chromosomes géants » a été signalée par maints auteurs sur maintes espèces appartenant à des groupes et des familles différents. Leur origine était attribuée au phénomène d'« endomitose Geitlerienne » (voir chapitre 25).

Il semble qu'il n'y a que peu de cas où ces chromosomes particuliers s'observent dans les noyaux de synergides. HÅKANSSON (1957) en a remarqué chez *Allium nutans*. Nous en avons relevé aussi chez *Geranium ayavacense* (chapitre 11).

b) Une particularité notée souvent au cours du phénomène d'« endomitose Geitlerienne » est constituée par des changements de structure du noyau. HASITSCHKA (1956) a signalé jusqu'à cinq types de structure dans les noyaux endomitotiques des antipodes de *Papaver Rhoeas*.

Chez *Anemone helleborifolia*, le développement du noyau des synergides passe par trois stades successifs. Au début, ce noyau présente une structure encore peu dense (fig. 61). Celle-ci passe ensuite à un état prophasique avec des chromosomes que l'on peut suivre sur un long parcours (fig. 64); cet état dure assez longtemps, à en juger par l'accroissement en volume du noyau de l'oosphère du même ovule. Enfin vient une structure très dense, très chromatique et accompagnée d'un accroissement progressif du volume du noyau et de celui des chromocentres. Ce dernier caractère paraît indiquer une véritable multiplication de la matière chromatinienne. C'est donc le stade endomitotique proprement dit confirmé par la formation de « chromosomes géants ». Au cours de ce stade, on n'observe pas les changements de structure nucléaire typiques de l'endomitose.

Quel est le rôle joué par le deuxième stade mentionné ci-dessus - à savoir celui où l'on trouve des chromosomes en début de prophase - dans la réalisation du stade endomitotique qui lui fait suite? Nous pensons qu'entre ces deux stades, il n'existe aucune relation de cause à effet. D'abord, chez *Anemone helleborifolia*, l'état prophasique n'est pas une particularité du noyau des synergides; on l'observe aussi dans celui de l'oosphère. Ensuite, dans les synergides endopolyploïdes de *Geranium ayavacense*, l'« endomitose Geitlerienne » se produit et aboutit presque aux mêmes résultats, sans l'intervention d'un état nucléaire prophasique similaire.

c) Une autre caractéristique de ce phénomène d'endomitose réside dans le fait que les chromocentres augmentent de dimensions en conservant leur nombre (TSCHERMAK-WOESS, 1956). Dans les noyaux hypertrophiés des synergides de *Anemone helleborifolia*, nous avons remarqué que les chromocentres ont augmenté de volume. Cependant, il est impossible d'affirmer quoi que ce soit quant à leur nombre. Car durant toute la vie de ces noyaux, les chromocentres ne sont jamais compacts, par conséquent leurs contours restent toujours confus.

d) Le manque d'une condensation poussée de la matière chromatique sur les endochromocentres expliquerait l'aspect peu compact que présentent les « chromosomes géants » de *Anemone helleborifolia* par rapport à ceux de *Geranium ayavacense*.

e) D'autre part, ce qui est intéressant sur les « chromosomes géants » de *Anemone helleborifolia* est qu'ils semblent se composer de quatre « filaments » chromatiques épais et groupés deux à deux, à en juger par leur parallélisme. Cela donne l'impression que ces « filaments » représentent les « half-chromatids » (SHARP, 1943) des deux chromosomes-fils<sup>1</sup> initiaux. Les chromosomes-fils formés par

<sup>1</sup> Les recherches effectuées récemment sur les chromosomes mitotiques par le marquage des ADN avec des isotopes radioactifs montrent que les « chromosomes-fils » ne prennent pas naissance d'une fissuration longitudinale d'un chromosome initial, mais que ce dernier synthétise un autre chromosome qui lui est identique (voir GEITLER, 1958).

la suite au cours des cycles d'endomitose successifs restent fortement accolés les uns aux autres. En effet, il est impossible de distinguer ces derniers au microscope optique. D'ailleurs, le fait que les chromomères jalonnant les « half-chromatids » des « chromosomes géants » ont énormément augmenté de dimensions constitue encore une preuve de plus en faveur de cette hypothèse. Car, sur les chromosomes somatiques, il est impossible de les observer nettement en raison de leurs faibles volumes.

Sur les « chromosomes géants » de *Geranium ayavacense*, nous avons observé une structure analogue.

Une question se pose. A quel moment s'effectue l'individualisation de ces deux chromosomes-fils initiaux? Il est peu probable qu'elle constitue le stade primordial du phénomène d'endomitose. Car alors, ce dernier se composerait de deux étapes: l'une serait un processus lent qui permettrait cette individualisation, l'autre serait constituée par des cycles d'endomitose successifs si rapides que l'individualisation des chromosomes-fils auxquels ils donnent naissance en serait empêchée. Par contre, il est plus vraisemblable que la formation des deux chromosomes-fils initiaux s'effectue à l'interphase qui a lieu après la dernière télophase mitotique. Ce fait a été observé par divers auteurs, notamment KINOSITA et OHNO (1956). D'autre part, cette seconde explication concorde parfaitement avec les mesures cytophotométriques des teneurs en ADN faites par PATAU et SWIFT (1953) et PATAU et SRINIVASACHAR (1959) dans les noyaux interphasiques.

Deux conclusions importantes se dégagent. 1° Le phénomène d'« endomitose Geitlerienne » dans les synergides de *Anemone helleborifolia* et de *Geranium ayavacense* ne commence qu'après la duplication de la matière chromatinienne. Cette conclusion s'avère aussi correcte pour le cas des noyaux endopolyploïdes des synergides de *Allium nutans* (HÅKANSSON, *op. cit.*) où les « chromosomes géants » présentent une structure double analogue. 2° Cette forme d'endomitose pourrait être considérée comme très près d'une multiplication statique de la matière chromatinienne (voir chapitre 25: II, A, 1), à en juger par le fait que les chromomères augmentent considérablement de dimensions mais ne semblent pas se multiplier. Cela expliquerait l'absence de changements de structure nucléaire endomitotiques typiques. Donc, ici on peut parler d'une « besonders extreme Hemmung... von Mitosen » (GEITLER, 1955).

Quant aux formations de « chromosomes géants », elles sont très peu fréquentes dans les synergides de *Anemone helleborifolia*. Cela concorde avec les remarques faites par d'autres auteurs sur ce point (voir chapitre 25: III, 3, b). Leur existence signifierait simplement que le phénomène d'endomitose ainsi que la désérialisation sont poussés dans ces noyaux (voir GEITLER, 1956).

f) Comparé au cas des synergides de *Allium nutans* mentionné ci-dessus, celui de *Anemone helleborifolia* présente certaines différences. Ainsi, dans le premier, une synergide d'un sac embryonnaire peut s'atrophier au profit de l'autre. Cette atrophie ne s'observe jamais chez le second.

g) On peut évaluer le degré de polyploïdie d'un noyau polyploïde en comparant les deux volumes qu'il possède avant et après l'hypertrophie, à la condition qu'à ces stades, les noyaux aient les mêmes densités (voir chapitre 16: IV, F, 3).

Or, chez *Anemone helleborifolia*, les noyaux des synergides du stade endomitotique gardent jusqu'à la dégénérescence une structure beaucoup plus dense qu'au début. Ainsi, la comparaison entre les volumes qu'ils ont respectivement à ces deux stades ne paraît pas très logique. Par conséquent, l'accroissement de huit fois qu'a pris le volume de ces noyaux ne signifie pas que l'endomitose s'y est répétée seulement trois fois mais probablement bien plus.

#### 4° - Polyplôidisation des antipodes chez l'espèce étudiée

La formation d'antipodes binucléées à noyaux devenant polyploïdes se rencontre souvent chez les Dicotylédones.

Ainsi, prenons le cas de *Caltha palustris* (GRAFL, 1940, citée par D'AMATO, 1952 b). Les antipodes de cette espèce voient leur noyau haploïde subir la caryocinèse sans division subséquente du cytoplasme. Elles deviennent par conséquent binucléées. Ensuite, trois autres mitoses se succèdent; en même temps, les fuseaux fusionnent. Il se forme à la fin des antipodes binucléées à noyaux octoploïdes. Un processus analogue s'observe dans les antipodes de *A. helleborifolia*.

Nous avons relevé le même mode de polyplôidisation dans les antipodes de *Halenia umbellata* (chapitre 16). Les deux noyaux d'une antipode subissent un effet deux ou trois mitoses successives

qui les polyploïdisent. Cependant, une forme d'« endomitose Geitlerienne » qui succède à ces mitoses constitue la différence chez la Gentianacée.

5° – *Formation de chromosomes presque métaphasiques dans le noyau de l'oosphère*

Cette formation qui fait suite à l'état prophasique observé sur le noyau de l'oosphère des fleurs normales résulte sans doute de la castration. En effet, des pieds d'*Allium nutans* castrés montrent des sacs embryonnaires contenant des embryons qui peuvent « avoir jusqu'à quarante cellules » (HÅKANSON, 1952). Il est pensable que la castration peut aussi produire de tels embryons chez *Anemone helleborifolia*.

## CHAPITRE 8

### *Berberidaceae* – *Capparidaceae* – *Cruciferae*

#### *Berberis empetrifolia* Lam.

Culture en serre tempérée. Racines verdâtres caractéristiques des *Berberis*. Floraison au bout de deux ans.

Cette espèce récoltée à Camballa par M. Terrier n'a jamais été signalée au Pérou à notre connaissance. Elle se présente sous une forme un peu différente de celle de l'Argentine et du Chili. Les feuilles, rameaux et pédoncules y sont couverts de minuscules papilles qui manquent chez *B. empetrifolia*. La feuille est aussi un peu plus large dans nos échantillons et seuls ses bords sont révolutés. Il est possible que ce soit une variété ou une sous-espèce nouvelle.

#### A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° L'espèce possède un noyau réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont en général petits. Leurs grandeurs diminuent progressivement jusqu'aux simples grains de chromatine du réseau, ce qui rend leur numération difficile. Cependant, une douzaine d'entre eux sont plus développés parmi lesquels figurent quatre chromocentres paranucléolaires.

Ces derniers peuvent rester séparés et appuyés chacun sur un petit nucléole. Le noyau diploïde compte dans ces conditions quatre nucléoles accolés à la membrane nucléaire (fig. 67). Ils peuvent par contre se grouper autour d'un nucléole unique, résultat de la fusion des quatre petits nucléoles. Néanmoins, le nucléole unique peut être rejeté à la périphérie (fig. 68) au lieu d'occuper une position centrale. Souvent, le noyau possède deux nucléoles; on devine facilement la répartition des chromocentres paranucléolaires dans ce cas.

2° Le noyau diploïde a vingt-huit chromosomes. Leurs longueurs mesurent entre 1,6  $\mu$  et 3,4  $\mu$ . Il y en a qui sont minces. D'autres, dont les plus grands éléments de la garniture diploïde, sont épais. La figure 69 donne une idée de l'emplacement du centromère sur les chromosomes. Avec les vingt-huit chromosomes que possède son noyau, l'espèce est diploïde.

D'ailleurs, à en juger par les nombres chromosomiques trouvés jusqu'ici chez le genre *Berberis* (DARLINGTON et WYLIE, 1955), il semble que sur l'échelle de l'évolution conditionnée par la différenciation numérique du génome, le genre s'est diversifié dans le sens horizontal plutôt que dans le sens vertical. En effet, on n'y a signalé que deux catégories de nombres chromosomiques. En premier lieu,  $2n = 28$  qui fournit la majorité des espèces du genre; ensuite,  $2n = 56$ . Ces deux nombres se trouvent ensemble en Amérique du Sud comme en Asie Centrale.

#### B - La méiose

Elle a été étudiée sur les cellules-mères de grains de pollen. Elle se déroule normalement. A la métaphase I, les vingt-huit chromosomes se groupent en quatorze bivalents.

#### C - Le sac embryonnaire

Remarquons en passant que chez l'espèce étudiée, les noyaux des synergides affichent une nette hypertrophie. En même temps, leurs chromocentres présentent des dimensions plus grandes que dans le cas des noyaux normaux. Au cours de ce phénomène d'accroissement, on n'observe aucun changement de structure nucléaire. Ces faits semblent indiquer dans ces noyaux l'existence d'un procédé de multiplication statique de la matière chromatinienne, une des formes du phénomène d'« endomitose Geitlerienne » (voir chapitre 25: II, A, 1).

## *Cleome Lechleri* Eichler

### A - Structure du noyau - Les chromosomes

L'espèce possède un noyau très peu réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont nombreux et petits. Ils forment une gamme de grandeurs progressives allant jusqu'aux simples grains de chromatine du réseau. Cela rend leur numération délicate. Quatre d'entre eux au moins, ceux qui sont les plus grands, restent accolés au nucléole généralement unique. Ce sont les chromocentres paranucléolaires. C'est sur les microsporocytes peu avant leur entrée en méiose - phénomène qui leur confère un accroissement considérable du volume nucléaire - que s'observent nettement ces chromocentres particuliers. Le plus souvent, on ne trouve qu'un seul « grain » chromatique mais plus développé qui adhère au nucléole. Cela indique une fusion de ces chromocentres. Quant à la caryolymphe, elle prend une teinte rose sous l'action du Feulgen.

Les chromosomes sont petits et grêles. Ils mesurent de  $0,7 \mu$  à  $2,7 \mu$ . Leurs longueurs faibles paraissent expliquer la faible densité du réseau (voir DELAY, 1948, page 195).

### B - La méiose

A la métaphase hétérotypique, il se forme vingt-neuf bivalents normaux.

Dans les conditions de notre étude, une particularité cytologique a été observée. Les chromosomes hétérotypiques sont déjà bien individualisés sans que leur appariement ne soit complet (fig. 70). De telles figures se remarquent régulièrement, non seulement sur les squashes mais encore sur les coupes. Cette caractéristique semble due aux faibles dimensions des chromosomes. Il en découle qu'une légère pression suffit pour séparer les deux chromosomes-conjoints (technique des squashes). Cela nous a permis de dénombrer les chromosomes un à un. Ils sont au nombre de cinquante-huit. L'espèce a donc pour nombre diploïde  $2n = 58$  et pour nombre haploïde  $n = 29$ .

Il est à noter qu'à la diacinèse, le nucléole porte au moins deux bivalents paranucléolaires. Cette caractéristique n'est que le corollaire de l'existence de quatre chromocentres paranucléolaires dans le noyau diploïde.

### C - La composition éventuelle du génome de l'espèce étudiée

Le nombre  $x = 29$  est certainement un nombre de base secondaire. Cela est d'autant plus vrai que chez le genre *Cleome* différents nombres de base en cascade ont été signalés:  $x = 9, 10, 11, 12, 16, 17$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955). Le nombre gamétique 29 chez *C. Lechleri* pourrait donc s'expliquer par amphidiploïdie entre une espèce à  $2n = 18$  (gamète réduit) et une espèce à  $2n = 20$  (gamète non réduit).

Signalons en outre que l'espèce est le seul représentant du genre qui a  $2n = 58$ .

## *Draba Pickeringii* Abrey

### A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° C'est un noyau peu réticulé et à chromocentres baignés dans une nucléolymphe colorée en rose pâle par le Feulgen. Parmi eux, quatre sont nettement plus grands et deux d'entre eux s'appuient constamment sur le nucléole. Ce sont les chromocentres paranucléolaires (fig. 71).

Ces deux chromocentres particuliers semblent faire partie d'un couple de chromosomes homologues. En effet, au stade de synizésis, ils s'apparient en un « grain » chromatique unique (fig. 77). D'autre part, les noyaux haploïdes (grains de pollen) ne possèdent qu'un seul de ces chromocentres.

Le nombre des chromocentres visibles du noyau somatique semble augmenter avec ses dimensions. En effet, dans le noyau géant des poils tecteurs du calice, on peut en compter jusqu'à vingt-quatre.

2° Le noyau diploïde possède vingt-quatre chromosomes:  $2n = 24$ . Les chromosomes sont petits. Leurs longueurs mesurent entre  $0,8 \mu$  et  $2 \mu$ . Les dimensions réduites des chromosomes ainsi que l'existence d'un nucléole unique s'accordent avec la très faible densité du réseau (DELAY, 1948, pages 195 et 211).

### B - La méiose

La méiose offre comme caractéristique l'appariement des deux chromocentres paranucléolaires en une masse chromatique unique qui s'appuie sur le nucléole (fig. 77).

A la diacinèse, un *geminus* reste accolé au nucléole: c'est le *geminus* paranucléolaire porteur du couple de chromocentres paranucléolaires. Quant aux vingt-deux autres chromosomes, ils forment onze couples normaux.

A la métaphase hétérotypique, le nucléole disparaît. La plaque équatoriale présente douze bivalents (fig. 76). Le nombre haploïde de l'espèce étudiée est donc  $n = 12$ . Il a été vérifié sur des plaques de métaphase II.

### C - Le noyau hypertrophié du trichome

Divers organes de l'espèce étudiée portent des poils tecteurs uninucléés. La plupart sont ramifiés, d'autres ne le sont pas.

1° La caractéristique la plus frappante du noyau de ces poils est leur gigantisme. Celui-ci semble être acquis très tôt, car sur les poils jeunes caractérisés par une membrane encore très peu réfringente (comme celle des cellules somatiques ordinaires), le noyau présente déjà des dimensions presque aussi développées que sur les poils avancés aux membranes devenues très réfringentes. Les chromocentres et le nucléole unique s'accroissent dans les mêmes proportions que la nucléolymphe.

Nous avons essayé d'estimer le degré de polyploïdie maximum que peut avoir ce noyau. La comparaison entre le volume maximum qu'il peut avoir avec celui qu'il avait avant l'hypertrophie en suivant les principes de mesure que nous avons mis au point successivement dans le chapitre 11 (: Discussion, 2) et le chapitre 16 (: IV, F, 3) s'avère nécessaire. Comme initialement un poil tecteur n'est qu'une cellule épidermique, nous avons pris comme témoin un noyau quelconque de cette assise cellulaire. Cette comparaison nous a donné approximativement le rapport 27/1.

2° Plusieurs modifications s'observent sur le noyau géant des poils avancés.

a) D'abord, le nombre de chromocentres dans ce noyau augmente visiblement. De quatorze à dix-sept dans les poils jeunes, ce nombre peut atteindre vingt-quatre dans les poils avancés; cela, sans compter les petits chromocentres qui apparaissent alors à côté des gros chromocentres (fig. 72 et fig. 74).

b) En deuxième lieu, le comportement des chromocentres paranucléolaires mérite une étude attentive.

D'abord, l'accroissement en dimensions semble parfois plus poussé sur eux que sur les autres chromocentres trouvés dans un même noyau (comparer fig. 72 avec fig. 71).

Très souvent, les chromocentres paranucléolaires semblent se partager en deux, sans que les deux portions constituantes de chacun se séparent complètement (fig. 74).

Enfin, parfois ces chromocentres s'appuient sur le nucléole géant par deux ou trois attaches (fig. 72) séparées par des enclaves moins chromatiques que le nucléole, vraisemblablement des enclaves nucléoplasmiques.

c) Quant au nucléole, très souvent il prend une forme allongée (fig. 74) ou un aspect d'haltère. Ceci paraît indiquer que les deux « nucléoles-fils », chacun accolé à un chromocentre, sont en voie de se séparer. Il y a en outre des cas où la matière nucléolaire est répartie en deux zones séparées par une bande médiane moins chromatique (fig. 73): les « nucléoles-fils » sont en train de s'individualiser. Enfin, les deux petits nucléoles sont complètement séparés, chacun appuyé sur un chromocentre paranucléolaire et occupant une extrémité du noyau (fig. 75).

d) En dernier lieu, il faut remarquer qu'avec la croissance du poil, son noyau change souvent de forme. Sur les poils jeunes, il a une forme arrondie. Dans ceux qui sont ramifiés, il tend à devenir effilé (fig. 74) et à avoir les extrémités pointues, son axe orienté dans le sens de la longueur du poil. Alors, le noyau prend presque toujours une forme rubanée (fig. 72): il paraît se composer de bandes

chromatiques longitudinales intercalées avec d'autres presque achromatiques. L'ensemble donne l'impression que le noyau est plissé longitudinalement et les bandes quasi achromatiques ne seraient que des intervalles remplis de cytoplasme qui séparent les replis du noyau.

### *Descurainia myriophylla*

(Willd) R. E. Fries var. *glandulosa* O. E. Schulz

#### A - Structure du noyau - Méiose

1° L'espèce a un noyau peu réticulé. Le réseau est orné d'une quinzaine de chromocentres dont deux sont plus grands et se trouvent toujours accolés au nucléole. Ce sont les chromocentres paranucléolaires.

Elle a quatorze chromosomes (fig. 78). Ils mesurent de 0,6  $\mu$  à 1,2  $\mu$ .

Avec le nombre  $2n = 14$ , *D. myriophylla* est un diploïde de l'unique série polyploïde du genre ayant pour nombre de base  $x = 7$ . DIERS (1961) a trouvé le même nombre chez *D. perkinsiana* Muschl. de la Sierra inférieure dans la vallée du Rio Rimac et chez *D. leptoclada* Muschl. dans la zone de la Puna près de Ticlio Bajo.

2° La méiose est normale. A la métaphase hétérotypique, les chromosomes forment sept bivalents. Deux de ces derniers dépassent nettement en dimensions les autres (fig. 79): il est pensable qu'ils correspondent aux quatre plus longs chromosomes du noyau diploïde.

#### B - Le noyau hypertrophié du trichome

Divers organes de l'espèce étudiée portent deux sortes de poils uninucléés. Les uns sont ramifiés, d'autres, en forme d'ampoule allongée.

1° Au cours du développement de ces poils, leurs noyaux s'hypertrophient progressivement. Cet accroissement atteint presque les mêmes limites que sur les noyaux du trichome de *DRABA PICKERINGII*.

En même temps, les chromocentres augmentent de volume. Ce phénomène est particulièrement frappant sur les deux chromocentres paranucléolaires.

2° Sur les poils dont les noyaux sont développés au maximum, on observe une nette multiplication de chromocentres (fig. 80). A part les deux chromocentres paranucléolaires restant toujours énormes, la plupart des chromocentres ont presque les mêmes dimensions que ceux des noyaux somatiques ordinaires. Cela rend frappante la différence de dimensions entre les chromocentres paranucléolaires et les autres.

### Discussion

#### A - Le nombre de base de *Draba Pickeringii*

Peu de numérations chromosomiques ont été faites dans le genre *Draba* qui est un genre riche en sections et en représentants.

Les nombres chromosomiques signalés jusqu'ici sont des multiples de 8. Ce nombre constitue le nombre de base d'une suite polyploïde qui va jusqu'au degré 14  $x$ .

Pour *Draba Pickeringii* dont les chromosomes forment douze bivalents normaux à la métaphase hétérotypique, il est logique de penser qu'il n'appartient pas à la série polyploïde ci-dessus. Son nombre de base est probablement  $x = 6$  et notre espèce serait tétraploïde.

Il est d'ailleurs intéressant de noter que les nombres de base 6 et 8 se trouvent aussi chez le genre *Lesquerella* très voisin du genre *Draba*.

#### B - La « bipartition » du nucléole dans le noyau hypertrophié du trichome de *D. Pickeringii*

1° Ce phénomène ne laisse aucun doute. En effet, quand les poils sont encore jeunes, le noyau n'a toujours qu'un seul nucléole. Cela est compréhensible puisque au début, le poil n'est qu'une cellule épidermique quelconque. Ainsi, des figures observées sur des poils âgés où le nucléole prend une

forme d'haltère ne peuvent être interprétées que comme un étirement et non comme une fusion nucléolaire quoique ces deux modes d'activité antagonistes chez les nucléoles se présentent statiquement sous les mêmes aspects.

2° Si on remarque la répartition des deux chromocentres paranucléolaires entre les deux « nucléoles-fils » ainsi formés (fig. 75) et les positions qu'ils occupent sur un nucléole en voie de « bipartition » (fig. 73), on sera amené à penser que ce sont eux qui, en se repoussant l'un l'autre, se distribuent la matière du nucléole initialement unique. Et comme ces chromocentres font partie du réseau chromatinien (en partie submicroscopique dans ce noyau), un tel mouvement déclenché chez eux signifie que tout le réseau et par conséquent le noyau tout entier entrent alors dans une phase mobile particulièrement intense. Cela augmente les chances pour que deux mouvements antagonistes agissant chacun sur un chromocentre paranucléolaire arrivent à éloigner ces chromocentres l'un de l'autre et à disloquer la matière nucléolaire.

D'ailleurs, la forme effilée, aux extrémités pointues et l'aspect plissé (fig. 72) que le noyau des poils avancés prend alors appuient aussi cette supposition.

### C - Mécanisme de l'accroissement en volume du noyau du trichome chez les deux espèces étudiées

1° L'accroissement en dimensions observé simultanément sur les différents éléments de noyau du trichome chez ces deux espèces (nucléolymphes, nucléoles, chromocentres) fait penser à un phénomène d'« endomitose Geitlerienne » (voir chapitre 25: II, A). L'absence de changements de structure nucléaire au cours de cette hypertrophie indique ici une forme de multiplication statique de la matière chromatinienne.

Il découle de la mesure du rapport 27/1 entre les volumes qu'un de ces noyaux possède après et avant l'endomitose que ce rapport serait 32/1. Cela signifie que le phénomène d'endomitose conditionnant l'hypertrophie s'est répété au moins cinq fois dans les noyaux les plus grands. Par conséquent, ces derniers auraient un degré  $64n$  à la fin de ce procédé de multiplication de la matière chromatinienne. Nous interprétons donc les chromocentres au volume accru des poils adultes (au moins chez *D. Pickeringii*) comme des endochromocentres.

2° En outre, plusieurs faits indiquent l'existence d'un phénomène de désagrégation d'endochromocentres dans les noyaux endomitotiques avancés du trichome chez les deux espèces.

a) Dans le cas de *Descurainia myriophylla*, cette désagrégation est des plus évidentes. En effet, la nette multiplication des chromocentres non-paranucléolaires et le fait que leurs dimensions sont réduites alors que celles des deux chromocentres paranucléolaires restent énormes (fig. 80) ne peuvent être interprétés autrement que par une désagrégation des endochromocentres non-paranucléolaires. Celle-ci pourrait suivre chaque endomitose ou se produire après un nombre restreint d'endomitoses.

b) Chez *Draba Pickeringii*, ce phénomène est plus complexe.

D'abord, on observe une certaine multiplication de gros chromocentres dans les noyaux endomitotiques avancés. Car leur nombre passe de quatorze à vingt-quatre, c'est-à-dire qu'il devient presque double. Cependant, le net dédoublement des deux chromocentres paranucléolaires (fig. 74) remarqué souvent à ce stade fait penser que le dit phénomène de multiplication de chromocentres ne serait que la conséquence d'un dédoublement plus ou moins parfait – dédoublement rendu visible par le squash – de tous les endochromocentres. Ce dédoublement semble favorisé par l'individualisation des deux chromosomes-fils devenus « polytènes » par l'endomitose, individualisation observée souvent sur les « chromosomes géants » (fig. 66 et fig. 104) dans les noyaux endopolyploïdes de synergides de *Anemone helleborifolia* et de *Geranium ayavacense* et qui a été l'objet de discussion dans le chapitre 7. Vue sous cet angle, la duplication des gros chromocentres dans les noyaux endomitotiques avancés de *D. Pickeringii* ne peut pas être considérée comme résultant d'une véritable désagrégation d'endochromocentres (voir chapitre 25: II, A).

Cette désagrégation existe pourtant sous une certaine forme. En effet, l'apparition de petits chromocentres au voisinage de certains endochromocentres (fig. 72 et fig. 74) ne peut être interprétée autrement. Cependant, il paraît certain que cette désagrégation d'endochromocentres n'est jamais aussi poussée que sur les endochromocentres non-paranucléolaires de *Descurainia myriophylla*, car jamais de gros endochromocentres n'ont cessé d'être observés sur les noyaux endomitotiques des poils avancés de *D. Pickeringii*.

## CHAPITRE 9

### *Rosaceae*

#### *Lachemilla aphanoides*

(Mutis) Rothm.

#### A - Structure du noyau - Les chromosomes et la microsporogénèse

1° C'est un noyau presque aréticulé qui contient une vingtaine de chromocentres. Parmi eux, quatre ou cinq sont nettement plus grands, dont deux paranucléolaires.

2° La méiose est anormale dans les tissus sporogènes mâle comme femelle. Cependant, dans le premier, l'anomalie présente plus de modalités.

En effet dans le tissu sporogène mâle, on peut observer plusieurs univalents sur les plaques de métaphase I. A l'anaphase I, il peut se former des ponts d'univalents dont l'axe est orienté dans le sens longitudinal du fuseau achromatique (fig. 81). Quelquefois on y observe des noyaux de restitution (fig. 83) dont la formation indiquerait la proportion élevée des univalents. A la télophase I, on peut remarquer la mise en place de noyaux-fils de dimensions différentes, l'espace qui les sépare étant parsemé de quelques « laggards » (fig. 82).

Ces derniers peuvent donner des micronuclei et de petites cellules séparées quand auront lieu les cloisonnements de la CMP. Parfois une cellule-mère n'a que trois microspores.

Néanmoins, nous avons observé des microsporocytes dont les deux noyaux-fils présentaient à la métaphase II des plaques équatoriales aux nombres de chromosomes sensiblement égaux: soit 46, soit 47, soit 48; il faut d'ailleurs tenir compte des chromosomes cachés par superposition. Il en découle que dans ce cas les microspores ont une apparence normale. Mais leur proportion est faible, elle ne dépasse pas 10%.

3° Les dimensions du pollen varient beaucoup d'un grain à l'autre en descendant jusqu'aux microspores dont le noyau (micronucleus) paraît être formé seulement de quelques chromosomes. En général le cytoplasme des grains de pollen est pauvre, à en juger par son faible pouvoir de prendre le vert Lumière. Ils continuent néanmoins leur évolution, car avec la mise en place de l'assise mécanique, leur exine se forme aussi. Cependant très peu arrivent à avoir deux noyaux, en d'autres termes, peu d'entre eux sont aptes à subir la première mitose pollinique.

Parmi les grains de pollen, une fraction estimée à 10% se détache des autres. Leur cytoplasme est abondant et ils atteignent toujours le stade de deux noyaux bien différenciés en noyau reproducteur et noyau végétatif. Mais ce qui constitue leur caractère le plus frappant est qu'ils dépassent largement en diamètre les plus grands des autres, leur volume est au moins double; leurs noyaux végétatif et reproducteur offrent la même différence de volume par rapport à ceux des autres grains de pollen.

Il faut retenir d'autre part qu'au cours du développement du pollen, le tapis dont les cellules sont uninucléées suit son évolution normale. Très tard après la séparation des tétrades, ses cellules ne présentent encore aucun signe de dégénérescence: cytoplasme abondant, vacuoles absentes, ce qui traduit un tissu nourricier encore jeune et encore fonctionnel. Sa dégénérescence ne commence qu'après la formation de l'exine, phénomène couramment observé chez la plupart des Angiospermes.

4° Quant aux chromosomes, ils sont très petits: ce que l'on peut deviner par la structure presque aréticulée du noyau (voir DELAY, 1948, page 195).

## B - Embryologie

Le stigmate du style gynobasique se trouve toujours au-dessous du niveau des anthères. Dans l'ovule, le tégument unique se développe et enveloppe progressivement le nucelle (fig. 84 et fig. 89). Ce dernier caractère s'observe aussi chez *Alchemilla alpestris* (travail de MURBECK cité par SCHNARF, 1931).

Dans le nucelle, une masse cellulaire qui occupe le centre se détache nettement tant par la forme de ses cellules que par la chromaticité de leurs noyaux. Les raisons exposées ci-dessous (voir sous C: 4) permettent de la considérer comme la masse sporogène femelle.

Elle se compose de deux catégories de cellules différentes. La première compte deux ou trois cellules qui occupent le centre; elles subissent successivement la méiose et sont par conséquent des CME; la méiose avorte pourtant dans ces cellules. La seconde catégorie comporte une quinzaine de cellules qui entourent les CME et occupent donc la périphérie de la masse sporogène; de ces cellules périphériques, une donnera le sac embryonnaire.

### 1° - Mégasporogénèse avortée des CME

Les cellules centrales entrent en méiose l'une après l'autre. C'est à ce moment que leurs différences avec les cellules périphériques deviennent spectaculaires. Car en dehors de l'aspect synaptique (fig. 84) que présente alors leur noyau nettement plus grand, leur cytoplasme prend des dimensions beaucoup plus développées et semble moins dense à en juger par son faible pouvoir de prendre le vert lumière. Ceci semble dû à une forte absorption d'eau lors de l'entrée en méiose (BEASLEY, 1938).

La première cellule centrale entrée en méiose peut être celle qui occupe le pôle de la masse sporogène (fig. 84) ou celle située à l'extrémité opposée (fig. 88). En tout cas, le noyau synaptique occupe généralement une position excentrique dans la cellule.

L'anaphase I se déroule avec beaucoup de « laggards » (fig. 89). L'existence de ces retardataires permet de penser qu'à la diacinèse il y avait des univalents qui n'ont pas pu trouver de partenaires; mais l'espace très restreint occupé par une CME étudiée par la technique des coupes ne permet pas de suivre avec précision l'appariement d'une centaine de chromosomes. Une chose est certaine, c'est que nous n'avons jamais vu de noyaux de restitution dans ces cellules-mères en méiose comme dans le cas du tissu sporogène mâle.

En raison de la position excentrique occupée par le noyau au sein de ces cellules-mères à la prophase hétérotypique, la division y est toujours inégale (fig. 88), la cellule inférieure étant la plus grande. Cela suggère que si la mégasporogénèse se déroulait normalement, ce serait la mégaspore inférieure qui donnerait le sac embryonnaire.

Cependant, nous n'avons jamais observé de trace de division homéotypique dans les cellules centrales: la mégasporogénèse s'arrête donc à la télophase I. Néanmoins, toutes les cellules centrales n'atteignent pas ce stade. Il y en a qui dégénèrent avant la fin de la prophase hétérotypique. La figure 86 peut donner une idée de ce cas. En effet, la chromatolyse s'y est déjà produite en transformant la chromatine en des éléments informes occupant tout le noyau dont on peut remarquer encore le nucléole excentrique, preuve de l'inachèvement de ce stade synaptique. Ailleurs, on n'observe la chromatolyse qu'à la fin de la télophase I.

Il semble que cette étape constituée par une méiose se produisant successivement dans les cellules centrales dure assez longtemps. Car lorsque la première de ces cellules manifeste les premiers symptômes du synapsis, le tégument n'atteint que la moitié de la hauteur du nucelle (fig. 84); par contre, quand ce phénomène apparaît dans la dernière (fig. 88), le tégument a déjà recouvert tout le nucelle et l'ovule a beaucoup grandi.

### 2° - Formation du sac embryonnaire à partir des cellules périphériques

Pendant ce temps, les cellules périphériques de la masse sporogène s'accroissent. Parmi elles, deux ou trois se développent plus rapidement que leurs compagnes dont elles se distinguent nettement par une plus grande chromophilie de leur noyau et de leur cytoplasme et par la formation de (une ou deux) grandes vacuoles au sein de celui-ci. La position de ces cellules dans l'ensemble de la masse sporogène

varie. Elles peuvent en occuper le pôle micropylaire (fig. 86 et fig. 89) ou les côtés (fig. 84). Mais généralement c'est à l'extrémité chalazale que nous les avons trouvées (fig. 85 et fig. 88).

Quand ces cellules ont atteint leur volume maximum qui est généralement de l'ordre de  $9 \mu$  sur  $5 \mu$ , la prophase se déclenche. Cette prophase diffère totalement de celle qu'ont subie les cellules centrales (CME) car il ne se forme jamais de peloton mais toute la chromatine se condense en des chromosomes bien individualisés entourant un nucléole unique et jamais excentrique (fig. 87). C'est donc les caractéristiques d'une prophase somatique. Une autre particularité distingue encore cette prophase de celle des CME, c'est qu'elle se produit dans des cellules où il s'est formé une vacuole énorme alors qu'une telle vacuole n'est jamais observable dans les CME au cours de la méiose.

Nous avons remarqué ensuite des métaphases *sans univalents en dehors de la plaque équatoriale* dans des cellules pourvues de grandes vacuoles. Celles-ci, du fait qu'elles ne s'observent que dans des cellules périphériques et jamais dans les cellules centrales, c'est-à-dire à comportement méiotique du noyau, indiquent que les cellules auxquelles elles appartiennent sont bien les cellules périphériques où s'était produite la prophase somatique signalée ci-dessus. D'autre part, l'absence d'univalents à la métaphase chez une espèce où la diacynèse se produit avec des univalents fournit la preuve sûre qu'il s'agit d'une métaphase somatique. Tous ces faits autorisent à affirmer que cette métaphase fait suite à la prophase somatique ci-dessus et s'est déroulée par conséquent dans des cellules périphériques.

Puis vient l'anaphase, toujours sans univalents-laggards (fig. 85) et ensuite la télophase; la cellule devient binucléée. Une cellule périphérique qui a subi cette division somatique est donc un futur sac embryonnaire.

Il est à noter que cette division ne commence qu'après la résorption totale des cellules centrales où s'est produite la méiose. Par conséquent, les deux étapes correspondant à ces deux modes de division sont séparées par une période assez longue.

Le sac embryonnaire est du type normal: deux synergides, l'oosphère, deux noyaux polaires et trois antipodes. Celles-ci ont un cytoplasme et un noyau denses. Il peut se former deux sacs embryonnaires dans un ovule. Cependant l'un dégénère. Le même sort est réservé aux autres cellules périphériques.

Aucune fécondation n'a été observée. Les graines formées par ce mécanisme apomictique se développent normalement.

## C - Discussion

### 1° - Nombre chromosomique et nombre de base de l'espèce

Connue depuis 1781 par LINNÉ sous le nom d'*Alchemilla aphanoides* et considérée plus tard par d'autres auteurs comme la première espèce de la section *Lachemilla* (PERRY, 1929, page 3), cette espèce est encore inconnue au point de vue cytologique comme la plupart des représentants de la même section. Nous pouvons ainsi affirmer que la section *Lachemilla* - section réservée aux alchemilles des hautes altitudes de l'Amérique du Sud - a été étudiée ici pour la première fois sous cette optique.

Le nombre diploïde que nous avons obtenu chez cette espèce en additionnant les chromosomes des deux plaques de métaphase II d'une CMP varie entre 93 et 96. Plusieurs raisons permettent de penser que  $2n = 96$ .

D'abord, il paraît bien fondé que le genre *Alchemilla sensu lato* - avec ses trois sections *Eualchemilla*, *Aphanes* et *Lachemilla* (PERRY, *op. cit.*) - a pour nombre de base unique  $x = 8$ : DARLINGTON et WYLIE (1955) et LÖVE et LÖVE (1956). En outre, on a relevé des *Alchemilla* à  $2n = 96$  (LÖVE et LÖVE, *op. cit.*).

Cependant, parmi les numérations chromosomiques effectuées jusqu'ici chez le genre *Alchemilla sensu lato*, peu sont précises. Ce fait semble indiquer que les chromosomes ne s'y prêtent pas facilement au comptage.

D'autre part, le lot chromosomique d'une espèce pourrait subir des fluctuations frappantes. Prenons le cas de *Alchemilla vulgaris*. En effet, le nombre chromosomique de cette espèce est de  $2n = 96$  (JØRGENSEN et coll. cités par « Index to Plant Chromosome Numbers » pour 1958 publié par l'Université de North Carolina). Il a pourtant été estimé aux environs de 90 par LÖVE et LÖVE (1942, cités par DARLINGTON et WYLIE) et de 100 par EHRENBERG (1945, cité par les mêmes auteurs). Récemment,

TURESSON (1957) a fait des comptages sur les microespèces d'*A. vulgaris*; les nombres chromosomiques de ces dernières varient entre 101 et 110; le nombre diploïde dépasse ainsi nettement  $2n = 96$ . Tout cela montre combien est délicate la détermination des nombres de base précis pour le genre *Alchemilla sensu lato*.

### 2° - Différence dans les formes d'anomalie méiotique entre les tissus mâle et femelle

Il paraît certain que chez les espèces apomictiques, il n'y a pas de correspondance, au moins absolue, entre les formes d'anomalie méiotique qui s'observent dans les anthères et celles qui se produisent dans les ovules, les premières étant plus riches en modalités que les secondes. En effet, chez *Hieracium* et *Antennaria*, GUSTAFSSON (1938) a remarqué par exemple des noyaux de restitution dans les anthères mais jamais dans les ovules.

Chez *Lachemilla aphanoides*, il est difficile de faire une comparaison adéquate entre les anomalies méiotiques mâles et femelles. Car, si la sporogénèse arrive à terme dans le tissu sporogène mâle, elle s'arrête souvent avant la télophase hétérotypique dans le tissu reproducteur femelle. Or, précisément c'est la variabilité dans les dimensions des spores (ou des micronuclei) qui donne des renseignements précis sur la capacité d'appariement des éléments du génome, car en dernier ressort, c'est le degré d'appariement de ce dernier qui conditionne les anomalies de la division hétérotypique. Cependant, une chose est certaine, c'est qu'il ne se forme jamais de noyaux de restitution dans les ovules.

### 3° - L'avortement du pollen

Les dimensions des grains de pollen de *L. aphanoides* présentent une gamme si variée qu'on ne peut s'empêcher de croire que cette variation n'est conditionnée que par des fluctuations dans le nombre des chromosomes. Cela a été indiqué par l'étude de la microsporogénèse au squash. La haute fréquence des micronuclei dont les dimensions font croire à l'absence d'un grand nombre de chromosomes permet déjà de conclure à leur non-viabilité en particulier et à celle des grains de pollen en général. Le fait qu'à la fin peu de grains de pollen arrivent au stade de deux noyaux en constitue en outre une preuve bien significative.

Une autre preuve est fournie par le fait que parmi les grains de pollen, il y en a (environ 10%) qui se distinguent nettement de leurs compagnons par un volume au moins deux fois plus grand. En même temps, leur cytoplasme présente une chromaticité normale alors que celui des autres grains trouvés dans les mêmes loges polliniques accuse déjà une certaine dégénérescence. D'autre part, ce sont généralement eux seuls qui ont des noyaux bien différenciés en noyau reproducteur et noyau végétatif alors que les autres, dans les mêmes conditions, ne présentent qu'un seul noyau ou parfois deux mais non différenciés totalement; par exemple, ces deux noyaux peuvent avoir des volumes différents mais les mêmes degrés de chromaticité. En d'autres termes, les grains de pollen au volume double paraissent seuls viables. Or, leurs noyaux végétatif et reproducteur respectivement deux fois plus grands que ceux des autres grains sont sûrement issus des noyaux de restitution qui se forment à la division hétérotypique (fig. 83). Leurs nombres chromosomiques seraient donc très voisins (si non égaux) de  $2n$ ; donc il est peu probable que leurs appareils chromosomiques manquent de quelque élément faisant partie du nombre  $n$  normal dans les noyaux de grain de pollen. Cela explique leur pleine vitalité à côté de la vie d'apparence languissante de leurs compagnons trouvés dans les mêmes conditions.

Il en découle que l'avortement du pollen chez *L. aphanoides* est conditionné uniquement par la déféctuosité de son appareil chromosomique.

### 4° - Ce qui se passe dans le tissu reproducteur femelle

a) Plusieurs faits permettent de croire que le tissu sporogène femelle chez *L. aphanoides* se compose de deux catégories de cellules différentes tant par la position qu'elles occupent dans l'ensemble topographique du nucelle que par leur forme et leur biologie. La première est constituée par deux ou trois CME où la méiose avorte; elles occupent le centre. Quant aux autres cellules, elles sont au nombre d'une quinzaine entourant les CME et pouvant devenir directement des sacs embryonnaires par trois divisions successives du type somatique.

D'après MURBECK (1901) et BÖÖS (1924) cités par GUSTAFSSON (1946), dans l'archesporium d'*Alchemilla*, une seule CME véritable se forme et se distingue toujours nettement des cellules voisines. Elle offre une prophase méiotique puis dégénère. Pendant ce temps, certaines des cellules voisines qui sont potentiellement des archéspores se divisent par des mitoses de manière à former des files de deux à six cellules. Ces dernières peuvent présenter une prophase méiotique mais le plus souvent forment chacune un sac embryonnaire par trois mitoses successives. Les phénomènes que nous avons observés chez *Lachemilla aphanoides* sont très semblables à cette différence près que les véritables CME (celles dont les noyaux prennent une allure méiotique) sont au nombre de deux à trois, occupant une position centrale.

En outre, il paraît certain que chez cette espèce les cellules périphériques ne se divisent plus dès que la méiose s'amorce dans les CME du centre, mais ne font que se développer (à comparer fig. 84 avec fig. 89 dessinées à une même échelle). En effet, leur nombre reste sensiblement le même, compte tenu des légères variations d'un ovule à l'autre. D'autre part, nous n'avons décelé chez elles aucun indice de phénomène mitotique pendant ce temps. Ce n'est que plus tard, après la dégénérescence quasi complète des CME, qu'une ou deux d'entre elles subissent la mitose somatique pour devenir un ou deux sacs embryonnaires. Un tel comportement ressemble aussi au cas des *Potentilla canescens*, *argentea* et *praecox* (RUTISHAUSER, 1942 et 1948) avec cette différence que dans ces dernières ce sont toujours des cellules de la région chalazale, considérées par RUTISHAUSER comme des cellules somatiques, qui produisent les sacs embryonnaires diploïdes.

Chez *Lachemilla aphanoides*, ainsi qu'on l'a vu, les cellules qui donnent le sac embryonnaire sont situées tantôt sur les côtés, tantôt au-dessus (région micropylaire), tantôt à la base des véritables CME qui dégénèrent au cours de la division hétérotypique. Le cas présenté par cette espèce montre clairement que la limite entre diplosporée et aposporée est très difficile à établir. Aussi nous rallions-nous à l'opinion de GUSTAFSSON (1946) et de MAHESHWARI (1950) en rangeant le type de *L. aphanoides* dans les formes de transition entre diplo- et aposporée ou dans les types inclassables.

b) GENTSCHKEFF et GUSTAFSSON (1940) ont remarqué que dans le tissu reproducteur femelle des espèces apomictiques du genre *Hieracium*, la méiose se produit beaucoup plus tard que chez les espèces sexuées; et plus le décalage est grand, plus la division ressemble à la mitose somatique. Dans le cas de *L. aphanoides*, il y a un décalage très marqué entre les moments où la division se produit respectivement dans les CME qui occupent le centre de l'archesporium et les cellules périphériques qui seraient autant de CME d'après le travail de BÖÖS (*op. cit.*) sur *Alchemilla arvensis*. Cette suite de formes anormales qui s'étendent entre la méiose et la mitose somatique, GENTSCHKEFF et GUSTAFSSON l'expliquent par le fait que pendant l'intervalle de temps entre l'avènement de la méiose normale et celui des formes anormales, il se produirait un conflit entre la tendance à la méiose et certaines forces de vacuolisation qui développent les mégasporocytes et ce serait ces forces qui inhiberaient la méiose. Chez *L. aphanoides*, la production de vacuoles énormes dans les cellules périphériques de la masse sporogène femelle ainsi que leur développement si poussé – car au moment où elles subissent la division, les cellules périphériques ont un volume double de celui des CME à leur entrée en méiose – semblent confirmer les vues de ces auteurs.

## *Acaena ovalifolia*

### A - Structure du noyau

C'est un noyau presque aréiculé à chromocentres. Ceux-ci sont au nombre d'une vingtaine et ont des contours arrondis. Trois à cinq parmi eux se distinguent par leurs dimensions nettement plus grandes (fig. 90). Il semble que ces chromocentres particuliers sont des chromocentres collectifs car leur section dépasse largement celle des chromosomes (à comparer fig. 90 avec fig. 92 dessinées à une même échelle). Une particularité sépare ces chromocentres collectifs de ceux que nous avons observés chez d'autres espèces, notamment chez *Geranium ayavacense* et chez les Gentianacées et les rapproche beaucoup du cas des Oxalidacées: c'est qu'ils sont très compacts, ce qui donne l'impression d'une fusion

parfaite des chromocentres constituants. L'origine d'un tel degré de condensation des chromocentres devrait être recherchée dans la faible densité du réseau nucléaire. D'ailleurs, la forme arrondie de la plupart des chromocentres – ce que nous avons aussi remarqué chez *Oxalis spiralis* et *O. ptychoclada* dont le noyau est aréticulé – invite à penser que le noyau de *Acaena ovalifolia* est très près du type aréticulé.

Il est intéressant de mentionner ici le cas du noyau de *A. pinnatifida* qui paraît constituer un autre type de structure du genre. Car il est semi-réticulé avec des « chromocentres punctiformes dans les jeunes noyaux et dans les plus âgés, présence de deux ou trois agglomérats chromatiques plus ou moins compacts (chromocentres collectifs) » (DELAY, 1948).

### B - Les chromosomes et la méiose

1° Le noyau diploïde possède quarante-deux chromosomes :  $2n = 42$ . Ils sont petits : leurs dimensions s'étendent entre  $0,8 \mu$  et  $1,6 \mu$  (fig. 92). Cela aide à comprendre la très faible densité du réseau nucléaire.

2° La méiose est normale. A la métaphase I, il se forme vingt et un bivalents dont deux ou trois (fig. 91) n'ont pas leurs conjoints parfaitement unis. Au stade de tétrades, les microspores sont normales. Ce résultat final auquel aboutit la méiose indique que celle-ci est normale.

3° Peu de numérations chromosomiques ont été faites jusqu'ici dans le genre *Acaena*. Voici les nombres relevés :

- <i>A. anserinifolia</i>	$2n = 42$	$n = 21$	par MOORE <sup>1</sup>
- <i>A. ascendens</i>	$2n = 42$		par MOORE
- <i>A. novae-zelandiae</i>		$n = 21$	par DAWSON (1960)

Donc, tous les *Acaena* connus à ce point de vue sont hexaploïdes avec pour nombre de base  $x = 7$ . Ce dernier est aussi le nombre de base unique du genre *Sanguisorba* (DARLINGTON et WYLIE, 1955), assez voisin du genre *Acaena*.

### C - Quelques mots sur le tissu sporogène femelle

Le tissu sporogène femelle de *A. ovalifolia* possède une vingtaine de cellules. Parmi ces dernières, cinq ou six (celles qui en occupent le centre) ont un développement plus poussé et subissent presque en même temps la méiose. Le sac embryonnaire dérive d'une de ces CME tandis que les autres dégèrent en cours de méiose. Le même sort est réservé aux CME périphériques.

<sup>1</sup> Cité par « Index to Plant Chromosome Numbers » pour 1960.

## CHAPITRE 10

### *Leguminosae*

#### *Acacia macracantha* HBK

Le nombre diploïde  $2n = 26$  a été compté sur cette espèce par ATCHESON (1948) sur du matériel sud-américain. Le même nombre a été remarqué sur notre matériel. Ce qui semble indiquer que l'espèce est diploïde partout en Amérique du Sud.

#### *Cassia flavicoma* HBK

##### 1° - Structure du noyau - Les chromosomes

C'est un noyau semi-réticulé orné d'une trentaine de chromocentres de grandeurs inégales et aux contours déchiquetés, cela, sans compter de nombreux petits « grains » chromatiques dont plusieurs sont rangés en ligne droite dans le prolongement de ces chromocentres. Parmi ceux-ci, cinq ou six se trouvent accolés au nucléole généralement unique.

Les chromosomes ont leur centromère situé généralement au trois quarts de leur longueur (fig. 93). Le noyau diploïde en a seize:  $2n = 16$ . Avec ce nombre chromosomique, l'espèce est un diploïde avec pour nombre de base  $x = 8$ , un des quatre nombres signalés jusqu'ici dans le genre ( $x = 6, 7, 8$  et  $x_2 = 13$ , DARLINGTON et WYLIE, 1955).

L'étude de l'origine des nombres de base du genre *Cassia* a été abordée par IRWIN et TURNER (1960). Ces auteurs, après une étude portant sur 88 taxa, suggèrent que le nombre de base initial du genre serait  $x = 7$  dont dériveraient les deux autres (6 et 8). En effet,  $x = 7$  affiche une haute fréquence dans leur matériel d'étude. D'autre part, chez *C. auriculata* étudié par JACOB (1940) cité par les mêmes auteurs, la forme normale ( $2n = 14$ ) aurait donné naissance, par un phénomène de non-disjonction, à une forme vigoureuse à  $2n = 16$ .

##### 2° - Méiose

La méiose est normale chez *C. flavicoma*. A la diacinèse, il se forme huit couples de chromosomes dont deux s'accolent au nucléole (fig. 94). Les chromosomes-conjoints de chaque couple se condensent progressivement en huit bivalents à la métaphase hétérotypique.

#### *Crotalaria anagyroides* HBK

L'étude de cette espèce a été entreprise partiellement par KAWAKAMI (1930) qui en a déterminé le nombre haploïde ( $n = 8$ ). Il nous a paru utile de compléter cette étude sur d'autres points tels que la structure du noyau, le nombre diploïde...

##### 1° - Structure du noyau - Les chromosomes

C'est un noyau réticulé à chromocentres. La numération de ces derniers s'avère difficile car ils ont tendance à se grouper en chromocentres collectifs qui prennent des formes différentes. Il y a toujours quelques chromocentres qui s'accolent aux nucléoles dont le nombre peut être de un, deux ou trois. En général, le noyau a deux nucléoles.

Les chromosomes sont de taille moyenne. Le plus petit mesure  $2,8 \mu$  et le plus grand  $6 \mu$ . Ils ont un nombre de seize ( $2n = 16$ ) et peuvent être classés de la façon suivante (fig. 95):  $6L + 4M + 6P$ .

## 2° - La méiose

Chez *C. anagyroides*, la méiose est normale. A la diacinèse, les seize chromosomes forment huit couples qui deviennent huit bivalents à la métaphase hétérotypique (fig. 96). Sur cette figure, on remarque trois bivalents petits, deux moyens et trois grands comme l'a laissé penser la mitose somatique. Les chromosomes courts ne s'apparient pas parfaitement. Cela s'expliquerait par la faible proportion de chiasmata, caractéristique de ce genre de chromosomes.

### *Crotalaria sagittalis* L.

L'étude de cette espèce a été abordée en partie par TURNER et FEARING (1960) qui, sur du matériel du Texas, ont mis en évidence le nombre diploïde ( $2n = 32$ ). Il était intéressant de compléter cette étude sur d'autres points, notamment la structure du noyau et le nombre haploïde. Même pour l'étude des chromosomes somatiques, il nous a paru utile de la refaire, car il s'agissait d'un matériel d'une autre provenance.

#### 1° - Structure du noyau - Les chromosomes

C'est un noyau réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont pour la plupart du temps petits. En outre, on peut observer des chromocentres aux dimensions plus grandes, ce qui paraît indiquer une fusion de chromocentres. D'autre part, ces derniers ont tendance à former des plages collectives.

Les trente-deux chromosomes somatiques affectent des formes variées (fig. 97). La plupart sont arqués, quelques-uns sont droits, quatre peuvent se courber en anneaux.

Les chromosomes sont assez grands. Leurs longueurs mesurent entre  $1,4 \mu$  et  $3,8 \mu$ . Cela aide à comprendre la structure du noyau (DELAY, 1948, page 195).

2° Le nombre haploïde a été compté sur des plaques de métaphase de la première division pollinique. Il est de  $n = 16$ .

### *Desmodium canum*

(Gmel.) Schinz & Thell.

#### 1° - Structure du noyau - Les chromosomes

C'est un noyau peu réticulé avec une quinzaine de chromocentres dont deux au moins s'accolent au nucléole.

L'espèce a vingt-deux chromosomes ( $2n = 22$ ) qui affectent des formes différentes et des tailles variées (fig. 99). Les uns sont grêles et longs, d'autres, trapus. D'autres enfin sont fortement contractés. Deux d'entre eux ont une « zone achromatique » accentuée qui les ferait prendre pour quatre chromosomes, ce qui pourrait troubler la numération.

Les chromosomes mesurent de  $0,7 \mu$  à  $2,2 \mu$ . Cela semble déterminer la faible densité du réseau nucléaire (voir DELAY, 1948, page 195).

Il est intéressant de noter que les vingt-trois *Desmodium* étudiés jusqu'ici à ce point de vue - YOUNG (1939), DARLINGTON et WYLIE (1955), FRAHM-LELIVELLO (1957), MIÈGE (1959), TURNER et FEARING (1959-1960) et l'« Index to Plant Chromosome Numbers » de l'Université de North Carolina (avant 1956, 1956, 1957, 1959 et 1960) - ont tous  $2n = 22$  sauf *D. salicifolium* dont la valeur numérique du génome semble varier avec les conditions géographiques. En effet, d'après TURNER et FEARING (1959), le nombre diploïde de cette espèce est  $2n = 20$  sur du matériel provenant de la Rhodésie du Sud. Par contre, MIÈGE (*op. cit.*), sur du matériel d'Afrique occidentale, signale  $2n = 22$ . On pourrait donc considérer le nombre rapporté par les auteurs américains comme d'origine aneuploïde.

## 2° - La méiose

Chez l'espèce étudiée, la méiose est normale. A la métaphase I, il se forme onze bivalents. D'autre part, nous avons trouvé des microsporocytes où les deux noyaux-fils en métaphase (division homéotypique) ont chacun onze chromosomes. Tous ces faits confirment la numération diploïde faite sur des racines de germination.

## *Zornia diphylla* Pers.

L'étude cytologique de *Z. diphylla* a été faite partiellement par KRAPOVICKAS et FUCHS DE KRAPOVICKAS (1957) qui en ont signalé le nombre diploïde ( $2n = 20$ ) sur du matériel provenant de Coriéntès (Argentine). Il nous a semblé utile de compléter cette étude sur d'autres points, notamment la structure du noyau et même la numération des chromosomes somatiques, car il s'agissait d'un matériel d'une autre provenance.

### 1° - Structure du noyau

L'espèce possède un noyau interphasique presque aréticulé, orné d'une vingtaine de chromocentres. Deux d'entre eux se trouvent toujours accolés au nucléole unique (cas général) ou appuyés chacun sur un nucléole. Ces chromocentres paranucléolaires auraient une consistance beaucoup plus dense que celle des autres chromocentres, car leur chromaticité est plus accentuée.

### 2° - Les chromosomes - Syndiploïdie dans la racine

a) Le matériel péruvien nous donne aussi  $2n = 20$ . Un trait caractéristique de la mitose de cette espèce est la disparition tardive du nucléole (fig. 100). Celui-ci - sur du matériel fixé au Carnoy - persiste en effet jusqu'à la fin de la métaphase, alors qu'avec le même fixateur il disparaît généralement vers la fin de la prophase. Quant aux chromosomes, ils sont droits ou légèrement courbes. Leurs longueurs mesurent entre  $1,8 \mu$  et  $2,8 \mu$ .

A en juger par les nombres diploïdes ( $2n = 20$ ) de quatre espèces étudiées jusqu'ici, à savoir *Z. bracteata* (DARLINGTON et WYLIE, 1955), *gracilis*, *latifolia* et *diphylla* (KRAPOVICKAS et FUCHS DE KRAPOVICKAS, *op. cit.*), le genre composé de douze représentants (WILLIS, 1960) n'a pas dépassé encore le stade de la diploïdie.

b) Une caractéristique de la cytologie de *Z. diphylla* est l'observation courante de la syndiploïdie dans la racine. Les chromosomes-fils provenant d'une fissuration longitudinale d'origine endomitotique se séparent progressivement à la prophase tardive pour former des « paires de skis ». Puis à une extrémité de chaque paire, les deux partenaires semblent se repousser peu à peu et arrivent à se détacher définitivement à l'autre bout (fig. 101).

A la métaphase, les quarante chromosomes des noyaux tétraploïdes se comportent normalement.

Il paraît certain que ce procédé de polyploïdisation ne dépasse pas le degré  $4n$  dans la racine, car nous n'avons jamais trouvé ni de noyaux supérieurs à ce degré de polyploïdie - affirmation basée sur les comptages de plaques métaphasiques -, ni de métaphases à quarante paires de chromosomes appariés.

Il est intéressant de noter que la syndiploïdie s'observe assez couramment dans la racine des Légumineuses. On peut citer les cas de *Tephrosia noctiflora* (FRAHM-LIVELD, 1957) de *Cassia tora* (MIÈGE, 1960) et de *Parkia bicolor*, *Piptadeniastrum africanum* et divers *Albizia* (MANGENOT et MANGENOT, 1962). Des dessins du travail de TURNER et FEARING (1959-1960) sont aussi significatifs à ce point de vue.

## *Lupinus paniculatus* Desr.

et

## *L. aff. paniculatus* Desr.

On observe beaucoup de similitudes caryologiques entre ces deux taxa. Le noyau y est aréticulé à euchromocentres. Ces derniers sont au nombre d'une vingtaine.

A la métaphase hétérotypique, il se forme vingt-quatre bivalents normaux (fig. 98). Ces deux taxa possèdent donc  $2n = 48$ . Ce nombre chromosomique indique qu'ils sont tétraploïdes.

## CHAPITRE 11

---

### *Geraniaceae*

#### *Geranium ayavacense* Knuth

##### I - Structure du noyau - Méiose

1° C'est un noyau réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont nombreux et de tailles échelonnées progressivement jusqu'aux simples « grains » chromatiques qui forment les mailles du réseau, ce qui rend leur comptage difficile.

Un trait particulier chez les chromocentres de cette espèce est qu'ils ont une tendance générale à se regrouper en trois ou quatre plages collectives dont une au moins est paranucléolaire. Parfois, la majorité des éléments hétérochromatiques se concentrent en un seul groupe qui s'accrole alors au nucléole.

2° La méiose est normale. A la métaphase I, il se forme vingt-six bivalents normaux (fig. 102). Ce nombre a été vérifié aussi sur des plaques de métaphase II. L'espèce a donc pour nombre haploïde  $n = 26$ .

Il est intéressant de remarquer qu'on a signalé des *Geranium* à  $2n = 26$  seulement en Europe et au S-W de l'Asie (DARLINGTON et WYLIE, 1955). Notre étude montre que les espèces à  $x = 13$  ont une répartition plus étendue. D'autre part, dans le groupe ayant pour nombre de base  $x = 13$ , on n'a relevé jusqu'à présent que des diploïdes ( $2n = 26$ ). *G. ayavacense*, avec son nombre chromosomique tétraploïde, y constitue donc le polyploïde le plus élevé.

##### II - Le sac embryonnaire

###### A - Formation du sac embryonnaire

Des quatre mégaspores issues de l'archéspore unique devenue CME, c'est l'inférieure qui donne le sac à huit noyaux par trois mitoses successives. C'est la monosporie typique.

Parfois, une des trois antipodes tarde à venir occuper la place qui lui est destinée.

Les deux noyaux polaires fusionnent un peu tard, généralement après l'hypertrophie des noyaux des synergides. Nous avons observé un cas où l'embryon était déjà avancé alors que cette fusion n'avait pas encore eu lieu. Cela fait penser que la double fécondation n'est pas toujours réalisée chez l'espèce étudiée.

###### B - Transformations ultérieures des synergides

###### 1° - Synergides binucléées

Le noyau des synergides peut se diviser après la mise en place des éléments définitifs du sac. Cette caryocinèse n'est pas suivie d'une division cytoplasmique. Les synergides deviennent ainsi deux cellules binucléées (fig. 103). Mais le cas est rare et en général elles restent uninucléées.

###### 2° - L'hypertrophie des noyaux des synergides

Au cours de ce phénomène d'hypertrophie, des changements de structure surviennent dans les noyaux des synergides. La chromophilie de ces noyaux, normalement très faible chez cette espèce, se trouve vite renforcée. En même temps, il se forme des chromocentres dont les dimensions augmentent progressivement avec le volume des noyaux.

Il y a lieu de croire que cette évolution se fait en deux étapes successives. D'abord, c'est une étape courte où les noyaux des synergides ainsi que leurs chromocentres atteignent leurs volumes maximaux, puis une autre, très longue, durant laquelle la chromaticité de ces chromocentres déjà très intense reste inchangée comme leur volume et celui des noyaux dans lesquels ils se trouvent.

a) *La première étape* paraît avoir lieu très tôt et se poursuivre à un rythme accéléré. En effet, des noyaux de synergides aux chromocentres plus développés et plus chromatiques, au réseau plus dense et au volume quatre fois plus grand que le volume initial peuvent se trouver sur le même ovaire que ceux qui ne manifestent encore aucun signe d'hypertrophie. D'autre part, sur de multiples boutons d'âges différents étudiés, nous avons trouvé facilement des noyaux de synergides au volume maximum (seize fois plus grand que le volume initial) mais peu de stades intermédiaires. Cela suggère que ce procédé de multiplication de la matière chromatinienne se produit rapidement. Pendant ce temps, le volume des chromocentres augmente rapidement lui aussi.

b) *La seconde étape* commence dès que les noyaux des synergides ont atteint leur volume maximum. Elle prend fin avec la dégénérescence de ces cellules. Pendant cette longue période de temps, le volume des noyaux ainsi que celui des chromocentres restent sensiblement constants. A ce stade d'accroissement maximum de leur volume, on peut observer sur les noyaux des synergides les deux types de structure suivants :

D'abord, la plupart du temps, ces noyaux présentent des chromocentres très développés, au nombre sensiblement constant mais bien individualisés et presque aussi longs que larges. Cela confère aux noyaux un aspect quiescent.

Ensuite, dans quelques cas, ces chromocentres prennent des formes allongées et les parties qui relient deux unités successives deviennent visiblement chromatiques. Les noyaux apparaissent donc sous un aspect prophasique et ces chromocentres alignés donnent l'impression d'une formation de « chromosomes géants » (fig. 104). En effet, sur cette figure, on trouve des chromocentres volumineux reliés par des bandes plus ou moins nettes formées de grains de chromatine très fins (= chromomères?). Ces bandes s'aperçoivent surtout sur la gauche du noyau car elles ont été déplacées par la coupe. Le ruban visible sur la gauche paraît double et un des chromocentres sur la droite offre aussi un aspect de duplicité. Enfin, à proximité du nucléole, on observe un chromocentre paranucléolaire nettement dédoublé et attaché par deux tractus chromatiques parallèles à un chromocentre unique très volumineux, ce qui confère à ce chromocentre paranucléolaire un aspect de satellite. En outre, sur certains rubans qui paraissent les « primary strands » (HÅKANSSON, 1957), on voit deux rangées de chromomères parallèles. D'autre part, les parties hétérochromatiques (chromocentres) paraissent rassemblées surtout à la périphérie du noyau alors que les rubans formés seulement d'euchromatine (chromomères) et beaucoup moins chromatiques se trouvent à l'intérieur du noyau. Ce contraste donne l'impression d'une asynchronie entre les diverses parties des chromosomes, phénomène observé par plusieurs auteurs (voir FARRON, 1957).

Il nous est impossible d'agencer chronologiquement ces deux types de structure nucléaire rencontrés au moment où l'accroissement maximum du volume des noyaux des synergides était déjà atteint. Cependant, dans tous les cas, le nucléole persiste ainsi que la membrane nucléaire.

Il va sans dire qu'au cours de cette prophase (deuxième type de structure), les noyaux peuvent être asynchroniques d'une synergide à l'autre. Par exemple, dans l'une d'elles ils se trouvent en début de prophase tandis que dans l'autre, ils sont déjà arrivés à la fin. Cependant, les noyaux d'une même synergide (lorsque celle-ci est binucléée) sont rigoureusement au même stade. D'autre part, nous avons noté que dans une synergide binucléée, un noyau peut dégénérer (fig. 103). La portion du cytoplasme qui l'entoure est peu abondante, à en juger par son pouvoir de prendre le vert lumière, et séparée par une large vacuole du reste du cytoplasme beaucoup plus dense entourant l'autre noyau au développement normal.

### III - Formation du manteau

Dès après la mise en place des premiers éléments du sac embryonnaire, l'épiderme du tégument interne s'imprègne d'une substance chimique de nature inconnue. Cette transformation commence par la moitié supérieure puis s'étend peu à peu au reste de l'épiderme. Il se forme ainsi une sorte de manteau qui recouvre tout le nucelle, à l'exception de la région micropylaire où se trouvent les synergides.

Le développement de l'albumen et du suspenseur repousse les synergides hypertrophiées à l'extérieur de la brèche laissée par le manteau qui se referme complètement sur le nucelle. Celui-ci ne tarde pas à se résorber. Le manteau enserre alors de façon intime l'ensemble embryon-albumen.

Quant aux synergides, elles dégèrent. Cette dégénérescence s'annonce déjà avant leur exclusion définitive de la région micropylaire.

#### IV - Discussion

##### 1° - La formation des noyaux géants

La formation de « chromosomes géants » parfois observée ainsi que l'accroissement progressif en volume des chromocentres dont le nombre reste inchangé semblent indiquer que ce gigantisme tire son origine d'un phénomène d'« endomitose Geitlerienne » (voir chapitre 25: II, A, I).

Les changements de structure nucléaire dus au déroulement de l'endomitose, si frappants dans le cas des antipodes de *Papaver Rhoeas* (HASITSCHKA, 1956), ne s'aperçoivent presque pas dans les noyaux des synergides de *Geranium ayavacense*. On n'y voit en effet que deux structures nucléaires vraiment notées. D'abord, au début, après la mise en place des éléments du sac c'est-à-dire avant le commencement de l'endomitose, ces noyaux ont une structure peu chromatique comme c'est le cas général des noyaux de synergides. Puis, s'observe une autre structure où les chromocentres prennent des dimensions développées. Ainsi, cette forme d'« endomitose Geitlerienne » observée dans les synergides de *G. ayavacense* devrait être considérée à peu près comme une forme de multiplication statique de la matière chromatinienne. Les changements de structure nucléaire typiques au cours de l'endomitose font défaut également dans les noyaux endopolyploïdes des synergides de *Anemone helleborifolia* (chapitre 7). Ainsi, il semble que cette absence est une caractéristique du phénomène d'« endomitose Geitlerienne » qui a lieu dans les synergides.

Quant aux structures nettement de plus en plus prophasiques avec formation de « chromosomes géants » observées quelquefois dans les noyaux des synergides de *G. ayavacense* au stade d'accroissement maximum de leur volume, il est difficile de déterminer la place exacte qu'elles occupent dans le déroulement normal de ce phénomène d'endomitose. Pour expliquer leur existence, on pourrait envisager deux hypothèses. 1° Ou bien elles représenteraient le dernier cycle d'endomitose, 2° ou bien elles ne seraient que des formations « accidentelles » dont il est encore impossible, dans l'état actuel de nos connaissances, de dégager le mécanisme précis. Les remarques faites par d'autres auteurs sur d'autres matériels (voir chapitre 25: III, 3, b) à propos de ces formations semblent donner raison à la seconde hypothèse.

##### 2° - Le degré de polyplôidie des noyaux hypertrophiés des synergides de *G. ayavacense*

###### a) Méthode de mesure

Chez *G. ayavacense*, comme l'augmentation progressive du volume des noyaux des synergides va de pair avec l'accroissement dans les mêmes proportions des dimensions des chromocentres - accroissement qui signifie une multiplication certaine de la matière chromatinienne et par conséquent une élévation du degré de polyplôidie -, celui-ci peut être évalué dans un noyau pris à un stade donné en comparant son volume avec celui des noyaux des synergides qui ne manifestent encore aucun signe d'hypertrophie ni de structure endomitotique.

Il en découle que entre  $P_{(x)}$  et  $n$ , les degrés de polyplôidie respectifs d'un noyau hypertrophié et d'un noyau initial d'une part, et  $V_{(x)}$  et  $V_{(o)}$ , leurs volumes respectifs d'autre part, on peut établir la relation suivante:

$$\frac{P_{(x)}}{n} = \frac{V_{(x)}}{V_{(o)}} \quad \text{D'où:} \quad P_{(x)} = n \frac{V_{(x)}}{V_{(o)}} \quad (1)$$

Il ressort de la relation (1) que  $P_{(x)}$  peut être calculé si on connaît le rapport  $V_{(x)}/V_{(o)}$ . Or, il n'est pas facile de mesurer les volumes absolus des noyaux, car ces derniers ne prennent jamais des figures géométriques qu'on peut calculer à l'aide des formules établies.

Cependant, on peut mesurer le rapport  $V_{(x)}/V_{(o)}$  sur les noyaux des synergides de *G. ayavacense*, car ils prennent régulièrement une forme de lentille, qu'ils soient ou non hypertrophiés. Cette forme semble due au fait que les noyaux des synergides coiffent étroitement la vacuole formée alors dans la synergide, de telle sorte qu'ils en épousent la courbure. Cette similitude de forme facilite beaucoup le calcul de ce rapport parce qu'il équivaut en principe au rapport des cubes de deux segments homologues quelconques.

Or, le choix de deux segments vraiment homologues sur deux coupes de deux noyaux s'avère extrêmement délicat par le fait que le plan de la coupe n'a pas toujours la même direction et par conséquent les surfaces de section peuvent ne pas avoir la même forme. Ainsi, dans le cas des noyaux lenticulaires des synergides de *G. ayavacense*, nous avons choisi la plus grande distance  $d$  qui sépare deux points de la surface du noyau car elle correspond à peu près au grand axe de l'ellipse. Il en découle que le rapport (1) devient:

$$P_{(x)} = n \left( \frac{d_{(x)}}{d_{(o)}} \right)^3 \quad (2)$$

#### b) Degrés de polyploïdie des noyaux des synergides hypertrophiées

Avec le rythme de l'hypertrophie, le noyau des synergides de *G. ayavacense* change légèrement de forme. Le « dos » de la lentille, par exemple, devient de plus en plus plat. C'est pour cette raison que nous avons procédé à des mesures successives afin d'éviter de trop grandes erreurs.

Ainsi, pour estimer le degré de polyploïdie maximum  $P_{(M)}$  qu'un noyau de synergide peut avoir, nous avons pris par exemple trois noyaux de volumes différents: le premier, au volume maximum et ayant la plus grande distance  $d_{(M)}$ , le second, au volume moyen et avec  $d_{(m)}$  et le troisième, non encore hypertrophié auquel correspondait la distance  $d_{(o)}$ . Le calcul se fait, en appliquant la relation (2) ci-dessus, de la façon suivante:

$$P_{(M)} = n \left( \frac{d_{(M)}}{d_{(o)}} \right)^3 = n \left( \frac{d_{(M)}}{d_{(m)}} \cdot \frac{d_{(m)}}{d_{(o)}} \right)^3 \quad P_{(M)} = n \left( \frac{d_{(M)}}{d_{(m)}} \right)^3 \left( \frac{d_{(m)}}{d_{(o)}} \right)^3$$

Malheureusement, nous n'avons pu trouver sur nos préparations un nombre assez grand de noyaux de volumes différents pour faire des mesures statistiques. C'est pourquoi les mesures suivantes n'ont qu'un caractère indicatif. Nos mesures effectuées sur des noyaux dessinés avec exactitude à la chambre claire nous ont donné les valeurs relatives suivantes:  $d_{(M)} = 10,5$  unités de la chambre claire,  $d_{(m)} = 7$  unités et  $d_{(o)} = 4,5$  unités.

L'application de la dernière relation nous donne pour le noyau d'une synergide intermédiaire la valeur de  $4n$  et pour le noyau à la taille maximale celle de  $16n$ :

$$P_{(M)} = n \left( \frac{10,5}{7} \right)^3 \left( \frac{7}{4,5} \right)^3 = n (\neq 4) (\neq 4) = 16n$$

Ce qui paraît surprenant est que la série d'endomitoses permettant de passer d'un noyau haploïde à un noyau  $16n$  paraisse se dérouler très rapidement. Car d'une part, la taille maximale du noyau des synergides est atteinte dans des boutons à peine ouverts et d'autre part, nous n'avons trouvé qu'un stade intermédiaire (noyau à  $4n$ ), ce qui peut évidemment tenir au fait que nous n'avons pas eu assez de matériel.

#### 3° - Signification des « rubans » doubles observés sur les « chromosomes géants »

Le parallélisme remarqué sur les différentes parties dédoublées des « chromosomes géants » (fig. 104) - « rubans » doubles, satellites doubles... - indique la présence effective de deux chromosomes-fils qui restent encore liés l'un à l'autre en certains points de leur longueur. Car sans cela, le parallélisme ne serait pas maintenu.

Le fait que les « chromosomes géants » de *G. ayavacense*, comme ceux de *Anemone helleborifolia* (chapitre 7: D, 3, e), se composent de deux « rubans » chromatiques formés chacun de deux rangées de corpuscules chromatiques (vraisemblablement des chromomères) bien visibles au microscope optique a une signification particulière. Il montre d'abord que 1° ces « rubans » ne sont que les deux chromosomes-fils formés pendant l'interphase et avant l'apparition du phénomène d'endomitose; 2° les chromosomes-fils formés par la suite au cours des « cycles » d'endomitose successifs resteraient fortement accolés ensemble car il est impossible de les séparer au microscope optique; 3° enfin, le fait que les chromomères augmentent de taille sans que leur nombre ne s'accroisse apparemment fait penser que la forme d'« endomitose Geitlerienne » observée chez *G. ayavacense* est très proche d'une multiplication statique de la matière chromatinienne. Donc, ici on peut parler également d'une « besonders extreme Hemmung... von Mitosen » (GEITLER, 1955) comme dans le cas de *Allium ursinum*. Cela expliquerait l'absence de changements de structure nucléaire typiquement endomitotiques chez l'espèce étudiée.

#### 4° - « Asynchronie » entre les différentes portions des « chromosomes géants »

Certains auteurs ont mis l'accent sur le fait que dans un noyau à « chromosomes géants », les parties prophasiques (caractérisées par une chromatocité accrue) de ces derniers se trouvent à la périphérie tandis que celles qui occupent la cavité nucléaire sont en interphase. D'où une « asynchronie » entre ces diverses parties. Cette différence d'aspect présentée par les tronçons successifs d'un « chromosome géant » s'observe aussi dans le cas des noyaux des synergides de *G. ayavacense*.

Cependant, il semble qu'il s'agit là d'un phénomène commun aux « chromosomes géants » comme aux chromosomes ordinaires. En effet, l'« asynchronie intra- et interchromosomique » (RODKIEWICZ et OLSZEWSKA, 1963) – en d'autres termes l'achèvement plus ou moins rapide de l'assimilation des ADN faite par diverses portions de chromosomes au stade prophasique – a été mise en évidence par plusieurs auteurs au moyen des marquages des ADN assimilés avec des isotopes radioactifs. L'intérêt présenté par les « chromosomes géants » consiste essentiellement dans l'évidence frappante avec laquelle ce phénomène se fait remarquer sur leurs portions chromatiques « asynchrones » fortement développées dans les trois dimensions.

*Oxalidaceae*

Nous avons étudié deux espèces dans cette famille :

- *Oxalis spiralis* Don
- *Oxalis ptychoclada* Diels

A cause des points cytologiques communs existant entre les deux espèces, il nous paraît commode de réunir leur étude en un seul exposé.

**A - Structure du noyau - Les chromosomes**

Ce sont des noyaux aréiculés à euchromocentres. En effet, le nombre de ces grains d'hétérochromatine à partir desquels se forment les chromosomes à la caryocinèse ne dépasse jamais quatorze. Tous ces corpuscules, de dimensions différentes, baignent dans une nucléolymphe homogène colorée en rose pâle par le Feulgen. La même structure a été signalée par DOULAT (1943) chez *O. stricta*.

Quelques euchromocentres se trouvent régulièrement accolés au nucléole toujours unique. Le fait que la large auréole périnucléaire n'arrive pas à les séparer de ce dernier (fig. 106) montre que ces euchromocentres sont des chromocentres paranucléolaires.

*O. spiralis* et *O. ptychoclada* ont tous les deux seize chromosomes (fig. 107 et fig. 105). La comparaison de ces figures montre que *spiralis* possède des chromosomes plus épais. Cependant, les dimensions des chromosomes ne varient pas beaucoup d'une espèce à l'autre. Le plus grand mesure 2,2  $\mu$  et le plus petit, 0,8  $\mu$ . Ces nombres chromosomiques ont été d'ailleurs vérifiés sur des plaques de métaphase I. Donc pour les deux espèces,  $2n = 16$  et  $n = 8$ .

**B - Association des éléments hétérochromatiques**

Chez les deux espèces, les éléments hétérochromatiques montrent, dans certains tissus et à certaines périodes, une nette tendance au rapprochement mutuel. Ce mouvement est particulièrement frappant dans les noyaux des poils glanduleux (cas de *O. spiralis*) et du mésophylle des carpelles (voir sous C) mais surtout dans les microsporocytes au stade pachytène.

Dans ces cellules-mères en effet, au début de la « contraction » du peloton chromatinien (stade de synizesis), les éléments hétérochromatiques se concentrent au voisinage du nucléole unique en deux ou trois masses nettement plus chromatiques que le reste (fig. 108). Au stade pachytène, ces amas hétérochromatiques apparaissent avec une grande netteté par le fait qu'il n'y a qu'un seul élément hétérochromatique par chromosome, le noyau étant un noyau aréiculé à euchromocentres, et que les autres parties des chromosomes formées d'euchromatine sont encore peu chromatiques à ce stade. Cela fait ressortir encore davantage ces groupements. Tous ces éléments hétérochromatiques se rassemblent tantôt en deux ou trois groupes dont un paranucléolaire (fig. 110), tantôt en un amas unique qui, étant donné qu'il comprend aussi le bivalent paranucléolaire, s'accôle au nucléole (fig. 109). Dans ce dernier cas, de cet amas unique partent des filaments qui ne peuvent être que les différents chromosomes après leur appariement.

Quand vient le stade diplotène, ces amas hétérochromatiques se dissocient en deux ou trois groupes (fig. 111) dans lesquels on voit les parties chromatiques homologues s'apparier deux à deux. Pendant ce temps et jusqu'à la fin de la diacinèse, le bivalent paranucléolaire reste constamment accolé au nucléole.

Ces phénomènes - associations et dissociations des « chromocentres » à la prophase hétérotypique - ont été observés sur des squashes et des préparations au Helly-Feulgen. Les résultats sont les mêmes. Il serait donc logique de conclure à une réalité liée à la nature des choses et non à un artefact.

## C - Noyaux géants des poils glanduleux (de *O. spiralis*) et du mésophylle des carpelles

### 1° - Dans le mésophylle des carpelles

Dans ce tissu, on observe des cellules dont les dimensions s'accroissent avec l'âge de l'ovaire. Le squash prouve la nette individualité de ces cellules géantes. Le noyau, les chromocentres ainsi que le nucléole y augmentent progressivement en dimensions, à en juger par le fait que les volumes de ces éléments présentent une gamme de grandeurs progressives. Il se forme ainsi des noyaux géants et des chromocentres géants. Ces derniers, qui seront appelés endochromocentres en raison de la croissance endomitotique du noyau (voir F: sous 3), montrent des contours arrondis aux stades jeunes de l'ovaire. En outre, les endochromocentres manifestent une nette tendance à fusionner entre eux. Car leur nombre diminue de façon spectaculaire, descendant de quatorze à quatre ou trois groupes-unités (fig. 121). D'autre part, les formes de quelques-uns de ces derniers (par exemple ils deviennent deux ou trois fois plus longs que larges) ne peuvent être expliquées autrement que par une fusion ou du moins une association étroite de plusieurs d'entre eux. Ces groupes-unités sont donc des endochromocentres collectifs. Il est intéressant de noter qu'au cours de ces associations ou fusions, presque la moitié des endochromocentres se trouvent accolés au nucléole. Cela montre que dans ce cas, l'association peut avoir lieu entre chromocentres paranucléolaires et chromocentres non-paranucléolaires.

Dans les carpelles des fleurs très avancées de *O. spiralis*, à côté des noyaux géants dont les endochromocentres gardent encore des contours arrondis, on en observe d'autres où les endochromocentres prennent des formes de plus en plus anguleuses (fig. 122). En même temps, les gros endochromocentres semblent se disloquer (figure précédente, à remarquer le gros « chromocentre » paranucléolaire) et autour d'eux apparaissent soudainement de petits chromocentres et des appendices digitiformes. En outre, le nucléole auparavant unique s'étire et peut se fragmenter. Il en résulte deux nucléoles de grandeurs variables. Chose remarquable, à chaque nucléole se trouvent accolés quelques endochromocentres (fig. 120). Sur les squashes, on n'observe pas nettement la forme anguleuse et les appendices digitiformes des endochromocentres; cependant la formation des petits chromocentres au voisinage immédiat des gros endochromocentres est évidente (figure précédente).

### 2° - Dans les poils glanduleux de *O. spiralis*

Diverses parties du système végétatif de *O. spiralis*, en particulier les feuilles, le pédicelle, les sépales, les filets d'étamines du verticille moyen, sont recouverts de poils glanduleux. Ces poils sont les uns unicellulaires (sur les feuilles, les sépales et le pédicelle), d'autres, unisériés comprenant jusqu'à cinq cellules. Cependant, ce serait la cellule apicale seule qui jouerait le rôle sécréteur, à en juger par la forte chromatocité de son cytoplasme. De toutes les cellules d'un poil unisérié, la plus grande peut être ou la cellule apicale (cas des filets d'étamines du verticille moyen) ou la cellule basale (poils des sépales et du pédicelle): voir figure 117.

a) Le gigantisme s'observe sur certains noyaux de ces poils glanduleux<sup>1</sup>. Il est net dans le cas du noyau des poils unicellulaires et de la seule cellule apicale des poils pluricellulaires des filets d'étamines du verticille moyen. Par contre, sur les poils pluricellulaires des sépales et du pédicelle (fig. 117 c), les noyaux de toutes les cellules sont affectés.

Au cours de ce phénomène d'accroissement en volume, le noyau d'une cellule donnée d'une sorte de poil donné présente une gamme de grandeurs progressives. Il en est de même pour le nucléole. Cela fait penser à la croissance rythmique des noyaux endomitotiques (voir chapitre 25: II, A, 3). En même temps, les euchromocentres augmentent progressivement de taille, aboutissant à la formation d'endochromocentres géants.

Les endochromocentres offrent ici des contours arrondis. Parallèlement à leur accroissement, ils affichent une tendance accentuée à fusionner entre eux. Ainsi, leur nombre peut varier de quatorze (fig. 118) à quatre.

b) La dégénérescence des noyaux endomitotiques des poils glanduleux mérite une attention particulière.

<sup>1</sup> Et aussi sur les noyaux des poils tecteurs trouvés sur diverses parties de l'appareil végétatif.

Dans la plupart des cas, les endochromocentres, qu'ils aient fusionné ou non, présentent des contours arrondis jusqu'à leur dégénérescence qui conduit à une sorte de chromatolyse.

Exception faite cependant pour les cas du noyau de la cellule apicale des poils pluricellulaires des sépales et du pédicelle. En effet, lors de la dégénérescence, si les endochromocentres des noyaux des cellules inférieures gardent encore des contours arrondis, ceux du noyau apical ont par contre tendance à prendre des formes anguleuses et ornées d'appendices digitiformes (fig. 119). En même temps, le nombre d'« endochromocentres » augmente visiblement (à comparer la figure 118 avec la figure 119). Et, fait significatif, de petits chromocentres de grandeurs variées apparaissent alors dans le noyau, surtout au voisinage des gros endochromocentres. Cela donne l'impression d'une fragmentation de ces derniers. Cependant, jamais les gros endochromocentres ne cessent d'être observables dans le noyau de la cellule apicale.

## D - Le sac embryonnaire

### 1° - Formation du sac embryonnaire

La formation du sac embryonnaire est du type normal. Il est à noter que chez les deux espèces, nous avons trouvé plusieurs fois trois macrospores au lieu de quatre.

### 2° - Formation de l'hypostase

Le nucelle est peu développé. Sa croissance s'arrête au moment où commence la lignification des membranes des cellules constituant sa partie inférieure (fig. 112). Cet arrêt a lieu vers le stade de l'entrée en méiose de la CME.

L'existence de la lignine a été mise en évidence par le colorant caractéristique de cette substance, à savoir la phloroglucine chlorhydrique.

Avec le développement du sac embryonnaire, la partie supérieure du nucelle, celle dont les membranes ne sont pas lignifiées, dégénère et disparaît. Quant aux cellules aux membranes lignifiées, elles ne se divisent plus car leur nombre reste inchangé. Elles forment une sorte de creuset qui loge les antipodes et s'enfonce dans le tégument interne, étant repoussé par le sac, mais ne traverse jamais l'enveloppe protectrice du tégument interne. Cette masse cellulaire sert donc à arrêter la poussée excessive du sac dans la région chalazale.

Toutes ces particularités - lignification et arrêt imposé au développement du sac embryonnaire - sont donc les caractéristiques de l'hypostase conçue par VAN TIEGHEM (1901).

## E - Autofécondation de *O. spiralis*

Cette espèce a été récoltée sans échantillon-témoin. Une graine a été trouvée par hasard parmi les graines d'autres espèces. Mise en germination, elle a donné une plante qui a produit des fleurs mais dont la détermination restait encore problématique. Ce fut donc pour avoir des fruits que nous avons procédé à l'autofécondation.

Le choix des éléments mâles a porté sur les étamines du verticille moyen et non sur celles du verticille inférieur chez l'unique pied (forme longistylée) d'*O. spiralis* à notre disposition, uniquement parce que les tubes polliniques provenant du premier paraissent avoir plus de chance d'atteindre les ovules. Car en milieu de culture artificiel ils mesurent jusqu'à 300  $\mu$  contre 120  $\mu$  pour les tubes que donne le pollen des étamines inférieures. En outre, il faut retenir qu'il s'agit de la pollinisation des styles longs avec du pollen provenant des étamines d'un niveau d'insertion inférieur; autrement dit, le tube pollinique dans ces conditions aura un trajet deux ou trois fois plus long que celui sur lequel il germe dans le cas d'une fécondation dite « légitime ».

### 1° - Phénomènes de fécondation

Les tubes polliniques arrivent toujours nombreux aux ovules. Chacun peut en recevoir deux ou trois. Ceci, probablement en raison du nombre énorme des grains de pollen déposés sur les stigmates.

Un seul tube est accepté par les éléments femelles. La double fécondation a lieu effectivement.

Les autres tubes gardent leurs spermatozoïdes et restent encore assez longtemps dans la partie supérieure de l'albumen qui se divise activement.

L'incompatibilité biologique entre deux éléments mâle et femelle provenant de deux niveaux d'insertion différents chez une espèce hétérostylée<sup>1</sup> nous a incité à vérifier la réalité de la fécondation qui suivait cette pollinisation artificielle.

a) D'abord la fusion des spermatozoïdes avec les éléments femelles du sac auxquels ils sont destinés a été observée. Les spermatozoïdes, après s'y être introduits, s'accolent à leurs noyaux (fig. 113). Il en résulte le mélange de la matière chromatinienne mâle à la matière chromatinienne femelle (fig. 114).

Il semble que dès l'introduction du spermatozoïde au voisinage d'un noyau femelle, le nucléole mâle reconnaissable à sa taille beaucoup plus petite recherche activement son partenaire et entraîne à sa suite tout l'appareil chromatique qui l'accompagne (fig. 113 et fig. 114). La répartition de la matière chromatinienne mâle survient ensuite. Ses éléments hétérochromatiques se sont éparpillés mais toujours réunis en deux ou trois groupes de dimensions différentes et dont le plus développé reste encore accolé au nucléole mâle (fig. 114). Ce n'est qu'après qu'ils disparaissent. Alors la fusion entre les deux chromatines est complète.

Quant au nucléole mâle, il tarde à fusionner avec le nucléole femelle tout en y restant accolé (fig. 114). Une telle position suggérerait certainement l'idée d'un bourgeonnement du nucléole femelle. Cependant, chez *O. spiralis* aucun doute n'est possible. Car avant la fécondation, les deux noyaux femelles destinés à recevoir les éléments mâles ne présentent jamais qu'un seul nucléole, caractère d'ailleurs quasi universel chez les Angiospermes, du moins chez toutes celles que nous avons étudiées. En ce qui concerne le mécanisme du « bourgeonnement nucléolaire », nous renvoyons le lecteur au chapitre 18 (: E, 3).

b) La deuxième preuve de l'efficacité de la fécondation consiste dans le nombre chromosomique de l'albumen et dans celui de la première mitose de l'embryon. Le premier a un nombre de chromosomes sensiblement égal à  $3n = 24$  tandis que l'autre possède  $2n = 16$ .

Donc la double fécondation, malgré les frontières imposées par le phénomène d'hétérostylie entre deux éléments mâle et femelle appartenant à deux niveaux différents, a eu lieu effectivement chez *O. spiralis*.

### 2° - La formation de l'albumen

L'albumen est du type nucléaire. Le noyau central fécondé se divise le premier. Par le fait qu'avant la fécondation il se trouve dans la moitié supérieure du sac, l'albumen subit ses premières divisions dans la région micropylaire qui représente un premier centre de croissance.

Mais très vite, il se forme un autre centre dans une partie latérale de la région chalazale (fig. 115) vis-à-vis des antipodes qui persistent encore assez longtemps. Ainsi, l'axe ancien du sac embryonnaire se trouve légèrement dévié vers le côté dans la région inférieure.

Les deux centres, caractérisés par l'abondance des noyaux, fonctionnent parallèlement pour remplir le sac fécondé.

Tous les noyaux d'un même centre sont rigoureusement au même stade, mais les stades de division diffèrent d'un centre à l'autre (fig. 116). Et la région qui les rejoint a les noyaux rigoureusement synchroniques aussi, mais à un stade intermédiaire entre ceux qui se trouvent aux deux bouts. D'autre part, tous les noyaux de ces trois régions forment un syncytium. Tous ces faits fournissent une preuve de plus à l'hypothèse exposée dans le chapitre 24 (: La communauté cytoplasmique et le synchronisme des noyaux).

Les membranes apparaissent ensuite et séparent ces noyaux en des cellules normales.

### 3° - Faible proportion et fertilité des graines obtenues par autofécondation

Disons en passant que l'autofécondation apporte des transformations à la fleur de *O. spiralis*. La transformation la plus spectaculaire est offerte par le pédicelle et les carpelles. Tandis que ceux-ci subissent une forte torsion vers la gauche, entraînant à leur suite et les filets des anthères qui y restent

<sup>1</sup> A remarquer que cette incompatibilité chez les *Oxalis* hétérostylés-trimorphes peut être partielle ou totale suivant l'espèce et les hauteurs respectives des éléments mâle et femelle (voir ORNDUFF, 1964 et MULCAHY, 1964).

adhérents et les styles qui s'enroulent *en spirale* les uns autour des autres, le pédicelle se replie vers sa base au niveau de l'articulation et fait avec elle un angle aigu.

Chez *O. spiralis* ainsi fécondé « illégitimement » les fruits se forment facilement, dans presque 90% des cas. Cependant le nombre de graines obtenues ne dépasse pas 20% de celui des ovules. Elles sont réparties le long de la colonne placentaire<sup>1</sup>.

Mises en germination dès après la récolte, les graines n'ont pas levé tout de suite. Transportées avec le milieu de germination dans un frigorigère maintenu à 5 °C et accessible à la lumière, elles ont presque toutes germé au bout d'une année. Les jeunes plants se développent normalement. Tous ces faits montrent que les graines obtenues par cette forme de pollinisation « illégitime » chez *O. spiralis* sont des graines normales.

## F - Discussion

### 1° - Le nombre de base $x = 8$ chez le genre *Oxalis*

D'abord, il est intéressant de noter qu'on a remarqué jusqu'ici chez le genre *Oxalis* les nombres de base suivants:  $x = 5, 6, 7, \dots, 9, 11$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

Le premier représentant diploïde ayant  $x = 8$  a été trouvé par DIERS (1961) chez *O. peduncularis* (section *Carnosae*). Avec *O. ptychoclada* (même section) et *O. spiralis* (section *Origieae*), on trouve trois représentants appartenant à ce nombre de base. Ils sont tous de l'Amérique du Sud. Ce qui fait penser que ce nombre de base est spécifique de cette partie du monde.

D'autre part,  $x = 8$  complète la série des nombres de base mentionnés ci-dessus. La suite en cascade de ces nombres suggère que un des procédés de spéciation du genre a été l'aneuploïdie.

### 2° - Adhérences mutuelles des éléments hétérochromatiques

a) La fusion entre chromocentres a été observée chez plusieurs espèces (DELAY, 1948).

Chez les deux espèces étudiées, il y a lieu de croire aussi à l'existence de ce phénomène dans le noyau somatique. Car quelques euchromocentres ont des volumes trois fois plus grands que les autres et présentent une épaisseur plus développée que les chromosomes les plus épais. Ainsi, il semble que le nombre d'euchromocentres de ces *Oxalis* est probablement de seize.

b) L'association des éléments hétérochromatiques devient frappante dans certains tissus et à certains stades de la vie cellulaire. Ainsi dans les noyaux géants des poils glanduleux et des poils tecteurs par exemple, le nombre d'euchromocentres diminue progressivement de quatorze à quatre. Plus curieux encore est le phénomène d'association-fusion d'euchromocentres géants dans plusieurs cellules du mésophylle des carpelles des fleurs avancées. Leur nombre peut se ramener à trois.

Cependant, c'est à la première partie de la prophase hétérotypique que cette adhérence interchromocentrique devient spectaculaire chez les deux *Oxalis* étudiés. En effet, les euchromocentres peuvent se rassembler en une masse unique. Un cas analogue a été signalé chez *Impatiens Balfourii* où les quatorze chromosomes formeraient un XIV-valent (VAZART, 1958). Dans le cas de *O. spiralis* et *O. ptychoclada*, il est peu probable que cette forme d'association résulte d'un interchange segmentaire entre chromosomes, car elle ne se maintient jamais au-delà du stade pachytène.

### 3° - Les noyaux géants des poils glanduleux (de *O. spiralis*) et du mésophylle des carpelles

a) Au cours de l'accroissement en volume des éléments du noyau (euchromocentres, nucléole et nucléolymphe), on n'observe dans ces noyaux géants aucun changement de structure nucléaire comparable au cas des noyaux de poils glanduleux de *Cerastium mollissimum* (chapitre 6). Il est pensable que cette différence tient au fait que chez cette espèce le noyau est réticulé alors que chez *O. spiralis* et *O. ptychoclada* il est dépourvu de réseau. Le gigantisme nucléaire observé sur les deux *Oxalis* cons-

<sup>1</sup> Récemment, plusieurs fécondations « illégitimes » ont été réalisées sur des représentants nord-américains de la section des *Corniculatae* (Reiche) R. Knuth dont *O. suksdorfii* (ORNDUFF, 1964) et *O. praeae* (MULCAHY, 1964). Afin de compléter nos observations fragmentaires dans le cas de *O. spiralis* (section des *Origieae* R. Knuth), nous renvoyons le lecteur aux travaux de ces auteurs. Car nous pensons que la compatibilité entre le pollen et les stigmates d'un *Oxalis* à hétérostylie trimorphe dépend non de la position taxinomique qu'il occupe dans l'ensemble du genre mais du niveau d'insertion des étamines et des stigmates sur la fleur.

titue donc un cas typique de multiplication statique de la matière chromatinienne, une forme du phénomène d'« endomitose Geitlerienne » observée fréquemment dans le trichome (voir chapitre 25: 11, A, 4, a).

La seule preuve de l'existence de ce procédé de multiplication chromatinienne est constituée dans le cas des *Oxalis* étudiés par la croissance rythmique des noyaux accompagnée d'un accroissement progressif en volume des euchromocentres.

b) Une discussion sérieuse s'impose pour parvenir à la compréhension des structures nucléaires observées lors de la dégénérescence du noyau de la cellule apicale des poils pluricellulaires des sépales et du pédicelle et sur les noyaux géants du mésophylle des carpelles de *O. spiralis* et représentées respectivement par la figure 119 d'une part et les figures 120 et 122 d'autre part. Trois faits les caractérisent: 1° l'apparition soudaine des petits chromocentres, 2° la multiplication des gros « endochromocentres » et 3° la forme anguleuse ainsi que les appendices digitiformes que prennent alors ces derniers.

D'abord, en raison de sa seule apparition à la dégénérescence du noyau endomitotique, c'est-à-dire après la fin de l'endomitose, ce changement de structure nucléaire ne peut pas être interprété comme un de ces changements de structure nucléaire qu'on observe sur d'autres matériels au cours de ce phénomène de multiplication chromatinienne (voir chapitre 25: 11, A, 2).

Ensuite, la formation soudaine des petits chromocentres à côté des gros « endochromocentres » ne peut pas être interprétée comme due à l'accroissement endomitotique de chromocentres qui seraient restés jusqu'alors imperceptibles à cause de leurs petites dimensions. Car de tels chromocentres ne s'observent jamais sur des noyaux endomitotiques jeunes et ayant les mêmes dimensions, en d'autres termes des noyaux qui auraient subi un même nombre de « cycles » endomitotiques. En outre, on constate alors – le cas est particulièrement évident sur le noyau apical endomitotique des poils glanduleux des sépales et du pédicelle – une nette augmentation du nombre d'« endochromocentres », sans compter les petits chromocentres déjà mentionnés. Il suffit de comparer la figure 119 et la figure 118 où les nombres des dits « endochromocentres » sont estimés respectivement à dix-huit et quatorze, ce dernier étant le nombre le plus élevé que peut présenter ce noyau apical avant la dégénérescence. Ainsi la formation des petits chromocentres et la nette multiplication des « endochromocentres » ne pourraient être que les conséquences d'une forme de désagrégation des endochromocentres initiaux, en d'autres termes des endochromocentres individuels qui s'étaient unis pour former les gros endochromocentres collectifs.

Cette explication semble d'ailleurs appuyée par le fait que les gros endochromocentres prennent alors des formes échancrées et prolongées de tous côtés par de nombreux appendices digitiformes, ce qui suggère une dislocation de ces chromocentres en des parties plus petites qui s'apprêteraient à se séparer les unes des autres.

Si cette interprétation était correcte, on pourrait conclure ici à une forme de désagrégation d'endochromocentres curieuse: 1° Elle s'amorcerait par l'extraction de petits chromocentres de dimensions variées à partir des gros endochromocentres et ne serait jamais achevée. Car on ne cesse jamais d'observer de gros endochromocentres dans le noyau de la cellule apicale des poils glanduleux des sépales et du pédicelle et dans les noyaux géants du mésophylle des carpelles. 2° Une autre conclusion s'impose: cette désagrégation n'est pas progressive dans le sens que les endochromocentres se fragmentent en portions de plus en plus petites. Il suffit de considérer l'ensemble des chromocentres, petits et grands, sur les figures 119 et 122 pour s'en convaincre. 3° Cependant, le côté le plus intéressant de cette forme de désagrégation d'endochromocentres est qu'elle ne se produit pas sur tous les noyaux endomitotiques dégénérescents d'un même matériel. Le cas de *O. spiralis* est typique. Chez cette espèce en effet, parmi les noyaux endomitotiques des différents tissus (noyau unique des poils tecteurs, noyau de la cellule apicale des poils glanduleux pluricellulaires des filets d'étamines du verticille moyen, tous les noyaux des cellules des poils glanduleux pluricellulaires des sépales et du pédicelle et enfin noyaux géants du mésophylle des carpelles), cette désagrégation affecte seulement le noyau apical des poils pluricellulaires des sépales et du pédicelle et les noyaux géants du mésophylle des carpelles. Ce fait montre clairement que la désagrégation d'endochromocentres signalée çà et là par divers auteurs (voir chapitre 25: 11, B, 1) sur le noyau endomitotique dégénérescent n'est pas un phénomène général.

c) Quant à la tendance à la fragmentation remarquée sur le nucléole unique des noyaux géants du mésophylle des carpelles des fleurs avancées de *O. spiralis*, elle devrait être interprétée plutôt comme la conséquence d'une dissociation des endochromocentres paranucléolaires fusionnés auparavant et qui se sépareraient alors en emportant chacun une partie du nucléole géant unique (à comparer fig. 120

avec fig. 121); il s'agit ici d'un véritable phénomène de « bourgeonnement nucléolaire ». Donc la désagrégation des endochromocentres s'accompagne dans ce cas d'une dissociation des endochromocentres collectifs. En faveur de l'existence de ce phénomène de dissociation, on peut évoquer quelques arguments (forme échauffée et appendices digitiformes des endochromocentres) déjà formulés à propos de la désagrégation des endochromocentres (voir ci-dessus, sous b).

#### 4° - L'existence de trois macrospores

Chez les deux *Oxalis* étudiés, la formation d'une file complète de quatre macrospores comme dans le cas de la monosporie typique ne s'observe pas toujours. Parfois, nous n'en avons remarqué que trois (fig. 112) dont la supérieure touchant le plus près le micropyle affiche une dégénérescence très précoce, car la chromatolyse y a déjà commencé et le nucléole disparaît, tandis que les deux autres possèdent encore un noyau normal. Tout cela invite à penser que la division II manque seulement dans la dyade supérieure. Par conséquent, la macrospore issue de la dyade inférieure et qui deviendra le sac embryonnaire est le produit normal d'une mégasporogénèse monosporique.

L'avortement de la division II chez la dyade qui ne servira pas à la formation ultérieure du sac traduirait-elle un stade d'évolution avancé chez les deux *Oxalis*? Car il élimine un mécanisme non seulement inutile mais nuisible à l'autre dyade par le fait qu'une mitose dépense toujours une certaine somme d'énergie pour le mouvement des éléments chromatiques du noyau.

Mais on pourrait croire aussi à une certaine insuffisance dans l'énergie emmagasinée par la CME dans l'ovule où la division II avorte sur une des deux dyades.

De toute façon, nous avons remarqué ce fait également chez *Anemone helleborifolia* (chapitre 7) et *Specularia biflora* (chapitre 21). De même, elle a attiré l'attention de STENAR (1932): « Selbst habe ich bei *Allium nutans* gesehen, dass die E.M.Z. drei Macrosporen hervorbringen kann » (cité par HÅKANSSON, 1951, page 143).

#### 5° - Formation de l'albumen chez *O. spiralis*

L'albumen de *O. spiralis* est du type nucléaire. Une des conséquences de la croissance jusqu'à un état avancé de l'albumen nucléaire est la formation de deux ou trois centres de mitose différents caractérisés chacun par un synchronisme rigoureux entre ses noyaux.

L'asynchronisme entre différents centres de synchronisme dans un albumen nucléaire a été remarqué par maints auteurs chez maintes espèces, notamment chez *Pisum sativum* par COOPER (1938) qui note que « les premières divisions sont simultanées, cependant, par la suite, ... ce n'est qu'approximativement au même stade de mitose. Par exemple, les noyaux au voisinage de l'embryon peuvent être en métaphase alors qu'ils sont en prophase à la région chalazale... » (page 127).

Il serait parfaitement logique de penser que le synchronisme rigoureux entre les noyaux de chacun de ces centres de mitose n'est que le fruit d'un cytoplasme commun et homogène. Car deux noyaux nés en même temps et mis dans les mêmes conditions trophiques que constitue le cytoplasme homogène environnant ne peuvent que s'y développer suivant le même rythme et par conséquent se diviseront en même temps (voir chapitre 24: La communauté cytoplasmique et le synchronisme des noyaux).

Ainsi, ce serait sans doute le manque d'une homogénéité absolue qui est la cause unique du décalage entre les stades de ces centres de mitose observé sur l'albumen nucléaire de *Pisum sativum* et de *O. spiralis*. Ce manque d'homogénéité peut être causé par l'existence de courants de cyclose locaux qui n'arrivent pas à charrier les substances trophiques d'un bout à l'autre de la communauté et à homogénéiser le milieu ambiant dans lequel se trouvent les noyaux.

## CHAPITRE 13

---

### *Polygalaceae - Hypericaceae - Loasaceae*

#### *Polygala paniculata* L.

Le peu de matériel provenant de quelques graines en germination ne nous a pas permis l'étude de la structure du noyau.

Sur une plaque de métaphase somatique (fig. 123), nous avons évalué le nombre chromosomique de l'espèce aux environs de  $2n = 52-56$ . Avec un tel nombre, cette dernière est certainement un polyploïde.

#### *Hypericum aff. paniculatum* Lam.

L'espèce possède douze chromosomes (fig. 124):  $2n = 12$ . C'est donc un diploïde ayant pour nombre de base  $x = 6$ . C'est un nouveau nombre de base du genre *HYPERICUM* et le plus petit (voir DARLINGTON et WYLIE, 1955).

Il en découle que *H. gentianoides* ( $2n = 24$ ) considéré comme un diploïde par les auteurs cités ci-dessus est certainement un tétraploïde.

#### *Loasa Poissoniana*

Urb. & Gilg

L'espèce a été étudiée sommairement par DIERS (1961) qui a compté  $2n = 28$ .

##### A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° C'est un noyau au réseau peu net et parsemé d'une quinzaine de chromocentres dont deux se trouvent toujours accolés au nucléole unique. Ce sont les chromocentres paranucléolaires (fig. 125).

2° Les chromosomes sont petits et grêles. Leur longueur ne dépasse pas  $2\mu$ . Cela aide à comprendre la faible densité du réseau nucléaire.

Le noyau diploïde en a vingt-huit:  $2n = 28$ . Ce nombre a été vérifié sur des plaques de métaphase I où il se forme quatorze bivalents (fig. 128) et sur des plaques de métaphase II où s'observent quatorze chromosomes.

Parmi les vingt-huit chromosomes, deux portent chacun un satellite relié au corps principal du chromosome correspondant par un tractus court et très mince. En outre, au début de la métaphase somatique, on observe deux chromosomes qui touchent par leur extrémité le nucléole unique (fig. 126). Il est probable que ces chromosomes correspondent aux chromosomes satellitifères, étant donné que les satellites s'accolent normalement aux nucléoles. Dans le cas de l'espèce étudiée, il est difficile de l'affirmer, car les tractus satellitifères sont courts et un ou deux satellites peuvent par conséquent passer inaperçus (fig. 127 où un satellite reste accolé au nucléole malgré l'écrasement).

##### B - La méiose

A la première partie de la prophase hétérotypique, les deux chromocentres paranucléolaires restent toujours accolés au nucléole. C'est la technique des squashes qui met en évidence le caractère bien fondé de cette attraction. Car malgré l'écrasement ayant pour effet l'exclusion du nucléole qui emporte

avec lui un lambeau du peloton chromatinién, le nucléole retient toujours le peloton de chromatine au niveau des chromocentres paranucléolaires reconnaissables au fait qu'ils sont les chromocentres les plus grands du noyau. Au stade pachytène, plusieurs fois nous n'observons qu'un seul « grain » chromatique appuyé sur le nucléole: cela suggère que les chromocentres paranucléolaires se sont appariés de façon intime.

Quant aux satellites, ils deviennent généralement invisibles à la métaphase I. Nous avons observé un cas où ils ne sont pas l'un sur l'autre mais occupent les deux pôles du bivalent qui les porte (fig. 128).

### *Loasa macrantha*

Urb. & Gilg

Le noyau de cette espèce présente beaucoup de ressemblances avec celui de *L. Poissoniana*: même densité du réseau, même quantité de chromocentres et de chromocentres paranucléolaires, même nombre de chromosomes, à savoir  $2n = 28$  (fig. 129). Les chromosomes aussi ont presque le même ordre de grandeur.

### *Cajophora coronata*

Hook & Arn.

1° C'est un noyau réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont au nombre d'une dizaine dont plusieurs restent accolés aux nucléoles et séparés du reste du réseau par l'auréole périnucléolaire. Le réseau peut se concentrer en certains endroits, surtout au voisinage des nucléoles. Ces rassemblements prennent un aspect de plages chromatiques collectives (fig. 130).

Le noyau peut posséder trois ou quatre nucléoles, de grandeurs inégales. Il est à remarquer que sur du matériel (racines de plantes en pots) fixé au Nawaschine, les noyaux d'une même coupe ne présentent pas tous une auréole périnucléolaire. Certains ne l'ont pas et alors les nucléoles sont bordés d'une ceinture chromatique (coloration au Feulgen) qui les entoure de très près; ces noyaux représentent au moins 50% de l'ensemble d'une coupe et occupent des positions variées, très souvent à côté même des noyaux à auréole périnucléolaire nette.

Les nucléoles peuvent fusionner en un seul qui occupe alors une position centrale. Dans le cas où le nucléole est unique, il peut prendre des formes variées: il peut être soit sphérique, soit elliptique, soit accompagné d'un petit nucléole qui prend l'aspect d'un « bourgeon ». Ce dernier cas doit être interprété, à notre avis, comme une fusion nucléolaire inachevée.

2° A la fin de la prophase somatique, plusieurs chromosomes s'appuient sur le nucléole. Ce fait paraît indiquer l'existence de plusieurs chromosomes nucléolifères dans le noyau diploïde.

3° Ce dernier possède seize chromosomes dont les longueurs mesurent entre 1,6  $\mu$  et 4  $\mu$  (fig. 131). Ces grandes dimensions aident à comprendre la densité accentuée du réseau.

Les chromosomes peuvent être répartis de la façon suivante: 2 LL + 2 L + 2 M + 10 P.

La fissuration des chromosomes est généralement très visible à la métaphase (fig. 131), même vers la fin de la prophase. Cette particularité paraît constituer une propriété des chromosomes longs.

### *Cajophora Buraeavi*

Urb. & Gilg

#### *1° - Structure du noyau - Les chromosomes*

L'espèce a un noyau réticulé à chromocentres. Si le réseau y est parfaitement net, les « chromocentres » peuvent donner lieu à une discussion. En effet, un simple coup d'œil jeté sur une coupe transversale de racine révèle une diversité de structures frappante.

Ceci est dû au fait que les dits chromocentres peuvent avoir différents volumes d'un noyau à l'autre. Il y a des noyaux où ils ne sont que de petits « grains » chromatiques, légèrement plus visibles

que ceux qui forment les « nœuds » du réseau; leur visibilité se trouve atténuée par la densité assez forte de ce dernier. Il y a des cas où ils constituent de véritables plages chromatiques développées et apparemment compactes; elles sont au nombre d'une dizaine et se concentrent la plupart du temps autour des nucléoles; ces plages peuvent donc être considérées comme des chromocentres collectifs. Il y en a d'autres enfin où tout le réseau semble se condenser seulement autour ou au voisinage du nucléole et confère au noyau un aspect de noyau à calotte. Ces trois types de noyaux s'observent à l'état interphasique. Ils sont réperés dans des régions d'activité mitotique des racines et ne montrent aucun signe de division. Ils ne représentent que les trois aspects différents d'un même noyau au réseau pulvérisé en de très petits chromocentres capables de se rassembler de façon plus ou moins accentuée, soit en plages chromatiques, soit en une seule calotte.

Les nucléoles présentent les mêmes comportements que ceux de *Cajophora coronata*.

A la prophase somatique, plusieurs chromosomes s'appuient sur le nucléole. On observe une fissuration totale des chromosomes vers le début de la métaphase.

Le noyau diploïde possède quatorze chromosomes qui mesurent de  $3,4 \mu$  à  $8 \mu$ . Cet ordre de grandeur de chromosomes explique la forte densité du réseau. Les deux plus grands chromosomes satellitaires sont très nets: les satellites sont petits et reliés au corps du chromosome par un tractus très mince. Deux autres paraissent porter des satellites aussi (fig. 132); cependant, les dimensions développées de ces derniers ainsi que l'épaisseur réduite de la partie peu chromatique qui les sépare des chromosomes-porteurs paraissent indiquer qu'ils ne seraient que des artefacts produits par le fixateur qui est ici le Nawaschine. A ce sujet, EICHORN (1931) a fait des remarques analogues. Il est aussi très significatif que les satellites de ces chromosomes ne s'observent jamais sur les squashes.

A la métaphase, les chromosomes somatiques forment souvent des associations (fig. 133), phénomène signalé par maints auteurs – notamment EFTIMIU-HEIM (1943) sur les Orchidacées – et dont la signification échappe encore.

## 2° – La méiose

Signalons brièvement que la méiose est normale chez *C. Buraeavi*. A la division hétérotypique, les chromosomes forment sept bivalents normaux (fig. 134).

## Discussion sur les Loasacées

### 1° – Le genre *Cajophora*

Jusqu'ici, ce genre était censé avoir pour nombre de base  $x = 8$ , ce que confirme le nombre trouvé par nous chez *C. coronata*. Mais l'existence de  $2n = 14$  chez *C. Buraeavi* paraît montrer que le genre *Cajophora* possède aussi  $x = 7$ . On pourrait évidemment se demander si la délimitation des deux genres *Loasa* et *Cajophora* par les taxinomistes est bien fondée. Cette question ne pourra être tranchée que par des études ultérieures.

### 2° – Le nombre de base des *Loasa* à $2n = 28$

Le nombre  $2n = 28$  a été signalé chez quelques *Loasa*. Jusqu'ici on les a considérés comme des diploïdes (cf. DARLINGTON et WYLIE, 1955). Cependant, le nombre de base  $x = 7$  trouvé chez le genre *Cajophora* est sans doute aussi celui du genre *Loasa*. Les espèces à  $2n = 28$  de ce dernier sont donc des tétraploïdes.

*Remarque:* D'après Mademoiselle A. Lourteig qui a bien voulu revoir nos échantillons de Loasacées et que nous remercions ici, l'espèce appelée par nous *Cajophora coronata* serait plutôt un *C. aff. superba* R. A. Phil. De même, *Loasa Poissoniana* n'appartiendrait pas à ce taxon (?).

Dans l'état actuel des connaissances, et comme nous l'écrivait M<sup>lle</sup> Lourteig, on ne peut arriver à plus de précision sans procéder à une révision des Loasacées d'Amérique du Sud.

---

*Begoniaceae*

*Begonia bracteosa* DC

A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° - Structure du noyau

HAMEL (1937) a été parmi les premiers à étudier la structure du noyau des Bégoniacées: « Le noyau des Bégoniacées paraît « homogène » sans réseau d'aucune sorte; ... j'ai observé appliqués le long de la paroi nucléaire des grains sphériques ou légèrement ovoïdes ... Les grains sont des prochromosomes: si on essaie de les compter, leur nombre est souvent égal et jamais supérieur à celui des chromosomes définitifs » (page 400).

EICHHORN (1937) a remarqué la même structure chez *Begonia pictaviensis*.

*B. bracteosa* aurait le même type de noyau. Nous n'y pouvons observer aucune trace de réseau. Du fait que les chromosomes sont petits, les prochromosomes le sont aussi, ce qui gêne considérablement leur comptage. Une vingtaine d'entre eux apparaissent nettement, mais leur nombre réel est plus élevé car plusieurs sont flous et paraissent en-dessous de la limite de visibilité. Malgré le fait que les prochromosomes visibles sont en nombre inférieur à celui des chromosomes, nous pensons qu'un tel type de noyau aréticulé se rattache tout de même au type euchromocentrique, entendu dans le sens de DELAY (1948, page 208). Ce serait l'extrême petitesse des prochromosomes qui empêcherait de les mettre tous en évidence. Deux prochromosomes (ou euchromocentres) se distinguent nettement par leurs dimensions plus développées et leur comportement paranucléolaire. Ce sont donc les deux prochromosomes paranucléolaires du noyau. Parfois on les observe accolés chacun à un nucléole, le nombre de ces organites étant alors de deux par noyau. D'autres fois, ils s'accolent à un nucléole unique où ils occupent généralement deux positions diamétralement opposées (fig. 136).

2° - Les chromosomes

A part cinq ou six chromosomes assez grands, les autres sont en général très petits, de l'ordre de 0,3  $\mu$ . Ce facteur joint au fait que même sur les squashes les chromosomes somatiques ne se détachent pas facilement rend le comptage du nombre diploïde particulièrement délicat. Deux chromosomes sont plus grands que leurs compagnons (fig. 135). Ils mesurent environ 1,6  $\mu$ .

B - La méiose

1° - La division hétérotypique

Le comportement des deux prochromosomes paranucléolaires a retenu particulièrement notre attention.

Lors de la « contraction » du peloton chromatinien (fig. 137), le nucléole unique est repoussé à la périphérie du peloton. Cette position donne l'impression que la « contraction » du peloton est brusque et que si le nucléole réussit à s'y maintenir par un petit point, ce n'est que grâce à la prise solide par laquelle les prochromosomes paranucléolaires le retiennent.

Au stade pachytène (fig. 137), ils se trouvent toujours intimement accolés l'un à l'autre tout en s'appuyant ensemble sur le nucléole unique, ce qui donne l'impression qu'ils s'apparient. Cependant,

jamais ils ne fusionnent. Les quelques cas où ils se trouvent former une masse compacte doivent être interprétés comme des figures de superposition.

A la diacinèse (fig. 138), le bivalent paranucléolaire est nettement plus grand que les autres en raison des dimensions développées de la partie hétérochromatique des conjoints, ce qui permet de le distinguer facilement de ses compagnons.

A la métaphase I (fig. 142), il se forme vingt-six bivalents normaux dont un est très remarquable par sa grandeur qui dépasse celle de ses compagnons.

Donc,  $n = 26$ . Ce nombre a été d'ailleurs vérifié sur des figures de diacinèse, de fin de prophase II (fig. 143) et de métaphase II.

Il se produit des associations secondaires curieuses à la métaphase I. Les bivalents paraissent se répartir en deux groupes à peu près égaux reliés entre eux par des bivalents-ponts (fig. 139). Ces figures obtenues sur les squashes où les bivalents, malgré la pression exercée sur eux, arrivent à maintenir leur adhérence mutuelle, montrent l'existence d'une véritable association secondaire à ce stade. Cela explique les difficultés de la numération chromosomique à la métaphase I chez cette espèce.

La répartition des bivalents à la métaphase I a été d'autre part étudiée avec la technique des coupes. Les bivalents sont en général si fortement tassés les uns sur les autres qu'il est impossible de dégager d'une façon nette cette répartition. Dans quelques cas heureux cependant, nous avons pu l'observer (fig. 144) : les deux lots ne se sont rapprochés qu'en quelques points dont le nombre varie entre un et trois.

## 2° - La division homéotypique

Le même phénomène de répartition des chromosomes s'observe aussi dès la fin de la prophase II.

Avec la technique des coupes, nous avons obtenu des figures comme la figure 145 où le noyau à gauche montre les chromosomes distribués en deux lots. Chacun de ceux-ci se compose d'éléments chromatiques placés bout à bout, les uns à la suite des autres, de façon à former une ligne courbe fermée, effilée en haut et élargie vers le bas. Les deux lots - autrement dit les deux lignes courbes fermées - sont reliés entre eux en deux points, l'un au sommet, l'autre vers la base, chacun probablement par un chromosome.

Une telle figure suggérerait l'idée d'un début d'anaphase, car la chromaticité des chromosomes à ce stade ressemble beaucoup à celle d'une fin de prophase et parce que le fuseau achromatique, un des indices qui les distinguent, serait imperceptible dans un espace aussi restreint que celui qui sépare les deux lots de chromosomes, dans le cas où un tel fuseau existe.

Cependant, la technique des squashes permet dans quelques cas favorables de résoudre cette question. Ainsi la figure 140 montre deux noyaux-fils d'une cellule-mère de pollen en division : tandis que le noyau de gauche offre l'aspect d'une répartition des chromosomes en deux lots réunis par un pont formé de chromosomes aussi, celui de droite présente des chromosomes de fin de prophase dont le nombre se chiffre aux environs de vingt-six. Or, le synchronisme de ces noyaux, du fait qu'ils sont contenus dans un cytoplasme commun et restreint, ne laisse pas de doute (cf. chapitre 24: I). Il en découle que vers la fin de la prophase II, ce qui est le cas ici, les chromosomes de chaque noyau-fils se répartissent en deux lots à peu près égaux et réunis par des ponts de chromosomes.

Quant au chromosome paranucléolaire, on peut le reconnaître facilement à la fin de la prophase II (fig. 143) grâce à la persistance de sa portion hétérochromatique si bien développée et qui s'accrole constamment au nucléole unique. Pendant que la majorité des autres chromosomes présentent encore une forme allongée, le chromosome paranucléolaire prend déjà définitivement sa forme. Car si on compare une figure de fin de prophase II (fig. 143) avec une figure de métaphase II (fig. 141), on ne note pas de différence appréciable entre les formes que prend ce chromosome à ces deux stades respectifs.

## C - Discussion

### 1° - Les associations secondaires et l'amphidiploïdie probable de *B. bracteosa*

La répartition des « unités » chromosomiques en deux lots à peu près égaux à la métaphase I et à la métaphase II d'une part et l'affinité éprouvée que manifestent les constituants de chaque lot entre eux d'autre part semblent indiquer l'origine double du bagage chromosomique ( $2n = 52$ ) de

l'espèce étudiée. Le fait que chez *B. barba* et *B. rex* (toutes les deux ayant  $2n = 26$ ), la méiose se produit très souvent de façon anormale et entraîne par conséquent la formation d'une haute proportion de grains de pollen stériles (SHARMA et BHATTACHARYYA, 1957) est très significatif à ce point de vue.

Quant au nombre d'« unités » chromosomiques exact de chacun des deux lots, quelques plaques de métaphase I et de métaphase II favorables obtenues par la technique des squashes permettent de penser que ce seraient ou bien 12 et 14 ou bien 11 et 15. Cela laisse supposer que *B. bracteosa* est un amphidiploïde entre une espèce à 12 et une autre à 14 ou bien à 11 et à 15. Or, ces divers nombres gamétiques ont été effectivement observés chez des espèces de *Begonia* (voir DARLINGTON et WYLIE, *op. cit.*).

L'agencement des éléments constitutants de chacun de ces lots de chromosomes est des plus remarquables chez l'espèce étudiée. La forme de chaînes qu'ils présentent à la métaphase II et que nous avons observée par la méthode des coupes – d'où pas de doute possible quant au caractère véridique de cette forme d'association – invite à penser qu'à la métaphase I, les deux lots de bivalents affecteraient aussi la même forme. Cependant, à ce stade, les bivalents sont si fortement entassés (fig. 144 obtenue par la technique des coupes) qu'il nous a été impossible de dégager la composition des chaînes qu'ils auraient formées.

Enfin, c'est une forme d'association secondaire vraiment exceptionnelle. Car à la métaphase I comme à la métaphase II, tous les éléments du génome s'assemblent en un seul « multivalent » dont les deux constituants en chaînes ou anneaux sont reliés entre eux par des ponts chromatiques.

La régularité dans le mode d'assemblage des éléments dans les lots de chromosomes et la fréquence – voire la régularité, compte tenu des cas où les deux lots se sont superposés et par conséquent ne peuvent être comptés – avec laquelle s'observe ce phénomène d'association secondaire surtout à la métaphase II prouvent qu'il tire son origine de la nature intime des éléments qui constituent le patrimoine héréditaire de l'espèce et ne représente pas une association fortuite, dépourvue d'affinités sélectives bien définies entre les associés comme dans le cas de l'accolement des euchromocentres (en particulier ceux des noyaux géants du mésophylle des carpelles dans les fleurs avancées) chez *Oxalis spiralis* (voir chapitre 12).

### 2° – La méiose et les nombres haploïdes des *Begonia*

L'existence, chez *B. bracteosa*, d'association secondaire à la métaphase I<sup>1</sup> et à la métaphase II jetterait quelques lumières sur les « nombres multiples et aberrants » que HEITZ (1927) a remarqués chez les différents *Begonia* dont il a étudié la méiose (cité par HAMEL, 1937, page 398):

Espèces	$n$ (de HEITZ)	$2n$ (de HAMEL)
<i>B. Schmidtiana</i>	29/2-16	
<i>B. assamica</i>	12-13-14	
<i>B. incarnata</i>	30-35	
<i>B. ulmifolia</i>	12-14	
<i>B. metallica</i>	14-15	
<i>B. venosa</i>	14	30
<i>B. dichotoma</i>	17-18	36
<i>B. vitifolia</i>	33/2-18	36
<i>B. incana</i>	15-20	24

Il serait par conséquent intéressant de reprendre, à la lumière des associations secondaires, l'étude de la méiose chez ces espèces.

### 3° – Les deux prochromosomes paranucléolaires

a) Leur existence ne fait aucun doute. Dans les noyaux somatiques, ils se détachent nettement sur l'ensemble de leurs compagnons grâce à leurs dimensions développées.

Ce facteur a d'ailleurs favorisé l'étude de leur comportement au cours de la microsporogénèse. Il a permis de les identifier dans les cas où le nucléole auquel ils s'accrochent n'est plus observable.

<sup>1</sup> L'association entre bivalents à la métaphase I s'observe aussi chez *B. laciniata* et *floccifera* (SHARMA et BHATTACHARYYA, *op. cit.*).

b) Ils forment un couple homologue et constituent la majeure partie de la chromatine des chromosomes qu'ils représentent.

Les preuves suivantes montrent que les deux prochromosomes paranucléolaires forment un couple homologue.

Au stade pachytène (fig. 137), ils s'apparient entre eux tout en s'appuyant sur le nucléole unique.

La même remarque peut s'appliquer au stade de la diacinèse (fig. 138) où ils représentent l'unique bivalent accolé au nucléole et dont la chromatocité l'emporte sur les autres bivalents grâce au gros volume de leurs portions hétérochromatiques.

Ensuite, à la fin de la prophase II (fig. 143) apparaissent deux groupes de chromosomes qui correspondent aux deux noyaux-fils et dont chacun possède un chromosome particulier. Ce dernier non seulement s'appuie à lui seul sur le nucléole unique mais présente encore une chromatocité et une individualisation beaucoup plus précoces que les autres chromosomes, sans doute en raison de la persistance de la portion hétérochromatique volumineuse qui constituerait la majeure partie de sa longueur.

Ainsi, c'est ce stade qui prouve de façon évidente que chacun des deux prochromosomes paranucléolaires – prochromosomes dont les dimensions développées ont permis de suivre la répartition et l'individualisation des deux chromosomes paranucléolaires dans les deux noyaux-fils d'une cellule-mère de microspores – forme un des éléments constitutifs du bagage haploïde de l'espèce. Par conséquent, ces deux prochromosomes paranucléolaires constituent un couple homologue du noyau diploïde.

Il va sans dire que dans les tétrades et les grains de pollen à deux noyaux, chaque noyau ne possède qu'un seul prochromosome paranucléolaire, reconnaissable à ses grandes dimensions.

En somme, *B. bracteosa* constitue un cas très favorable pour l'étude du comportement d'un couple de chromocentres paranucléolaires – *sensu lato* – dans le noyau. Cela, grâce non seulement aux dimensions de ces organites qui l'emportent de beaucoup sur celles des autres, ce qui permet de les suivre facilement, mais encore grâce au fait qu'ils forment le seul couple paranucléolaire du noyau diploïde<sup>1</sup>.

Il est d'autant plus exceptionnel qu'il permet de démontrer que les deux prochromosomes paranucléolaires ne forment pas un couple paranucléolaire quelconque mais bien un couple homologue. Car pourquoi faudrait-il que les organites paranucléolaires soient toujours en nombre pair et forment toujours des couples homologues dans le noyau diploïde? Certes, le bon sens l'indique, mais il est plus difficile d'en fournir la preuve.

C'est pour cette raison que chez *Salvia macrophylla* (chapitre 18) où le noyau au repos présente jusqu'à six (probablement huit) chromocentres paranucléolaires qui, en dehors de leur accollement au nucléole, ne présentent rien de particulier, une étude aussi précise que celle qui a été faite à ce point de vue chez *Begonia bracteosa* s'est avérée impossible.

c) Les deux prochromosomes paranucléolaires correspondent aux deux plus grands chromosomes du nombre diploïde.

La microsporogénèse nous a permis d'affirmer que les deux prochromosomes paranucléolaires forment un couple homologue correspondant aux deux plus grands chromosomes du noyau diploïde. Il suffit de reconstituer la suite des différentes phases exposées ci-dessus pour s'en rendre compte: diacinèse (fig. 138), métaphase I (fig. 142), fin de prophase II (fig. 143) et métaphase II (fig. 141).

Il serait logique de croire que à la mitose somatique, les deux prochromosomes paranucléolaires donnent naissance aux deux plus grands chromosomes (fig. 135). Cependant, le noyau si exigu de *Begonia bracteosa* et son nombre de chromosomes si élevé ne nous ont pas permis de faire une étude approfondie à ce sujet.

<sup>1</sup> Ces remarques sont aussi valables pour le cas de *Tibouchina brevisepala* (chapitre 15). Cependant, la faible abondance du matériel ne nous a pas permis d'étudier en détail le comportement des deux gros chromocentres paranucléolaires comme nous l'avons fait ici.

## CHAPITRE 15

*Lythraceae - Melastomaceae - Onagraceae - Umbelliferae*

### *Cuphea dipetala*

(L. f.) Koehne

#### A - Structure du noyau

C'est un noyau peu réticulé, orné d'une vingtaine de chromocentres visibles dont quatre ou cinq sont nettement plus grands.

Quatre chromocentres s'appuient régulièrement sur le nucléole : ce sont les chromocentres paranucléolaires. Deux d'entre eux sont plus petits et se trouvent généralement accolés ensemble, parfois très intimement, soit sur les coupes (fig. 146), soit sur les squashes (fig. 147). Quelquefois, l'écrasement arrive à faire sortir le nucléole du noyau. Ce dernier entraîne à sa suite les quatre chromocentres paranucléolaires (fig. 147), ce qui donne une idée de leur force d'adhérence au nucléole.

#### B - La méiose et le nombre haploïde

1° La méiose chez *C. dipetala* a été étudiée sur les CMP.

Sur les figures de métaphase I, on observe régulièrement quatre ou cinq « univalents » en dehors de la plaque équatoriale (fig. 148). On y remarque quelquefois des multivalents. Malgré l'irrégularité des figures de métaphase I, les deux noyaux-fils issus de la division hétérotypique sont d'apparence normale et nous n'avons jamais trouvé de micronuclei ni de noyaux de restitution; cela explique pourquoi le pollen est toujours normal. Tous ces faits suggèrent que l'anaphase et la télophase de cette division se déroulent normalement.

Par conséquent, l'existence d'« univalents » en dehors des plaques de métaphase I dans les CMP de *C. dipetala* pourrait être logiquement interprétée ou bien comme due à un retard dans l'appariement des chromosomes partenaires ou bien comme déterminée par l'amorce précoce de l'anaphase I sur certains bivalents. La seconde hypothèse semble plus logique, car vue de profil, la plaque équatoriale de la division I est généralement flanquée de part et d'autre par un même nombre d'« univalents » souvent symétriques.

Chez *Stelis concaviflora* (chapitre 4), on remarque des formations analogues sur les CMP.

2° La formation d'« univalents » à la métaphase I chez *C. dipetala* nous a obligé à nous servir uniquement de figures de métaphase II pour la numération chromosomique. Pour cela, on additionne les chromosomes de deux noyaux-fils d'une ancienne CMP et on en prend la moyenne arithmétique. Une étude statistique montre que cette dernière est  $n = 54$ .

Ainsi, *C. dipetala* se rattache au groupe ayant pour nombre de base  $x = 6$ . On y a signalé quatre espèces, à savoir *C. cyanea* et *lanceolata* à  $2n = 12$ , *miniata* à  $2n = 18$  et *platicentra* à  $2n = 36$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955). *C. dipetala* est donc un 18-ploïde. Le grand intervalle laissé entre  $2n = 108$  que représente cette dernière et  $2n = 36$ , le nombre le plus élevé connu jusqu'ici dans cette série polyploïde, serait comblé par d'autres représentants du genre *Cuphea*, endémique de l'Amérique et dont le nombre d'espèces atteint jusqu'à deux cents (WILLIS, 1960).

### *Cuphea Vargasii* Machr.

#### A - Structure du noyau

C'est un noyau faiblement réticulé, orné d'une dizaine de chromocentres aux contours arrondis. La faible densité du réseau nucléaire correspond aux faibles dimensions des chromosomes qui ne dépassent jamais  $1,2 \mu$  (fig. 149).

## B - Nombre chromosomique et méiose

1° Le noyau diploïde possède seize chromosomes.

La méiose est normale. A la métaphase I, il se forme huit bivalents bien individualisés. A la métaphase II, on observe des CMP où les deux noyaux-fils en division présentent chacun huit chromosomes. Par conséquent, l'espèce possède  $2n = 16$  et  $n = 8$ .

2° *C. Vargasii* fournit donc un nombre de base nouveau, à savoir  $x = 8$ , le seul nombre connu jusqu'ici étant  $x = 6$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955). C'est là un de ses côtés intéressants.

## *Tibouchina brevisepala* Cogn.

Boutons floraux récoltés et fixés à l'alcool acétique sur le terrain par le professeur Ch. Terrier qui a rapporté en même temps des échantillons-témoins.

Ce matériel correspond à deux formes différentes:

- l'une à fleurs lilas, n° 7 13 43,

- l'autre à fleurs blanches, n° 7 13 42: f. *albiflora* Huynh (A typo petalis differt).

La première (« *petala lilacina* ») a été prise comme type de l'espèce (WEBERBAUER 1965) comme en témoigne la description originale de COGNIAUX (1908) résumée dans MACBRIDE (part IV, n° 1). La seconde constitue apparemment une forme nouvelle.

Aucune différence n'ayant pu être décelée entre le type et la variété et la quantité de matériel étant restreinte, l'étude de l'une de ces plantes a été complétée par l'observation de l'autre, de sorte que nous réunirons nos résultats en un seul exposé.

## A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° C'est un noyau semi-réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont au nombre de douze à dix-huit, parfois plus. Deux d'entre eux sont très particuliers en ce sens qu'ils sont les plus grands et qu'ils adhèrent constamment aux nucléoles: ce sont les chromocentres paranucléolaires. S'il n'y a qu'un nucléole, ils occupent généralement deux positions diamétralement opposées; plus rarement ils se côtoient. Dans le cas où le noyau présente deux nucléoles, ceux-ci adhèrent chacun à un de ces chromocentres. La figure 150 fait penser que c'est le rapprochement mutuel des chromocentres paranucléolaires qui amène la fusion des deux nucléoles auxquels ils s'accroient séparément.

2° Le nombre chromosomique compté sur des mitoses somatiques est  $2n = 18$ . Les chromosomes sont en général petits: la plupart mesurent  $1 \mu$ , sauf deux de ces organites dont les dimensions sont nettement plus grandes que celles des autres, environ  $2 \mu$  (fig. 152).

Ces deux chromosomes ont une caractéristique frappante. A la mitose somatique (stade de fin de prophase), ils s'accroient aux nucléoles de façon très intime: on peut les repérer facilement par leurs dimensions. S'il y a deux nucléoles (fig. 151), ils se les partagent. Par contre, quand on n'observe qu'un seul nucléole, ils y adhèrent en occupant deux positions diamétralement opposées ou à peu près.

## B - La méiose

La méiose est normale. A la métaphase hétérotypique, il se forme neuf bivalents normaux (fig. 153) dont un nettement plus développé que les autres. A la métaphase homéotypique, on observe un chromosome qui se distingue de ses compagnons par ses grandes dimensions. Tous ces faits montrent que le bivalent particulier est formé par les deux plus grands chromosomes du noyau somatique.

Signalons brièvement qu'au stade pachytène où le nucléole unique est devenu fortement excentrique (fig. 154), les deux chromocentres paranucléolaires s'apparient tout en s'appuyant constamment sur le nucléole. A la prophase II, on ne voit qu'un chromocentre paranucléolaire.

## C - Quelques mots sur le tapis

Les cellules nourricières sont uninucléées. Il y a néanmoins chez les deux formes quelques cellules binucléées. Ces dernières sont en proportion extrêmement faible de sorte qu'on peut dire que le tapis est uninucléé.

## D - Discussion

### 1° - Le nombre de base des Tibouchinées

Le nombre chromosomique de *T. brevisepala* est rapporté ici pour la première fois. La tribu presque entièrement américaine des Tibouchinées a été fort peu explorée au point de vue cytologique. FAVARGER (1962) a montré que la seule Tibouchinée africaine (*Nerophila gentianoides*) avait  $n = 9$ . Chez *Heeria rosea* (Tibouchinée mexicaine), il a compté  $n = 18$  et chez *Tibouchina semidecandra* (plante de serre) dont la méiose est irrégulière et l'origine probablement hybridogène,  $2n = 54-60$ . FAVARGER suggère que cette espèce possède en réalité  $2n = 54$ . Nos recherches apportent la preuve que  $x = 9$  représente l'un des nombres de base des Tibouchinées et en particulier du genre *Tibouchina*.

Il n'est pas exclu qu'on en trouve d'autres par la suite, si le nombre compté autrefois par HEITZ (dans TISCHLER, 1927) chez *Centradenia floribunda* ( $n = 12-13$ ) est exact.

### 2° - Les chromocentres paranucléolaires

a) Si on considère d'une part le fait que dans les noyaux somatiques à deux nucléoles, chacun de ces derniers s'accôle à un chromocentre paranucléolaire et d'autre part, l'attitude paranucléolaire des deux plus grands chromosomes au stade de fin de prophase, on est amené à conclure que ces deux chromocentres représentent deux portions hétérochromatiques de ces chromosomes.

Ensuite, il ressort de l'étude de la métaphase I et de la métaphase II que ces deux chromosomes forment un couple homologue. Par conséquent, les deux chromocentres paranucléolaires qui en font partie sont bien deux chromocentres homologues. Ce dernier caractère est en outre démontré par leur appariement au stade pachytène.

b) Par ailleurs, l'existence de chromocentres paranucléolaires constitue un trait caractéristique de beaucoup de Mélastomacées. Leur nombre est en général de deux. FAVARGER (1952) les a signalés chez *Memecylon Aylmeri* et *M. sessile* et dans la sous-famille des Mélastomoidées, chez quatorze des dix-neuf espèces étudiées. Enfin dans son travail de 1962, le même auteur observe cette particularité chez *Dissotis amplexicaulis*.

### 3° - Le tapis

Chez les vingt et une espèces appartenant à dix genres et à quatre tribus différentes étudiées par FAVARGER (1952), la plupart présentent un tapis formé de cellules uninucléées, sauf *M. Aylmeri* (tapis binucléé) et *Guyonia ciliata* (tapis composé de cellules uninucléées et binucléées, ces dernières étant moins nombreuses).

*T. brevisepala* se comporte donc à cet égard exactement comme cette dernière espèce. Or, s'appuyant sur le nombre chromosomique identique ( $n = 9$ ), FAVARGER (1962) a proposé de rapprocher *Guyonia ciliata* des Tibouchinées.

## *Oenothera multicaulis* R. & P.

1° Cette espèce possède un noyau semi-réticulé à chromocentres. On y observe deux chromocentres paranucléolaires.

Les chromosomes sont grêles et de grandeurs moyennes. Ils mesurent entre  $2,3 \mu$  et  $3,4 \mu$ . L'espèce en possède quatorze (fig. 155). C'est donc un diploïde de la série polyploïde unique du genre avec  $x = 7$ .

2° La méiose est normale. A la diacinèse, les quatorze chromosomes s'apparient en sept gémis dont un s'accôle au nucléole tant que celui-ci persiste (fig. 156). A la métaphase hétérotypique, ces gémis deviennent sept bivalents.

## *Fuchsia Sanctae Rosae* Kuntze

1° L'espèce possède un noyau semi-réticulé à chromocentres. Deux de ces derniers, ceux qui sont le plus chromatiques et offrent par conséquent un aspect plus compact que les autres, s'accolent tou-

jours au nucléole unique. Ce sont les chromocentres paranucléolaires. Cette caractéristique permet de les reconnaître facilement même sur les noyaux en prophase avancée.

Les chromosomes sont de grandeurs moyennes. Ils mesurent entre 1,2  $\mu$  et 2,6  $\mu$ . Ces faibles dimensions aident à comprendre la faible densité du réseau.

L'espèce possède vingt-deux chromosomes (fig. 157). C'est donc un diploïde de l'unique série polyploïde à  $x = 11$  du genre.

2° La méiose est normale. A la diacinèse, les vingt-deux chromosomes forment onze gemini. Le geminus paranucléolaire acquiert très vite une forte chromaticité et une condensation poussée (fig. 158); ceci, sans doute grâce à la portion hétérochromatique compacte que lui apportent les deux chromocentres paranucléolaires décrits ci-dessus. Les gemini donnent ensuite onze bivalents. Sur la plaque équatoriale, on voit fréquemment un bivalent subir l'anaphase plus tôt que ses compagnons comme le montre la figure 159.

### *Daucus montanus*

Humb. & Bonpl.

A la métaphase hétérotypique, il se forme trente-trois bivalents normaux (fig. 160). L'espèce a donc  $2n = 66$ . C'est un hexaploïde avec pour nombre de base  $x = 11$ .

Il est à noter que sur ce nombre de base, on n'a décelé jusqu'ici que des diploïdes dans le genre *Daucus* (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

*Gentianaceae*

I - *Halenia umbellata*

(R. & Pav.) Gilg

A - Structure du noyau - Les chromosomes

C'est un noyau semi-réticulé au réseau assez dense portant environ dix-sept chromocentres dont cinq à six sont des chromocentres collectifs. Ces derniers sont constitués par des chromocentres réunis entre eux par des ponts de chromatine moins chromophiles (fig. 161). C'est là un type de noyau fréquent dans la famille des Gentianacées. Chez *H. elliptica* D. Don cependant, FAVARGER (1952) a observé une structure voisine du type euchromocentrique. La différence de structure entre les noyaux des deux espèces tient à une différence de taille de chromosomes. Ceux-ci mesurent dans *H. elliptica* 1,3  $\mu$  pour le plus petit, 2,8  $\mu$  pour le plus grand et paraissent un peu plus grêles. Il est vrai que les préparations de FAVARGER que nous avons comparées avec celles d'*H. umbellata* avaient été obtenues par la méthode des coupes (coloration au violet cristal). Malgré cela, nous pensons qu'il y a une différence réelle de structure nucléaire due sans doute à des tailles de chromosomes un peu dissemblables.

Les chromosomes varient entre 1,4  $\mu$  et 3,8  $\mu$  chez *H. umbellata*. Ils sont au nombre de vingt-deux. L'espèce a pour nombre diploïde et pour nombre haploïde respectivement  $2n = 22$  (fig. 162) et  $n = 11$  (fig. 163). Les chromosomes sont répartis de la façon suivante: 2 LL+4 L+4 M+6 P.

Une particularité mérite d'être signalée. A la première mitose pollinique (fig. 163), on peut remarquer un chromosome qui présente une constriction subterminale.

B - Les transformations des antipodes

Le peu de matériel dont nous avons pu disposer ne nous a pas permis d'étudier la formation du sac embryonnaire. Cependant, à la fin de la formation des éléments du sac, ce dernier a huit noyaux dont deux synergides, l'oosphère, deux noyaux polaires et trois antipodes.

Après la mise en place de ces éléments, les antipodes semblent subir les transformations successives suivantes: 1° formation d'antipodes binucléées par une caryocinèse non suivie de division du cytoplasme, 2° polyploïdisation intense des noyaux des antipodes devenues binucléées suivie d'une expansion spectaculaire de la caryolymphe, puis 3° leur dégénérescence.

1° - Formation des antipodes binucléées

En général, les antipodes sont binucléées (fig. 164). L'existence de deux noyaux dans une cellule ne peut s'expliquer que par une division du noyau non suivie de division du cytoplasme. Plus tard, avec la multiplication répétée de la matière chromatiniennne dans ces noyaux, ceux-ci prennent des dimensions considérables et par conséquent tendent à se rapprocher. Et ce n'est pas impensable qu'il se produise des fusions de matières nucléaires lors de la polyploïdisation des noyaux des antipodes par des mitoses inachevées (voir ci-après). Il en découle qu'il ne sera plus possible d'observer nettement dans ces cellules le « binucléarisme ».

2° - Polyploïdisation intense des noyaux d'antipodes

a) D'abord, c'est une suite de mitoses vraisemblablement de types inachevés conduisant à la formation de noyaux de restitution: ce que des figures telles que la figure 166 semblent indiquer. On peut

observer au squash des antipodes à deux noyaux  $2n$  qui sont en fin de prophase (fig. 164). Cette figure montre que à la fin de cette mitose, l'antipode aura  $8n$ .

Un autre point mérite d'être signalé. C'est le synchronisme parfait entre les deux noyaux d'une même antipode en division (fig. 164). Il ne peut être que la conséquence d'une vie commune de deux noyaux dans un même cytoplasme homogène (cf. chapitre 24: I) qu'est effectivement celui des antipodes d'*H. umbellata* à ce stade, à en juger par l'uniformité de la chromophilie qu'affiche leur cytoplasme vis-à-vis du vert lumière.

b) Il y a lieu de croire par la suite à l'existence d'un autre procédé de multiplication de la matière chromatinienne, comparable au phénomène d'endomitose entendu dans le sens de l'école de GEITLER. Cette forme d'endomitose est caractérisée d'abord par l'accroissement progressif du volume des chromocentres qui sont alors à peu près tous égaux dans un même noyau; ce qui élimine l'hypothèse de l'existence de chromocentres collectifs à ce stade qui pourrait accroître aussi les dimensions des chromocentres. Ainsi, nous avons pu relever quatre degrés différents dans le volume des chromocentres correspondant à 1:2:4:8.

Un autre aspect de ce phénomène d'endomitose est l'augmentation de la chromophilie de la nucléolymphie des noyaux d'une antipode. Ce changement si net est très frappant par le fait qu'il n'affecte pas toutes les antipodes d'un sac à la fois. Cela fait penser qu'il n'est dû ni à un artefact causé par la fixation ni à une différence de conditions trophiques ambiantes, mais bien à un changement de structure véritable.

Au cours de ces endomitoses, plusieurs degrés de grandeur peuvent s'observer sur les volumes des chromocentres des antipodes d'un même sac. Ce fait indique que ce phénomène ne commence pas en même temps dans toutes ces cellules.

Nous avons observé des formations assimilables à des portions de « chromosomes géants ». Nous ne pouvons pas nous prononcer sur le stade de ces chromosomes. Ce sont des alignements composés de chromocentres volumineux intercalés avec des portions de « rubans » moins chromatiques. Une caractéristique de ces chromosomes est leur dédoublement (fig. 165) dont témoignent deux suites de gros chromocentres formant deux « rubans » parallèles à droite de la figure. L'existence de deux satellites (ou chromocentres paranucléolaires) accolés au nucléole droit et reliés par deux tractus parallèles à un chromocentre double qui borde l'auréole périnucléolaire a la même signification.

Au cours de ces polyploïdisations multiples, le cytoplasme des antipodes affiche une chromophilie intense avec le vert lumière et le carmin acétique.

### 3° - L'expansion des noyaux des antipodes

Une conséquence de la répétition des deux procédés de multiplication de la matière chromatinienne mentionnés ci-dessus, à savoir les mitoses de types inachevés et l'endomitose, est la formation de noyaux énormes aux chromocentres très développés et en nombre accru, et en même temps, de nucléoles gigantesques entourés de larges auréoles périnucléolaires que franchissent des tractus épais reliant les chromocentres paranucléolaires volumineux au réseau (fig. 167).

L'expansion des noyaux des antipodes s'amorce par la formation des vacuoles dans le cytoplasme, le bourgeonnement des nucléoles (fig. 166) et une diminution de la chromophilie observée simultanément sur le cytoplasme et sur la nucléolymphie. En même temps, il se produit une croissance démesurée des antipodes qui tendent à occuper tout le sac embryonnaire.

Au maximum de ce phénomène d'expansion nucléaire (fig. 167), il se forme dans chaque antipode une vacuole énorme, résultat de la condensation progressive des petites vacuoles. Les noyaux deviennent nettement lobés et détendent, dans un cytoplasme moins dense, leurs replis résultant de la formation de noyaux de restitution lors du stade dit des mitoses inachevées. On observe aussi des enclaves cytoplasmiques volumineuses au cœur de ces noyaux (fig. 168).

D'autres traits caractéristiques marquent encore cette période de la vie des noyaux des antipodes. D'abord, c'est une curieuse pullulation de petits nucléoles observables à côté de deux ou trois nucléoles énormes auxquels s'accrochent un grand nombre - au moins une trentaine par antipode - de chromocentres dits paranucléolaires qui ont réussi à entraîner quelques lambeaux du réseau chromatinien à leur suite à travers l'auréole périnucléolaire (fig. 167). Ensuite, il faut retenir l'éparpillement des chromocentres dont les dimensions régressent progressivement mais restent en général uniformes dans les noyaux d'une même antipode, cela probablement à cause de la désagrégation progressive des endo-

chromocentres. En même temps, on peut noter la formation de quelques plages de chromocentres collectifs constitués de deux à sept éléments distincts mais groupés ensemble soit sous forme d'essaim, soit les uns à la suite des autres. Enfin, c'est la mise en place d'un réseau aux mailles épaisses et développées dont on peut parfaitement suivre les contours.

Pendant tout le cours de cette expansion spectaculaire du réseau, celui-ci reste toujours net.

#### 4° - Dégénérescence des noyaux des antipodes

La dégénérescence des noyaux des antipodes aboutit à la destruction du réseau et des chromocentres. Ces derniers font place à des bandes de chromatine allongées et sans contours nets. En même temps, le volume de ces noyaux décroît sensiblement ainsi que celui du cytoplasme qui les contient.

## II - *Gentianella*<sup>1</sup> *umbellata*

(R. & Pav.) Favarger

### A - Structure du noyau - Les chromosomes

1° Le noyau est du type réticulé. Le réseau est formé de minuscules « grains » chromatiques dont une grande partie se rassemblent en cinq ou six plages aux contours peu précis et qui ont valeur de chromocentres. La majorité de ces grains peuvent se concentrer en une plage unique, occupant la moitié du noyau et offrant l'aspect d'une calotte.

C'est donc un cas de « Kappenkern » (HEITZ, 1932); ou un cas de « noyau réticulé à polarité chromatique » comme celui relevé chez *Gentiana ciliata* par FAVARGER (1949) qui y a assimilé les grandes plages réticulées aux chromocentres collectifs.

2° Les chromosomes sont développés. Dans les racines, leurs longueurs s'étendent entre 1,6  $\mu$  et 3,6  $\mu$  (fig. 169).

Dans les grains de pollen, les chromosomes de la première mitose pollinique varient entre 2,6  $\mu$  et 5,8  $\mu$ .

*G. umbellata* possède trente-six chromosomes. Ce nombre a été d'ailleurs vérifié sur des plaques de métaphase II et des plaques de métaphase de la première mitose pollinique où s'observent seulement dix-huit chromosomes. L'espèce a donc pour nombre diploïde et pour nombre haploïde respectivement  $2n = 36$  et  $n = 18$ .

### B - Les transformations des antipodes

Le sac embryonnaire est du type normal comme chez *Halenia umbellata*.

Chez *Gentianella umbellata*, après la mise en place des premiers éléments du sac, les antipodes subissent un certain nombre de transformations.

#### 1° - Vue d'ensemble sur ces transformations

a) De trois au début, le nombre des antipodes peut être de vingt-neuf à la fin, et même plus (voir ci-après, sous Discussion: B, 1).

La proportion des antipodes *nettement* binucléées est très faible. Nous n'avons remarqué que quatre ou cinq cas parmi quelque 5000 antipodes étudiées.

Les noyaux des antipodes des sacs moyennement avancés, qu'elles soient bi- (fig. 172) ou uni-nucléées (fig. 170), présentent un grand nombre de chromosomes quand ils sont en mitose ou un grand nombre de chromocentres à la phase de repos. Les nucléoles sont généralement au nombre de cinq ou six, ce qui contraste avec les antipodes initiales dont le noyau ne possède qu'un seul nucléole. Ces faits

<sup>1</sup> Le sous-genre *Gentianella* rattaché auparavant au genre *Gentiana* a été constitué en genre à part (cf. LÖVE et LÖVE, 1961 a). Même remarque pour le cas des *Gentianella* d'Europe étudiées ci-après (cf. sous Discussion: B, 2) en vue de comparaison, à savoir *aspera*, *engadinensis*, *anisodonta* et *rhaetica*.

suggèrent l'existence de mitoses de types inachevés conduisant à la formation de noyaux de restitution: ce que la figure 176 semble indiquer.

Les noyaux des antipodes subissent aussi une forme d'« endomitose Geitlerienne » qui accroît les dimensions des chromocentres.

Ce phénomène d'endomitose est suivi d'une expansion de la nucléolymphie et du cytoplasme.

Enfin, les noyaux rendus ainsi fortement polyploïdes des antipodes passeraient par une dégénérescence que nous n'avons pas pu observer faute de matériel avancé.

b) Il paraît certain que le stade endomitotique fait suite au stade des mitoses inachevées. Car suivant les dimensions de l'ovaire – et par conséquent l'âge des sacs embryonnaires –, l'un ou l'autre de ces stades prédomine; d'autre part, dans des sacs très avancés, on n'observe que le stade endomitotique.

Cependant, il n'est pas rare d'observer le stade endomitotique dans des sacs embryonnaires qui n'ont encore que six antipodes. Cela suggère que les antipodes d'un sac embryonnaire chez *G. umbellata* n'ont pas le même degré de maturation. Ce décalage de maturation entre les antipodes d'un même sac qui est beaucoup plus marqué chez cette espèce que chez *Halenia umbellata*, s'expliquerait par la grande prolifération de ces cellules chez *G. umbellata*.

### 2° – Le phénomène d'« endomitose Geitlerienne »

Il y a lieu de croire à l'existence d'endomitoses répétées qui s'ajoutent à la multiplication de la matière chromatiniennne par des divisions inachevées.

a) D'abord, au cours de ce stade, le volume des chromocentres varie d'une antipode à l'autre dans un sac embryonnaire. Cela signifie que ces chromocentres augmentent progressivement de dimensions. La figure 174 (à droite) montre un chromocentre hautement polyvalent (endochromocentre) prolongé par un cordon « polytène ».

b) En même temps, le noyau subit des changements de structure que la forte densité de son réseau jointe à la coloration au Feulgen rend très frappants. Car, sur une portion d'appareil antipodial formée d'une dizaine de cellules par exemple, on peut remarquer cinq ou six structures nucléaires différentes. Ces changements de structure paraissent constituer des stades bien définis d'un cycle endomitotique. Cependant, la faible abondance du matériel ne nous permet pas de les décrire ici en vue d'en définir le nombre exact.

Le stade le plus curieux observé au cours de cette forme d'endomitose est représenté par une sorte de destruction de la matière hétérochromatique, phénomène remarqué avec la technique du squash comme avec celle des coupes. Les chromocentres s'estompent peu à peu en réduisant progressivement leur chromaticité puis disparaissent (fig. 170, remarquer les deux antipodes supérieures). Cela fait penser que cette étape de destruction progressive des chromocentres correspond à une forme de « poudroïement » (= « Zerstäubung ») remarqué à la mitose comme à l'endomitose (voir chapitre 25: II, A, 2, b) par divers auteurs.

c) Enfin, nous avons observé sur une antipode la formation des chromosomes démesurément grands, semblables à des « chromosomes géants » (fig. 173). Cette figure montre un noyau apparemment en fin de prophase avec un nucléole encore visible (à droite de la figure): les chromosomes sont formés d'une suite de tronçons fortement chromatiques séparés par d'autres qui le sont moins; deux tronçons chromatiques parcourent plus de la moitié du diamètre du noyau; la nucléolymphie est généralement occupée par des tronçons encore peu chromatiques dont certains se montrent constitués d'au moins quatre filaments distincts. Il faut relever que dans un même noyau, on peut observer de larges rubans compacts et d'autres dont la structure « polytène » apparaît clairement (fig. 175).

### 3° – L'expansion des noyaux d'antipodes

La croissance post-endomitotique des noyaux d'antipodes de *Gentianella umbellata* se fait, comme chez *Halenia umbellata*, par une expansion rapide de la nucléolymphie. Elle débute par une légère désagrégation des endochromocentres et une séparation plus poussée des éléments longitudinaux qui constituent les filaments « polytènes ».

Ainsi, la figure 174 montre une portion d'un de ces noyaux. A gauche, se trouve un endochromocentre énorme qui reste encore entier ainsi que le filament « polytène » qui le prolonge vers la gauche.

A droite, s'observe un autre endochromocentre encore entier aussi; il est relié par des filaments doubles à trois autres plus petits qui paraissent tirer leur origine de la désagrégation d'un endochromocentre initial. Le haut de la figure est occupé par trois autres endochromocentres dont la décomposition est encore plus poussée; cette désagrégation des endochromocentres entraîne celle des filaments « polytènes » en des filaments quadruples ou doubles...

La désagrégation des endochromocentres s'accroît au cours de l'accroissement en volume des noyaux des antipodes, accroissement caractérisé par la formation de nombreuses grandes vacuoles dans la cellule. Ainsi, le réseau est marqué à ce stade par des chromocentres plus petits qu'aux étapes où l'endomitose battait encore son plein, mais ils sont plus serrés. Les « cordons » sont formés par quatre ou huit filaments doubles séparés que l'on peut suivre sur un assez long trajet; çà et là, ces filaments forment encore des anastomoses qui traduisent une fissuration inachevée.

Si bizarre que semble ce phénomène de désagrégation des endochromocentres et des cordons polytènes, il a été observé sur tous les noyaux des antipodes de *G. umbellata* à ce stade.

Plusieurs autres caractéristiques marquent encore cette étape (fig. 176). La multiplicité des petits nucléoles à côté d'autres beaucoup plus développés s'observe facilement. Il en est de même pour l'apparition soudaine des vésicules cytoplasmiques au cœur même du noyau et une « fluidité » accentuée du cytoplasme qui s'accroît en même temps que le noyau qu'il contient.

Il est intéressant de noter que l'accroissement en volume des antipodes – accroissement accompagné de la formation des grandes vacuoles dans un cytoplasme plus clair et la désagrégation de leurs endochromocentres en de petits chromocentres séparés mais nombreux et serrés – ne commence pas simultanément sur toutes les antipodes d'un même sac. Car à côté des antipodes marquées par ces caractéristiques, il y a en a d'autres qui présentent un cytoplasme encore abondant, encore dépourvu de vacuoles et un noyau dont les endochromocentres restent encore entiers. Ce contraste que nous n'avons jamais observé dans les noyaux des antipodes de *Halenia umbellata* à ce stade paraît être conditionné chez *Gentianella umbellata* par le grand nombre d'antipodes qu'un sac peut avoir.

### III. *Gentianella aff. brunneotricha* Gilg

Cette Gentianacée a le même type de noyau que *G. umbellata*. Donc, c'est un noyau réticulé à polarité chromatique.

Les chromosomes ont des longueurs comprises entre 2,2  $\mu$  et 4,2  $\mu$ . Plusieurs plaques de métaphase de racines indiquent que le nombre diploïde est  $2n = 36$  (fig. 177).

## IV - Discussion

En raison des points communs qui existent entre les trois Gentianacées étudiées, il est commode d'étudier ensemble les problèmes qui les regardent.

### A - Nombres de base

#### 1° - Nombre de base unique $x = 11$ du genre *Halenia*

Tous les représentants du genre *Halenia* dont les chromosomes ont été comptés jusqu'ici ont  $2n = 22$ . Ce sont *elliptica* (FAVARGER, 1952), *corniculata* (WADA, cité par « Index to Plant to Chromosome Numbers », supplément), *crassiuscula* et *shannonii* (BEAMAN et coll., 1962). Ce sont donc des diploïdes.

#### 2° - Pour les deux *Gentianella*

Dans le cadre d'une étude cytologique, nous ne pouvons pas nous étendre ici sur les raisons qui ont déterminé MOENCH en 1794 et BORCKHAUSEN en 1796 à séparer le genre *Gentianella* du genre *Gentiana*.

Retenons seulement que le nombre  $2n = 36$  que nous avons trouvé chez les deux *Gentianella* du Pérou a été signalé dans diverses sections de *Gentianella* comme de *Gentiana* (LÖVE, 1953, page 230). Il est intéressant de signaler que les *Gentianella* des sections *Andicola*, *Endotricha*, *Arctophila* et

*Antarctophila* de diverses parties du monde (Europe, Nouvelle-Zélande, région arctique et Amérique du Sud) ont le même nombre de chromosomes malgré la distance entre leurs territoires respectifs.

Quant à l'origine du nombre  $2n = 36$ , deux opinions sont en cours. D'une part celle de FAVARGER (1962) qui admet une polyploïdie sur la base de  $x = 9$ . Et d'autre part, celle de LÖVE (*op. cit.*) qui propose un nombre de base  $x = 6$  en se basant sur le nombre chromosomique de *G. frigida* ( $2n = 24$ ).

## B - La prolifération des antipodes chez les Gentianes et la technique appropriée pour leur comptage

### 1° - Limites de cette prolifération

Il paraît certain qu'il y a une tendance à la prolifération des antipodes chez les *Gentiana sensu lato* (y compris le genre *Gentianella*). GUÉRIN (1903) cité par STOLT (1921) en signale quatre chez *asclerpiadea*, cinq chez *nivalis*, six chez *tenella*, huit chez *cruciata* et *tibetica*, neuf chez *lutea* et douze à seize chez *amarella* et *germanica*.

Cette prolifération semble atteindre son point culminant dans le genre *Gentianella*. Chez *G. engadinensis* (Wettst.) Favarger dont nous avons pu observer du matériel très avancé, le nombre des antipodes atteint soixante. Chez *anisodonta* Borbas et *rhaetica* A. & J. Kerner, il est évalué par nous respectivement à quarante-six et cinquante. Les antipodes de *aspera* Hegetschw. auraient probablement le même pouvoir de prolifération car au stade où le sac en a déjà trente-neuf, nous en avons trouvé encore deux ou trois avec des noyaux en mitose. La même conclusion s'appliquerait au cas de *G. umbellata* où on observe encore la caryocinèse sur les noyaux d'une ou deux antipodes au moment où le sac en compte déjà vingt-neuf. Il semble donc que le nombre d'antipodes des représentants du genre *Gentianella* tourne autour de cinquante-cinq.

Si on admettait le rôle nourricier des antipodes comme le font GOEBEL, GUÉRIN et LÖTCHER (cités par STOLT, 1921), la conclusion suivante s'imposerait: plus elles sont nombreuses, plus l'organisation trophique de la jeune graine est parfaite et par conséquent, plus élevée est le degré de l'évolution sous ce rapport chez l'espèce en question. D'où l'importance de l'évaluation exacte de leur nombre maximum et en même temps, celle d'une technique appropriée pour leur numération.

Or, à ce point de vue, la méthode des coupes n'est pas favorable, surtout dans les cas où les antipodes deviennent multinucléées et hypertrophiées, ce qui augmente généralement leur chromophilie et rend difficile l'observation des membranes qui les délimitent. La technique des squashes au carmin acétique se prête merveilleusement au comptage de ce genre d'antipodes. Car grâce à la chromatocité de leurs noyaux de beaucoup supérieure à celle des noyaux voisins, leur identification n'est plus difficile; et à la faveur d'un étalement parfait, on peut les dénombrer une à une.

Il en découle qu'il serait infiniment intéressant de vérifier les nombres d'antipodes que d'autres auteurs ont trouvés par la technique des coupes sur d'autres espèces en général et sur les Gentianacées en particulier.

### 2° - Mécanisme de la prolifération des antipodes chez les *Gentianella*

Il y a de fortes raisons de penser que cette prolifération s'effectue pendant tout le début de la maturation des antipodes chez les représentants du genre *Gentianella*.

Il paraît certain que la première caryocinèse qui se produit dans les antipodes initiales (contenant chacune un noyau haploïde) n'est pas suivie de cytotière. Cela se remarque par le fait que chacune d'elles loge, après cette caryocinèse, deux noyaux séparés ou deux noyaux contigus mais dont le volume ainsi que la présence de deux nucléoles presque égaux indique la nature double. Ce fait est net chez *G. aspera* et *engadinensis* où nous avons pu étudier suffisamment de matériel jeune.

Par la suite, sur les cinq *Gentianella* étudiées (une péruvienne et quatre européennes mentionnées ci-dessus), le stade dit de mitoses inachevées, stade caractérisé soit par un grand nombre de chromosomes dans les noyaux en division, soit par un nombre élevé de chromocentres et de nucléoles dans la phase de repos, s'observe aussi bien sur des sacs embryonnaires à six antipodes que sur ceux qui en ont déjà une trentaine.

Tous ces faits montrent clairement que la multiplication des antipodes s'effectue aux étapes où le noyau (ou les deux noyaux dans le cas des antipodes binucléées) est déjà rendu polyploïde par des mitoses de types inachevés.

## C - Procédés de multiplication de la matière chromatinienne dans les antipodes de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata*. Leur succession

Plusieurs faits indiquent l'existence de deux procédés successifs de multiplication de la matière chromatinienne dans les antipodes de *H. umbellata* et de *G. umbellata*. L'un est constitué par des mitoses inachevées, l'autre, par une forme d'« endomitose Geitlerienne ».

### 1° - Premier procédé

Ce procédé implique la binucléarisation remarquée sur toutes les antipodes de *Halenia umbellata* et sur quelques-unes dans le cas de *Gentianella umbellata*. Ici, la Caryocinèse est effective sauf qu'elle n'est pas suivie de cytodierèse.

Lors des mitoses suivantes, chacun des deux noyaux d'une antipode binucléée (ou le noyau d'une antipode uninucléée) devient polyploïde, vraisemblablement par la formation de noyaux de restitution.

Le manque d'espace fournit peut-être la raison pour laquelle les antipodes des *Gentianella* étudiés, généralement plus petites que celles de *Halenia umbellata*, sont presque toujours uninucléées. Cette interprétation est appuyée d'ailleurs par l'observation fréquente de figures de coalescence des plaques métaphasiques d'une antipode chez les *Gentianella*.

### 2° - Second procédé

En ce qui concerne le second procédé de multiplication de la matière chromatinienne, à savoir une forme d'endomitose entendue dans le sens de l'école de GEITLER, il y a de fortes raisons d'y croire.

a) Les principaux arguments avancés par cette école sont confirmés par les observations faites dans les noyaux des antipodes de notre matériel. D'abord, l'accroissement progressif des dimensions des chromocentres est net surtout chez *Halenia umbellata*. Il en est de même pour la formation de « chromosomes géants » et « polytènes » (elle est évidente chez *Gentianella umbellata*).

Quant aux changements de structure nucléaire non suivis de mitose, une des caractéristiques de l'endomitose, nous en avons remarqué aussi. Ils sont nets surtout dans le cas de *Gentianella umbellata* dont le noyau de type réticulé favorise l'observation de ces transformations. Ces changements de structure s'observent au moment où les dimensions des chromocentres ont augmenté, c'est-à-dire où l'endomitose aurait déjà été effective. Par conséquent, ce seraient des changements accompagnant le phénomène d'endomitose.

En ce qui regarde la faible proportion des noyaux aux « chromosomes géants », elle a été remarquée aussi par d'autres auteurs sur d'autres matériels (voir chapitre 25: II, A, 4, a).

b) On peut se demander ici quand commence cette forme d'endomitose. Chez *Halenia umbellata* où les chromocentres présentent des contours francs - ce qui facilite l'appréciation de l'accroissement de leurs dimensions -, celui-ci ne commence pas avant le stade où les deux noyaux d'une antipode sont au moins  $4n$  (fig. 164). En d'autres termes, l'« endomitose Geitlerienne » ne commence jamais avant que les mitoses de types inachevés ne se soient répétées quelques fois dans une antipode. En outre, sur les antipodes de sacs avancés, on n'observe que le phénomène d'endomitose. Ces faits montrent que ce dernier fait suite aux divisions de types inachevés.

La même conclusion s'impose pour le cas de *G. umbellata*.

c) TSCHERMAK-WOESS (1956), dans son étude sur l'hypertrophie des antipodes des *Aconitum*, phénomène dont elle attribue l'origine à l'endomitose, a remarqué que le nombre des chromocentres reste inchangé malgré l'accroissement progressif de leurs dimensions (page 132). Dans le cas des antipodes de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata*, il est difficile de se prononcer à ce sujet. Car, avant l'apparition de l'endomitose, les noyaux des antipodes ont subi des mitoses abortives qui séparent les chromosomes-fils - ce qui augmente le nombre des chromocentres - et dont le nombre peut varier. Il en découle que le nombre de chromocentres peut changer d'une antipode à l'autre.

## D - Le synchronisme des noyaux d'une antipode

Chez *Halenia elliptica*, STOLT (*op. cit.*) signale que « un ou tous les deux noyaux d'une antipode se divisent de nouveau. Trois ou quatre noyaux dans une antipode est la règle », autrement dit, il peut y avoir asynchronisme entre les deux noyaux d'une même cellule.

Chez *H. umbellata* et *G. umbellata*, par contre, nous avons toujours remarqué un synchronisme rigoureux entre les noyaux d'une antipode, que ce soit pendant les mitoses inachevées ou au cours des endomitoses répétées.

Une raison de plus nous est donnée par la méthode des squashes qui peuvent séparer les antipodes une à une; cependant, jamais l'asynchronisme n'y a été observé (fig. 164 et fig. 171).

Il est d'ailleurs intéressant de noter que le même synchronisme a été remarqué dans les noyaux des antipodes de *Anemone helleborifolia* où la mitose du type « sticky » peut se répéter deux ou trois fois dans chaque cellule.

### E - La désagrégation des endochromocentres

1° L'existence de la désagrégation des endochromocentres dans les noyaux avancés des antipodes de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata* ne fait pas de doute.

Elle commence en effet par une disjonction de leurs éléments constitutants (fig. 174 et fig. 175). Vient ensuite la résolution de ces derniers en des chromocentres dont les dimensions vont en diminuant avec l'accroissement du volume des noyaux des antipodes. Cela traduit leur désagrégation progressive.

D'autre part, la formation d'un grand nombre de chromocentres paranucléolaires au moment de l'expansion des noyaux des antipodes chez *Halenia umbellata* nous paraît très significative. Le nombre de ceux d'entre eux qui sont facilement réparables par le fait qu'ils restent solidement accolés aux nucléoles énormes (fig. 168) se chiffre déjà aux environs de trente, cela sans tenir compte de l'existence éventuelle d'une multitude d'autres qui restent accrochés aux petits nucléoles qui pullulent à cette étape de la vie des antipodes où il se produit une énergique expansion du réseau (cf. F ci-dessous).

2° Une des raisons de l'apparition de ce phénomène de désagrégation des endochromocentres pourrait être trouvée dans l'expansion de la nucléolymphe survenue dans les noyaux des antipodes après l'endomitose. Car il est pensable que la désagrégation des endochromocentres en des chromocentres de plus en plus petits d'une part et l'expansion de la nucléolymphe d'autre part ne sont que deux facteurs dans le rétablissement de la densité initiale de la chromatine, densité fortement accrue durant le cours répété et accéléré de l'endomitose (voir F ci-dessous).

3° Des cas de désagrégation analogues ont été signalés sur les endochromocentres d'autres matériels par divers auteurs (voir chapitre 25: II, B, 1).

### F - Expansion du réseau et évaluation du degré de polyploidie d'un noyau hypertrophié d'après son volume

1° L'existence du phénomène d'expansion de la nucléolymphe (et par conséquent, du réseau nucléaire) est hors de doute dans les noyaux des antipodes avancées de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata*. Il faut dire que bien avant l'apparition des premiers signes de la croissance post-endomitotique accélérée de ces cellules – à savoir la formation des vacuoles dans le cytoplasme –, l'expansion du réseau se manifeste déjà par la désagrégation des endochromocentres, ce qui est surtout net chez *G. umbellata*.

Chez *Halenia umbellata*, le phénomène est des plus nets. Car ses trois antipodes indivises occupent un espace aussi grand que celui partagé entre une cinquantaine d'antipodes chez *Gentianella umbellata*. En effet, l'augmentation rapide du volume des enclaves cytoplasmiques, le relâchement des replis nucléaires résultant de la formation de noyaux de restitution, la séparation entre les deux noyaux-fils polyploïdes devenue à nouveau distincte, enfin le « bourgeonnement » actif des nucléoles traduit par une pullulation des petits nucléoles (fig. 168) ... tout cela joint à la dispersion soudaine des chromocentres ne peuvent qu'indiquer l'existence d'un mouvement violent déclenché par une expansion du réseau.

Chez *Gentianella umbellata*, nous avons pu observer les principaux faits qui indiquent ce phénomène d'expansion, notamment l'augmentation du volume des enclaves cytoplasmiques décelées par la méthode des coupes au cœur du noyau et un commencement d'amœboïsme de ce dernier. Faute de matériel avancé, nous n'avons pas pu étudier les stades ultérieurs. Cependant, il est probable que ces derniers présentent les mêmes aspects que ceux remarqués sur les antipodes de *Halenia umbellata*.

2° Les facteurs déterminant ce phénomène paraissent multiples. Retenons seulement qu'il peut être déclenché par une absorption d'eau par les noyaux fortement polyploïdes, absorption devenue

excessive à ce stade. C'est d'ailleurs l'hypothèse explicative de HÅKANSSON (1957) qui observait le même phénomène d'« expansion de la membrane nucléaire » accompagnée d'une « augmentation de la caryolymphe » (page 199) dans les noyaux des synergides hypertrophiées de *Allium nutans*.

### 3° - L'évaluation du degré de polyploïdie d'un noyau hypertrophié d'après son volume

L'expansion de la membrane nucléaire non conditionnée apparemment par une augmentation de la matière chromatinienne d'une part dans les noyaux hypertrophiés des synergides de *Allium nutans* et d'autre part chez les antipodes de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata* pose un problème épineux à propos de l'évaluation du degré de polyploïdie d'un noyau hypertrophié (polyploïde) consistant en principe dans une simple comparaison des volumes qu'il possède avant et après cet accroissement.

Certes, un noyau qui a une quantité de chromatine  $n$  fois plus grande que celle d'un autre - ce qui signifie qu'il a un degré de polyploïdie  $n$  fois plus élevé - aura un volume  $n$  fois plus grand, à la condition cependant que leurs chromatines aient la même densité et se trouvent par conséquent dans un même état. Cela explique pourquoi dans un tissu de degré de polyploïdie uniforme, les différents noyaux, au lieu d'être absolument égaux, ne le sont jamais.

Le problème est rendu encore plus compliqué dans le cas des noyaux des antipodes de ces deux Gentianacées par l'entrée en jeu de deux phénomènes simultanés, à savoir la multiplication de la matière chromatinienne dont le cours est accéléré et répété d'une part, et d'autre part, la croissance du volume du noyau qui tend à y rétablir la densité initiale. Car les deux phénomènes peuvent ne pas avoir le même rythme. Cela explique pourquoi dans ces antipodes, l'expansion du noyau continue encore jusqu'à leur dégénérescence alors que tout processus de multiplication de la matière chromatinienne s'est déjà arrêté. On peut rapprocher ici les remarques faites par TSCHERMAK-WOESS et HASITSCHKA (1953) sur l'accroissement en volume du noyau endomitotique pendant et après le phénomène d'endomitose.

La complexité du problème ne s'arrête pourtant pas là. En effet, à la fin même de la vie de ces antipodes, le réseau reste encore beaucoup plus dense - car il est beaucoup plus visible - que dans le noyau des antipodes initiales. Une autre preuve est fournie par le fait qu'à ce stade, malgré la continuation de la désagrégation des endochromocentres, la plupart des chromocentres présentent des dimensions encore beaucoup plus grandes que celles des chromocentres ordinaires; ce qui signifie que la désagrégation des « unités » multiples telles que endochromocentres et filaments « polyténes » n'est pas encore achevée. Dans ce cas s'efface définitivement le mince espoir d'attendre le rétablissement de la densité chromatinienne initiale qui constituerait la base d'une comparaison judicieuse pour l'estimation du degré de polyploïdie d'un noyau hypertrophié. Cela, sans tenir compte du fait qu'alors le contour des noyaux est devenu très irrégulier, ce qui rend difficile leur mensuration.

Ici, évidemment, la loi des grands nombres ne peut pas jouer.

### G - Quelques autres procédés capables de permettre d'évaluer le degré de polyploïdie d'un noyau polyplôide

En dehors des mesures cytophotométriques des teneurs en ADN, on peut employer dans des cas favorables les deux méthodes suivantes pour évaluer le degré de polyploïdie d'un noyau polyplôide.

1° D'abord, on peut compter le nombre de chromocentres ou celui des chromocentres paranucléolaires.

En effet, par le fait qu'un noyau  $2n$  de structure chromocentrique *sensu lato* a un nombre de chromocentres fixe, le nombre de ces derniers peut augmenter proportionnellement avec le degré de polyploïdie dans un noyau où la chromatine se multiplie par des mitoses de types inachevés ou par la forme d'« endomitose Geitlerienne » accompagnée d'une élévation du nombre des chromocentres (voir chapitre 25: II, A, 1).

Cependant, le comptage des chromocentres paranucléolaires est plus facile par le fait que leur nombre est toujours restreint. Ce comptage est favorable surtout dans les cas où ces chromocentres particuliers ont des dimensions développées.

2° Dans le cas d'une « endomitose Geitlerienne » caractérisée par un accroissement progressif des dimensions des chromocentres, on peut compter les gammes de grandeurs successives que peuvent

présenter les chromocentres d'un noyau affecté par ce procédé de multiplication de la matière chromatinienne. Car autant de ces gammes signifient autant de cycles d'endomitose. Ainsi, cette méthode nous a révélé la succession de quatre cycles endomitotiques sur les noyaux des antipodes de *Halenia umbellata*.

Mais il faut tenir compte du phénomène de désagrégation des endochromocentres. S'il se faisait de façon régulière – c'est-à-dire qu'un endochromocentre arrivé à son maximum de grandeur se fragmente en deux, puis en quatre, puis en huit ... portions égales –, le relevé des tailles différentes des chromocentres correspondant aux cycles endomitotiques serait plus facile. Car lors de la formation de ces chromocentres massifs comme au moment de leur désagrégation, on rencontrerait les mêmes gammes de dimensions. Cependant, tel n'est pas la règle. Le cas des noyaux endomitotiques géants du mésophylle des carpelles et du noyau endomitotique de la cellule apicale des poils glanduleux des sépales et du pédicelle de *Oxalis spiralis* (chapitre 12) est significatif à ce point de vue. On peut rapprocher ici les remarques de TSCHERMAK-WOESS (1954). En conséquence, lors de la désagrégation des endochromocentres, il peut se former des chromocentres de tailles intermédiaires, ce qui peut causer des erreurs.

Ainsi, il faut considérer seulement les stades où la désagrégation des endochromocentres ne commence pas encore. Ce qui ne semble pas difficile, du moins chez les Gentianacées étudiées ici. Car cette désagrégation coïncide généralement ici avec la dégénérescence des noyaux endomitotiques, marquée par la formation de grandes vacuoles dans le cytoplasme et surtout par l'expansion démesurée de la caryolymphe.

*Asclepiadaceae – Verbenaceae*

*Asclepias curassavica* L.

L'espèce présente vingt-deux chromosomes sur notre matériel comme sur celui de DIERS (1961). Il est à noter que jusqu'ici on n'a relevé que le nombre  $2x = 22$  sur les représentants du genre *Asclepias* (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

*Verbena litoralis* HBK

Cette espèce, répandue dans les zones littorales – d'où son nom – des régions tropicales et tempérées d'Amérique (DE CANDOLLE, pars XI), a été étudiée par DERMEN (1936) qui a rapporté  $2n = 28$  comme nombre diploïde.

1° Le noyau est du type semi-réticulé à chromocentres. Ceux-ci sont au nombre d'une douzaine dont trois ou quatre se trouvent nettement accolés au nucléole unique. Ce sont les chromocentres paranucléolaires.

2° La méiose est normale. A la métaphase I, il se forme vingt-huit bivalents normaux. A la métaphase II, nous avons observé des cas où les deux noyaux-fils ont chacun vingt-huit chromosomes (fig. 178). L'espèce étudiée a donc pour nombre chromosomique  $2n = 56$ .

Si on tient compte du fait que *V. officinalis* a pour nombre diploïde  $2n = 14$  (DERMEN, *op. cit.*), le nombre chromosomique que nous avons trouvé représente un degré octoploïde tandis que le nombre  $2n = 28$  trouvé par DERMEN est un degré tétraploïde. Tous ces nombres appartiennent à la série polyploïde ayant pour nombre de base  $x = 7$ . Il semble donc qu'il existe deux races chromosomiques chez *V. litoralis*.

D'autre part, il semble que  $x = 7$  constitue le nombre de base fondamental de la sous-section *Pachystachyae* (DE CANDOLLE, *op. cit.*) car trois de ses représentants se rapportent à  $x = 7$ : *V. bona-riensis*, *intermedia* et *litoralis*, ayant tous  $2n = 28$ . Cela suggère que *ovata* ( $2n = 72$ ), un autre représentant de la même sous-section, serait un allopolyploïde:  $72 = 6(7+5)$ . Il est à noter que le nombre de base  $x = 5$  est aussi très fréquent chez le genre *Verbena* (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

3° A propos de l'embryologie, soulignons en passant que la formation du sac embryonnaire est du type normal. Le sac prend une forme allongée et on assiste à une multiplication des antipodes dont le nombre atteint cinq ou six. Elles ne sont pas hypertrophiées.

Une autre caractéristique du sac embryonnaire est la formation d'une hypostase typique du genre conçu par VAN TIEGHEM (1901). Elle est constituée par des cellules aux membranes lignifiées qui occupent toute la base du nucelle à partir du niveau des antipodes jusqu'à son épiderme externe. Il semble que cette formation soit liée à la forte croissance en longueur du sac embryonnaire.

*Labiatae*

*Salvia macrophylla* Benth.

**A - Structure du noyau - Nombre chromosomique**

1° C'est un noyau semi-réticulé orné d'environ treize chromocentres dont six au moins sont des chromocentres paranucléolaires. Cependant, il est probable que le nombre de ces derniers est de huit, car sur des noyaux de synergides hypertrophiés dont les chromocentres ont augmenté de dimensions – ce qui favorise cette numération – nous en avons compté jusqu'à quatre.

La structure peu réticulée du noyau est d'ailleurs indiquée par les dimensions réduites de l'ensemble des chromosomes. Ceux-ci mesurent en effet de  $1\ \mu$  à  $2\ \mu$ , longueur qu'ils ne dépassent jamais.

2° Le noyau diploïde a dix-huit chromosomes. Ce nombre a été d'ailleurs vérifié sur des figures de diacinèse, de métaphase I et de métaphase II. Le nombre diploïde et le nombre haploïde de l'espèce sont donc respectivement  $2n = 18$  et  $n = 9$ .

**B - La méiose et le comportement des chromocentres paranucléolaires à la première partie de la prophase hétérotypique**

1° La méiose est normale chez *S. macrophylla*.

2° Le comportement des chromocentres paranucléolaires ainsi que celui des nucléoles à la première partie de la prophase hétérotypique mérite une étude attentive. On assiste en effet à un « bourgeonnement » du (ou des) nucléole(s) accompagné d'une répartition plus ou moins irrégulière des chromocentres qui y sont accolés.

Ces derniers sont au moins au nombre de six dans les microsporocytes. Avant l'entrée en méiose, ceux-ci ont toujours un nucléole unique et presque toujours central auquel s'attachent les chromocentres paranucléolaires. Dès que le stade leptotène s'amorce, le « bourgeonnement » du nucléole commence (fig. 179); la proportion des cas où l'on observe un petit nucléole à côté d'un autre plus grand est très faible, elle ne dépasserait pas 10%.

Au cours du stade pachytène, on observe différents types de répartition entre les chromocentres paranucléolaires et la matière nucléolaire elle-même. En effet, à ce stade, les nucléoles d'un microsporocyte ne portent pas toujours un nombre de chromocentres paranucléolaires proportionnel à leur volume (fig. 180). Souvent, on assiste à des cas (fig. 182) où un alignement de deux ou trois chromocentres paranucléolaires sépare un nucléole d'un de ses bourgeons; ce qui fait penser qu'à ce stade, chacun de ces chromocentres tend à s'éloigner des autres en emportant avec lui une partie de la matière nucléolaire, comme l'indique le grand nucléole isolé auquel reste attaché un de ces corpuscules chromatiques (sur la même figure). Les cas de microsporocytes dont le noyau possède plus d'un nucléole atteignent une proportion élevée à cette étape; celle-ci dépasse largement 50%.

A côté, on peut observer des figures de « seconde contraction » qui n'offrent qu'un seul nucléole (fig. 181). Cependant alors, tous les chromocentres qui y adhèrent occupent un pôle seulement.

**C - Formation d'uo tapis aux cellules multinucléées**

Peu avant l'entrée en méiose des cellules-mères de microspores, le tapis se divise activement. Il en résulte qu'il peut avoir des cellules à huit noyaux diploïdes.

Au cours de ces mitoses successives, on remarque toujours un synchronisme absolu entre les noyaux d'une cellule (fig. 183). Cette simultanéité parfaite apporte une preuve à la loi exposée dans le chapitre 24.

Des fusions nucléaires se produisent à différents stades. Cela est indiqué par les figures 183 et 184 dessinées à une même échelle et qui représenteraient respectivement une cellule ( $6n+2n$ ) et une autre ( $8n$ ) dont les noyaux sont en anaphase.

Le nombre total de chromosomes que peut renfermer une cellule nourricière ne semble pas dépasser  $16n$ . Cela est indiqué par des cas comme celui représenté par la figure 185 où les nombres de chromocentres indiquent quatre noyaux  $2n$  et deux noyaux  $4n$ . En outre, nous avons trouvé des cellules en métaphase qui ont soixante-douze chromosomes (fig. 186); ce qui indique qu'après la division, elles en auront cent quarante-quatre, c'est-à-dire le degré  $16n$ .

## D - Embryologie

L'embryologie chez *S. macrophylla* présente un certain nombre de particularités.

### 1° - Hypertrophie des synergides après la formation du sac embryonnaire

Après la mise en place définitive du sac, l'ovule de *S. macrophylla* passe par différentes étapes de transformation dont la première est représentée par une division éventuelle des noyaux des synergides qui peuvent devenir binucléées. Elle est suivie d'une hypertrophie visible de ces noyaux. Ces phénomènes se produisent généralement avant la fécondation.

a) Alors, les noyaux des synergides affectent progressivement une forme lenticulaire. En même temps, les chromocentres augmentent considérablement de volume. Dans ces noyaux hypertrophiés, on peut observer deux filaments chromatiques qui relient deux groupes de chromocentres paranucléolaires, occupant deux positions diamétralement opposées du nucléole unique, en traversant d'un bout à l'autre celui-ci (fig. 187). Ces filaments semblent indépendants.

Il paraît certain que la forme lenticulaire que prennent les noyaux de synergides hypertrophiés est due à leur contact étroit avec la vacuole énorme qu'ils coiffent à ce stade.

b) Nous avons essayé de comparer les volumes que possèdent ces noyaux avant et après le phénomène d'hypertrophie en suivant les principes de mesure que nous avons mis au point dans le chapitre II (Discussion, 2). Cette comparaison nous donne approximativement le rapport 1/14. Cela paraît indiquer que le noyau hypertrophié à l'extrême pourrait avoir un degré de polyploidie égal à  $16n$ .

Cependant, nous pensons que le degré de polyploidie à ce stade doit être plus élevé, car le reticulum y est plus dense qu'avant le commencement du phénomène d'hypertrophie (pour les principes de comparaison du volume des noyaux en rapport avec leurs degrés de polyploidie respectifs, voir chapitre 16: IV, F, 3) et demeure ainsi jusqu'à la dégénérescence des synergides. Celle-ci ne s'amorce généralement qu'après l'hypertrophie extrême des haustoria de l'albumen (voir ci-dessous).

Signalons en passant que les transformations subies par les noyaux des synergides de *S. macrophylla* - à savoir, formation peu fréquente de synergides binucléées, forme lenticulaire affectée par leurs noyaux et enfin leur hypertrophie assez prononcée - s'observent aussi chez *Geranium ayavacense* (voir chapitre 11).

c) Les synergides persistent très longtemps. Dans un ovule fécondé, leurs noyaux ne montrent des signes de dégénérescence qu'après une nette hypertrophie des deux haustoria micropylaires de l'albumen qui les côtoient et les remplacent fonctionnellement.

### 2° - Formation des haustoria d'albumen

a) L'albumen est cellulaire. A l'état jeune, il se compose d'une cellule chalazale binucléée et hypertrophiée, surmontée de deux rangées de cellules qui parcourent le sac fécondé dans son sens longitudinal (fig. 188). En outre, chacune des deux rangées voit sa cellule micropylaire se développer énormément. L'albumen donne donc trois haustoria<sup>1</sup>: deux micropylaires, uninucléés et un chalazal, binucléé. Ce dernier occupe juste la place des antipodes qui disparaissent avant la fécondation. Il est d'ailleurs intéressant de remarquer que la formation d'haustoria d'albumen simultanément dans les

<sup>1</sup> En raison de la nette individualité que présentent les trois cellules terminales hypertrophiées de l'albumen de *S. macrophylla* d'un bout à l'autre de leur développement, nous les considérons comme trois haustoria distincts. A ce point de vue, voir aussi MAHESHWARI (1950).

régions micropylaire et chalazale constitue l'apanage exclusif de la sous-famille des *Stachyoideae* à laquelle appartient le genre *Salvia* (SCHÜRHOFF, 1926).

Les noyaux de ces cellules hypertrophiées augmentent considérablement de volume. Il en est de même pour leurs chromocentres.

b) Dans les haustoria micropylaires, les chromocentres peuvent devenir à la fin très développés et rappellent beaucoup les chromocentres géants qui accompagnent généralement le phénomène d'endomitose entendu dans le sens de l'école de GEITLER. Dans ces noyaux aux chromocentres développés, on remarque l'existence de deux filaments chromatiques tenus qui relient deux chromocentres paranucléolaires en traversant le nucléole considérablement accru.

La comparaison entre le volume maximum que peut avoir le noyau des haustoria micropylaires et celui d'un noyau ordinaire de l'albumen, en suivant les principes de mesure mentionnés ci-dessus, donne approximativement le rapport 31/1. Cela paraît indiquer un degré de polyploïdie égal à  $96n$  (l'albumen de cette espèce étant  $3n$ ) dans le noyau d'un haustorium hypertrophié à l'extrême.

c) Quant aux noyaux de l'haustorium chalazal, ils n'ont pas un développement accentué comme ceux des haustoria micropylaires. Le même procédé de mesure indique un rapport de croissance de 4/1 entre un noyau d'haustorium chalazal développé au maximum et un noyau d'albumen ordinaire. Il est donc probable que le noyau d'haustorium chalazal aurait un degré de polyploïdie égal à  $12n$  et l'haustorium lui-même qui est binuclée, serait  $24n$ .

d) Il faut remarquer que les chromocentres des noyaux de l'haustorium chalazal, quoique plus développés que ceux des noyaux de l'albumen ordinaire, le sont beaucoup moins par rapport à ceux des noyaux des haustoria micropylaires. D'autre part, au cours de ces phénomènes d'accroissement, on n'observe aucun changement de structure nucléaire endomitotique dans ces noyaux. Ainsi, l'accroissement en dimensions des chromocentres accompagné, dans les mêmes proportions, d'une augmentation de volume du noyau et joint en outre à l'absence de changement de structure nucléaire semble indiquer ici un procédé de multiplication statique de la matière chromatinienne, une des formes d'« endomitose Geitlerienne » (voir chapitre 25: II, A, 1).

e) Les haustoria persistent assez longtemps. L'haustorium chalazal, blotti dans l'excavation en forme de doigt de gant qu'il a creusé dans l'hypostase (voir ci-après) ne dégénère qu'au stade où l'embryon a dépassé ce niveau (fig. 189). La dégénérescence des haustoria micropylaires s'amorce presque au même moment.

### 3° - Quelques mots sur la formation de l'hypostase

L'hypostase se compose d'une quinzaine de couches de cellules entourant l'excavation où vient se loger l'haustorium chalazal et qui affecte une forme de doigt de gant. Les couches externes, au nombre de deux ou trois, sont composées de cellules aux membranes fortement lignifiées et touchent directement l'épiderme du tégument. Comprimées ainsi par la croissance démesurée de l'haustorium chalazal contre les couches lignifiées de l'hypostase, les autres couches cellulaires de ce dernier voient leur cytoplasme diminuer et leurs noyaux devenir fortement pycnotiques; leurs cellules trouvées sur le chemin de cet haustorium sont écrasées, ce qui laisse celui-ci en contact direct avec les couches lignifiées qui arrêtent sa progression (fig. 189). On comprend donc facilement que, sans les couches lignifiées qui constituent la charpente principale de l'hypostase, le tégument serait percé inévitablement sous la poussée excessive de l'haustorium chalazal. Ainsi, au point de vue fonctionnel, cette hypostase réalise de façon idéale le type conçu par VAN TIEGHEM (1901).

## E - Discussion

### 1° - Variabilité de la structure nucléaire et des nombres de base chez le genre *Salvia*

Dans son travail sur le genre *Salvia*, DELESTAING (1954) signale quatre structures nucléaires différentes, allant du type sensiblement voisin à « celui connu sous le nom d'euchromocentrique » au type réticulé à chromocentres. Pour *S. macrophylla*, son noyau se rapproche de celui de *S. candidissima* de l'auteur précitée.

Il est d'autre part très frappant de voir la variation des nombres de base de ce genre: 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 17, 19 (DELESTAING, *op. cit.*).

## 2° - Nature des filaments chromatiques intranucléolaires

Grâce au phénomène d'hypertrophie observé dans les noyaux des synergides et des haustoria d'albumen de *S. macrophylla*, phénomène qui accroît aussi le volume des éléments chromatiques et celui du nucléole, on peut remarquer l'existence des couples de filaments chromatiques tenus qui relient deux chromocentres occupant deux points diamétralement opposés du nucléole (fig. 187).

L'adhérence du nucléole au niveau de ce double filament chromatique paraît indiquer que ce dernier représente la constriction secondaire du chromosome « nucléoligène ». La ténuité de ces filaments par rapport aux autres portions du même chromosome (figure précédente) montre que ce dernier est déspiralisé (ou très peu spiralisé) au niveau de la constriction secondaire.

## 3° - Mécanisme du « bourgeonnement nucléolaire »

a) Plusieurs auteurs ont décrit des cas de « bourgeonnement nucléolaire ». Cependant, la plupart du temps, ces affirmations étaient mal fondées, car le terme « bourgeonnement » implique, de par lui-même, un processus chronologique dont le déroulement n'avait pas été observé. En général, elles étaient basées uniquement sur l'observation d'un petit nucléole accolé à un autre plus grand. Or, un tel phénomène peut aussi être logiquement interprété comme une fusion nucléolaire, procédé opposé au phénomène de bourgeonnement mais observé couramment dans les cellules-filles après l'entrée en repos de leur noyau.

Ainsi, une base chronologique s'avère nécessaire pour des affirmations concernant fusion ou « bourgeonnement » nucléolaires. Pour cela, la prophase hétérotypique dans les anthères, de par le grand nombre des microsporocytes et par l'existence de stades successifs identifiables, constitue un matériel de choix.

Chez *S. macrophylla*, cette prophase présente un intérêt encore plus grand par le fait que son noyau possède jusqu'à six ou huit chromocentres paranucléolaires dont le comportement pourrait élucider celui du (ou des) nucléole(s). Ainsi, avant l'entrée en méiose, le noyau des microsporocytes ne possède qu'un seul nucléole, mais développé, auquel sont accolés tous les chromocentres paranucléolaires. Avec le stade pachytène, on assiste chez la plupart des cellules-mères à une multiplication de nucléoles. Ils peuvent être séparés ou rester accolés les uns aux autres, donnant une impression de « bourgeonnement ». Devant ce changement spectaculaire du nombre de nucléoles d'un noyau, aucune explication n'est valable à part la supposition d'un « bourgeonnement nucléolaire » ou d'une fragmentation de la matière nucléolaire.

b) Il découle de ce qui est immédiatement décrit ci-dessus que le « bourgeonnement » ou la fragmentation nucléolaire est intimement lié à un mouvement à l'intérieur du noyau. Cela est d'autant plus vrai que chez *S. macrophylla*, l'observation de nucléoles multiples dans les noyaux pachytènes de CMP s'accompagne toujours d'une forte « contraction » du peloton chromatinien (fig. 180 et fig. 182), « contraction » attribuée par certains auteurs à l'affaissement du peloton (voir VAZART, 1958). D'autre part, sur les CMP où l'on observe alors plusieurs nucléoles, chacun d'eux se rattache à un ou plusieurs chromocentres paranucléolaires (figures ci-dessus). Ce fait indique que les paires de chromosomes – car l'appariement des chromosomes se fait déjà au stade zygotène – dont ces chromocentres font partie et qui se trouvent jusqu'ici réunis au niveau du nucléole unique, se détachent les uns des autres.

Par conséquent, la multiplicité des chromocentres paranucléolaires est une des conditions importantes d'un « bourgeonnement nucléolaire » actif et multiforme à cette étape de la prophase hétérotypique.

c) Un trait remarquable observé dans ces cellules aux nucléoles en « bourgeonnement » est que le volume de la matière nucléolaire accolée aux (ou au) chromocentres paranucléolaires n'est pas toujours proportionnel au nombre de ceux-ci. Ainsi, sur la figure 180, on voit le grand nucléole accolé à un de ces chromocentres (ou probablement deux qui sont appariés), tandis que l'autre, plus petit, retient pourtant la majorité des chromocentres paranucléolaires du noyau.

Cette répartition inégale de la matière nucléolaire dépendrait probablement de la position occupée par les « filaments chromatiques » qui prolongent ces chromocentres à l'intérieur du nucléole unique au moment où se produit le « bourgeonnement » de ce dernier.

4° – Relation éventuelle entre le développement des microsporocytes et celui du tapis  
chez le genre *Salvia*

DELESTAING (*op. cit.*), travaillant sur du matériel qui n'est pas composé d'« espèces pures », signale chez *Salvia* une relation entre le développement normal des cellules-mères de l'anthere et celui des cellules du tapis qui les entourent.

En effet, sur les espèces où la méiose se déroule normalement, les cellules nourricières parvenues au stade binucléé « demeurent au repos de façon définitive ». Par contre, là où les microsporocytes « avortaient très tôt », s'observaient des anomalies chez les cellules tapétales telles que le « blocage de la migration des chromosomes après la métaphase » ou « des fusions nucléaires conduisant à la formation de masses amiboïdes géantes et polysomiques... »

Chez *S. macrophylla*, la méiose est toujours normale dans les cellules-mères de grains de pollen ainsi que le développement de ces derniers. Cependant, le tapis présente toujours les « anomalies » décrites ci-dessus, à part l'inhibition de l'anaphase.

## CHAPITRE 19

---

### *Solanaceae – Scrophulariaceae*

#### *Solanum probolospermum* Bitter

A la métaphase I, on observe la formation de douze bivalents normaux. L'espèce a donc  $2n = 24$ . Elle est donc diploïde (cf. DARLINGTON et WYLIE).

#### *Browallia americana*

L. (*sensu lato*)

La métaphase hétérotypique présente vingt-deux bivalents. L'espèce a donc  $2n = 44$  et est par conséquent tétraploïde. Il est intéressant de noter que DIERS (1961) a observé vingt-deux chromosomes dans le noyau de *B. grandiflora*.

#### *Calceolaria tomentosa* R. & P.

##### 1° – Structure du noyau

C'est un noyau semi-réticulé à chromocentres. Ces derniers sont au nombre d'une quinzaine, du moins ceux qui sont visibles. Deux d'entre eux s'appuient constamment sur le nucléole, toujours petit, et rejeté à la périphérie, et occupent deux positions diamétralement opposées (fig. 191). Ce sont les chromocentres paranucléolaires.

D'autre part, on observe des signes de « gigantisme » dans les noyaux de l'épiderme externe de l'anthere. Ils facilitent la compréhension de la structure du noyau quiescent. En effet, parallèlement à ce développement inhabituel du noyau, les chromocentres s'accroissent (à comparer fig. 191 avec fig. 193 dessinées à une même échelle). Cette croissance semble rendre plus visibles les chromocentres imperceptibles sur le noyau somatique normalement petit chez l'espèce. Car nous en avons compté jusqu'à vingt et un dans ces noyaux hypertrophiés. Sur ces derniers, la densité du réseau augmente et les chromocentres émettent des sortes d'excroissance qui traduiraient leur état complexe. D'autre part, ils ne montrent pas une consistance « solide » à l'exception des deux chromocentres paranucléolaires qui restent toujours compacts et gardent constamment une forme franchement arrondie (fig. 193).

Les noyaux des cellules épidermiques d'une anthere n'ont pas tous la même grandeur quoiqu'ils affichent tous, à un degré plus ou moins accentué, le phénomène d'hypertrophie. Les cellules qui les renferment ont des volumes proportionnels à ceux des noyaux. Les chromocentres varient aussi de dimensions suivant la taille du noyau qui les contient. Au cours de ces phénomènes d'accroissement de volume (noyaux et chromocentres), on n'observe aucun changement de structure nucléaire endomitotique. Tous ces faits semblent indiquer dans ces noyaux un procédé de multiplication statique de la matière chromatinienne, une forme du phénomène d'« endomitose Geitlerienne » (voir chapitre 25: II, A, 1).

##### 2° – Les chromosomes

Dans l'ensemble, les chromosomes sont de grandeurs moyennes. Le noyau diploïde en possède trente-six allant de  $1,6 \mu$  à  $3,4 \mu$  (fig. 192). La plupart ont une forme courbe à l'exception d'un certain nombre (environ six) en forme de bâtonnets.

Nous avons trouvé aussi des plaques de métaphase II où figurent dix-huit chromosomes.

*C. tomentosa* a donc  $2n = 36$  et  $n = 18$ . C'est une espèce tétraploïde à  $x = 9$ , un des nombres de base du genre. Ce degré de polyploïdie s'observe aussi chez d'autres *Calceolaria* sud-américains. Il est à noter que les diploïdes appartenant à ce nombre de base sont bien représentés aussi dans cette partie du monde (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

### 3° - Les grains de pollen

Dans les grains de pollen (à deux noyaux) normaux, nous avons presque toujours trouvé le noyau végétatif accolé à la cellule reproductrice. Celle-ci contient un noyau reproducteur de forme effilée, baigné dans un cytoplasme exigu et très réfringent.

L'accolement de ces deux organites s'observe aussi dans le pollen de *Anemone helleborifolia* (chapitre 7).

## *Alonsoa acutifolia* R. & P.

### 1° - Structure du noyau

C'est un noyau presque aréticulé et à chromocentres. Ceux-ci sont au nombre d'une quinzaine et manifestent une certaine tendance à s'attirer entre eux. Cela produit des chromocentres aux dimensions beaucoup plus développées que les autres. En outre, plusieurs d'entre eux peuvent s'aligner les uns à la suite des autres pour former des sortes de chaînes chromatiques.

Le noyau diploïde a généralement un seul nucléole, central et toujours accompagné de quelques chromocentres. Ce sont les chromocentres paranucléolaires. Quelquefois, il y a deux nucléoles qui se trouvent à la périphérie.

Les chromosomes sont petits. Aucun d'eux ne dépasse  $2\ \mu$ . Cela aiderait à comprendre la structure presque aréticulée du noyau (voir DELAY, 1948, page 195).

### 2° - Méiose - Nombre haploïde - Nouveau nombre de base du genre

a) A la fin du stade pachytène, plusieurs gemini se rassemblent en un faisceau qui s'accroche au nucléole (fig. 194). Un écrasement léger (squash) répartit les autres gemini en deux lignes courbes plus ou moins fermées et tangentes au niveau de la partie centrale de ce faisceau.

Il paraît certain que les gemini constituants de ces deux lignes courbes forment deux lots distincts et que l'un d'eux est composé d'environ onze gemini qui se dispersent assez facilement sous la pression exercée par l'écrasement, surtout à partir du stade diplotène (fig. 195). A la diacinèse (fig. 196), les squashes montrent vingt-huit bivalents normaux répartis en deux groupes qui peuvent se séparer l'un de l'autre. Un de ces groupes compte onze bivalents. Il en est de même au stade de métaphase I.

Cette forme d'association secondaire s'observe encore à la métaphase II. Les squashes fournissent fréquemment des cas où le lot chromosomique de l'un des noyaux-fils se scinde en deux groupes inégaux (fig. 198). Il est probable qu'un de ces derniers est composé de onze chromosomes et qu'il est relié à l'autre en un point de contact fourni par un de ses chromosomes (fig. 197). Cependant, sur de pareilles figures qui sont pourtant parmi les meilleures illustrant les associations secondaires à la métaphase II, il est difficile de séparer objectivement les deux groupes.

b) Quant au nombre haploïde, des figures de diacinèse (fig. 196) et des cas de métaphase II (fig. 197) indiquent que le nombre haploïde de l'espèce est  $n = 28$ . C'est donc un octoploïde ayant pour nombre de base  $x = 7$  qui est un nombre nouveau pour le genre *Alonsoa*. Signalons en passant que l'unique nombre de base connu jusqu'ici ( $x = 6$ ) est donné par *A. warcewiczii*, l'unique espèce connue au point de vue cytologique avec  $2n = 24$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955).

## *Bartsia aff. breviflora*

(Benth.) Pennell

## *B. aff. camporum* Diels

La première espèce a pour nombre diploïde  $2n = 24$  et la seconde,  $2n = \text{ca. } 26$ .

---

*Rubiaceae - Valerianaceae*

*Relbunium hypocarpium*

(L.) Hemsl.

**A - Structure du noyau - La méiose**

La caryolymphe est peuplée de « grains » chromatiques arrondis dont le nombre dépasse largement celui des chromosomes. D'autre part, ils sont deux ou trois fois moins épais que la section transversale des chromosomes. Plusieurs d'entre eux se trouvent fixés sur le nucléole toujours unique. Le réseau est peu dense de façon qu'on peut conclure à une structure semi-réticulée mais dont le réseau est constitué principalement par une trame granuleuse.

La méiose est normale. A la diacinèse, les chromosomes forment trente-trois couples. Chez un de ceux-ci, les conjoints peuvent s'apparier un peu plus tard. A la métaphase I, ces couples deviennent trente-trois bivalents. Le nombre haploïde de l'espèce est donc  $n = 33$ .

**B - Archésporium femelle multicellulaire**

Signalons en passant que l'ovule, qui n'est pas différencié en tégument et nucelle nets, loge un grand nombre d'archéspores. Cette particularité, si bizarre parce qu'elle est excessivement développée, ne laisse aucun doute. Car nous n'avons considéré que des archéspores véritables, reconnaissables aux différents signes caractéristiques de la méiose.

En général, la division hétérotypique se produit d'abord dans les archéspores centrales, puis s'étend aux archéspores périphériques. Cependant, l'asynchronie est légère. Car souvent nous trouvons des ovules où la majorité des archéspores sont en métaphase I; dans d'autres cas, la région centrale de la masse sporogène est en métaphase I alors que les archéspores des régions latérales sont encore au stade pachytène.

Il existe des cas enfin où ce sont les archéspores périphériques qui ont déjà deux noyaux, par contre la majorité de leurs compagnes occupant la partie centrale du tissu sporogène sont encore en métaphase hétérotypique. Cela signifie que la méiose, dans ces cas, a commencé par les zones périphériques et non par la région centrale de ce tissu.

**C - Formation du sac embryonnaire**

Les deux noyaux-fils résultant de la division hétérotypique restent ensemble dans l'archéspore devenue CME qui ne subit pas de cytocinèse (fig. 200). Une archéspore à deux noyaux de la région du centre se développe. Il se forme ensuite au sein de son cytoplasme deux grandes vacuoles occupant chacune un pôle de la cellule (figure précédente, cellule supérieure). La formation de telles vacuoles dans une CME montre que celle-ci est devenue sac embryonnaire. Le mode de formation du sac est donc tétrasporique.

Quant aux autres archéspores arrivées aussi au stade de deux noyaux, il semble qu'elles tendent vers la dégénérescence. En effet, leur cytoplasme se rétrécit et devient fortement chromatique; cela paraît indiquer une perte d'eau et par là une forte condensation de la matière cytoplasmique, ce qui augmente sa chromaticité (figure précédente).

D'autres archéspores dégèrent au cours de la méiose.

## D - Développement de la partie chalazale du sac

La région chalazale du sac embryonnaire s'allonge d'une longueur au moins égale à celle de ce dernier. Dans ce suçoir caudiforme, viennent se loger en file longitudinale les trois antipodes. Celle qui occupe la partie supérieure du suçoir se divise la première. Ensuite vient le tour des autres (fig. 199). Jusqu'ici les trois antipodes, avec leurs descendants, restent séparés. Cependant, avec les nouvelles progénitures engendrées par des divisions ultérieures et qui colonisent les anciens intervalles séparant les trois antipodes initiales, il n'est plus possible de discriminer les descendants de chacune d'elles. Ainsi, nous avons trouvé des suçoirs qui ont douze cellules. Signalons en passant que l'existence d'un suçoir antipodial est très fréquente dans la famille des Rubiacées.

### *Relbunium hirsutum*

(R. & P.) Schum.

Cette espèce ne nous a donné que très peu de boutons floraux à cause du nombre insignifiant de pieds cultivés.

Nous avons trouvé son nombre haploïde  $n = 11$  sur des plaques de métaphase II d'anthères.

### Discussion

Créé en 1873 par HOOKER et BENTHAM (LEMÉE, 1934), ce genre, étroitement apparenté au genre *Rubia* (MACBRIDE, part 6, page 257) et composé d'espèces colonisant exclusivement l'Amérique du Sud et du Centre, n'a pas encore été, à notre connaissance, étudié au point de vue cytologique, à part le cas de *Relbunium hirsutum* étudié par DIERS (1961).

### A - Nombre de base et degrés de polyploïdie

Un coup d'œil jeté sur les nombres chromosomiques des différents genres de la famille des Rubiacées (DARLINGTON et WYLIE, 1955) suffit pour donner la conviction que le nombre  $x = 11$  constitue le nombre de base le plus fréquent dans cette famille.

Avec  $x = 11$ , *R. hypocarpium* est un hexaploïde. Quant à *R. hirsutum*, il est tétraploïde sur le matériel péruvien étudié par DIERS, alors qu'il est diploïde sur le nôtre. Cette espèce a donc des races chromosomiques au Pérou et il serait intéressant d'en étudier la morphologie et la distribution géographique. D'autre part, les espèces du genre *Relbunium* qui, dans la chaîne des Andes semblent tenir le rôle écologique de certains *Galium* dans les Alpes, offrent une série polyploïde comparable à celle qu'EHRENDORFER (1958) a si bien mise en évidence en Europe. Ce parallélisme nous paraît intéressant à signaler.

A un autre point de vue, l'existence d'un même nombre de base, à savoir  $x = 11$ , chez *Rubia* et *Relbunium* confirme la parenté entre les deux genres et semble indiquer que celui-ci est le vicariant de celui-là en Amérique du Sud.

### B - La pluralité des archéspores et la méiose

L'existence d'un archésporium femelle multicellulaire constitue une particularité de la plupart des représentants de la famille des Rubiacées. FAGERLIND (1937, page 220) pensait en trouver une centaine chez *Galium Mollugo*; mais le nombre record serait tenu par *Asperula arcadiensis* dont l'archésporium femelle « énorme » peut renfermer jusqu'à deux cents cellules. Donc le cas d'une trentaine d'archéspores que possède l'ovule de *R. hypocarpium* ne devrait pas étonner.

Signalons en passant que des anomalies méiotiques ont été remarquées dans la zone périphérique du tissu sporogène de l'ovule des *Galieae*. En effet, l'asynédèse s'observe plus ou moins nettement dans les archéspores périphériques; des macrospores non réduites peuvent ainsi se former. Elle devient totale dans les « cellules somatiques transformées » (FAGERLIND, *op. cit.*, page 452). Si on tenait compte du fait que ces cellules « transformées » ne seraient en réalité que des archéspores périphériques qui délimitent la masse mégasporogène, on pourrait croire que plus on s'approche de la

périphérie de cette masse, plus la division ressemble à la division somatique. Ce gradient d'anomalies paraît constituer un stade précurseur pour l'avènement d'espèces apomictiques telles qu'on en observe dans le genre *Alchemilla* (voir chapitre 9).

En ce qui concerne le sort des archéspores d'un ovule, chez *R. hypocarpium* il ne se forme qu'un sac embryonnaire; donc une seule archéspore joue pleinement son rôle. Chez les Rubiacées, LLOYD (1902) considérait qu'un des mégasporocytes centraux est seul capable de produire des spores. Par contre, FAGERLIND a signalé la concurrence de plusieurs sacs embryonnaires dans maints *Galium*.

### *Valeriana verrucosa*

Schmale

L'espèce possède environ trente-deux chromosomes:  $2n = \text{ca } 32$ . A retenir que le nombre  $2n = 32$  a été relevé sur *V. interrupta*, *globularis* et *nivalis*, toutes les trois du Pérou (DIERS, 1961).

## CHAPITRE 21

### *Campanulaceae*

### *Specularia biflora*

(R. & P.) Fisch. & Mey.

Cette espèce a deux sortes de fleurs. D'une part, les fleurs terminales, uniques et normalement chasmogames et d'autre part, celles qui sont axillaires, nombreuses et cléistogames. L'étude faisant l'objet de ce chapitre porte exclusivement, sauf précision, sur les fleurs axillaires en raison de l'abondance du matériel qu'elles nous ont fourni.

#### A - Structure du noyau - Méiose - Nombre chromosomique

Le noyau est du type semi-réticulé à chromocentres.

La méiose est normale. A la métaphase I, il se forme vingt-huit bivalents normaux (fig. 201). L'espèce a donc pour nombre haploïde  $n = 28$ . Ce nombre a été d'ailleurs vérifié sur des plaques de métaphase II.

C'est donc un octoploïde, car le nombre de base  $x = 7$  a été trouvé chez *S. speculum* qui possède  $2n = 14$  (KOLLER, 1945, cité par DARLINGTON et WYLIE, 1955). Remarquons toutefois que chez la même espèce et chez d'autres *Specularia*, SUGIURA (1942, cité par les mêmes auteurs) a compté  $2n = 20$ . Il semble donc que l'on ait dans ce genre deux nombres de base différents, à savoir  $x = 7$  et  $x = 10$ . Le nombre que nous avons trouvé indique le polyploïde le plus élevé signalé jusqu'ici chez le genre *Specularia*.

#### B - Floraison et organisation générale des fleurs

Pendant les deux premières années, les plantules cultivées dans les couches à la température extérieure ou en serre tempérée ne se ramifient jamais. La tige, jalonnée de feuilles alternes, d'abord dressée devient rampante en s'allongeant. Il existe deux sortes de fleurs. 1° D'abord les fleurs terminales, solitaires, offrent l'aspect typique d'une fleur de Campanulacée: actinomorphes avec cinq pétales lilas et cinq sépales verts; ce sont des fleurs chasmogames. Cependant, la plupart du temps elles sont peu développées, restent fermées et deviennent cléistogames. 2° Ce dernier caractère est l'apanage des fleurs axillaires, uniques à chaque niveau mais nombreuses sur une même tige.

A la troisième année, sur les pieds cultivés dans une terre enrichie d'engrais (en serre comme en couches à l'air libre), on observe une tendance au raccourcissement des entre-nœuds et à la ramification de la tige. Plusieurs rameaux peuvent ainsi se former à un même niveau de la tige principale. En même temps, toutes les fleurs terminales des tiges principales se sont développées en fleurs chasmogames. Ce dernier caractère s'observe dans quelques cas sur les tiges secondaires. Quant aux fleurs axillaires (cléistogames), leur ovaire est devenu plus développé - avec un nombre d'ovules plus grand - qu'au cours des deux années précédentes. En même temps, leur nombre au niveau d'un nœud augmente (il peut varier de un à sept).

#### 1° - Partie supérieure de la fleur axillaire

Si la fleur chasmogame offre un plan d'organisation constant, la fleur cléistogame présente des modifications profondes d'un individu à l'autre. Aussi est-il intéressant d'étudier en détail sa structure.

On y remarque en effet de grandes variations au point de vue du nombre des pièces florales. Le calice possède trois ou quatre sépales verts, inégaux, séparés et dressés. Les pétales, au contraire, sont

soudés sur presque toute leur longueur. Ils constituent donc une sorte de calotte trouée au sommet et qui recouvre les étamines et les deux stigmates vestigiaux et offre étrangement l'aspect de stigmates à cause de leurs papilles. Leur nombre varie de trois à cinq en fonction des dimensions maxima que peuvent atteindre les fleurs.

Cette variabilité s'observe en même temps sur les étamines. Généralement au nombre de trois, ces dernières peuvent être au nombre de cinq dont deux sont stériles. Les anthères stériles tantôt sont écrasées par la croissance des étamines fertiles voisines, tantôt elles se résorbent en partie à l'exception de leur assise mécanique qui est tournée du côté externe et résiste grâce à la lignification tout à fait normale de ses parois cellulaires. Le filet, très court et alternipétale, paraît s'incurver pour se rattacher à la corolle (fig. 202).

## 2° - *Partie inférieure de la fleur axillaire*

L'ovaire infère est toujours biloculaire. Ce caractère auquel s'ajoute une étude anatomique des faisceaux libéro-ligneux de la paroi ovarienne montre qu'il y a seulement deux carpelles. Ces derniers développent jusqu'à la base des anthères leurs stigmates munis de papilles (fig. 202) mais dépourvus de longs poils présents chez les fleurs chasmogames. En général, les cellules des stigmates sécrètent une substance jaune de nature chimique inconnue. A quoi servent ces sécrétions? Il y a lieu de croire à un mécanisme chimique destiné à déclencher la germination du pollen à l'intérieur même de l'anthère.

Les ovules anatropes sont insérés sur des bourrelets proéminents le long de la colonne placentaire dont la majeure partie est constituée par le tissu conducteur qui continue les stigmates.

Dans l'ovule jeune, au stade de la méiose (fig. 203), on distingue un nucelle étroit formé d'une seule couche de cellules et détaché nettement du tégument unique épais de trois couches cellulaires encore indifférenciées. Du côté interne, celui-ci se confond avec le funicule.

Peu à peu, le tégument se referme complètement sur le nucelle et l'enserme fortement. A la fin de la méiose, on trouve un ovule trois fois plus grand en dimensions linéaires, donc vingt-sept fois plus développé en volume. En même temps (fig. 204), le tégument se différencie définitivement avec un épiderme interne très caractéristique restant ouvert en bas; le nucelle aussi s'est accru fortement, laissant une seule couche de cellules autour des macrospores alors que la partie inférieure pluricellulaire est resserrée vers le bas. Ce changement spectaculaire dans le volume comme dans la structure de l'ovule montre que la mégasporogénèse se déroule lentement.

L'ovule continue sa croissance. Le nombre de cellules de l'épiderme interne du tégument augmente très vite, celles-ci ne formant toujours qu'une seule couche. Cela prouve qu'elles se multiplient par des divisions anticlinales.

Sous l'action d'une telle prolifération, ces cellules sont comprimées les unes contre les autres et deviennent aplaties. Par conséquent, là où cet épiderme présente des cellules les plus aplaties, on peut en déduire que la division a été la plus intense. Pour cette raison, la figure 208 montre que la multiplication de cet épiderme n'est pas uniforme sur toute son étendue. Elle est active surtout dans les trois quarts inférieurs.

## C - Embryologie

### 1° - *Formation du sac embryonnaire*

#### a) La monosporie

L'archéspore unique devenue CME est très grande par le fait qu'elle occupe tout l'enclos délimité par la couche nucellaire (fig. 203). Elle subit la division hétérotypique pour donner deux cellules-filles. De ces dernières naissent quatre macrospores dont celle qui se trouve en bas se divise encore trois fois et devient un sac à huit noyaux (fig. 204). C'est donc un sac du type normal.

Quelquefois, on n'observe que trois macrospores.

#### b) La formation de l'hypostase

Alors que la face interne de l'épiderme du tégument se cutinise, le nucelle subit de profondes modifications. D'abord, sous la poussée déclenchée par la croissance du sac embryonnaire, le nucelle se résorbe à l'exception de la région chalazale qui se transforme en une sorte d'hypostase (comparer fig. 204 avec fig. 208). C'est un tissu composé de cellules aux membranes non lignifiées. En raison de

l'absence de lignification sur les membranes, ces cellules sont comprimées progressivement par la croissance du sac embryonnaire, surtout après la fécondation. La diminution du volume du cytoplasme entraîne nécessairement une réduction de celui du noyau qui devient de ce fait fortement chromatique. Cela confère à l'hypostase un aspect très particulier. Plus tard, avec le développement de l'albumen, l'hypostase se résorbe (fig. 209).

L'absence de lignification des membranes de ses cellules constitutives fait penser que cette hypostase n'est pas le type conçu par VAN TIEGHEM (1901). D'autres cas d'hypostases non typiques ont été aussi signalés (voir MAHESHWARI, 1950).

## 2° - La fécondation dans la fleur axillaire: la cléistogamie

La constitution de la fleur axillaire conduit fatalement aux trois phénomènes particuliers suivants: 1° la cléistogamie, 2° la germination du pollen à l'intérieur de l'anthere et 3° l'arrivée de plusieurs tubes polliniques dans un même ovule.

Dès après la maturation du sac, dans la même fleur, le pollen germe à l'intérieur de l'anthere et envoie son tube aux deux stigmates vestigiaux situés immédiatement en dessous (fig. 202). Ces derniers - par le fait que la calotte pétalaire se développe très peu et que les autres éléments floraux qu'elle emprisonne (stigmates et surtout les étamines) grandissent - touchent de très près les anthères et par conséquent, le tube pollinique n'a aucune course inutile à faire pour les atteindre.

La sortie du tube pollinique est favorisée par la résorption partielle de la paroi du côté interne de l'anthere, côté opposé à l'assise mécanique. Les éléments restants n'offrent donc au tube qu'un obstacle insignifiant.

Chez *S. perfoliata*, RITZEROW (1907) a remarqué aussi que le pollen germe à l'intérieur de l'anthere et sort probablement par le sommet ou par l'endroit le plus mince.

Donc, chez *S. biflora* tous les tubes polliniques d'une fleur axillaire (cléistogame) n'ont qu'une seule et unique issue, à savoir les deux stigmates vestigiaux. Leur descente dans la colonne placentaire est donc fatale. Cela explique pourquoi presque tous les ovules fécondés de la fleur axillaire reçoivent un ou deux tubes polliniques accessoires alors que ce phénomène est rare dans les fleurs terminales (chasmogames) où la quantité de pollen est au moins vingt fois plus grande mais où le nombre d'ovules fertilisés par ovaire ne semble pas plus élevé que dans le cas de la fleur cléistogame. En effet, on trouve fréquemment 150 graines par fruit sur les fleurs chasmogames contre 80-150 sur les fleurs cléistogames. Cette fluctuation dépend de la taille de ces dernières dont les dimensions varient avec l'apport d'engrais et le niveau d'insertion de la fleur sur la tige.

Cependant, malgré l'afflux de plus d'un tube pollinique au niveau d'un ovule chez la fleur cléistogame, il est bien établi que la fécondation normale est toujours respectée dans le cas de *S. biflora* (fig. 205). Les spermatozoïdes supplémentaires peuvent persister assez longtemps dans le sac embryonnaire (fig. 209).

## 3° - Transformations de l'ovule après la fécondation

La fécondation entraîne plusieurs conséquences dans l'ovule, notamment la disparition des synergides, la formation d'un albumen cellulaire, la mise en place d'un embryon en forme de tube, la transformation de l'épiderme interne du tégument en un manteau (« Mantelschicht » selon SCHNARF, 1931) et la résorption spectaculaire de l'hypostase pour loger l'haustorium chalazal.

### a) Formation de l'albumen

Dès après la fécondation, le noyau central se divise le premier et donne deux cellules inégales, la plus grande est l'inférieure (fig. 206). La cellule supérieure se divise très tôt par un cloisonnement longitudinal en deux cellules qui subissent synchroniquement la mitose à leur tour (fig. 207) parfois même avant la cellule inférieure obtenue par la première division de l'albumen. Cette dernière se divise ensuite et peu à peu ses descendants remplissent la partie inférieure du sac.

Parmi les cellules provenant de la cellule supérieure de la première division de l'albumen, les deux plus proches de la région micropylaire s'hypertrophient en deux haustoria<sup>1</sup> flanquant latéralement

<sup>1</sup> En raison de la nette individualité que ces cellules hypertrophiées présentent d'un bout à l'autre de leur développement, nous les considérons comme des haustoria distincts. A ce point de vue, voir aussi MAHESHWARI (1950).

l'embryon qui s'allonge en forme de tube (fig. 209). Ces haustoria occupent donc la place des deux synergides déjà disparues.

Le fait que ces haustoria accompagnent toujours l'embryon suggère aussi qu'ils pourraient être deux cellules de l'embryon comme dans le cas signalé par SOUÈGES (1940) cité par MAHESHWARI (1950) chez *Myriophyllum alterniflorum* où de tels haustoria ne sont que les deux cellules du suspenseur hypertrophiées et appelées « synergid-like haustoria » à cause de la position qu'ils occupent. Cependant, ce doute n'est pas justifié ici, car chez *Specularia biflora* ces haustoria sont déjà bien différenciés quand l'embryon voisin n'entame pas encore sa première division (fig. 209). D'autre part, la membrane épaisse de la cellule-embryon se détache nettement des cellules de l'albumen environnant et délimite un embryon en forme de tube qu'on peut suivre sur toute sa longueur et qui n'entretient aucune relation organographique intime avec les deux haustoria latéraux.

On ne peut pas supposer non plus qu'il s'agit des synergides hypertrophiées comme c'est le cas chez *Geranium ayavacense* (chapitre 11) ou chez *Anemone helleborifolia* (chapitre 7) par le fait que chez *S. biflora* les synergides disparaissent très tôt, dès après la fécondation.

Donc, ce sont les deux cellules supérieures de l'albumen qui se sont hypertrophiées.

Du côté chalazal, l'albumen envoie une de ses cellules dans l'enclave laissée libre par l'hypostase résorbée. Elle s'y accroît démesurément et devient l'haustorium chalazal (fig. 212).

Il paraît donc fondé que la transformation de ces trois cellules n'est qu'un effet de position.

Il est à noter que les dimensions des chromocentres de ces haustoria augmentent en même temps que le volume des noyaux.

A la fin, les trois haustoria se résorbent.

Ensuite, l'albumen se charge de matières de réserve. En même temps, les membranes cellulaires s'épaississent. Cette double différenciation progresse de la périphérie à l'intérieur et de la région chalazale au pôle occupé par l'embryon (fig. 212) de façon à laisser une certaine liberté à l'accroissement de ce dernier. Car cette liberté serait certainement gênée par l'existence de membranes épaisses et par conséquent trop rigides. On comprendrait donc pourquoi c'est dans la région située immédiatement en dessous de l'embryon qu'on trouve les cellules de l'albumen les moins différenciées.

#### b) Formation du manteau

La partie de l'épiderme interne du tégument qui s'étend du niveau des synergides jusqu'en bas imprègne ses membranes d'une substance jaune de nature chimique inconnue et se transforme en un manteau dont l'existence a été signalée chez plus d'une famille, notamment chez les Campanulacées et les Lobéliacées (SCHNARF, *op. cit.*).

Dans la région chalazale, l'hypostase se résorbe rapidement, laissant une enclave en forme d'hémisphère dans laquelle va se loger l'haustorium chalazal (fig. 209). Au pôle opposé, la multiplication des cellules de l'albumen ainsi que la croissance de la partie supérieure de l'embryon en forme de tube repoussent vers le haut la partie de l'épiderme du tégument non encore imprégnée de la dite substance jaune, de façon à former aussi une enclave hémisphérique dans laquelle se développent les deux cellules supérieures de l'albumen en haustoria et la partie supérieure du suspenseur formé ultérieurement (fig. 211): c'est l'enclave micropylaire. L'ancien sac embryonnaire présente alors trois parties morphologiques distinctes: l'enclave micropylaire, le sac proprement dit entouré par le manteau, et l'enclave chalazale. Ces trois parties sont nettement séparées par deux étranglements: l'un au niveau des anciennes synergides, l'autre à la limite sac-hypostase. La substance jaune ne tarde pas à imprégner l'épiderme tout entier.

A la fin, quand l'embryon est assez développé, la résorption des haustoria commence. En même temps, la couche externe de l'albumen contiguë à ces haustoria s'imprègne aussi de la dite substance jaune: la fermeture sera donc complète. Les espaces vides laissés par la résorption des haustoria disparaîtront par la suite, sous la croissance de la graine provoquée par le développement intense de l'albumen et de l'embryon.

#### c) Développement de l'embryon

L'embryon se développe beaucoup plus tard que l'albumen. Il paraît certain que ses premières divisions sont conditionnées par le fonctionnement effectif des haustoria micropylaires (voir sous D, 5).

## D - Discussion

Les caractères organographiques et embryologiques particuliers de *S. biflora* posent des problèmes dont les suivants.

### 1° - L'influence de la nutrition sur la cléistogamie

Comme nous l'avons signalé ci-dessus (voir sous B), l'influence de la nutrition sur le développement de la fleur terminale en fleur chasmogame ou cléistogame est évidente chez *S. biflora*.

Cette influence a été constatée par RITZEROW (1908) par la transformation d'un certain nombre de fleurs cléistogames en chasmogames chez *S. perfoliata*.

### 2° - La nutrition et les rapports numériques des éléments de la fleur cléistogame

Chez *S. perfoliata*, RITZEROW a signalé que sur les pieds où l'on observe des fleurs chasmogames, c'est-à-dire d'après l'auteur « bien nourris », les fleurs cléistogames « ont toujours cinq sépales, cinq étamines et trois carpelles ». Cependant, sur ceux qui donnent purement des fleurs cléistogames - ce qui veut dire « mal nourris » -, ces dernières ont « très fréquemment trois ou quatre sépales, trois anthères et seulement deux carpelles ». Et l'auteur de conclure: « ce qui montre que les rapports numériques dans la fleur dépendent de la nutrition ».<sup>1</sup>

Nos observations sur *S. biflora* aboutissent, sous ce rapport, à la même conclusion. En effet, dans les différentes conditions de culture, il se produit à la fois des fleurs cléistogames naines et d'autres bien développées. Dans celles de la première catégorie, nous avons remarqué trois sépales, trois pétales et trois étamines toutes bien formées et fertiles; dans la seconde, quatre sépales, quatre à cinq pétales, cinq étamines dont trois seules arrivent à terme et deviennent fonctionnelles. Cependant, dans toutes les fleurs cléistogames, nous n'avons jamais pu trouver plus de deux carpelles à l'ovaire, comme le prouvent l'existence de deux cavités et la répartition des éléments conducteurs. Tout vestige du troisième carpelle a complètement disparu.

### 3° - L'afflux de plusieurs tubes polliniques à un même ovule

Nous avons fait remarquer (voir sous C, 2) que la descente des tubes polliniques dans la colonne placentaire de la fleur cléistogame était fatale. Cela explique pourquoi chez cette dernière, la majorité des ovules fécondés reçoivent un ou deux tubes polliniques supplémentaires<sup>1</sup> alors que ce fait est rare dans les fleurs chasmogames où la quantité de pollen par fleur est par contre au moins vingt fois plus grande. On pourrait rapprocher ici le cas de *Oxalis spiralis* (chapitre 12). En effet, lors d'une pollinisation artificielle intense chez cette espèce, nous avons également observé plusieurs tubes polliniques par ovule. Ici, certes, l'arrivée de un ou de plusieurs tubes polliniques à un ovule est conditionnée par le nombre de grains de pollen germés sur les papilles stigmatiques.

Chez *S. biflora*, il semble qu'un autre facteur intervienne pour favoriser ou inhiber la germination du grain de pollen. En effet, les stigmates de la fleur chasmogame ont beau collecter une grande quantité de grains de pollen, une partie de ces derniers se dessèchent sans avoir pu germer, à l'exception de ceux qui ont réussi à féconder les ovules, de sorte que le nombre d'ovules fécondés ne dépasse pas 150 par ovaire. Par contre, dans les fleurs cléistogames, le nombre de grains de pollen est bien moindre; cependant, dans la presque totalité des cas ils ont tous germé, à en juger par l'absence du cytoplasme et des noyaux végétatif et reproducteur observée sur eux; le nombre d'ovule fécondés peut atteindre aussi 150. Cette comparaison montre clairement que la germination des grains de pollen dans la fleur cléistogame est favorisée par la formation de la calotte pétalaire indéhiscence dont le rôle serait de protéger le grain de pollen contre la dessiccation. Il faut ajouter toutefois que la dessiccation d'une partie des grains de pollen sur les stigmates de la fleur chasmogame a été observée sous le climat de Neuchâtel. Nous ne savons pas si au Pérou les choses se passent de la même manière.

En somme, avec la cléistogamie observée sur *S. biflora*, on assiste à un véritable phénomène d'« économie de matériel » et en même temps à une forme de garantie quant à la survivance de l'espèce.

<sup>1</sup> Il serait intéressant d'étudier à ce point de vue les autres espèces cléistogames dont un grand nombre est mentionné dans le travail de RITZEROW (1908).

Car, sans compter le gaspillage d'un grand nombre de grains de pollen détruits par la dessiccation dans le mode chasmogame d'une part et l'éventuelle contribution trophique qu'apportent les tubes polliniques accessoires – la richesse du cytoplasme des tubes polliniques en auxines étant chose bien connue – au développement de l'embryon et de l'albumen d'autre part, la décharge de plus de deux spermatozoïdes conditionnée par l'afflux de plus d'un tube pollinique à un ovule amène une sorte de compétition entre les spermatozoïdes au niveau d'un noyau femelle. La fécondation en serait d'autant mieux assurée.

#### 4° – L'hypertrophie des noyaux des haustoria

La formation des haustoria de l'albumen de *S. biflora* s'accompagne d'un accroissement en volume de leurs noyaux. Au cours de cet accroissement, les chromocentres augmentent de dimensions et, en même temps, la densité du réseau nucléaire s'intensifie. Ces faits suggèrent que l'hypertrophie des noyaux de haustoria est due à un phénomène d'« endomitose Geitlerienne » (voir chapitre 25: 11, A). Il s'agirait donc ici d'une forme de multiplication statique de la matière chromatinienne.

#### 5° – Le rôle des haustoria

Par le fait qu'ils occupent les deux voies d'accès uniques pour l'apport des matières trophiques de l'extérieur à l'ensemble embryon-albumen (fig. 212), on comprend aisément que les haustoria conditionnent la vie normale de cet ensemble chez *S. biflora*.

A ce point de vue, il y a lieu de croire à une division du travail entre ces cellules hypertrophiées : à l'haustorium chalazal revient la nutrition de l'albumen, aux haustoria micropylaires, celle de l'embryon.

a) En effet, un coup d'œil jeté sur la figure 212 révèle immédiatement un gradient dans la formation de l'albumen qui va progressivement du côté micropylaire au pôle chalazal où l'on trouve les cellules d'albumen les plus grandes, les plus bourrées de matières de réserve et par conséquent les mieux nourries.

b) On peut alors se demander pourquoi, côtoyant de si près les haustoria micropylaires, les cellules d'albumen de cette région paraissent pourtant si « mal nourries ». La figure 211 permettrait de résoudre cette énigme. En effet, durant son développement (au moins pour la première partie), l'embryon, quoique comprimé à la limite albumen-haustoria micropylaires, ne cesse jamais de rester en contact avec ces derniers dont il reçoit sans doute des aliments, à en juger par les dimensions si développées de la partie supérieure du suspenseur affectant une forme d'ampoule. Ainsi, il serait logique de penser que le courant trophique de ces haustoria est sélectif. Il se dirigerait seulement vers la partie supérieure du suspenseur qui reste emprisonnée comme eux dans l'enclave micropylaire.

Un autre fait non moins éloquent caractérisant cette spécialisation est le mécanisme de l'entrée en division de la cellule-embryon. Celle-ci ne fait que s'allonger en un tube au fond duquel réside le noyau unique (fig. 209) tant que les haustoria micropylaires ne fonctionnent pas encore, activité jugée par l'hypertrophie visible de leurs noyaux. Les faits suivants appuieraient cette supposition.

En effet, la figure 209 montre un albumen à quinze cellules dont les deux supérieures destinées à devenir les deux haustoria micropylaires ne manifestent encore aucune activité physiologique propre à leur fonction – leurs noyaux n'étant pas encore nettement hypertrophiés – et en même temps un embryon en forme de tube allongé dont le noyau unique est encore au repos. Par contre, sur la figure 210, l'albumen n'a que huit cellules, la graine ainsi que l'embryon ne sont pas encore bien développés, mais par une anomalie anatomique, les deux cellules supérieures de l'albumen sont déjà hypertrophiées par suite de la formation précoce de l'enclave micropylaire, on observe alors l'entrée en mitose du noyau de l'embryon.

Par ailleurs, nous n'avons jamais trouvé un seul cas où l'embryon avait plus d'une cellule et où ces deux haustoria n'étaient pas encore hypertrophiés.

D'autre part, la disparition précoce des synergides dès après la fécondation – ce qui signifie que le sac fécondé est privé de tout apport trophique de l'extérieur, le rôle nourricier des synergides étant déjà chose bien établie – exige évidemment l'existence d'un autre mécanisme nutritif pour le développement de l'embryon. Le choix est jeté sur les deux cellules supérieures de l'albumen qui deviennent haustoria.

Enfin, un trait non moins singulier est constitué par les premières divisions de l'albumen. Dès après la fécondation, celui-ci donne deux cellules par une division toujours inégale. Il en résulte qu'elles ont deux noyaux égaux mais des cytoplasmes de volumes différents, la supérieure étant la plus petite. Celle-ci se divise très vite, probablement en raison du déséquilibre prononcé entre le volume du noyau et celui du cytoplasme suivant le rapport nucléo-plasmique N/P. Les noyaux des deux cellules-filles issues de cette division subissent à leur tour la mitose de façon toujours synchrone, donc très tôt après leur naissance (cf. chapitre 24: 1). Tout se passe comme si la partie supérieure de l'albumen accélérât ses divisions pour former vite l'enclave micropylaire et pour déterminer par conséquent l'hypertrophie de ses deux cellules supérieures destinées à devenir haustoria. Tout cela n'aurait certes d'autre but que de hâter l'apport trophique à l'embryon pour déclencher chez lui les premières mitoses.

*Compositae*

Cette immense famille qui au Pérou compte des milliers d'espèces et qui est une des mieux représentées dans la chaîne des Andes n'a pu être étudiée, comme nous aurions voulu le faire. Dans l'abondant matériel rapporté par M. TERRIER, il y avait assez peu de graines et plusieurs d'entre elles n'ont pu germer. Si l'on ajoute à cela les échecs dus à nos débuts de culture en plein air, on comprendra que pour finir, seule une dizaine d'espèces nous aient fourni des résultats.

*Verbesina aff. setifolia* Blake

Les graines de cette espèce ont été récoltées par hasard avec d'autres graines. La plante cultivée en serre tempérée a une tige qui atteint deux à trois mètres de hauteur. Après avoir passé l'été 1964 en plein air, elle a fleuri dans la serre. La détermination de ce *Verbesina* s'est avérée difficile, car à Genève, les types des espèces du Pérou décrites par BLAKE sont représentés par des photographies. Si bonnes qu'elles soient, celles-ci ne permettent pas une identification certaine.

L'espèce possède trente-quatre chromosomes:  $2n = 34$  (mitoses de racines). A la métaphase I, il se forme dix-sept bivalent normaux:  $n = 17$ .

*Heliopsis buphtalmoides*

(Jacq.) Dun.

Avec ses vingt-huit chromosomes somatiques, cette espèce est un tétraploïde sur la base  $x = 7$ . Nos recherches mettent ainsi en évidence un nouveau nombre de base chez le genre *Heliopsis*, dont l'espèce *H. helianthoides* de l'Amérique du Nord possède  $2n = 32 = 4 \cdot 8$  (cf. DARLINGTON et WYLIE, 1955).

*Vernonia scorpioides* Pers.

Cette espèce possède  $2n = 30$  (fig. 213) et  $n = 15$ . Le genre *Vernonia*, très riche en espèces et systématiquement difficile, a été très peu étudié au point de vue cytologique. Chez *V. cinerea*, GRANT (in DARLINGTON et WYLIE) a compté  $2n = 18$ , ce qui indique un nombre de base  $x = 9$ . D'autre part, chez *V. nudiflora*, COVAS et HUNZIKER (in « Index to Plant Chromosome Numbers », supplément) ont relevé  $n = 16$ ; on peut en déduire un second nombre de base, à savoir  $x = 8$ . Par ailleurs, sur quatre espèces africaines étudiées par S. et G. MANGENOT (1962, page 444), on note encore le nombre  $x = 10$ . *V. scorpioides* révèle un quatrième nombre de base qui est  $x = 15$ .

*Elephantopus scaber* L

= *E. mollis* HBK

D'après une note de BERNARDI, dans l'herbier de Genève, l'*E. mollis* HBK serait conspécifique de l'*E. scaber*. Cette espèce est diploïde avec  $2n = 22$  (fig. 214) comme les trois autres espèces d'Amérique du Nord qui ont été étudiées (cf. DARLINGTON et WYLIE, 1955).

## *Perezia multiflora* Lessing

Nous pouvons confirmer pour ce taxon le nombre  $2n = 16$  qui a été compté par DIERS sur des plantes de la province de Cochabamba (Bolivie) et de Ticlio Bajo (Pérou). L'espèce est diploïde.

### Quatre taxa de *Gnaphalium*

Quatre taxa ont été étudiés: *G. purpureum* L. var. n° 7 03 13, *G. purpureum* L. var. n° 7 03 12, *G. melanosphaeroides* Schultz Bip. et *G. aff. Dombeyanum* DC.

Ces taxa possèdent un nombre somatique  $2n = 28$ . Le n° 7 03 13 représente une forme à feuilles larges, arrondies à l'extrémité et discolores du polymorphe *G. purpureum*. C'est probablement ce que WEDDEL a baptisé *Gamochaeta americana* var. *vulgaris*. Le n° 7 03 12 représente une variété (ou sous-espèce) à feuilles beaucoup plus étroites et cotonneuses et elle correspondrait à la var. *linearifolia* du *G. americana* de WEDDEL. En l'absence d'une étude monographique du genre *Gnaphalium*, la détermination des taxa précités a selon FAVARGER un caractère provisoire.

Le nombre de base du genre est  $x = 7$ . Les espèces péruviennes étudiées sont tétraploïdes.

## *Bidens andicola* HBK

var. *decomposita* O. Kuntze

1° Le noyau est du type semi-réticulé à chromocentres. Ces derniers sont au nombre d'une vingtaine.

2° La méiose est normale. On observe douze bivalents normaux à la diacinèse comme à la métaphase I. L'espèce est donc un diploïde appartenant à la série polyploïde à  $x = 12$  (DARLINGTON et WYLIE, 1955). Il est intéressant de noter qu'un autre nombre de base ( $x = 11$ ) est fourni par *B. laevis* (cf. « Index to Plant Chromosome Numbers » pour 1958).

Deux bivalents se trouvent accolés au nucléole. Il est donc pensable que l'espèce étudiée a quatre chromosomes nucléolifères.

### III<sup>ème</sup> PARTIE

## CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET DISCUSSIONS

Certains de nos résultats intéressent la caryologie générale, d'autres la cytotaxinomie de la flore péruvienne. Nous traiterons séparément ces deux rubriques.

### A - *Caryologie générale*

Dans les chapitres de la partie précédente, consacrés à l'étude monographique des espèces, nous avons rencontré des phénomènes qui se répètent chez plus d'une d'entre elles. Ils peuvent donc être considérés comme des phénomènes généraux. Dans les trois chapitres qui suivent, nous reprendrons ceux d'entre eux qui nous paraissent les plus intéressants et comparerons nos observations avec celles d'autres auteurs sur d'autres matériels.

## CHAPITRE 23

### I - Structure du noyau

#### II - Le nucléole et les chromocentres paranucléolaires

### 1 - Structure du noyau

#### A - Les structures nucléaires

1° Bien que la structure du noyau au repos ait été étudiée par de nombreux auteurs, et puisse être considérée comme actuellement bien connue, du moins chez les végétaux, certains problèmes ne semblent pas avoir retenu toute l'attention qu'ils méritaient (voir sous B). Cette étude est rendue difficile par le fait que la distinction des types de structure est toujours quelque peu subjective. Un grand progrès dans ce domaine a été réalisé grâce à la classification de DELAY (1947-1948). Le principal mérite de la classification de cet auteur est d'avoir considéré la densité du réseau (ou plutôt son importance) et le nombre relatif des chromocentres comme deux variables indépendantes, ce qu'elles sont réellement. De plus elle permet de donner un nom aux structures qui sont les plus fréquemment représentées chez les Angiospermes, à savoir les structures semi-réticulées avec ou sans chromocentres, ce que la plupart des classifications antérieures basées sur l'opposition réseau-prochromosomes (ou euchromocentres) ne permettaient pas de faire.

2° Sans doute, aucune classification ne peut donner place à tous les cas intermédiaires. Ceux-ci ont été signalés à plusieurs reprises par divers auteurs. DELAY elle-même note aussi des cas intermédiaires entre la structure semi-réticulée et la structure aréculée.

Il est en effet difficile parfois d'affirmer qu'un noyau est vraiment aréculé; suivant le fixateur employé, un noyau peut présenter un très fin réseau ou bien un enchylème uniformément coloré en rose par le réactif de Schiff. La chose n'a sans doute pas une importance capitale, si la théorie chromonématique est exacte, car les parties euchromatiques du noyau se résoudreient toujours en filaments dont le degré de ténuité ou de visibilité dans le noyau au repos ne dépendrait que du degré de déspiralisation. Les noyaux aréculés contiendraient donc des filaments submicroscopiques. Il serait intéressant de vérifier cette hypothèse par la microscopie électronique.

Dans les noyaux aréculés, le nombre des prochromosomes est *en principe* égal à celui des chromosomes. Toutefois, il n'est pas toujours possible de vérifier cette identité, en particulier lorsque le nombre des chromosomes est élevé (cas de *Begonia bracteosa*). Dans ce cas, c'est l'imperfection de nos moyens techniques qui est la cause du désaccord. Faisons remarquer qu'à cet égard, la technique des squashes constitue un notable progrès puisqu'elle permet d'observer des noyaux entiers. Même alors, il arrive que le nombre des prochromosomes soit légèrement inférieur au nombre diploïde des chromosomes. C'est que les prochromosomes ne sont pas tous de même taille et que certains peuvent se trouver en dessous de la limite de visibilité.

Enfin, l'étude de la structure du noyau est rendue encore plus difficile par les variations que cette structure subit sous la dépendance étroite d'un grand nombre de facteurs externes. Ainsi, chez *Llagunoa glandulosa*, GUERVIN (1961) note une diminution de la densité chromatique dans les noyaux de méristème radicaire de février en juin. Chez des Liliacées traitées par le froid, le noyau au repos semble surchargé de chromocentres (DARLINGTON et LA COUR, cités par THERMANN-SUOMALEINEN, 1949).

#### B - Relation entre la structure du noyau, la taille des chromosomes, le nombre de nucléoles et la formation d'auréoles périnucléolaires

Il existe chez les Phanérogames une relation étroite entre la structure nucléaire d'une part et la taille des chromosomes, le nombre de nucléoles que possède un noyau au repos et la formation d'auréoles périnucléolaires d'autre part.

### 1° - Relation entre la structure du noyau et la taille des chromosomes

a) Cette relation saute aux yeux à tous ceux qui étudient le noyau sur un grand nombre de Phanérogames d'affinités différentes. La densité du réseau augmente en effet avec la longueur des chromosomes. Par conséquent, aux chromosomes très petits doivent correspondre des noyaux aréticulés.

Déjà EICHHORN (1931-1933), dans ses recherches caryologiques chez les Angiospermes et les Gymnospermes, est arrivé à la conclusion que les noyaux à prochromosomes - en d'autres termes, les noyaux aréticulés - n'ont que des petits chromosomes tandis que ceux qui possèdent un réseau ont toujours des chromosomes longs ou moyens.

Cependant, c'est à DELAY (1948) que revient le mérite d'avoir déterminé *grosso modo* les limites de taille des chromosomes correspondant à tel type de structure du noyau au repos. Le grand nombre (= 590) d'espèces étudiées, leur appartenance à des groupes et à des familles divers justifient le crédit qu'on accorde à ces frontières (page 195). Or, l'auteur a tout de suite (page 196) fait remarquer qu'il n'y pas une relation simple entre la taille des chromosomes et la structure du noyau quiescent, car « les processus catachromatiques ne s'effectuent pas de la même façon sur des chromosomes de même taille ».

b) Par conséquent, les limites mentionnées par DELAY ne sont qu'approximatives. Leur valeur est loin d'être absolue. Ainsi, les *Alluodia*, qui ont des noyaux réticulés, possèdent pourtant des chromosomes ne dépassant jamais 1,2  $\mu$  (GUERVIN, *op. cit.*), alors que d'après les limites fixées par DELAY, leurs chromosomes devraient mesurer au moins 3  $\mu$ .

Un autre facteur exercerait une influence sur la structure du noyau, à savoir la composition chimique des chromosomes. Ainsi, la proportion d'ARN par rapport à la quantité totale des acides nucléiques varie avec les tissus (MIRSKY, 1947). De son côté, SERRA (1947) note une relation étroite entre le degré de spiralisation des chromosomes et leur richesse en nucléoprotéines. Or, comme la catachromase des chromosomes télophasiques, origine de l'existence et de la densité du reticulum, n'est qu'une forme de déspiralisation poussée de ceux-ci, la différence de densité de deux réseaux nucléaires - la taille des chromosomes restant la même - serait due à une différence dans la richesse ou le degré de polymérisation des nucléoprotéines dans les deux génomes.

Enfin, le volume général du noyau que possède une espèce entrerait aussi en ligne de compte. Car entre deux noyaux de deux espèces ayant exactement, à tout point de vue, les mêmes chromosomes, celui qui a le plus petit volume doit logiquement avoir le réseau le plus dense.

c) Parmi les 76 espèces péruviennes étudiées dans notre travail, 8 ont des noyaux aréticulés, 12 autres, des noyaux réticulés ou euréticulés. Les proportions de ces deux classes de structure sont donc respectivement de 10% et de 16%. Le reste est composé d'espèces ayant des noyaux allant du type semi-réticulé au type très peu réticulé, soit 74% du total. Par conséquent, c'est en somme les types intermédiaires qui l'emportent sur les deux autres. A ce point de vue, les plantes du Pérou rejoignent leurs semblables habitant d'autres pays et d'autres continents.

### 2° - Relation entre la structure du noyau et le nombre de nucléoles

Le nombre de nucléoles est en rapport direct avec la densité du réseau. Ainsi, dans la règle, les noyaux réticulés ou euréticulés peuvent en avoir plusieurs alors que pour les noyaux peu réticulés, le nombre de nucléoles varie de un à deux.

Des constatations de ce genre ont été l'objet des mises au point de plusieurs auteurs, notamment de celles d'EICHHORN (1934) et de DELAY (1948).

Sur toutes les espèces que nous avons étudiées, cette relation se trouve toujours vérifiée. Elle est nette sur des espèces telles que *Anemone helleborifolia*. Chez ce dernier, en effet, dans les petits noyaux où le réseau est dense, nous avons toujours observé trois ou quatre nucléoles; par contre, dans les noyaux plus grands où par conséquent la densité du réseau est moindre, il n'y en a qu'un.

### 3° - Relation entre la structure du noyau et la formation d'auréoles périnucléolaires

Chez les plantes du Pérou, nous avons constaté une relation étroite entre la structure du noyau et la formation d'auréoles périnucléolaires (et leurs dimensions). Cette formation est jusqu'ici considérée comme résultant d'une contraction du nucléole sous l'action des fixateurs tels que le Carnoy, le Nawaschine et le Helly.

a) Ainsi, chez les espèces qui possèdent des noyaux de type semi-réticulé (cas général des plantes péruviennes étudiées), l'existence d'auréoles périnucléolaires a toujours été observée.

Ces auréoles prennent des épaisseurs considérables sur les espèces à noyaux aréticulés tels que *Oxalis spiralis*, *Stelis concaviflora*... surtout *Puya Raimondii* dont les chromosomes sont particulièrement petits.

Par contre, chez les espèces dont le noyau a un réseau très dense (noyaux réticulés ou euréticulés), ces vides paranucléolaires ne s'observent que rarement, malgré l'emploi des fixateurs mentionnés ci-dessus. On peut citer le cas de *Gentianella umbellata*, de *Anemone helleborifolia* et surtout celui de *Mastigostyla aff. cyrtophylla* dont les chromosomes peuvent atteindre 14  $\mu$ .

Un autre fait appuie encore notre supposition. C'est que sur une espèce dont le noyau est du type réticulé ou euréticulé, la formation d'auréoles périnucléolaires varie avec le tissu et dépend étroitement du degré de densité du réseau nucléaire que ce tissu présente. Ainsi, chez *M. aff. cyrtophylla* dont le noyau est de type euréticulé, les noyaux somatiques ont un réseau dense et ne présentent pas d'auréoles périnucléolaires alors que celles-ci s'observent, par contre, toujours dans les noyaux haploïdes du sac embryonnaire qui ont des dimensions plus grandes et par conséquent un réseau plus faible.

b) Il semble donc bien fondé que plus le réseau est dense, moins il y a de chance de formation d'auréoles périnucléolaires. Cette corrélation fait penser que le réseau chromatinien exerce un certain freinage sur la contraction du nucléole.

Ce freinage est d'ailleurs compréhensible. En effet, plusieurs auteurs dont HUREL-PY (1936) et CHARDARD (1962, page 54) ont observé des corpuscules Feulgen-positifs dans le nucléole de diverses plantes. Il est très probable que ces inclusions intranucléolaires ne sont que des formes d'« invagination » de la chromatine. D'autre part, la prophase hétérotypique a révélé sur le nucléole de *Aerides houilletianum* une zone périphérique « traversée par des travées de chromatine » (CHARDARD, *op. cit.*, page 49). Ainsi, il paraît certain qu'il existe une sorte d'enchevêtrement plus ou moins intime entre les fibrilles chromatiniennes (voir CHARDARD, *op. cit.*) et la charpente de la matière nucléolaire à laquelle certains auteurs attribuent même une nature filamenteuse (cf. bibliographie faite par PEVELING, 1961, page 536). Dans ces conditions, la contraction du nucléole déclenche une action réciproque sur les fibrilles chromatiniennes et la charpente nucléolaire. Ceci aide à comprendre des figures de nucléoles parfois très déformés et des lambeaux de réseau qui y restent attachés (fig. 167).

Il est pensable qu'une forte densité de réseau chromatinien correspond à une abondance plus grande des fibrilles chromatiniennes. Il en découle un freinage plus considérable sur la contraction de la charpente nucléolaire et du même coup, une réduction des dimensions de l'auréole éventuellement formée. On comprend donc pourquoi cette dernière peut présenter des volumes développés sur les noyaux semi-réticulés ou aréticulés.

## II - *Le nucléole et les chromocentres paranucléolaires*

Au cours de notre étude, nous avons remarqué chez plusieurs espèces l'accolement de certains chromocentres *sensu lato* aux (ou au) nucléoles. Dans ce chapitre, nous essaierons de comparer nos observations avec celles d'autres auteurs.

D'autre part, la composition et la structure du nucléole commencent à être élucidées, en partie grâce à la microscopie électronique. Elles aideront à mieux comprendre les relations morphologiques entre le nucléole et la chromatine. Nous pensons qu'il serait utile de dire quelques mots sur cet organe.

### I - *Le nucléole*

1° Le nucléole s'observe généralement dans le noyau sauf dans le cas des cellules embryonnaires en segmentation (SIRLIN, 1961).

2° La taille du nucléole varie d'un tissu à l'autre. Le même auteur fait remarquer que les cellules qui ne synthétisent pas de protéines n'ont que des nucléoles insignifiants. Tel est le cas des leucocytes et des cellules musculaires adultes.

Elle augmente avec la quantité de chromatine que possède le noyau, surtout avec l'hétérochromatine (FERNANDES et SERRA, 1944).

Elle varie avec la température. EHRENBERG (1946) signale une diminution de volume nucléolaire quand la température ambiante monte de 10 °C à 30 °C.

3° La formation des nucléoles à partir de chromosomes déterminés a été mise en évidence par HEITZ (1931). Leur nombre est fixe dans une espèce au moins à la télophase.

a) Le même auteur (1932) soutient que dans les noyaux à chromosomes satellitifères, les nucléoles prennent naissance sur ces chromosomes. Cela semble l'amener à généraliser ensuite l'existence des chromosomes à satellites chez les plantes.

Chez le Maïs, MCCLINTOCK (1934) remarque que le nucléole ne prend pas naissance sur le filament du satellite mais sur une partie épaisse et chromatique située dans son voisinage. Elle la nomme « organisateur nucléolaire ».

Par contre chez *Scilla peruviana*, les nucléoles ne prennent pas naissance sur les deux chromosomes satellitifères (SATÔ, 1934).

Chez *Medeola virginiana* où on ne signale pas de chromosomes satellitifères, les nucléoles se présentent sur les deux chromosomes les plus petits, au niveau d'une constriction secondaire (STEWART et BAMFORD, 1942).

b) Les nucléoles peuvent en outre se former sur des chromosomes dépourvus d'organisateur nucléolaire (LEVAN, 1940).

De même chez *Vicia faba* et *Allium cepa* et certaines Orchidées, les nucléoles résultent de la condensation de petits corps appelés « prénucléolaires » apparaissant à la télophase sur les bras des chromosomes (LAFONTAINE, 1958; CHARDARD, 1962).

#### 4° - Quelques mots sur la composition et la structure du nucléole

a) D'après LHOTKA et DAVENPORT (1950), ce furent FEULGEN et ROSSENÆCK qui découvrirent en 1924 la spécificité du test de Schiff sur l'acide thymonucléique, un constituant spécifique de la chromatine. Dès lors, la réaction nucléale, dite réaction de Feulgen, a beaucoup facilité, avec le concours d'une coloration de contraste au vert lumière, l'étude des relations entre le nucléole et la chromatine. Ainsi, HUREL-PY (1936) a observé au sein du nucléole des grains colorés comme la chromatine.

b) Depuis une quinzaine d'années, la composition et la structure du nucléole ont été l'objet des recherches de plusieurs auteurs. Les résultats sont variés.

Chez les animaux, d'après ESTABLE et SOTELO (1951) cités par SIRLIN (1961), le nucléole se compose de deux parties. La partie centrale a une constitution fibreuse et s'appelle par conséquent « nucléolonema »; elle est entourée par une « pars amorpha ». Les recherches au microscope électronique faites par d'autres auteurs révèlent chez le nucléole une structure réticulée composée de filaments. Ceux-ci peuvent être résolus en des grains arrondis ou ovalaires de 100-150 Å. La différence entre le nucléolonema et la pars amorpha consiste dans la répartition plus ou moins dense de ces grains (voir CHARDARD, *op. cit.*).

Quant aux végétaux, le microscope électronique a permis à LAFONTAINE (*op. cit.*) de trouver dans les nucléoles de *Vicia faba* et de *Allium cepa* une structure granulaire. Selon la répartition de ces grains, les nucléoles peuvent être homogènes ou composés d'une écorce dense et d'un cœur central plus clair.

Par contre sur le nucléole du noyau en synzesis de *Drymaria grandiflora*, une espèce de notre matériel, c'est le « cœur » qui est plus dense (fig. 49).

Chez les Orchidées, le nucléole a une structure fibrillaire, légèrement spiralée (CHARDARD, *op. cit.*).

## II - Les chromocentres paranucléolaires

Ce sont des chromocentres *sensu lato* qui accompagnent le (ou les) nucléole(s) d'une manière plus ou moins intime et de façon permanente.

### A - Leur existence a été remarquée depuis longtemps

1° Elle a été d'abord considérée comme une forme d'adhérence du nucléole au réseau. ROSEN (1892-1895) cité par LENOIR (1931) distingue deux sortes de nucléoles suivant leur comportement vis-à-vis du réseau. Il y a les eunucléoles, libres dans la caryolymphe, et les pseudonucléoles qui en font partie.

2° Par la suite, on commence à apercevoir les relations morphologiques entre les nucléoles et les chromocentres. L'attention porte d'abord sur les satellites. Les observations de SENJANINOVA (1926) citée par DELAY (1940) sur *Ranunculus acris* et de SOROKINE (1929) sur *R. Chius* sont parmi les premières à ce sujet.

Viennent ensuite les remarques de HEITZ relatives à la naissance des nucléoles et dont nous avons parlé ci-dessus.

Depuis lors, on n'a cessé de signaler l'existence de satellites chez maintes espèces réparties dans des familles d'affinités diverses et celle d'un nucléole accolé à chacun d'eux.

3° Ensuite, la nature chromocentrique des corpuscules « accolés » aux nucléoles a été mise en évidence, grâce à la réaction de Feulgen, par certains auteurs dont DANGEARD (1934, sur le noyau de *Lathrea clandestina*). Le même auteur y observe des tractus reliant au nucléole les chromocentres en question.

Des auteurs ont signalé chez plusieurs espèces des « bourgeons » de nucléole qu'ils décrivent comme de simples « protubérances nucléolaires » ou des « micronucléoles ». Pour DANGEARD (1940), ce seraient des chromocentres « fixés sur les nucléoles » (page 171). Donc ce seraient aussi des « chromocentres périnucléolaires ».

Cependant, l'existence de micronucléoles ou de corps analogues accolés aux nucléoles et de nature nucléolaire a été observée par des auteurs qui ont employé la réaction de Feulgen comme GAVAUDAN (1937) sur *Lupinus albus*, *Phaseolus* et divers *Quercus* et CHEVALIER (1945) chez les *Acacia australiens*. Dans le même ordre d'idée, on peut citer les remarques de EICHHORN et FRANQUET (1934) concernant un corps annexe « incolore au Feulgen comme le nucléole auquel il est accolé ».

4° L'existence de « chromocentres périnucléolaires », généralisée par DANGEARD (1940), a depuis cette date attiré l'attention de plusieurs cytologistes. VAZART (1950) signale que « ces corpuscules ont été décrits chez plusieurs espèces et dénommés *chromocentres paranucléolaires* (souligné par nous) par divers auteurs » (page 523). La même auteur en remarque aussi sur trois espèces aux noyaux à calotte.

Chez les Mélastomacées africaines, FAVARGER (1952) remarque la présence de deux chromocentres paranucléolaires qui s'appartiennent au stade pachytène. Le même auteur précise qu'ils ne sont pas des satellites et appartiennent à deux chromosomes privilégiés.

5° Le comportement caractéristique des chromocentres paranucléolaires à la prophase hétérotypique a été l'objet des recherches de plusieurs auteurs. Car alors, « l'adhérence de la chromatine thymonucléique au nucléole » (GAVAUDAN, 1936; GAVAUDAN et PELLETIER, 1936) ou « l'adhérence du nucléole à la chromatine thymonucléique » (FAVARGER, 1946) sont plus nettes que jamais.

La suite logique de cette adhérence est la formation de bivalents paranucléolaires à la diacinèse. Ces bivalents particuliers se sont fait remarquer depuis longtemps chez les animaux comme chez les végétaux. On peut citer entre autres les observations de KAWAGUCHI (1933) sur les Lépidoptères et celles de SATÔ (1934) sur *Scilla peruviana*. Depuis, les remarques de ce genre abondent dans maints travaux.

6° Si les chromocentres paranucléolaires se font remarquer facilement, il n'en est pas ainsi pour les « tractus » qui les relient éventuellement au nucléole. Car ils peuvent être cassés par la formation d'une auréole périnucléolaire causée souvent par le fixateur.

En outre, on peut attribuer aux fixateurs la formation de tractus chromatiques. Ainsi, tandis que DANGEARD (1945) affirme l'existence des tractus reliant les chromocentres périnucléolaires au nucléole, pour DOULAT (1945), ils peuvent être des artefacts.

## B - Chez les espèces péruviennes étudiées dans ce travail

1° Chez ces espèces, nous avons toujours remarqué l'existence de chromocentres paranucléolaires dans le noyau au repos.

a) Chez celles qui possèdent des noyaux à chromocentres, qu'ils soient réticulés ou non, les chromocentres paranucléolaires se font remarquer facilement par le fait qu'ils se trouvent toujours (ou dans la presque totalité des cas) dans le voisinage immédiat des (ou du) nucléoles. Leur observation demande d'autant moins de peine que le noyau subit une « endomitose Geitlerienne » plus poussée.

Car alors les dimensions du nucléole ainsi que celles des chromocentres augmentent. Le cas de *Cerastium mollissimum*, de *C. viscosum*, de *Draba Pickeringii* (poils du calice) et celui de *Salvia macrophylla* (noyaux hypertrophiés des synergides et des haustoria de l'albumen) sont typiques à ce point de vue.

Leur nombre se multiplie dans les noyaux de restitution. Car ce mode de multiplication de la matière chromatiniennne augmente en même temps et le nombre des chromocentres (dont les chromocentres paranucléolaires) et celui des nucléoles. La fusion de ces derniers rassemble sur un seul nucléole géant tous les chromocentres paranucléolaires. Cette concentration est frappante sur les antipodes hypertrophiées de *Halenia umbellata*.

Un autre facteur met en évidence le véritable paranucléolarisme de ces chromocentres particuliers. C'est la contraction subie par le nucléole sous l'action des fixateurs, ce qui produit une auréole périnucléolaire. Il y a des cas où cette auréole fait disparaître toutes les liaisons chromatiques entre le nucléole et le matériel chromatique qui reste dans la caryolymphe. Alors, il se peut que quelques grains chromatiques restent fixés sur le nucléole. Dans d'autres cas par contre, la formation de l'auréole périnucléolaire n'arrive pas à casser ces liaisons comme le montrent la figure 8 (*Stelis concaviflora*) et la figure 167 (*Halenia umbellata*). Sur la dernière figure, on voit certains chromocentres paranucléolaires entraîner à leur suite chacun un coin du réseau chromatique qui franchit alors, sans être cassé, l'auréole périnucléolaire.

b) Quant aux espèces dont le réseau n'a pas de véritables chromocentres, nous avons relevé aussi des associations analogues entre les nucléoles et la matière chromatique. Chez *Cajophora coronata* et *C. Buraevi* par exemple, le réseau n'a pas de chromocentres compacts. Cependant, en divers points de la caryolymphe, des grains chromatiques se rassemblent en des plages plus ou moins développées se détachant nettement sur le reste du réseau. De telles plages dont quelques-unes s'accroissent régulièrement aux nucléoles auraient valeur de chromocentres. A ce point de vue, le fait que HEITZ considère comme de nature hétérochromatique les calottes chromatiques ainsi que les chromocentres collectifs qui se forment dans le noyau de certaines espèces est significatif.

2° Il est intéressant d'identifier les chromosomes paranucléolaires, c'est-à-dire ceux dont font partie les chromocentres paranucléolaires.

a) L'identification est possible chez les espèces où le nombre de ces chromocentres n'est pas élevé, et qui possèdent des chromosomes correspondants caractéristiques.

Ainsi, chez *Begonia bracteosa* dont le noyau possède deux chromosomes beaucoup plus grands que le reste, nous avons pu suivre le comportement de deux prochromosomes paranucléolaires (distincts des autres prochromosomes par leurs grandes dimensions) depuis leur appariement au stade pachytène jusqu'à leur transformation en un bivalent paranucléolaire caractérisé à la diacynèse par sa forte chromaticité et sa grande taille, puis en bivalent le plus grand à la métaphase I. Les dimensions développées de ce bivalent nous ont permis de conclure que les deux prochromosomes en question sont bien deux portions des deux longs chromosomes du noyau épargnées par la catachromase télophasique. Car, en raison du nombre élevé des chromosomes ( $2n = 52$ ), il ne nous a pas été possible d'identifier ces chromosomes à la fin de la prophase somatique par leur comportement paranucléolaire.

Cependant, chez *Tibouchina brevisepala* dont le nombre chromosomique est peu élevé ( $2n = 18$ ) et dont le noyau possède deux chromocentres paranucléolaires développés, nous avons pu identifier les deux chromosomes paranucléolaires à la mitose somatique. Car ils sont les deux plus grands chromosomes de la garniture et eux seuls touchent le nucléole par un bout, ce qui s'observe encore vers le début de la métaphase.

b) Par contre, sur les espèces dont le noyau possède un nombre assez élevé de chromocentres paranucléolaires aux dimensions ne présentant rien de particulier, la détermination des chromosomes correspondants s'avère très difficile. Tel est le cas de *Salvia macrophylla* ( $2n = 18$ ) où le nombre de ces chromocentres est au moins de six.

3° Un nombre de chromocentres paranucléolaires relevé dans le noyau diploïde d'une espèce signifie-t-il que celui-ci possède le même nombre de chromosomes paranucléolaires?

Si ce nombre est de deux, il est probable que oui. C'est le cas de *Tibouchina brevisepala* et de *Begonia bracteosa* mentionnés ci-dessus.

Par contre quand il dépasse deux, c'est-à-dire s'il est de quatre, six, huit ..., il se peut très bien qu'un de ces chromosomes possède deux chromocentres paranucléolaires. Alors, sur ce chromosome, le nucléole s'observe au niveau d'une constriction secondaire encadrée de part et d'autre par deux chromocentres paranucléolaires. Tel est le cas des noyaux hypertrophiés des synergides (fig. 187) et

des haustoria micropylaires de l'albumen de *Salvia macrophylla* où l'existence d'une constriction secondaire traversant le nucléole géant tout entier et limitée aux deux extrémités par deux chromocentres géants ne fait aucun doute. Car ici, l'épaisseur de cette constriction ainsi que les dimensions de ces chromocentres ont été fortement accrues – ce qui augmente leur visibilité – sous l'effet d'un phénomène d'« endomitose Geitlerienne ».

4° Sur le matériel péruvien étudié dans ce travail, chez les espèces dont le noyau présente un réseau, nous avons remarqué fréquemment une excentricité du nucléole dans l'auréole périnucléolaire. Un « grain » chromatique qui a sans doute la valeur d'un chromocentre collectif se trouve alors du côté où le nucléole est en contact avec le bord de l'auréole; cela donne l'impression que le nucléole est retenu au réseau par ce « grain » chromatique.

D'autre part, avant leur fusion, les nucléoles d'un noyau se trouvent répartis à la périphérie et appliqués contre la membrane nucléaire (fig. 67). A ces niveaux, nous avons souvent observé des corpuscules chromatiques qui peuvent être considérés comme de petits chromocentres; parfois ces corpuscules ne s'observent pas. Ce n'est qu'après la fusion des petits nucléoles que le nucléole unique peut prendre une position centrale. Alors, il rassemble tous les chromocentres auparavant répartis sur les petits nucléoles. Il existe pourtant des cas où le nucléole unique est retenu à la périphérie (fig. 68).

5° Une autre particularité remarquée sur toutes les espèces dont nous avons étudié la méiose est le fait qu'au cours de l'affaissement caractéristique du peloton chromatinien au stade synzesis ainsi que pendant la « seconde contraction », le (ou les) nucléole s'attache toujours à un ou plusieurs filaments chromatiques, au niveau d'un ou de plusieurs « chromocentres » éventuellement fusionnés par le fait que l'appariement des chromosomes peut avoir eu lieu déjà. Cette force d'adhérence semble intense car la pression exercée par le squash ne sépare pas facilement le nucléole du peloton chromatinien. On peut citer le cas de *Drymaria grandiflora* où sous l'effet de l'écrasement, la « pars amorpha » (?) du nucléole synzésitique s'étire en un long bec sans pour autant se séparer du peloton (fig. 49).

6° Enfin les chromocentres paranucléolaires observés sur les espèces péruviennes présentent toujours une consistance compacte, à en juger par leur chromatocité intense. Exception faite pour le cas des noyaux dépourvus de vrais chromocentres comme celui de certaines Loasacées où les « grains » chromatiques se condensent en des plages collectives de structure lâche et dont quelques-unes se trouvent accolées au nucléole et ont par conséquent valeur de chromocentre paranucléolaire.

La structure compacte des chromocentres paranucléolaires est frappante dans le noyau de *Fuchsia Sanctae Rosae* et en particulier dans les noyaux endomitotiques des poils du calice de *Cerastium mollissimum* et de *C. viscosum*. Car dans ces noyaux, les autres chromocentres ont une structure plus lâche.

Par cette structure les chromocentres paranucléolaires seraient-ils des satellites? La réponse est difficile. En effet, l'existence des satellites n'est pas facile à mettre en évidence, car il faut se méfier des artefacts causés aux chromosomes par les fixateurs dont on ne peut jusqu'ici se passer pour leur étude.

## C - Discussion

### 1° – La signification des chromocentres paranucléolaires

a) Le paranucléolarisme permanent des chromocentres identifiables (cas de *Tibouchina breviseptala*, de *Begonia bracteosa* ...) chez une espèce indique que dans le noyau de celle-ci, les nucléoles se forment à des niveaux déterminés sur les chromosomes nucléoligènes. Cela implique l'existence d'un organisateur nucléolaire au voisinage d'une certaine constriction secondaire.

Dans le cas où un ou deux chromocentres limitent cette constriction, on les observe *naturellement* toujours accolés au nucléole. Cela revient à dire qu'il n'existerait aucune force les rattachant à ce dernier. Leur paranucléolarisme est dû seulement à leur position sur le chromosome, tout comme le nucléole doit leur compagnie permanente à sa position sur le même chromosome. Ce serait le cas général.

Par contre si les chromocentres paranucléolaires sont situés assez loin de la constriction secondaire, le nucléole du noyau quiescent les trouverait dans son voisinage. Ce serait le cas des espèces telles que *Securigera coronilla* (DELAY, 1940).

b) Cependant, il y a des espèces dont les chromosomes nucléoligènes n'ont ni constriction secondaire ni organisateur nucléolaire. Ici, l'élaboration du nucléole se fait par condensation de corps pré-nucléolaires apparaissant simultanément (ou à peu près) sur les bras des chromosomes. Malgré le

peu d'études faites sur ce mode de formation, il est pensable que le nucléole n'aurait pas de position fixe sur tel ou tel chromosome et par là, vis-à-vis de certains chromocentres. Cela semble expliquer les cas d'« accolement fortuit » de certains chromocentres au nucléole comme le cas de *Phoenix dactylifera* (DOULAT, 1944) et le fait que certaines plantes n'ont pas de chromocentres paranucléolaires.

Dans le même ordre d'idée, on pourrait citer le cas de *Lathraea clandestina* dont le nucléole porte quatre ou cinq bourgeons chromatiques qui s'en détachent peu à peu, « vont contre la membrane nucléaire et deviennent des chromocentres » (DANGEARD, 1934).

c) On peut envisager une autre possibilité. En effet, il est pensable – d'après Sœur DOUTRELIGNE citée par DOULAT (1943, page 144) – que certains chromocentres nous restent invisibles par leurs trop faibles dimensions. Donc, il y aurait aussi des chromocentres paranucléolaires imperceptibles.

## 2° – La signification des tractus

Comme il a été dit plus haut, les nucléoles peuvent se former au niveau d'une constriction secondaire. Or, de par son état faiblement spiralisé, celle-ci a une épaisseur beaucoup moindre que le diamètre des chromocentres qui peuvent éventuellement l'encadrer et qui sont appelés, de ce fait, paranucléolaires. Cette faible épaisseur donne à la constriction secondaire un aspect de « tractus » quand le nucléole, sous l'effet d'une contraction causée par le fixateur, la laisse observer en partie. Ainsi compris, les « tractus » n'existeraient pas. Car ce terme implique l'existence de filaments qui tireraient les chromocentres paranucléolaires vers le nucléole.

Cependant, il est certain que la force qui maintient ensemble le nucléole et le chromocentre paranucléolaire est considérable. Car, comme l'a fait remarquer DANGEARD (1945), quand les nucléoles subissent un déplacement dans la préparation (par le rasoir ...), ils emportent avec eux les chromocentres qui leur sont accolés. De même, chez *Cuphea dipetala* nous avons observé des cas où le nucléole, chassé du noyau par le squash, entraîne avec lui les chromocentres paranucléolaires dont les positions relatives sont respectées.

## 3° – Le paranucléolarisme de certains chromosomes à la prophase somatique

L'observation de chromosomes qui touchent par un bout le (ou les) nucléole(s) à la prophase somatique s'explique par l'existence de chromocentres paranucléolaires qui en font partie. Le cas de *Tibouchina breviseptala* en constitue un exemple typique. A ce point de vue, on peut mentionner aussi la formation, à la prophase hétérotypique, de bivalents paranucléolaires dont l'existence peut être mise en évidence plus facilement – en raison des dimensions développées des noyaux des cellules-mères et de la réduction à moitié du nombre des chromosomes par leur appariement à ce stade – que les chromosomes paranucléolaires à la mitose somatique. Ces bivalents particuliers se remarquent sur la plupart des espèces, animales comme végétales.

Chez *Tropaeolum majus*, DANGEARD (1945) homologue les quatre chromosomes « reliés directement au nucléole par leur extrémité » avec le même nombre de chromocentres périnucléolaires.

Par contre, LAMARDELLE (1950) signale qu'on peut accroître les adhérences entre le nucléole et les chromosomes prophasiques par le benzène et le bichlorure de mercure qui est d'ailleurs un des composants du Helly.

4° Pour le cas des noyaux dépourvus de chromocentres, il serait difficile de caractériser l'emplacement des nucléoles dans l'ensemble du réseau. Cependant, leur adhérence à ce dernier ne fait pas de doute. Car on y observe souvent l'excentricité des petits nucléoles avant leur fusion en un nucléole unique comme sur n'importe quelle espèce. Or, « l'excentricité des nucléoles ... n'a sans doute pas d'autre cause qu'un phénomène d'adhérence à la chromatine thymonucléique » (GAVAUDAN, 1937).

## 5° – L'importance des chromocentres paranucléolaires

Il résulte de la discussion faite plus haut (sous C, 1) qu'il y a trois formes de paranucléolarisme pour les chromocentres, suivant le comportement de ces derniers à l'égard du (ou des) nucléole(s). Il y a une forme étroite où les chromocentres en question s'appuient sur les nucléoles. La seconde forme consiste dans un certain voisinage de ces chromocentres maintenus à une distance constante des nucléoles correspondants. Dans le troisième, l'accolement des chromocentres aux nucléoles est fortuit.

Ces définitions auraient une portée pratique importante. Car suivant la forme de paranucléolarisme observée, on peut savoir *a priori* le mode de formation des nucléoles. Ainsi, pour un noyau (autrement dit, une espèce) où l'on remarque la première forme, on peut conclure que le nucléole doit son existence à un organisateur nucléolaire et que la constriction secondaire se trouve à proximité immédiate du chromocentre paranucléolaire qui fonctionne comme organisateur nucléolaire. Si c'est la deuxième forme, la conclusion qui s'impose est qu'il existe un organisateur nucléolaire mais que la constriction secondaire où apparaît le nucléole se trouve à une certaine distance du chromocentre paranucléolaire dont on peut suivre l'évolution au cours de la mitose et de la méiose dans les cas favorables. Par contre si on observe la troisième, la formation des nucléoles dans le noyau en question se fait par condensation de corps prénucléolaires.

#### 6° - Les chromocentres paranucléolaires et la fusion des nucléoles

C'est une chose bien fondée que les nucléoles d'un noyau ont tendance à fusionner après leur formation. Certes, dans l'état actuel de nos connaissances, ce phénomène reste encore obscur. Cependant, certains faits permettraient d'en comprendre dans une certaine mesure le mécanisme.

D'abord, dans la réalisation de cette fusion, il paraît certain que les chromocentres paranucléolaires jouent un rôle important. Prenons le cas de *Tibouchina brevisepala* dont le noyau possède deux chromocentres paranucléolaires caractérisés par des dimensions développées. Dans un noyau jeune, c'est-à-dire qui vient d'entrer en repos, on observe deux nucléoles éloignés l'un de l'autre et auxquels se trouvent accolés ces chromocentres. Aux stades ultérieurs, le noyau présente un seul nucléole sur lequel s'appuient les deux chromocentres. Tantôt ces derniers y occupent deux positions diamétralement opposées, tantôt ils se rapprochent l'un de l'autre et se trouvent ensemble sur un pôle du nucléole; parfois ils fusionnent en un seul « grain » chromatique dont le volume est plus grand que chacun de ces chromocentres. Tout se passe donc comme si les deux chromocentres tendaient à se rapprocher l'un de l'autre et, de ce fait, entraînaient avec eux leurs nucléoles qui peuvent fusionner quand ils se rencontrent, ce que la figure 150 semble d'ailleurs indiquer.

Ce rapprochement mutuel entre chromocentres paranucléolaires homologues fait penser que dans le noyau au repos un phénomène analogue se produit sur les autres parties chromatiques homologues des chromosomes homologues. Cependant, ce mouvement pourrait être plus ou moins accentué. Cela expliquerait pourquoi chez la plupart des espèces, on remarque fréquemment des fusions de chromocentres.

Ce rapprochement provisoire entre chromosomes homologues dans le noyau au repos faciliterait beaucoup la compréhension de la formation des filaments doubles au stade zygotène. Car si les chromosomes homologues se trouvaient éparpillés sans ordre dans la caryolymphe quiescente, un tel rapprochement demanderait beaucoup plus de temps que ne dure le stade leptotène. Il en serait de même pour les cas d'appariement somatique qui s'observent chez les Diptères (METZ, 1916; LE CALVEZ, 1947), chez *Galtonia* (NEWTON, 1924) et chez *Impatiens Balfourii* (VAZART, 1958).

*I – La communauté cytoplasmique et le synchronisme des noyaux*

*II – La méiose et la formation du pollen*

*1 - La communauté cytoplasmique et le synchronisme des noyaux*

**A - Fondement**

1° La simultanéité de stades entre les noyaux en mitose dans une même « cellule » a été remarquée depuis longtemps. ROSENBERG cité par BONNET (1912) l'a signalée en 1899 sur les cellules du tapis. NAWASCHINE l'a notée à la même date dans les plasmodes des Plasmodiophoracées (TISCHLER, 1951, page 62). Le lecteur trouvera un très grand nombre de cas de synchronisme relevés sur plusieurs embranchements du règne végétal dans le traité de caryologie de l'auteur allemand (page 61–page 70).

2° Aujourd'hui, c'est une chose bien connue que dans le tapis, les noyaux d'une même cellule se divisent simultanément (BONNET, 1912; FAVARGER, 1946). On peut ajouter ici le cas de *Salvia macrophylla*.

Par ailleurs, chez les Angiospermes dont les microspores se forment par le mode de cloisonnements successifs (la majorité des Monocotylédones et certains genres de Dicotylédones) – ce qui a pour effet de répartir dans deux cytoplasmes-fils séparés les deux noyaux-fils issus d'une CMP –, la division II peut se produire asynchroniquement sur ces derniers. Par contre, chez les espèces à cloisonnements simultanés (la quasi-totalité des Dicotylédones, les Orchidacées et quelques genres de Monocotylédones), ces mêmes noyaux, par le fait qu'ils restent ensemble dans le cytoplasme de l'ancienne CMP, subissent simultanément la division homéotypique. C'est ce que nous avons toujours observé sur notre matériel.

Lors de la formation du sac embryonnaire, qui peut être regardé comme une cellule, les noyaux qui s'y trouvent, se divisent toujours en même temps. Cette forme de synchronisme a été considérée comme une chose si naturelle que des auteurs ne se donnent pas même la peine de la signaler.

Chez les espèces dont l'albumen est du type nucléaire, et peut donc être regardé comme une cellule à plusieurs noyaux, ceux-ci se divisent aussi synchroniquement. Nous pouvons citer le cas de *Oxalis spiralis*. Par contre, dans les albumens de type hélobial, le synchronisme ne s'observe qu'au début, quand les noyaux restent encore ensemble dans un même cytoplasme; après la formation des membranes qui partagent le cytoplasme de l'ancien sac embryonnaire en des unités séparées, le synchronisme n'est de règle que sur les noyaux trouvés dans chacune de ces unités.

On peut aussi mentionner le cas des divisions inachevées, soit du noyau, soit du cytoplasme (« gehemmte Kernteilung », « gehemmte Zellteilung » de certains auteurs germanophones). Ces formes de division anormale peuvent donner naissance à plusieurs noyaux associés ou séparés mais restant ensemble dans un même cytoplasme et qui présentent, de ce fait, un grand nombre de chromosomes métaphasiques à la fois. Sur notre matériel, le cas des antipodes binucléées aux noyaux polyploïdes de *Halenia umbellata*, de *Gentianella umbellata* et de *Anemone helleborifolia* est typique.

Ensuite, dans les cellules plurinucléées où l'on observe des formes d'« endomitose Geitlerienne » accompagnées de changements de structure nucléaire, les noyaux d'une même cellule présentent un synchronisme rigoureux au cours de ce procédé de multiplication de la matière chromatinienne. On peut citer le cas des antipodes hypertrophiées des espèces péruviennes mentionnées ci-dessus – où ce phénomène d'endomitose s'ajoute (sauf chez *Anemone helleborifolia*) aux divisions inachevées – et celui des synergides hypertrophiées de *Geranium ayavacense*.

Enfin, il existe çà et là des cas particuliers où plusieurs noyaux encore capables de mitose se trouvent logés ensemble dans un même cytoplasme. Le synchronisme y est de règle. Citons entre autres le cas des cellules-suspenseurs de *Pisum sativum* (COOPER, 1938).

3° Tous les faits mentionnés ci-dessus joints à tant d'autres font penser que la vie commune dans un même cytoplasme est la cause unique de tous les cas de synchronisme observés sur les noyaux qui s'y trouvent.

Reconstituons les faits dès le début. Prenons une cellule dont le noyau  $2n$  subit la caryocinèse qui n'est pas suivie de division du cytoplasme. Celui-ci renferme donc deux noyaux  $2n$  chimiquement identiques. Les noyaux jumeaux se développent dans un milieu rigoureusement identique qui est le cytoplasme non divisé et avec lequel ils entretiennent les mêmes échanges de matières, les échanges nucléo-cytoplasmiques ne faisant plus de doute aujourd'hui. Dans ces conditions (même date de naissance, même constitution interne, même milieu externe), ces noyaux doivent avoir naturellement le même rythme de croissance et passer ensemble par les mêmes phases. Leur identité de structure à tous les stades de leur vie (dont les périodes de multiplication chromatinière) n'en est que trop logique.

## B - Interprétation des cas exceptionnels

1° Plusieurs auteurs ont signalé çà et là des cas où l'on observe un léger asynchronisme entre les noyaux situés dans un même cytoplasme.

a) Ainsi, sur des figures de sacs embryonnaires à quatre noyaux dessinées par AFZELIUS (1916) chez les Orchidées, on remarque des cas où une énorme vacuole partage ces noyaux en deux groupes formés de deux noyaux chacun et répartis aux pôles du sac dans deux lambeaux de cytoplasme séparés presque complètement l'un de l'autre par cette vacuole. Si les noyaux d'un même groupe, c'est-à-dire d'un même lambeau cytoplasmique, présentent un synchronisme parfait entre eux, on constate un léger décalage de stades entre les deux groupes. Par exemple sur l'un, les noyaux se trouvent en métaphase alors que sur l'autre, ils sont encore en prophase; ou bien sur le premier, ils sont déjà en début de prophase tandis que sur le second, ils sont encore en repos.

Des figures analogues s'observent aussi sur le sac embryonnaire de *Allium nutans* (HÅKANSSON, 1951).

HASITSCHKA (1956) signale qu'à leur dégénérescence, les noyaux des antipodes hypertrophiées de *Papaver Rhoeas* se fragmentent; un asynchronisme peut alors s'observer entre les morceaux de noyau de chacune d'elles.

Chez *Pisum sativum* où l'albumen est du type nucléaire, les premières divisions se font simultanément. Plus tard quand les noyaux deviennent nombreux, on constate un léger asynchronisme entre différents groupes de noyaux. Par exemple, « les noyaux de la région où se trouve l'embryon peuvent être en métaphase et ceux de la région chalazale sont en prophase... » (COOPER, *op. cit.*). Chez *Oxalis spiralis*, nous avons remarqué un asynchronisme analogue entre les différents groupes de noyaux de l'albumen nucléaire.

Chez *Geranium ayavacense* où les noyaux des synergides parfois binucléées subissent une sorte d'« endomitose Geitlerienne », nous avons observé un cas (fig. 103) où le noyau supérieur d'une synergide présentait des formations de « chromosomes géants » alors que le noyau inférieur, entouré de matière cytoplasmique moins abondante, dégénérait.

b) Quelles seraient les causes de ces cas de léger asynchronisme? Elles devraient être recherchées dans les facteurs qui font disparaître de façon plus ou moins poussée l'uniformité du milieu externe, en d'autres termes, l'homogénéité du cytoplasme.

Dans la réalisation de cette homogénéité, les courants cytoplasmiques jouent évidemment le rôle le plus important. C'est également l'avis de plusieurs auteurs qui parlent souvent de « Teilungswelle » (TISCHLER, *op. cit.*).

L'activité des courants cytoplasmiques doit être gênée par l'existence d'une énorme vacuole qui sépare presque complètement le cytoplasme en deux lambeaux; ce qui explique pourquoi sur les noyaux d'un lambeau, le synchronisme est respecté.

L'homogénéisation du cytoplasme d'une « cellule » plurinucléée doit être entravée par son étendue. Car la quantité cytoplasmique augmente en même temps que la quantité nucléaire. Ainsi, dans le cas des albumens nucléaires cités ci-dessus, le cytoplasme d'apparence unique serait constitué d'une agglomération de micro-cytoplasmes chimiquement distincts. Cela expliquerait ce léger décalage de stades entre les groupes de noyaux qui s'y trouvent.

L'activité des courants cytoplasmiques s'affaiblit avec l'âge du cytoplasme. Car il est difficile de penser qu'elle reste la même durant toute la vie de la cellule. Par conséquent, dans de grandes cellules

comme les antipodes endopolyploïdes dégénérantes de *Papaver Rhoeas*, il est naturel qu'un léger asynchronisme s'observe entre les noyaux qui se trouvent dans chacune d'elles.

2° Il y a des cas (?) où l'asynchronisme entre les noyaux d'une même cellule serait total.

a) Chez *Halenia elliptica*, la première mitose rend les antipodes binucléées. Cependant, par la suite, « un ou deux noyaux d'une antipode se divisent de nouveau » (STOLT, 1921, page 20). Par conséquent, ici l'asynchronisme est total entre deux noyaux renfermés dans un cytoplasme encore restreint et encore jeune.

Des cas analogues ont été signalés par HUSS (1906) dans les antipodes de plusieurs espèces.

Dans l'ovule de *Linum usitatissimum* (à l'archesporium femelle multicellulaire) étudié sur des coupes de 5  $\mu$ , GÉVAUDAN (1959) note que la formation du sac traverse « un stade à trois noyaux » qui « se poursuit par l'ébauche d'un stade à cinq noyaux ». En d'autres termes, à moins qu'il ne se produise des fusions entre noyaux, ceux-ci se diviseraient de façon parfaitement asynchrone dans le sac.

b) L'existence de tels cas anormaux est possible, car les influences locales sont multiples et varient d'une espèce à l'autre. Cependant, il paraît certain que ces cas se signalent seulement dans les cytoplasmes dégénérants.

Il est souhaitable que ces anomalies soient vérifiées avec la technique des squashes. La raison en est que la méthode des coupes n'est pas très favorable à la numération exacte des noyaux dans une cellule.

c) Enfin, le cas le plus curieux résiderait dans le phénomène de Buller, phénomène de diploïdisation bien connu chez *Coprinus fimetarius* (voir LUTZ, 1942, page 288). Ici, un des deux noyaux se divise seul. Une étude sérieuse du cytoplasme contenant le dikaryon serait particulièrement intéressante au moment où se déroule ce phénomène.

Une conclusion analogue s'impose pour le cas classique des Cypéracées où des quatre noyaux-fils logés ensemble, d'après les anciens auteurs, dans le cytoplasme de l'ancienne CMP, un seul subit la première mitose pollinique tandis que les trois autres dégèrent. Or, récemment CARNIEL (1962b) a mis en évidence la formation de membranes après la division I et la division II.

### C - Extension de la conception de la « communauté cytoplasmique » et applications

1° Il résulte du raisonnement exposé ci-dessus (sous A, 3) que le facteur déterminant du synchronisme des noyaux n'est pas essentiellement le fait que ceux-ci se trouvent dans un cytoplasme spatialement commun mais bien leur développement dans des conditions ambiantes (représentées par le cytoplasme) chimiquement les mêmes. Par conséquent, il n'est pas impossible que les noyaux-fils logés chacun dans une des cellules-filles issues d'une même cellule se divisent simultanément.

a) Ainsi, parmi les Monocotylédones où la formation des microspores se fait par cloisonnements successifs, on observe des cas où les deux noyaux-fils provenant d'une CMP et trouvés dans deux cytoplasmes différents subissent simultanément la division homéotypique. Ce synchronisme fait penser que la période de repos qui s'étend entre les deux divisions de la méiose est dans ces cas très courte de sorte que les deux cytoplasmes-fils n'ont pas le temps nécessaire pour se différencier chimiquement l'un de l'autre.

b) Un cas analogue s'observe dans l'albumen de *Specularia biflora*. En effet, les noyaux des deux cellules issues de la cellule supérieure formée par le premier cloisonnement de l'albumen se divisent toujours synchroniquement.

c) Essayons en outre d'expliquer l'existence générale d'une certaine simultanéité d'apparition de la prophase hétérotypique sur des CMP voisines dans un sac pollinique, phénomène remarqué chez les Angiospermes en général et chez les plantes du Pérou étudiées ici en particulier. Sur ces dernières, nous avons toujours noté que dans un sac pollinique, les CMP formaient des groupes au sein desquels les noyaux des cellules présentaient à la prophase hétérotypique un apparent synchronisme de stades. D'un groupe à l'autre, on observe un léger décalage; par exemple sur l'un, la méiose est encore au stade leptotène alors que sur un autre, elle a atteint le stade pachytène. Ce décalage est d'autant plus marqué que le nombre de CMP d'un sac pollinique est plus grand. Ainsi, sur les espèces dont le sac ne compte que peu de CMP, il est nul.

Par conséquent, au point de vue du synchronisme, on pourrait regarder l'ensemble des CMP d'un sac pollinique comme l'ensemble des noyaux d'un albumen de type nucléaire au moment où le nombre

de ces derniers est déjà élevé (cf. formation de l'albumen de *Oxalis spiralis*: chapitre 12). Cette analogie permet de supposer une identité chimique des cytoplasmes de chacun des groupes de CMP.

Cependant, en dehors de cette identité, il est pensable que le synchronisme observé à la prophase hétérotypique sur les noyaux des CMP d'un de ces groupes doit encore son existence au fait que la préparation à l'entrée en méiose de ces cellules (accroissement en volume du noyau et du cytoplasme ...) ainsi que le déroulement des diverses étapes de cette prophase se font très lentement. Cela augmente la fréquence de certaines de ces étapes et confère, par conséquent, aux noyaux des CMP qui les subissent un synchronisme apparent.

2° Au cours de notre étude, nous avons eu plusieurs fois l'occasion d'appliquer la relation existant entre la communauté cytoplasmique et le synchronisme des noyaux qui s'y trouvent. Citons quelques cas.

Chez *Anemone helleborifolia*, lors de la dégénérescence du pollen, la cellule reproductrice enferme fortement le noyau végétatif. Comme son noyau n'a pas une plasticité suffisante, il se casse en plusieurs morceaux qui se divisent toujours synchroniquement à la seconde mitose pollinique, le nombre total des chromosomes étant bien égal à  $n$ . Quoiqu'il ne soit pas possible d'observer le cytoplasme reproducteur dans ce cas par le fait qu'il est généralement insignifiant, nous avons conclu qu'il ne se fragmentait pas, à cause du synchronisme observé sur les morceaux nucléaires composant antérieurement le noyau reproducteur.

Chez la même espèce, les trois antipodes subissent une sorte de « gehemmte Zellteilung » qui les transforme en antipodes binucléées. A partir de ce stade, les six noyaux peuvent subir encore la mitose. Or, malgré le grand nombre des noyaux qui prennent ainsi naissance et en dépit de l'impossibilité d'observer sur les coupes les membranes limitant les antipodes, nous avons conclu que le nombre des cellules antipodiales restait le même qu'au début. Car malgré le grand nombre d'ovules étudiés, nous n'avons jamais observé plus de trois structures nucléaires différentes à la fois sur un même appareil antipodial.

Chez *Relbunium hypocarpium*, l'appareil antipodial forme un suçoir allongé qui s'enfonce profondément dans le tissu chalazal. Par des divisions répétées, le nombre des noyaux d'antipodes qui s'y répartissent peut atteindre douze ou seize. Malgré l'impossibilité d'observer les membranes qui les séparent dans le suçoir, nous avons conclu à leur existence par le fait qu'on peut observer en même temps plusieurs stades différents (noyau quiescent, mitoses) sur des noyaux qui se trouvent dans certains parcours restreints du suçoir.

Chez *Geranium ayavacense*, un albumen de type nucléaire est mis en place après la fécondation. Cependant, prouver l'existence ou l'absence des membranes dans une grande cellule dont la membrane peut former facilement des replis – ce qui simule des membranes – est une chose délicate. C'est la simultanéité de stades remarquée entre tous les noyaux de cet albumen qui nous assure qu'il s'agit d'un albumen de type nucléaire et non cellulaire.

En somme, l'application de la relation étroite entre la vie commune dans un même cytoplasme de plusieurs noyaux et le synchronisme des stades qu'ils présentent est particulièrement intéressante dans les cas où l'on veut prouver la présence ou l'absence des membranes qui les séparent. Une condition s'impose pourtant. C'est que ces noyaux doivent être encore capables de mitose ou de quelque autre procédé de multiplication de la matière chromatinienne accompagné de changements de structure nucléaire.

## II - La méiose et la formation du pollen

L'analyse du génome d'un polyploïde exige l'association de l'étude de sa méiose à celle de la formation de son pollen. Car chez certaines espèces, la méiose pour des raisons inconnues prend un aspect anormal alors que son pollen ne présente rien de tel. Le cas de *Cuphea dipetala* constitue un exemple typique.

Ici, nous n'entreprendrons d'étude bibliographique ni sur la méiose ni sur la formation du pollen. En raison de l'importance de ces phénomènes dans la vie des Phanérogames, l'historique des découvertes qui les concernent se trouve dans n'importe quel traité de cytologie. Nous voudrions seulement mettre l'accent sur quelques découvertes récentes intéressantes de près ou de loin notre matériel et sur quelques particularités que nous y avons trouvées.

## A - La méiose

### 1° - Le synizesis et la « seconde contraction »

a) Le synizesis est le stade où les filaments chromatiques, en s'entassant les uns sur les autres, présentent l'aspect d'un peloton caractéristique. On l'appelle encore « première contraction ». Généralement une « seconde contraction » suit le stade synizesis. On la distingue facilement de celui-ci par l'épaisseur renforcée des filaments chromatiques et par un entassement moins accentué. Cette « contraction » coïncide à peu près avec le stade pachytène.

Chez *Eremurus himalaicus*, une contraction s'observe au stade zygotène et une autre au stade diplotène (OKSALA et THERMAN, 1958).

b) Pour des raisons inconnues, la « seconde contraction » manque chez certaines espèces. Ainsi, chez *Primula verticillata*, la prophase hétérotypique passe par un stade de « seconde contraction » caractéristique alors que chez *P. kewensis*, il fait défaut (DIGBY, 1912).

Par contre, la « première contraction » est très souvent signalée. Les travaux de KAWAGUCHI (1933) sur les Lépidoptères et de WAKAYAMA (1932) sur les Autobasidiomycètes en fournissent des exemples. Si on la signale fréquemment chez les Angiospermes, c'est uniquement parce que ces plantes sont le plus étudiées au point de vue cytologique. Donc, il y a lieu de croire à l'existence générale de ce phénomène.

c) Soulignons en passant que le spectacle de l'entassement des filaments contre la paroi du noyau des cellules-mères à ce stade a soulevé beaucoup de discussions. Plusieurs auteurs l'ont regardé comme un artefact causé par le fixateur. DARLINGTON l'explique comme un stade où les chromosomes deviennent plus délicats, ce qui amène un affaissement. Pour VAZART (1958), c'est un véritable phénomène, car il se produit avec des fixateurs variés. EICHHORN (1950), sur un matériel favorable où il a pu suivre tout son déroulement, croit aussi que c'est un stade de la méiose, caractérisé par un affaissement progressif des filaments à un des pôles du noyau. Donc, ce ne serait pas une véritable contraction.

d) Sur les espèces péruviennes dont nous avons étudié la méiose, nous avons toujours observé le synizesis, que ce soit sur du matériel fixé au Nawaschine ou au Helly ou à l'alcool acétique.

Un autre point remarquable à ce stade est que le nucléole unique (dans la plupart des cas) se rattache toujours par un ou plusieurs points au peloton chromatinien, parfois au niveau d'un seul filament. Ainsi, nous pensons que non seulement le stade de synizesis fait partie du processus de la prophase I chez n'importe quelle Angiosperme (et chez n'importe quel être vivant à vie sexuée) mais aussi qu'il est toujours accompagné d'un phénomène d'adhérence nucléolaire.

Nous avons aussi remarqué la « seconde contraction » sur quelques espèces. Cette affirmation est basée sur l'existence à la fois de ce stade et du synizesis, ce dernier caractérisé par un entassement plus accentué de filaments chromatiques moins épais. Cependant, ce stade semble très court car il ne s'observe pas aussi fréquemment que la « première contraction ».

### 2° - Les rassemblements thymonucléiques

a) Sous ce nom, nous désignons le phénomène d'« agrégation » de corps chromatiques compacts qui se produit souvent entre le stade pachytène et la diacinèse chez les espèces dont le noyau porte des chromocentres ou des euchromocentres. Il en résulte la formation de masses chromatiques compactes qui se détachent nettement sur les filaments chromatiques parmi lesquels elles se trouvent. Les dimensions parfois très développées de ces masses indiquent l'accolement, en un point, de plusieurs chromosomes appariés.

Des formations analogues ont été signalées par plusieurs auteurs dont GAVAUDAN (1936) et GAVAUDAN et PELLETIER (1936). Le cas le plus frappant est celui de *Impatiens Balfourii* ( $2n = 14$ ) où tout le matériel chromatique peut se rassembler en une masse unique, ce qui a permis à VAZART (1958) de la regarder comme un XIV-valent. Ce plurivalent donne pourtant 7 bivalent normaux à la métaphase I.

b) Parmi nos espèces péruviennes, quelques-unes présentent nettement ce phénomène. On peut rappeler le cas de *Arenaria lanuginosa*. Au stade pachytène, il se forme chez cette espèce des corps fortement chromatiques contrastant avec les filaments chromatiques épais. Plusieurs de ces corps se rassemblent en des amas plus ou moins volumineux, surtout vers la fin du stade pachytène. Cependant, jamais ils n'arrivent à fusionner en une masse unique.

Par contre, chez *Oxalis spiralis* et *O. ptychoclada*, ces corps chromatiques peuvent s'agglomérer en une seule masse qui – à cause des deux euchromocentres paranucléolaires qui en font partie – adhère au nucléole. Cependant, au stade diplotène, l'amas chromatique unique se désagrège plus ou moins complètement. Puis à la diacynèse et à la métaphase I, on observe huit bivalents normaux et séparés. Ces *Oxalis* se rapprochent donc beaucoup de *I. Balfourii*.

### 3° – L'existence d'univalents et le critère pour déceler la nature éventuellement hybridogène d'une espèce

Les espèces hybridogènes sont caractérisées souvent par la formation d'univalents en dehors de la plaque équatoriale à la métaphase hétérotypique. Plusieurs auteurs se prononcent sur la nature hybridogène d'une espèce en se basant sur ce critère.

a) Parmi les espèces péruviennes, *Cuphea dipetala* et *Stelis concaviflora* présentent de curieuses figures de métaphase I qui laissent voir un nombre plus ou moins élevé d'« univalents ». Cependant, le pollen est normal, c'est-à-dire aux dimensions uniformes à l'exception, chez la seconde espèce, d'un faible pourcentage de grains de pollen plus gros issus des microsporocytes à noyaux de restitution formés à la fin de la division I. Le caractère toujours normal du pollen indique que ces « univalents » sont des partenaires de certains bivalents qui subissent trop tôt l'anaphase.

Chez *Peperomia galioides*, comme d'ailleurs chez les autres représentants du genre (BLOR, 1960), il y a un pourcentage plus ou moins élevé de grains de pollen anormaux provenant des micronucléi. Cela s'explique par l'existence d'univalents observée plusieurs fois à la métaphase I et implique par conséquent une légère asyndèse.

Quant à l'asyndèse totale, nous l'avons remarquée sur toutes les CMP d'une anthère de *Anemone helleborifolia*. Cette apparition soudaine et trop locale est difficile à comprendre en raison de sa rareté.

b) Le cas de *C. dipetala* et de *S. concaviflora* mentionné ci-dessus montre donc la nécessité d'une étude intégrale de la méiose (jusqu'à la formation des microspores) pour pouvoir juger de la nature éventuellement hybridogène d'une espèce, surtout pour des plantes cultivées en serre où les conditions de croissance revêtent un certain caractère artificiel.

### 4° – L'étude de la méiose est nécessaire à la détermination du nombre de base d'une espèce

Chez certaines espèces, le nombre de base ne peut pas être mis en lumière d'une façon satisfaisante par la seule comparaison de leur nombre diploïde avec celui d'autres espèces appartenant aux mêmes genres et dont on a établi les nombres de base. Prenons le cas de *Draba Pickeringii* ( $2n = 24$ ) et de *Epidendrum brachyphyllum* ( $2n = 60$ ).

Le cas de la première espèce est typique. Sans l'étude de la méiose, on serait tenté de la classer dans la série polyploïde à  $x = 8$  du genre *Draba* dont elle serait un triploïde. La formation de douze bivalents normaux suggère que son nombre de base est  $x = 6$ . Un nouveau nombre de base est ainsi mis en évidence par l'étude de la méiose.

Il en est de même pour *E. brachyphyllum* où le comportement des chromosomes à la métaphase I nous a permis de trouver le véritable nombre de base du genre, à savoir  $x = 10$  (et non 20).

### 5° – Les associations secondaires

a) On désigne sous cette expression les rapprochements entre les bivalents à la métaphase I et entre les chromosomes d'un noyau-fils à la métaphase II.

KUWADA (1910) signale pour la première fois une forme d'association secondaire à la métaphase I chez *Oryza sativa*. DARLINGTON (1928) interprète ce phénomène comme l'expression d'affinités ancestrales. La plupart des cytologistes dont MÜNTZING (1936) sont de cet avis.

Quelques auteurs sont pourtant opposés à cette manière d'interpréter les associations secondaires. On peut citer HEILBORN (1936). Cet auteur ayant remarqué chez les *Carex* des associations de ce genre entre des bivalents de mêmes dimensions, soutient que les chromosomes de même taille peuvent s'apparier entre eux.

b) Chez les plantes du Pérou étudiées dans ce travail, quelques espèces présentent fréquemment des figures d'associations secondaires.

Chez *Chloris distichophylla* (4 x), les vingt bivalents ont tendance à se grouper deux par deux d'une façon plus ou moins nette.

Chez *Begonia bracteosa*, à la métaphase hétérotypique comme à la métaphase homéotypique, les éléments chromatiques se rassemblent en deux groupes reliés entre eux par quelques ponts chromatiques. Il se produit pour ainsi dire deux « multivalents ».

*Alonsoa acutifolia* présente des figures analogues.

## B - Le pollen

### 1° - L'existence d'une membrane sur la cellule reproductrice

a) Sur nos plantes, nous avons plusieurs fois remarqué autour du noyau reproducteur l'existence d'une couche très fine, constituée par une substance prenant vivement le vert lumière. Cette chromophilie semble indiquer que la substance en question est le cytoplasme reproducteur. Elle est entourée d'une autre « couche » réfringente et uniformément épaisse; cette dernière serait donc la membrane de la cellule reproductrice.

b) Chez *Draba sibirica*, *D. dubia* et *Saxifraga*, cette membrane est double (CAILLON, 1958).

c) Peu d'études ont été faites relativement à la membrane de la cellule reproductrice. Cependant, son existence est une réalité. Car sinon, le noyau végétatif se diviserait en même temps que le noyau reproducteur par le fait que leurs cytoplasmes formeraient une seule communauté.

### 2° - Les rares mitoses du noyau végétatif

a) Quelques auteurs signalent des cas où le noyau végétatif « se divise » ou « se multiplie ». Ces expressions ne sont pas assez précises, car elles signifient qu'on observe deux ou plusieurs noyaux végétatifs dans un grain de pollen. Or, l'existence de plusieurs de ces noyaux dans un grain de pollen peut être causée aussi bien par l'amitose (CHAMBERLAIN, 1897, sur *Lilium philadelphicum*) que par la formation de cloisons défectueuses dans les CMP (comme chez les deux *Epidendrum* étudiés dans ce travail) ou pour d'autres causes encore inconnues. Ainsi, il est préférable d'employer l'expression « subir la mitose » dont l'étymologie ne comporte aucune ambiguïté.

Sur notre matériel, nous avons observé deux mitoses (fin de prophase) sur le noyau végétatif de *Anemone helleborifolia* dans deux anthères d'apparence normale.

b) Mentionnons en passant que chez *Sorghum purpureo-sericeum*, ces mitoses supplémentaires du noyau végétatif sont causées par un grand nombre de chromosomes B (DARLINGTON, 1956).

### 3° - L'attraction entre le noyau végétatif et la cellule reproductrice

a) Chez *Impatiens Balsamina*, lors de la dégénérescence du pollen, « la cellule reproductrice pénètre profondément dans le noyau végétatif dont elle refoule la paroi à mesure de sa progression » (VAZART, 1957).

Chez les plantes du Pérou, nous avons remarqué sur certaines espèces l'accolement étroit entre ces deux organites. On peut citer entre autres *Chloris distichophylla*, *Solanum probolospermum* et *Anemone helleborifolia*. Chez la dernière espèce, le phénomène présente des aspects très particuliers. En effet, à mesure que progresse la dégénérescence de l'anthère, la cellule reproductrice tend à enserrer étroitement le noyau végétatif. Parfois, on observe l'inverse. Il est donc pensable que cette attraction est réciproque.

Cependant, dans le cas de *I. Balsamina* comme dans celui de *A. helleborifolia*, le noyau végétatif affiche une grande plasticité qui manque chez le noyau reproducteur. Ce fait explique pourquoi chez la dernière espèce, ce noyau peut se fragmenter en deux ou trois portions qui continuent leur existence dans le cytoplasme reproducteur demeuré entier.

b) Que signifie ce rapprochement entre le noyau végétatif et la cellule reproductrice? Disons en passant que des faits cytologiques ont permis à des auteurs d'attribuer au noyau végétatif un caractère femelle (voir VAZART, 1957). Ceci expliquerait les accolements intimes entre ce noyau et la cellule reproductrice, considérée comme élément mâle.

## *Contribution à la connaissance des phénomènes endomitotiques*

Comme l'a signalé LORZ (1947), il est difficile de donner une définition exacte du terme « endomitose ». Car à travers la bibliographie, on remarque une certaine divergence d'opinion à ce point de vue.

Il a été employé pour la première fois par GEITLER (1939) pour désigner une forme de mitose avortée observée chez *Gerris lateralis*. Cette dernière consiste essentiellement dans l'absence de formation de fuseau achromatique, ce qui amène les chromosomes-fils à rester ensemble assez longtemps puis à s'écarter progressivement tout en restant dans un même noyau. C'est donc une mitose qui commence et qui finit dans un même noyau. L'auteur appelle les stades successifs de cette forme de mitose « endoprophase », « endométaphase », « endoanaphase » et « endotélophase ».

WITKUS (1945) emploie ces termes pour marquer les stades d'une sorte de mitose particulière avec formation de diplochromosomes dans le tapis de *Spinacia*. Cependant par la suite, GEITLER fait remarquer que ce genre de mitose anormale ne peut pas être appelé « endomitose »; c'est plutôt une « defektiv abgeänderte Mitose in der Art gewisser Restitutionskernbildungen » (1949, page 6) ou une « gehemmte Mitose » (1953, page 56). Mais son point de vue n'est pas partagé par d'AMATO (1954).

A travers une grande partie de ses publications, il semble que l'école de GEITLER rassemble sous le terme d'« endomitose » tous les phénomènes de polyploïdisation ayant trait de près ou de loin avec la multiplication « interne » des chromosomes et donnant naissance à des chromosomes-fils multiples qui restent ensemble plus ou moins longtemps. Nous appellerons donc ces phénomènes des « endomitoses Geitleriennes »<sup>1</sup>. Quant au phénomène d'endomitose avec formation de diplochromosomes observé dans le tapis et dans la racine, il sera appelé « endomitose à diplochromosomes ». Dans ce chapitre, nous essaierons de comparer nos observations avec celles d'autres auteurs sur ces deux aspects du phénomène d'endomitose.

### I - « Endomitose à diplochromosomes »

1° La formation de diplochromosomes à la mitose somatique a été remarquée par DE LITARDIÈRE (1923) dans le méristème racinaire de *Spinacia oleracea*.

Elle se rencontre très souvent dans la racine des Légumineuses (FRAHM-LELIVELD, 1957, page 279; MIÈGE, 1960, page 76; TURNER et FEARING, 1960; S. et G. MANGENOT, 1962, page 414) et des Centrospermales (WULFF, 1936, sur les Chénopodiacees; 1940, sur les Aizoacees; FAVARGER, 1946, DE RIBAUPIERRE, 1957 et NUSSBAUMER, 1964, sur les Caryophyllacees). S. et G. MANGENOT (*op. cit.*) l'ont signalée aussi chez *Momordica foetida* (Cucurbitacée), *Spondianthus preussii* (Euphorbiacée), *Solenostemon graminicolus* (Labiée) et *Entandophragma angolense* (Méliacée). Le lecteur trouvera d'abondantes citations dans TISCHLER (1951, page 181).

Ce phénomène de « pseudo-appariement » a été remarqué également sur le tapis de plusieurs Caryophyllées (FAVARGER, 1944), de *Spinacia* (WITKUS, *op. cit.*), de la tomate (BROWN, 1949) et de quelques Scrophulariacées (BERGER et coll., 1951).

2° L'endomitose avec formation de diplochromosomes a été décrite en détail par WITKUS (*op. cit.*) sur le tapis de *Spinacia*. Elle est caractérisée par l'absence du fuseau et par la persistance de la membrane nucléaire et du nucléole. Le contraire s'observe dans la mitose somatique ordinaire.

<sup>1</sup> Tout au long de notre exposé, nous nous sommes permis d'utiliser l'expression d'« endomitose Geitlerienne » qui n'est peut-être pas très heureuse, mais qui a l'avantage d'éviter chaque fois une périphrase telle que « endomitose au sens où l'emploie l'école de GEITLER » ou « endomitose *sensu* GEITLER 1953 ».

## II - « Endomitose Geitlerienne »

### A - Indices

#### 1° - Aperçu général

Ce genre d'endomitose se présente sous des formes variées. GEITLER (1953, page 4) les rassemble en trois groupes que nous pensons pouvoir résumer de la façon suivante.

Dans le premier groupe, ce sont des cas « bei denen sich die Endomitose selbst unmittelbar beobachten lässt ». Le même auteur insiste sur les changements de structure (« Formwechseln ») nucléaire au cours du phénomène d'endomitose. Ils peuvent conférer au noyau endomitotique des aspects divers, allant de la prophase à la métaphase. D'autre part, ces changements se répètent suivant le même rythme que la croissance rythmique du noyau endomitotique.

Dans le deuxième, on ne se rend compte de l'existence du phénomène d'endomitose qu'à l'apparition de la polyploidie endomitotique dont on lit le degré dans des mitoses exceptionnelles supplémentaires ou par des mitoses provoquées. A ce groupe appartient le cas des noyaux d'Angiospermes où avec l'endopolyploidie le nombre moyen de chromocentres augmente.

Dans le troisième enfin, l'endomitose est seulement supposée sur un noyau fortement développé « in dem auch die Menge des Eu- und Heterochromatins bedeutend zugenommen hat und in dem noch dazu als vervielfachte Chromonemen deutbare Strukturen auftreten ». Donc ce serait une forme de multiplication statique de la matière chromatinienne.

Ainsi, on pourrait dégager de ces trois groupes les indices suivants qui signalent l'existence éventuelle d'un phénomène d'« endomitose Geitlerienne »: 1° des changements de structure dans le noyau, 2° sa croissance rythmique et 3° la multiplication de la quantité de chromatine (dont l'hétérochromatine), conduisant à la formation d'éléments chromatiques plus nombreux ou aux dimensions accrues (endochromocentres et endochromosomes). Ce ne sont là que les indices les plus visibles, ceux sur lesquels l'école de Vienne a beaucoup insisté du moins à travers une grande partie de ses publications. *Essayons de comprendre sa logique.*

#### 2° - Les changements de structure dans le noyau endomitotique

a) Ces changements de structure ressemblent beaucoup - s'ils ne sont pas les mêmes - à ceux qu'on observe à la prophase somatique ordinaire. Or, c'est au cours de celle-ci que les deux chromosomes-fils s'individualisent progressivement tout en restant accolés ensemble en certains points de leur longueur. Et comme ici, la mitose ne va pas plus loin que la prophase, on a donc une endomitose. Par conséquent, autant il y a de cycles de ces changements de structure, autant de fois il y a eu duplication du matériel chromatinienn.

On comprend donc pourquoi l'école de Vienne attache une très grande importance à ces changements de structure dans la conclusion à l'existence d'un phénomène d'endomitose. A ce point de vue, nous renvoyons le lecteur aux remarques de CARNIEL (1954), de GEITLER (1955), de DOLEZAL et TSCHERMAK-WOESS (1955), de STEFFEN et LANDMANN (1958), de HASITSCHKA-JENSCHKE (1959 b) et de CARNIEL (1962). VIRKKI (1953) a une opinion analogue.

b) Un stade important dans ces changements de structure est constitué par une sorte de « poudroïement » (« Zerstäubungsstadium ») remarqué par HEITZ (1929, page 279) sur les noyaux en prophase précoce de la zone méristématique<sup>1</sup>. Ce phénomène est caractérisé par une pulvérisation des chromocentres, ce qui donne au noyau un aspect uniforme très caractéristique.

Le « stade de poudroïement » a été signalé à plusieurs reprises sur des noyaux endomitotiques. On peut citer entre autres les observations de DOLEZAL et TSCHERMAK-WOESS (1955) sur la racine, celles de TSCHERMAK-WOESS et HASITSCHKA (1953) et de TSCHERMAK-WOESS (1959 a) sur le trichome et celles de CARNIEL (1954) sur le tapis.

<sup>1</sup> Ce « stade de poudroïement » a été également observé à la mitose par DOLEZAL et TSCHERMAK-WOESS (1955) et TSCHERMAK-WOESS et DOLEZAL (1956) respectivement sur la racine de *Rhoeo discolor* et de *Vicia faba* d'une part et par HASITSCHKA-JENSCHKE (1961) sur l'albumen de *Bryonia dioica* d'autre part.

### 3° - La croissance rythmique du noyau endomitotique

a) Chaque cycle d'endomitose entraîne généralement une duplication du volume nucléaire (TSCHERMAK-WOESS et HASITSCHKA, 1953). Donc autant de fois il y a eu duplication de volume d'un noyau endomitotique, autant il s'est produit de cycles d'endomitose. Cela explique l'importance de la croissance rythmique comme argument en faveur de l'existence d'un phénomène d'« endomitose Geitlerienne », car cette dernière, par définition, est de nature répétitive.

On comprend donc pourquoi la croissance rythmique a été à plusieurs reprises mentionnée parmi les preuves en faveur de l'existence d'un phénomène d'« endomitose Geitlerienne » dans les publications de l'école de Vienne. On peut citer entre autres les travaux de TSCHERMAK-WOESS (1955-1957 a), de HASITSCHKA-JENSCHKE (1960) et de CARNIEL (1962).

b) Il faut distinguer la croissance des noyaux endomitotiques qui se fait d'une manière discontinue et se traduit par un polygone de fréquence à plusieurs sommets, des phénomènes de croissance continue qui peuvent se produire dans les noyaux au repos à la phase diploïde, dans certains cas aussi pendant les cycles d'endomitose (par exemple chez *Spironema fragrans*, TSCHERMAK-WOESS, 1959), enfin après l'endomitose sous forme de croissance supplémentaire (« zusätzliches Wachstum », TSCHERMAK-WOESS, *ibid.*).

### 4° - Accroissement en volume des éléments chromatiques

a) Les chromocentres formés au cours des cycles endomitotiques peuvent rester ensemble après la clôture du phénomène d'endomitose. Ils forment ainsi des chromocentres composés appelés endochromocentres. Cela est dû au fait que les multiples chromosomes-fils endomitotiques restent longtemps (ou toujours) ensemble, surtout dans les portions hétérochromatiques.

Très souvent, l'accroissement en volume des chromocentres se fait de façon statique. Cette forme d'endomitose s'observe fréquemment dans les cellules du tapis (TURALA, 1958), dans l'axe (FENZL et TSCHERMAK-WOESS, 1954) et surtout dans le trichome (TSCHERMAK-WOESS et HASITSCHKA, 1954; TURALA, 1962). Le gigantisme des noyaux des poils unicellulaires des *Physaria* (JAKOWSKA, 1949) et des cellules du xylème de certaines plantes supérieures (LIST, 1963) aurait lieu suivant le même mécanisme.

Dans le cas où la polyploïdisation et la dés spiralisation sont poussées, on peut observer la formation de « chromosomes géants » (GEITLER, 1956) qui se distinguent des chromosomes géants de Diptères par une longueur 10 fois plus réduite, donc par une dés spiralisation 10 fois moins poussée. Ils s'observent surtout dans l'appareil reproducteur femelle. On en trouve ainsi dans les synergides (HÅKANSSON, 1957; HASITSCHKA-JENSCHKE, 1958), sur les haustoria d'albumen (ENZENBERG, 1961; HASITSCHKA-JENSCHKE, 1962; TSCHERMAK-WOESS et HASITSCHKA, 1963), sur le suspenseur (HASITSCHKA-JENSCHKE, 1956-1958-1962; NAGL, 1962 a et b) et surtout dans les antipodes (TSCHERMAK-WOESS, 1956 b-1957 a; FARRON, 1957; HASITSCHKA-JENSCHKE, 1958-1962). On en signale aussi dans le trichome de *Bryonia dioica* (HASITSCHKA-JENSCHKE, 1961). Par conséquent, c'est dans les tissus nourriciers qu'on peut trouver les degrés de polyploïdie les plus élevés et des « chromosomes géants ». Là encore, il faut dire que les noyaux où s'observent ces chromosomes particuliers sont généralement en proportion très faible (voir TSCHERMAK-WOESS, 1956 b).

b) Une des conséquences du fait que les multiples chromosomes-fils endomitotiques restent longtemps ensemble est la constance du nombre d'endochromocentres au cours de l'endomitose. Les observations de HASITSCHKA (1956), de TSCHERMAK-WOESS (1956) et de HASITSCHKA-JENSCHKE (1959 b) sur les antipodes ainsi que celles de TSCHERMAK-WOESS (1957 b) et de HASITSCHKA-JENSCHKE (1962) sur les haustoria d'albumen en fournissent des exemples.

## B - La suite du phénomène d'endomitose

Parmi les phénomènes qui peuvent suivre l'« endomitose Geitlerienne », deux sont très frappants, à savoir la désagrégation des endo-éléments chromatiques et l'accroissement en volume des noyaux endopolyploïdes.

## 1° – La désagrégation des endo-éléments chromatiques

a) Après la fin de l'endomitose, les endo-éléments chromatiques fortement développés – à savoir les endochromocentres et les endochromosomes – peuvent se désagréger en éléments de plus en plus petits. Cette dissociation résulte de la séparation des multiples chromosomes-fils formés au cours de l'endomitose qui sont restés adhérents jusqu'ici. Cela revient à dire que la désagrégation procède dans le sens longitudinal.

Ce fait s'observe chez les animaux (BIER, 1957-1960; KRACZKIEWICZ et MATUSZEWSKI, 1958) comme chez les végétaux. Parmi ces derniers, on le rencontre dans différents tissus: dans la racine (DOLEZAL et TSCHERMAK-WOESS, 1955), dans l'axe (CZEIKA, 1956; SCHLICHTINGER, 1956), dans l'albumen (STEFFEN, 1956) et dans le suspenseur (HASITSCHKA-JENSCHKE, 1959). Cette désagrégation procède plus ou moins graduellement (TSCHERMAK-WOESS, 1954; CZEIKA, 1956).

En général, elle ne commence que bien après la fin de l'endomitose, à un âge avancé du noyau. Cependant, elle peut être suivie de quelques cycles endomitotiques supplémentaires (BIER, 1957). Dans les cellules à raphides des feuilles adultes de *Gibbaeum heathii*, il semble qu'elle se répète après chaque cycle d'endomitose (SCHLICHTINGER, 1956).

b) Un cas de désagrégation dans les deux sens, transversal et longitudinal, a été signalé par KRACZKIEWICZ et MATUSZEWSKI (*op. cit.*) chez les glandes salivaires de certains Cécidomyidés.

c) Cependant, la désagrégation post-endomitotique des éléments chromatiques ne porte jamais sur les satellites (CZEIKA, 1956; GEITLER, 1956). Il en est de même pour le « stade de poudroiement » mentionné ci-dessus (CARNIEL, 1954).

## 2° – L'accroissement en volume des noyaux endomitotiques et l'évaluation de leur degré de polyploïdie

a) Une duplication de la matière nucléaire est suivie naturellement d'une duplication du volume du noyau. Cependant, la réalisation de l'équilibre entre ces deux phénomènes devrait être réglée par un mécanisme très complexe dans le noyau qui subit l'« endomitose Geitlerienne ». Car il s'agit de formes de multiplication chromatiniennne qui se présentent sous des aspects très variés.

Il suffit de lire les observations de TSCHERMAK-WOESS et HASITSCHKA (1953) pour s'en convaincre. Ces auteurs constatent que l'accroissement en volume du noyau qui accompagne l'endopolyploïdie n'est pas dans toutes les espèces une fonction linéaire du degré de polyploïdie. Chez *Sinapis* par exemple, l'accroissement est inférieur à la valeur calculée tandis que chez *Cucurbita*, il est plus élevé. De plus, après la fin du phénomène, le volume du noyau peut subir une augmentation supplémentaire, indépendante de la multiplication de la chromatine. Ainsi, il est difficile de savoir exactement le moment où s'est rétabli le rapport normal entre la chromatine dont la quantité a été fortement augmentée par l'endomitose d'une part et le volume du noyau d'autre part. HÅKANSSON (1957) a montré par exemple que la caryolymphe des noyaux des synergides de *Allium nutans* hypertrophiés par une de ces formes d'endomitose présentait encore une expansion après la fin de ce phénomène.

b) Plusieurs auteurs ont essayé d'évaluer le degré de polyploïdie des noyaux endomitotiques par une simple comparaison entre leur volume avec celui d'un autre noyau. Or, l'origine de ce noyau standard n'est pas toujours précisée. Ceci a pourtant une grande importance, car deux noyaux de même degré de polyploïdie d'une même plante mais appartenant à deux tissus différents peuvent ne pas avoir les mêmes volumes. Il suffit de comparer les volumes des noyaux d'un méristème de racine normal d'une plante avec ceux des cellules-mères (CMP ou CME) pour s'en rendre compte. Dans les deux cas, le degré diploïde ne fait pas de doute. D'autre part, le volume du noyau est soumis à des fluctuations déterminées par des causes très diverses (DELOFFRE, 1934 a et b).

On pourrait, sous certaines réserves, estimer le degré de polyploïdie d'un noyau rendu fortement polyploïde par l'endomitose en comparant son volume avec celui d'un autre noyau de même tissu qui n'a pas encore subi ce phénomène et dont on connaît sûrement le degré de polyploïdie. En d'autres termes, il faut un noyau d'antipode témoin pour un noyau d'antipode endopolyploïde, un noyau de synergide témoin pour un noyau de synergide endopolyploïde, etc. Cependant, l'évaluation du degré de polyploïdie par cette méthode est sujette à des erreurs non négligeables, étant donné qu'on ne sait pas exactement à quel moment s'est rétabli le rapport normal entre la chromatine et le volume du noyau après un phénomène d'« endomitose Geitlerienne ».

Nous avons préconisé dans le chapitre 11 (: Discussion, 2) et dans le chapitre 16 (: Discussion, F, 3) une méthode de mesure du degré de polyploïdie des noyaux endopolyploïdes par la comparaison des volumes de deux noyaux qui ont *une même densité de réseau*. Cette méthode est naturellement limitée au cas des noyaux réticulés ou semi-réticulés et ne serait pas applicable aux noyaux aréticulés.

L'appréciation du degré de polyploïdie peut être facilitée par la méthode cytophotométrique dont le principe consiste dans la mesure des quantités d'ADN. On a commencé à appliquer cette méthode aux noyaux endopolyploïdes (TSCHERMAK-WOESS, 1959). Cependant, elle souffre encore beaucoup d'imperfections (voir SWIFT, 1953).

### III - Discussion sur l'ensemble des phénomènes de multiplication chromatinienne sans multiplication de noyau

#### 1° - *La polypléidisation locale revêt les aspects les plus divers et les plus inattendus*

D'abord, on peut citer les mitoses avec formation de noyaux de restitution qu'on observe fréquemment dans les antipodes et dans le tapis et déterminées par un blocage plus ou moins poussé de l'anaphase et de la télophase.

Quant à l'« endomitose à diplochromosomes », elle résulterait, selon Carniel cité par GEITLER (1953, page 56), du fait que « in eine Prophase ein Interphasestadium eingeschaltet wird ».

Enfin, on trouverait l'« endomitose Geitlerienne » en remontant l'ordre de précocité d'inhibition. Cette forme d'endomitose « entspricht nur dem ersten Abschnitt der mitotischen Prophase » (GEITLER, 1954, page 12), le reste du cours mitotique faisant défaut. Le plus haut degré semble représenté par le troisième groupe de phénomènes (voir ci-dessus, sous II, A, 1). Aucune trace de mitose n'y peut être remarquée. La multiplication de la matière chromatinienne se fait de façon statique: on ne la voit que par les dimensions progressivement accrues des éléments chromatiques. Le blocage serait donc total.

Ainsi, les formes de polypléidisation locale sont multiples et dépendent étroitement des degrés d'inhibition de la mitose qui suivent un gradient à plusieurs échelons depuis la formation de noyaux de restitution jusqu'à la multiplication statique de la matière chromatinienne.

#### 2° - *A ce gradient, on pourrait ajouter les cas suivants*

D'abord, c'est la « polyténie différentielle ». Dans cette forme de polyploïdie, deux espèces aux mêmes nombres chromosomiques auraient deux quantités d'ADN l'une double, quadruple... de l'autre (HUGHES-SCHRADER et SCHRADER, 1956 et HUGHES-SCHRADER, 1957). Les chromosomes de l'espèce qui a une quantité d'ADN multiple de celle de l'autre sont donc des chromosomes « polytènes » au sens entendu par ces auteurs.

On pourrait rapprocher ici le cas des différents caryotypes de *Callitriche stagnalis* (SCHOTSMAN, 1961).

Ces chromosomes « polytènes » correspondraient aux chromosomes « polymères » que MECHELKE (1952) observe dans le tapis de *Antirrhinum majus*. Dans ce tapis en effet, par suite de divisions répétées rapidement, les chromosomes-fils restent appliqués l'un contre l'autre et subissent ensuite la mitose dans cet état.

On a signalé aussi des cas où les chromosomes, sans changer leur nombre, peuvent augmenter de dimensions et se trouvent dans des noyaux plus riches en matière chromatinienne que les noyaux normaux (GEITLER, 1940.b; TSCHERMAK-WOESS et DOLEZAL, 1959; NAGL, 1962). On peut citer aussi les observations analogues faites par TSCHERMAK-WOESS et DOLEZAL (1952) ainsi que par CZEKA (1956).

Tous ces cas de multiplication de la matière chromatinienne sans augmentation du nombre chromosomique peuvent être rattachés au phénomène d'« endomitose Geitlerienne ». Car on pourrait dire ici comme GEITLER (1949, page 4) citant HUSKINS que « grundsätzlich kein Unterschied zwischen Polytänie, Endopolyploidie und Polymerie der Chromosomen besteht ».

### 3° - La signification de l'endomitose

a) Les diverses modalités d'inhibition de la mitose mentionnées ci-dessus et dont le dénominateur commun est la polyploïdisation locale semblent indiquer que celle-ci constitue la fin de toutes ces anomalies qui n'en sont que de simples moyens, et par conséquent peuvent être divers.

Cela expliquerait la richesse en formes et en aspects du phénomène d'« endomitose Geitlerienne ». Cette richesse permet d'affirmer, sans crainte d'exagération, que ces formes et ces aspects ne sont jamais identiques chez deux espèces différentes.

b) On peut même penser qu'ils varient à l'intérieur d'une espèce. Le fait que la formation de « chromosomes géants » chez les Angiospermes ne s'observe que dans un très petit nombre de noyaux sur les espèces où ils se laissent voir est déjà bien significatif à ce point de vue. Par ailleurs, l'existence de ces chromosomes particuliers semble dépendre de la provenance géographique (HASITSCHKA, 1956, sur *Papaver Rhoeas*).

## IV - Chez les plantes du Pérou

A part les chromosomes « polymères », tous les aspects anormaux de la mitose mentionnés ci-dessus (voir sous III: 1) ou des formes voisines ont été à plusieurs reprises remarqués par nous sur notre matériel. Nous avons observé la formation de noyaux de restitution (antipodes de *Anemone helleborifolia*, de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata*), l'« endomitose à diplochromosomes » (racines de *Zornia diphylla* et de *Mastigostyla aff. cyrtophylla* et poils stigmatiques de *Urtica Macbridei*) mais surtout l'« endomitose Geitlerienne » sous ses diverses modalités. Pour cette dernière cependant, comme « es gibt kaum ein Organ oder einen Organteil, der nicht, ..., endopolyploid wäre » (GEITLER, 1956, page 3), nous n'avons signalé dans ce travail qu'un certain nombre de cas qui nous paraissaient intéressants et représentatifs.

### 1° - Formes d'« endomitose Geitlerienne » rencontrées

Nous avons trouvé des formes d'endomitose variées qu'on peut classer dans les trois groupes établis par Geitler (voir ci-dessus: II, A, 1).

a) Dans le premier groupe, on peut citer le cas des noyaux d'antipodes hypertrophiées de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata* et celui des poils glanduleux de *Cerastium mollissimum*. Ici, les changements de structure nucléaire au cours du phénomène d'endomitose sont frappants et procèdent périodiquement. Chez *G. umbellata*, il permet l'observation de « chromosomes géants ». Chez les deux autres, on remarque des formations analogues constituées par des portions de chromosomes épais, cinq ou six fois plus longues que larges.

b) Dans le deuxième, nous pouvons ranger le cas de la cellule basale des poils tecteurs de la feuille de *Lupinus paniculatus*. En effet, le noyau de cette cellule présente des volumes nettement plus grands que sur les autres cellules d'un même poil. En même temps, il contient plus de chromocentres dont les dimensions restent les mêmes. Cependant, aucun changement de structure nucléaire ne s'observe au cours de ce phénomène d'accroissement. A ce groupe appartient également le cas du noyau hypertrophié de la cellule basale des poils stigmatiques de *Urtica Macbridei*.

c) Enfin dans le troisième se classent les multiplications statiques de la matière chromatinienne relevées sur un grand nombre d'espèces étudiées. Citons entre autres *Stelis concaviflora* (périblème), *Acaena ovalifolia* (tapis), *Calceolaria tomentosa* (épiderme externe de l'anthere), *Berberis empetrifolia* (synergides), *Drymaria grandiflora* (antipodes), *Specularia biflora* (haustoria d'albumen), *Salvia macraphylla* (haustoria d'albumen et noyau de la cellule apicale des poils glanduleux de la feuille), *Oxalis ptychoclada* (mésophylle des carpelles), *O. spiralis* (trichome et mésophylle des carpelles), *Geranium ayavacense* (noyau de la cellule apicale des poils glanduleux de l'ovaire), *Descurainia myriophylla* et *Draba Pickeringii* (trichome).

A ce groupe on peut rattacher le cas des noyaux endopolyploïdes des synergides de *Geranium ayavacense* et de *Anemone helleborifolia*. Dans ces noyaux, les chromocentres s'accroissent progressivement en dimensions. Le réseau nucléaire devient en même temps très dense de telle façon qu'il y a une différence frappante entre un noyau endopolyploïde et un noyau initial. On peut y observer parfois

des « chromosomes géants ». Cependant, aucun changement de structure endomitotique ne s'observe au cours de l'endomitose.

Les mêmes remarques sont valables pour le cas des noyaux des synergides hypertrophiées de *Salvia macrophylla*.

### 2° – Les changements de structure nucléaire endomitotiques

a) Ces changements sont parfois très frappants dans les noyaux à structure réticulée. Tel est le cas de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata* (antipodes), de *Cerastium mollissimum* et de *C. viscosum* (trichome).

b) Le « stade de poudroissement » tel qu'il est défini semble exister dans les noyaux des antipodes de *G. umbellata* au cours de l'endomitose. Car plusieurs de ces cellules présentent des noyaux où l'individualité des chromocentres s'efface complètement. Par contre, dans le noyau apical des poils glanduleux du calice de *C. viscosum*, ce stade fait clairement partie du processus endomitotique. Ici en effet, les chromocentres disparaissent périodiquement dans le noyau endomitotique, à l'exception des deux seuls chromocentres paranucléolaires qui seraient, de ce fait, des satellites.

### 3° – La formation de « chromosomes géants »

a) La proportion des noyaux où figurent d'une façon nette ces chromosomes particuliers est excessivement faible. Nous en avons trouvé quelques-uns sur les synergides de *Anemone helleborifolia* et de *Geranium ayavacense* et un seul dans les antipodes de *Gentianella umbellata*.

Par contre, les formations qu'on peut assimiler aux « chromosomes géants » sont abondantes chez les espèces où l'on en remarque. Ce sont des trajets chromatiques quatre ou cinq fois plus longs que larges (et même plus) et que l'on pourrait considérer comme des portions de « chromosomes géants ». Tel est le cas de *Salvia macrophylla* (synergides hypertrophiées) et de *Cerastium mollissimum* (trichome).

b) Les « chromosomes géants » peuvent avoir une structure lâche (synergides de *Anemone helleborifolia*) ou une consistance plus ou moins compacte (synergides de *Geranium ayavacense* et antipodes de *Gentianella umbellata*).

c) Une des caractéristiques remarquées sur ces chromosomes particuliers est qu'ils paraissent composés de deux « rubans » formés chacun de deux « filaments » chromatiques parallèles et jalonnés de corpuscules chromatiques (vraisemblablement des endochromomères) bien visibles au microscope. Le cas de *G. ayavacense* et surtout de *A. helleborifolia* est typique. Il est hautement probable que ces « filaments » ne sont que les « half-chromatids » de SHARP (1943) et par conséquent ces « rubans » assimilables aux « primary strands » de HÅKANSSON (1957) représentent les deux chromosomes-fils formés pendant l'interphase avant l'apparition du phénomène d'endomitose. Cette interprétation concorde parfaitement avec les mesures cytophotométriques des teneurs en ADN faites par PATAU et SWIFT (1953) et par PATAU et SRINIVASACHAR (1959) dans les noyaux interphasiques.

### 4° – L'accroissement en volume des noyaux post-endomitotiques et la désagrégation des endochromocentres

a) L'accroissement en volume est un fait toujours constaté sur les noyaux en cours d'endomitose chez les plantes péruviennes étudiées.

Cependant, l'accroissement nucléaire post-endomitotique est généralement difficile à mettre en évidence d'une façon tout à fait satisfaisante. Le seul cas net est représenté par les noyaux d'antipodes endopolyploïdes avancés de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata*. Dans ces noyaux en effet, l'accroissement du volume nucléaire se fait non seulement pendant l'endomitose mais surtout après la clôture de ce phénomène et continue jusqu'à leur dégénérescence totale. Du même coup, les endochromocentres se désagrègent et les chromocentres qui en résultent s'éparpillent dans la nucléolymphe.

On pourrait alors se demander pourquoi cet accroissement poussé à l'extrême ne s'observe jamais sur d'autres espèces où l'endopolyploïdisation affiche les mêmes intensités – à en juger par la comparaison des taux d'accroissement en volume des endochromocentres – comme les noyaux endomitotiques des synergides de *Anemone helleborifolia* et celui de la cellule terminale des poils glanduleux des sépales

de *Cerastium mollissimum* ... Car la densité du réseau reste toujours beaucoup plus forte dans ces noyaux que dans ceux qui ne montrent encore aucun signe d'endomitose. Nous ne pouvons actuellement répondre à cette question. Cependant, il est pensable que l'un des facteurs déterminant la croissance post-endomitotique d'un noyau est l'espace disponible pour l'expansion du cytoplasme dont le volume devrait augmenter dans les mêmes proportions que le volume nucléaire endomitotique déjà considérablement accru au cours de l'endomitose. Les dimensions du dit espace dépendraient certainement de la position occupée par le noyau en question dans l'ensemble d'un organe, du caractère du tissu et aussi de la famille à laquelle la plante appartient.

b) De nos observations sur les plantes du Pérou, nous pouvons déduire que la désagrégation des endochromocentres dans les noyaux endomitotiques dégénérésents n'est pas un phénomène général. Il est certes pertinent de se demander « warum das Heterochromatin postendomitotisch manchmal zusammenhält, manchmal aber nicht » (GEITLER, 1953 b, page 12). Cependant, dans l'état actuel de nos connaissances, cette question reste sans réponse.

En effet, sur notre matériel, nous avons remarqué cette désagrégation de façon nette seulement dans les antipodes de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata*. Cette désagrégation commence après la fin de l'endomitose et les endochromocentres se fragmentent en des parties dont les dimensions vont en diminuant. Les petits chromocentres ainsi formés se répartissent régulièrement dans la nucléolymphe.

Cependant, la preuve la plus évidente de cette absence de généralité est fournie par *Oxalis spiralis*. Chez cette espèce, l'« endomitose Geitlerienne » affecte plusieurs sortes de noyaux (cf. chapitre 12: C). Lors de la dégénérescence, le phénomène de désagrégation des endochromocentres ne s'annonce pourtant que dans le noyau apical des poils glanduleux pluricellulaires des sépales et du pédicelle et dans les noyaux géants du mésophylle des carpelles. En effet, à ce stade, on remarque sur ces noyaux l'apparition soudaine de petits chromocentres au voisinage des gros endochromocentres qui prennent alors des formes anguleuses et déchiquetées très caractéristiques. Cependant, jamais de gros endochromocentres ne cessent d'être observés. La désagrégation s'est donc bien amorcée sur les endochromocentres mais n'atteint pas un stade aussi avancé que dans le cas des noyaux d'antipodes endomitotiques des deux Gentianacées.

Chez *Draba Pickeringii* (trichome), nous avons remarqué sur les endochromocentres une forme de désagrégation très voisine de celle observée chez *Oxalis spiralis*.

Enfin, dans les noyaux endomitotiques du trichome de *Descurainia myriophylla*, la désagrégation résout, au cours des cycles endomitotiques, les endochromocentres non-paranucléolaires en une multiplicité de chromocentres qui ont presque les mêmes dimensions que ceux des noyaux somatiques ordinaires. Cette forme de désagrégation augmente considérablement la différence de taille entre les endochromocentres paranucléolaires épargnés par ce phénomène – ce qui semble indiquer qu'ils sont des satellites – d'une part et les autres chromocentres trouvés dans les mêmes noyaux hypertrophiés d'autre part. Il s'agirait donc ici d'une sorte de « Zerlegungsendomitose » signalée par SCHLICHTINGER (1956) sur les cellules à raphides des feuilles adultes de *Gibbaeum heathii*.

c) Il semble qu'il y a une certaine relation entre le rétablissement de la densité initiale du réseau d'une part et la désagrégation progressive des endochromocentres d'autre part. Car nous avons observé simultanément ces deux phénomènes sur les mêmes et uniques objets favorables, à savoir les noyaux d'antipodes endomitotiques des deux Gentianacées mentionnées ci-dessus.

Par contre, chez *Draba Pickeringii* (trichome), on note dans les noyaux endomitotiques dégénérésents une sorte d'avortement de ce phénomène de désagrégation et en même temps l'absence d'un accroissement de volume post-endomitotique poussé.

##### 5° – Mesure du volume des noyaux endopolyploïdes en vue d'une appréciation de leur degré de polyploïdie

Au cours de notre travail, nous avons plusieurs fois essayé de comparer les volumes qu'un noyau possède après et avant l'endomitose afin d'estimer *grosso modo* le degré de polyploïdie le plus élevé dont il est capable. Ce faisant, nous avons toujours observé les principes de mesure que nous avons mis au point successivement dans le chapitre 11 (Discussion: 2) et le chapitre 16 (Discussion: F, 3). Cependant dans plusieurs cas, cette comparaison laisse beaucoup à désirer. Car le rétablissement de la densité de distribution de la chromatine (réseau et chromocentres) ne s'y observe pas encore. Cela

explique pourquoi en général nous n'avons pas cherché, par la mesure de volumes nucléaires, à compter le nombre de cycles d'endomitose même sur les espèces dont nous avons suffisamment de matériel. Exception faite pour quelques cas comme celui de *Cerastium mollissimum* où l'appréciation du nombre de cycles d'après ce procédé a été faite seulement à titre représentatif.

Ce rétablissement semble sur le point d'être atteint dans les noyaux d'antipodes endopolyploïdes de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata*. Cependant, la membrane nucléaire présente alors un amiboïsme accentué. Ce phénomène confère à la membrane des replis sinueux qui vont jusqu'à loger de la matière cytoplasmique dans la masse nucléaire même. Par conséquent, la comparaison des volumes nucléaires dans ce cas n'a plus de sens.

Ainsi, nous avons proposé d'autres méthodes (voir chapitre 16: Discussion, G) pour estimer le degré de polyploïdie d'un noyau dont la polyploïdisation peut se faire par des « gehemmte Mitosen » ou par l'endopolyploïdie.

#### 6° - L'accroissement du volume nucléolaire et la « désagrégation » des nucléoles des noyaux endopolyploïdes

a) Au cours de l'endopolyploïdisation, le nombre de nucléoles du noyau reste constant. Cela explique l'accroissement progressif de leur volume.

b) Chez les Gentianacées mentionnées ci-dessus, lors de la désagrégation des endochromocentres observée dans les antipodes, de petits nucléoles jusqu'alors inexistantes apparaissent dans la caryolymphe à côté de quelques autres nucléoles aux dimensions très développées. D'autre part, des « bourgeonnements nucléolaires » s'observent à ce stade. Tous ces faits indiquent qu'il se produit alors une « désagrégation » des endonucléoles. Cela n'est que trop logique. Car la désagrégation des endochromocentres géants libère progressivement les petits endochromocentres et par conséquent les petits endochromosomes, dont les endochromosomes nucléolifères, qui se détachent les uns des autres en emportant avec eux une portion du nucléole commun.

Cependant, cette « désagrégation » des nucléoles géants n'est jamais poussée à l'extrême comme celle des endochromocentres. En effet, dans les noyaux où ces derniers paraissent déjà bien dissociés, il reste toujours quelques nucléoles aux dimensions fortement développées.

## B - Cytotaxinomie de la flore péruvienne

### CHAPITRE 26

#### Contribution à la cytotaxinomie de la flore péruvienne

#### Le problème de la polyploïdie

1° La liste ci-après résume nos comptages chromosomiques. Sur cette liste, les nombres de base précédés d'un astérisque sont des nombres nouveaux. Les nombres chromosomiques en italique ont été trouvés par d'autres auteurs, mais confirmés sur notre matériel. Les lettres P, M, N signifient respectivement « paléopolyploïde », « mésopolyploïde » et « néopolyploïde ». D'autre part, sur notre demande, M. Terrier nous a communiqué les noms des localités de récolte. Cependant, étant donné la faible étendue de la région d'herborisation et le fait que ces noms sont très peu connus, même d'une localité à l'autre, nous ne croyons pas utile de les indiquer ici.

N <sup>os</sup> de récolte	Espèces	2n	N. de base	Caractère de la polyploïdie	Altitudes
	<i>Ephedraceae</i>				
6 04 03	<i>Ephedra rupestris</i>	14	7		4600 m
	<i>Gramineae</i>				
6 22 10	<i>Chloris distichophylla</i>	40	10	N	2000 m
6 21 17	<i>Sporobolus Berteroanus</i>	ca 44	11 (?)	M	
	<i>Cyperaceae</i>				
6 29 03	<i>Carex pichinchensis</i>	80-82	(?)	M	4000 m
	<i>Bromeliaceae</i>				
	<i>Puya Raimondii</i>	50	25 (?)	P	4100 m
6 21 00	<i>Pitcairnia (vel Puya?) spec.</i>	50	25 (?)	P	
	<i>Liliaceae</i>				
	<i>Anthericum glaucum</i>	48	6	M	
	<i>Iridaceae</i>				
7 08 23	<i>Mastigostyla aff. cyrtophylla</i>	28	7	M <sup>1</sup>	3700 m
	<i>Orchidaceae</i>				
	<i>Stelis concaviflora</i>	32	16 (?)	P	3700 m
7 13 09	<i>Epidendrum brachyphyllum</i>	60	*10	M	
7 13 08	<i>E. aff. brachyphyllum</i>	28	14 (?)	P	
	<i>Piperaceae</i>				
6 14 03	<i>Peperomia galioides</i>	22	11		3700 m
	<i>Urticaceae</i>				
7 10 16	<i>Urtica Macbridei</i>	26	13		3400 m
	<i>Caryophyllaceae</i>				
6 18 00	<i>Cerastium mollissimum</i>	34	17		4640 m

<sup>1</sup> Peut être considéré aussi comme P. Cependant, *Mastigostyla* est très voisin de *Cypella* dont *C. herbertii* à 2n = 14 (cf. DARLINGTON et WYLLIE, 1955).

N <sup>os</sup> de récolte	Espèces	2n	N. de base	Caractère de la polyploïdie	Altitudes
7 02 32	<i>Cerastium viscosum</i>	72	18	M	3150 m
7 03 03	<i>Drymaria pauciflora</i>	36	18		3100 m
6 15 13	<i>Drymaria grandiflora</i>	72	18	M	3750 m
6 18 25	<i>Arenaria lanuginosa</i>	44	11	M	
6 04 09	<i>Arenaria parvifolia</i>	44	11	M	4500 m
	<i>Ranunculaceae</i>				
6 20 12	<i>Anemone helleborifolia</i>	48	8	M	2200 m
	<i>Berberidaceae</i>				
6 05 10	<i>Berberis empetrifolia</i>	28	14		4500 m
	<i>Capparidaceae</i>				
7 10 09	<i>Cleome Lechleri</i>	58		M	3500 m
	<i>Cruciferae</i>				
6 07 13	<i>Draba Pickeringii</i>	24	*6	P	4620 m
7 08 02	<i>Descurainia myrtophylla</i>	14	7		3800 m
	<i>Rosaceae</i>				
6 15 04	<i>Lochemilla aphanoides</i>	ca 96	8	M	3750 m
6 14 05	<i>Acaena ovalifolia</i>	42	7 (?)	P	4200 m
	<i>Leguminosae</i>				
6 22 03	<i>Acacia macracantha</i>	26	13		
6 21 09	<i>Cassia flavicoma</i>	16	8		2500 m
6 21 16	<i>Zornia diphylla</i>	20	10		2250 m
6 22 05	<i>Crotalaria sagittalis</i>	32	8	M	2000 m
7 14 00	<i>Crotalaria anagyroides</i>	16	8		
7 10 00	<i>Lupinus aff. paniculatus</i>	48	12	M	3500 m
6 29 01	<i>Lupinus paniculatus</i>	48	12	M	4100 m
6 22 21	<i>Desmodium canum</i>	22	11		2100 m
	<i>Geraniaceae</i>				
7 02 24	<i>Geranium ayavacense</i>	52	13	M	3100 m
	<i>Oxalidaceae</i>				
6 15 12	<i>Oxalis ptychoclada</i>	16	8		3700 m
	<i>Oxalis spiralis</i>	16	8		
	<i>Polygalaceae</i>				
6 18 13	<i>Polygala paniculata</i>	52-56	(?)	M	3700 m
	<i>Hypericaceae</i>				
6 15 16	<i>Hypericum paniculatum</i>	12	*6		3700 m
	<i>Loasaceae</i>				
	<i>Loasa Poissoniana</i>	28	7	P	3600 m
	<i>Loasa macrantha</i>	28	7	P	3900 m
6 09 15	<i>Cajophora coronata</i>	16	8		4600 m
6 15 20	<i>Cajophora Buraeavi</i>	14	7		3800 m
	<i>Begoniaceae</i>				
7 13 00	<i>Begonia bracteosa</i>	52	13	M	
	<i>Lythraceae</i>				
7 03 05	<i>Cuphea dipetala</i>	108	6	M	3100 m
6 20 14	<i>Cuphea Vargasii</i>	16	*8		2100 m
	<i>Melastomaceae</i>				
6 15 43	<i>Tibouchina brevisepala</i>	18	9		3700 m
	<i>Onagraceae</i>				
6 29 08	<i>Oenothera multicaulis</i>	14	7		3800 m
6 18 21	<i>Fuchsia Sanctae Rosae</i>	22	11		2800 m

N <sup>os</sup> de récolte	Espèces	2 <sup>n</sup>	N. de base	Caractère de la polyploïdie	Altitudes
	<i>Umbelliferae</i>				
6 21 12	<i>Daucus montanus</i>	66	11	M	2400 m
	<i>Gentianaceae</i>				
7 08 25	<i>Halenia umbellata</i>	22	11		3500 m
6 15 26	<i>Gentianella umbellata</i>	36	9	P	3700 m
7 08 24	(id.)				3600 m
7 13 41	(id.)				Colca- pampa
6 06 01	<i>Gentianella aff. brunneotricha</i>	36	7	P	4500 m
	<i>Asclepiadaceae</i>				
7 14 12	<i>Asclepias curassavica</i>	22	11		
	<i>Verbenaceae</i>				
6 21 01	<i>Verbena litoralis</i>	56	7	N	2400 m
	<i>Labiatae</i>				
6 18 03	<i>Salvia macrophylla</i>	18	9		3500 m
	<i>Solanaceae</i>				
6 15 05	<i>Solanum probolospermum</i>	24	12		3600 m
6 22 04	<i>Browallia americana</i>	44	11	N	2200 m
	<i>Scrophulariaceae</i>				
6 18 20	<i>Alonsoa acutifolia</i>	56	*7	M	3600 m
6 04 08	<i>Bartsia aff. breviflora</i>	24	12		4500 m
6 15 25	<i>Bartsia aff. camporum</i>	ca 26	13 (?)		
7 13 04	<i>Calceolaria tomentosa</i>	36	9	M	
	<i>Rubiaceae</i>				
6 15 30	<i>Relbunium hypocarpium</i>	66	11	M	3800 m
6 06 08	<i>Relbunium hirsutum</i>	22	11		4500 m
	<i>Valerianaceae</i>				
6 15 19	<i>Valeriana verrucosa</i>	ca 32	8	M	
	<i>Campanulaceae</i>				
7 03 02	<i>Specularia biflora</i>	56	7	M	3000 m
	<i>Compositae</i>				
7 03 18	<i>Bidens andicola</i>	24	12		3000 m
7 14 13	<i>Vernonia scorpioides</i>	30	*15 (?)	P	2100 m
7 08 13	(id.)				3600 m
6 22 09	<i>Elephantopus scaber</i>	22	11		2200 m
6 09 01	<i>Gnaphalium melanosphaeroides</i>	28	7	M	
7 03 26	<i>Gnaphalium aff. Dombeyanum</i>	28	7	M	3100 m
7 03 13	<i>Gnaphalium purpureum</i>	28	7	M	3200 m
7 03 12	<i>Gnaphalium purpureum</i>	28	7	M	3200 m
6 29 02	<i>Perezia multiflora</i>	16	8		4100 m
7 03 19	<i>Heliopsis buphtalmoides</i>	28	7	P	3100 m
6 18 01	<i>Verbesina aff. setifolia</i>	34	17 (?)	P	

2° Sur les quelque 10 000 espèces de Phanérogames qui ont été décrites au Pérou<sup>1</sup> (MACBRIDE, part I, n° 1, page 9), seules environ 300 ont été étudiées au point de vue cytologique sur du matériel de provenance connue (DIERS, 1961 et le présent travail). Cela représente environ 3%. C'est dire combien il faut être prudent dans l'application de données encore si parcimonieuses à un territoire aussi vaste et à une flore aussi riche. Malgré de nombreuses recherches commencées il y a plus de 160 ans (pour la bibliographie, cf. WEBERBAUER, 1945 et la revue Biota de 1955 à 1965), l'inventaire botanique

<sup>1</sup> Ce nombre s'est sans doute accru depuis lors, mais il nous est impossible de donner de chiffres.

de la flore péruvienne est loin d'être terminée. Nous nous trouvons actuellement dans la « phase de consolidation » (DAVIS et HEYWOOD, 1963), alors que la « phase pionnière » n'est pas encore achevée. On peut se demander si, dans ces conditions, la troisième phase de la connaissance botanique d'un pays, la phase de biosystématique n'est pas un peu prématurée. Ce télescopage des phases, dû à l'accélération générale de la vie à notre époque est inévitable. Il n'est pas fâcheux en soi, à condition de rester très circonspect dans l'interprétation des données. L'entrée en jeu des données de la biosystématique peut, selon nous, être assez favorable pendant la phase de consolidation. L'étude de la plasticité du phénotype pratiquée dans la nature ou bien au jardin expérimental peut engager les taxinomistes à restreindre le nombre des taxa à décrire. Nous donnerons ici l'exemple du *Berberis empetrifolia* rencontré pour la première fois au Pérou sous une forme un peu différente de celle que ce taxon revêt au Chili et en Argentine. Cependant, en culture à Neuchâtel, la plante de la Cordillère de Vilcabamba a perdu entièrement le revêtement papilleux que portait l'exemplaire récolté en nature. Nous pensons donc que la plante péruvienne ne mérite pas plus qu'un statut de variété. Inversement la mise en évidence d'une discontinuité cytologique peut éviter de réunir sous un seul binôme des taxa réellement distincts (cas des deux *Epidendrum*, chapitre 4).

Nous voudrions attirer ici l'attention sur l'existence de « races chromosomiques » dans certaines espèces variables ou largement répandues. La confrontation de nos données cytologiques avec celles de DIERS (*op. cit.*) et d'autres auteurs ayant travaillé sur du matériel sud-américain nous a convaincu de l'existence de la polyploïdie intraspécifique au Pérou. Ainsi, *Relbunium hirsutum*, tétraploïde dans la région de Ticlio Bajo (Cordillère occidentale), est diploïde dans la Cordillère orientale. Comme d'autre part, le *Relbunium hypocarpium* est hexaploïde dans la Cordillère de Vilcabamba, il semble que la polyploïdie ait joué dans l'évolution du genre *Relbunium* le rôle qu'elle a joué, aux Alpes, dans la diversification du genre *Galium* (EHRENDORFER, 1958). Chez *Verbena litoralis*, mauvaise herbe répandue en Amérique du Sud, le nombre compté par DERMEN (1936), à savoir  $2n = 28$ , ne coïncide pas avec celui que nous avons trouvé ( $2n = 56$ ). Ici encore, il semble y avoir des races chromosomiques. La graminée *Chloris distichophylla* possède elle aussi une vaste répartition (Pérou, Brésil, Argentine). Le taxon péruvien est tétraploïde alors que KRISHNASWAMY (1941) a travaillé sur une forme diploïde. Dans l'espèce collective *Browallia americana* L., l'existence de deux nombres chromosomiques permettra sans doute de mieux délimiter les taxa spécifiques ou subs spécifiques. Tous ces faits montrent que dans certains genres représentés au Pérou, l'évolution par la polyploïdie est encore active de nos jours, ou s'est passée à une époque subrécente.

Dans d'autres genres, les processus de spéciation par polyploïdisation sont plus anciens et ont abouti à des espèces qui actuellement paraissent bien délimitées. Ce jugement est toutefois susceptible d'être modifié par l'accroissement de nos connaissances sur la flore et sur les nombres chromosomiques. Quoiqu'il en soit, certains taxa polyploïdes étudiés par nous semblent avoir une origine hybridogène, parce que faisant partie d'un complexe d'espèces voisines. Tels sont *Cuphea dipetala* ( $2n = 108$ ), *Daucus montanus* ( $2n = 66$ ), *Cleome Lechleri* ( $2n = 58$ ). Enfin, dans plusieurs genres richement représentés en Amérique du Sud, nous avons mis en évidence de nouveaux nombres de base (*Hypericum*, *Cuphea*, *Alonsoa*, *Epidendrum*, *Vernonia*, *Heliopsis*). Nul doute que dans ces genres et dans d'autres, où cette diversité caryologique était apparue déjà grâce aux travaux antérieurs, la caryologie ne soit appelée à prendre une grande importance pour aider le taxinomiste à constituer des groupes naturels (sections et sous-sections). Mentionnons en particulier *Oxalis*, *Cajophora*, *Salvia*.

3° L'intéressante étude de DIERS (*op. cit.*) aboutit à la conclusion suivante (page 471):

Flore	Altitude	Polyploïdes en %
Loma (désert côtier)	300– 500 m	36,3%
Sierra (étage inférieur)	1600–2500 m	38,1%
Puna (étage « alpin » des Andes)	4500–5000 m	64,9%

L'auteur interprète la différence dans le pourcentage de polyploïdes entre la flore des deux étages inférieurs et celle de l'étage supérieur en se basant sur l'hypothèse de Stebbins à savoir, le plus haut pouvoir d'adaptation des polyploïdes à l'envahissement de territoires neufs. Il pense d'autre part, en accord avec les idées de REESE (1957), que la flore de la Puna est plus récente que celle des Lomas et de la Sierra.

Cependant, FAVARGER (1960) a fait observer que l'estimation de l'âge d'une flore d'après le pourcentage de polyploïdes se heurtait à une objection importante: les polyploïdes peuvent être d'âges très différents. Il y a de toute évidence des polyplôïdes très anciens (paléopolyploïdes de FAVARGER) pour qui la polyplôïdie ne constitue probablement plus un avantage sélectif et des polyploïdes récents (néopolyploïdes de FAVARGER) qui sont représentés par les races polyploïdes d'un taxon par ailleurs diploïde ou plus faiblement polyploïde. L'origine récente de telles races peut difficilement être contestée. Une preuve éloquente à l'appui de cette distinction se trouve dans l'important travail de S. et G. MANGENOT (1962) sur la flore des forêts tropicales de la Côte d'Ivoire. Dans la « collection de forêt dense » (page 422), ces auteurs ont dénombré 85 à 90% de polyplôïdes. Le travail de S. et G. MANGENOT porte au total sur 569 plantes tropicales et représente la plus vaste enquête caryologique qui ait été faite jusqu'ici sur des plantes tropicales récoltées *in situ*. Interpréter les résultats de ces auteurs d'après la méthode « classique » des pourcentages de polyplôïdes reviendrait à dire que la flore des forêts denses tropicales de l'Afrique occidentale est plus récente que celle de la Puna du Pérou, et même que celle du Spitzberg et du Nord du Groenland (REESE, 1957)!

Il nous a donc paru intéressant de reprendre les listes de DIERS et de classer les taxa qu'elles contiennent d'après la méthode exposée par FAVARGER (*op. cit.*, page 121)<sup>1</sup>. Ce travail ne va pas sans quelques difficultés, mais les discussions de DIERS sur les nombres de base des principaux genres nous ont facilité la tâche. Il est évident aussi que la tentative présentée a un caractère très provisoire, vu l'état peu avancé de nos connaissances cytologiques sur la flore de l'Amérique du Sud. Certains taxa que nous plaçons dans les paléopolyploïdes seront peut-être à classer parmi les mésopolyploïdes, si l'absence d'ancêtres diploïdes actuels résulte d'une lacune de nos connaissances. En appliquant la méthode de FAVARGER, on parvient aux résultats suivants:

	Lomas	Sierra inférieure	Puna
Nombre de taxa étudiés par DIERS <sup>2</sup>	36	84	67
Paléopolyploïdes . . . . .	33%	24%	16%
Diploïdes . . . . .	47%	55%	27%
Mésopolyploïdes . . . . .	20%	18%	55%
Néopolyploïdes . . . . .	—	3%	2%
Races chromosomiques . . . . .	—	0%	0%

On peut tirer de ce tableau quelques conclusions.

a) Comme l'a prévu DIERS, la flore de la Puna (Cordillère occidentale) est plus récente que celle des étages inférieurs. Cette conclusion nous paraît mieux établie maintenant, grâce à l'emploi d'une méthode permettant de tenir compte de l'âge relatif différent des polyplôïdes.

b) Il ne semble pas qu'entre la flore des Lomas et celle de la Sierra inférieure, il y ait de différence dans l'âge relatif. La différence observée par DIERS (méthode « classique » des pourcentages de polyplôïdes) était faible. En employant la méthode de FAVARGER, on n'observe pratiquement pas de différence dans la proportion de l'élément ancien. Tout au plus, peut-on remarquer que dans la flore de la Sierra inférieure, il y a quelques plantes (3%) d'origine subrécente, ce qui peut être attribué à l'influence des glaciations qui ont entraîné des bouleversements à proximité du territoire occupé par cette flore.

c) Le pourcentage d'éléments anciens dans la flore de la Sierra et dans celle des Lomas se rapproche de celui observé par S. et G. MANGENOT dans la flore des forêts denses de la Côte d'Ivoire (85% à 90% d'éléments anciens).

Essayons maintenant, en nous servant de nos propres listes (cf. 1°), d'établir le spectre d'ancienneté relative de la collection d'espèces récoltées dans la Cordillère de Vilcabamba (Cordillère orientale).

<sup>1</sup> Cet auteur, outre les néo- et les paléopolyploïdes, définit les *mésopolyploïdes*. Ceux-ci représentent des espèces polyploïdes dans un genre où les espèces diploïdes n'ont pas disparu. Ils ne sont ni aussi anciens que les paléopolyploïdes ni aussi récents que les néopolyploïdes. La somme des paléopolyploïdes et des diploïdes constitue l'élément ancien d'une flore.

<sup>2</sup> Pour les Lomas, nous n'avons utilisé que la liste du tableau 1 de DIERS (p. 442 et sq.), car il nous paraît imprudent d'utiliser les nombres chromosomiques déterminés sur des plantes croissant ailleurs que dans les Lomas. Pour la même raison, seul le tableau 3 (p. 449-52) a servi dans les calculs relatifs à la flore de la Sierra inférieure. Pour la flore de la Puna, les tableaux 5 (Cochabamba) et 6 (Ticlio Bajo) ont été utilisés. Les taxa présents sur deux listes additionnées n'ont été comptés qu'une fois.

Nombre de taxa étudiés par l'auteur . . . . .		76	
Paléopolyploïdes . . . . .	16%	} 58%	
Diploïdes . . . . .	42%		
Mésopolyploïdes . . . . .		38%	
Néopolyploïdes . . . . .	3%	} 4% <sup>1</sup>	
Races chromosomiques . . . . .	0%		

On voit que nos pourcentages sont compris entre ceux établis d'après les listes de DIERS pour la flore de la Puna et celle de la Sierra. Ce résultat peut s'expliquer de deux façons. D'une part, ainsi qu'il a été dit dans l'Introduction, les plantes de M. Terrier n'ont pas été récoltées uniquement à l'étage sans arbres de la Cordillère orientale, mais également dans les vallées où règne un climat plus doux et où la flore doit se rapprocher de celle de la Sierra inférieure étudiée par DIERS. Nous avons renoncé à distinguer ces deux éléments dans nos listes, car l'altitude de la récolte n'est pas un guide suffisamment sûr et d'autre part le nombre d'espèces d'une liste partielle risquait d'être trop faible pour avoir une valeur statistique. Compte tenu de ce mélange d'espèces sur nos listes, notre étude confirme les conclusions de DIERS et les étend à la Cordillère orientale<sup>2</sup>.

On pourrait tenter d'expliquer la plus forte proportion d'éléments anciens dans la Cordillère de Vilcabamba par le fait que dans cette chaîne orientale, les vents venant de l'Amazonie apportent une humidité qui permettrait à d'anciens éléments d'origine tropicale de subsister plus facilement sous un climat de haute montagne. Cependant, si cette hypothèse était juste, il devrait y avoir une différence notable dans le pourcentage d'éléments anciens entre la liste de DIERS se rapportant à la région de Cochabamba (Bolivie) et celle de Ticlio Bajo (Cordillère occidentale du Pérou). En calculant séparément les pourcentages sur ces listes (tableaux 5 et 6 de DIERS), on ne trouve que des différences insignifiantes. Tout au plus peut-on constater que les néopolyploïdes, absents à Cochabamba, sont représentés par 3% à Ticlio Bajo. Nous en concluons donc que le pourcentage plus élevé d'éléments anciens dans la Cordillère de Vilcabamba est dû à la présence sur nos listes d'un certain nombre d'éléments floristiques appartenant en fait à la flore de l'étage inférieur (Sierra). Pour autant que les données établies par DIERS et par nous-même soient confirmées par des comptages ultérieurs plus nombreux, il semble donc bien qu'au Pérou la flore haut-andine est plus jeune que celle des basses altitudes.

Dans un travail récent, BORGMANN (1964) a étudié de la même façon que DIERS la flore des étages « alpin » et « subalpin » des Monts Bismarck en Nouvelle-Guinée. Il parvient aux résultats suivants:

Etage « subalpin » (1630-3100 m)	44% (diploïdes)	56% (polyploïdes)
Etage « alpin » (3100-4700 m)	38% (diploïdes)	62% (polyploïdes)

En appliquant la méthode de FAVARGER aux listes établies par BORGMANN, nous obtenons le tableau ci-après:

*Flore des Monts Bismarck (Nouvelle-Guinée)*

	Etage subalpin	Etage alpin
Nombre de taxa étudiés . . . . .	96	89
Paléopolyploïdes . . . . .	28%	29%
Diploïdes . . . . .	38%	28%
Mésopolyploïdes . . . . .		30%
Néopolyploïdes . . . . .	4%	—
Races chromosomiques . . . . .	—	3%
	} 66%	} 57%
	} 30%	} 40%
	} 4%	} 3%

Ici encore, on observe que la flore de l'étage « alpin » est plus riche en éléments d'âge moyen que celle de l'étage sous-jacent alors qu'il y a un recul sensible des éléments anciens. Aucune comparaison, malheureusement, n'est possible avec la flore des contrées basses. Cependant, par rapport à la flore haut-andine du Pérou, la flore alpine des Monts Bismarck contient beaucoup plus d'éléments anciens (57% au lieu de 43%). Les causes qui ont abouti au remplacement dans les Andes d'une partie des

<sup>1</sup> Les chiffres ont été arrondis car la méthode n'est pas assez précise pour permettre l'appréciation de fractions.

<sup>2</sup> Il ne faut pas oublier qu'une partie des espèces haut-andines (Puna) de DIERS ont été récoltées en Bolivie, dans la Cordillère de Cochabamba qui est le prolongement de la Cordillère orientale du Pérou.

éléments anciens (paléopolyploïdes et diploïdes) par des éléments plus jeunes sont sans doute variées. On peut songer à des changements de climat consécutifs aux périodes glaciaires (ou pluviales) et peut-être aux éruptions volcaniques (WEAERAAUER, 1945, page 661) qui, en bien des points, ont dû laisser de grands espaces à conquérir. On voit par là que l'ancienneté d'une flore de haute montagne dépend des facteurs propres à l'histoire de sa végétation et ce n'est pas parce que deux chaînes éloignées se trouvent à la même latitude que leur flore doit nécessairement comprendre le même pourcentage d'éléments anciens.

Aussi bien DIERS (*op. cit.*, page 482) que BORGMANN (*op. cit.*, page 164) opposent leurs résultats à ceux de SOKOLOVSKAJA et STRELKOVA (1940) pour le Caucase et à ceux de FAVARGER (1954) pour l'étage nival des Alpes de Suisse. A vrai dire, ni dans le travail des auteurs russes, ni dans celui de l'auteur suisse, il n'a été procédé à une comparaison précise avec la flore des plaines sous-jacentes. SOKOLOVSKAJA et STRELKOVA ont observé (à l'aide de la méthode « classique » des pourcentages de polyploïdes) que la proportion des taxa diploïdes est beaucoup plus élevée au Caucase qu'au Pamir et à l'Altai, ce qu'ils attribuent d'une part au climat plus doux de l'étage alpin de la chaîne principale du Caucase et d'autre part, à l'histoire de la flore. La flore du Caucase comprend en effet 25 à 30% d'anciennes formes, à aire restreinte, voisines de leur centre de création. Par contre, la majorité des espèces d'origine lointaine et ayant atteint le Caucase après de longues migrations sont polyploïdes. Dans son travail de 1954, FAVARGER a simplement montré que le climat rigoureux de l'étage alpin des Alpes de la Suisse orientale n'entraînait pas *ipso facto* un accroissement du pourcentage de polyploïdes, comme le prévoyait la théorie de HAGERUP-TISCHLER; en effet, le pourcentage de polyploïdes observé à l'étage nival n'est pas sensiblement plus élevé que celui donné par TISCHLER (1950) pour la flore de l'Europe centrale. L'auteur interprète la chose en disant que « la flore alpine comprend un assez grand nombre de types anciens (tertiaires alpins) d'affinité méridionale qui se sont différenciés sur place au Tertiaire en s'adaptant peu à peu au climat de haute montagne. Pendant les glaciations, ces plantes, ou bien ont survécu sur des « nunataks »... ou bien se sont repliées sur les massifs-refuges de la bordure méridionale des Alpes ». Cette explication est donc analogue (*mutatis mutandis*) à celle des auteurs russes pour le Caucase. En 1960, le même auteur, appliquant à ses listes de l'étage nival, la méthode du spectre d'ancienneté relative d'une flore dont nous avons parlé ci-dessus, montre que la flore de l'étage supérieur des Alpes renferme :

- 56,9% d'éléments anciens (diploïdes et paléopolyploïdes)
- 30,9% d'éléments d'âge moyen (mésopolyploïdes)
- 12,2% d'éléments subrécents ou récents (néopolyploïdes et races chromosomiques).

La proportion d'éléments anciens est bien supérieure à celle<sup>1</sup> observée au S-W du Groenland (38,2%) et sensiblement la même que celle que nous venons d'établir pour les Monts Bismarck, d'après BORGMANN, avec cette différence que le pourcentage de néopolyploïdes et de races chromosomiques est beaucoup plus élevé. FAVARGER n'a cependant pas procédé à une comparaison avec la flore des contrées de plaines au pied des Alpes. Cette comparaison serait assez difficile à faire car elle donnerait sans doute des résultats différents suivant que le territoire de comparaison serait situé au Sud ou au Nord des Alpes, et que la flore de plaine à comparer serait une flore méditerranéenne, vraisemblablement assez ancienne, ou une flore d'Europe centrale, sans doute plus récente.

Nous ne pensons pas que le soulèvement d'une chaîne de montagnes entraîne *ipso facto* la destruction de la flore ancienne et la naissance de méso- ou de néopolyploïdes, car la surrexion d'une chaîne de montagnes procède certainement par étapes successives et par conséquent, la flore peut s'y adapter par « gradual speciation ». Ce sont plutôt les changements géologiques brutaux (éruptions volcaniques, alternances de climats, glaciations) qui font disparaître les formes anciennes et favorisent la formation de polyploïdes récents, ceux-ci prenant souvent naissance à la suite de migrations, comme l'avaient prévu SOKOLOVSKAJA et STRELKOVA. Faisons remarquer avec FAVARGER (1964) que beaucoup de mésopolyploïdes alpins sont des éléments d'origine asiatique (*Primula*, section *Auricula*; *Androsace*, section *Aretia*; *Gentiana*...). Au Pérou, nous avons mis en évidence des mésopolyploïdes parmi les taxa d'origine boréale (*Anemone*, *Lupinus*, *Specularia*). Il est assez suggestif à ce sujet de

<sup>1</sup> D'après le catalogue de POLUNIN (1942) et l'ouvrage de JØRGENSEN, SØRENSEN et WESTERGAARD (1958).

constater que DIERS a relevé que certains taxa récemment émigrés possédaient au Pérou un degré de polyploïdie plus élevé que dans leur pays d'origine: *Argemone mexicana*, *Fumaria capreolata*. Cela paraît confirmer l'idée exprimée ici que la polyploïdie accompagne souvent les migrations lointaines des taxa.

On voit par là l'immense intérêt qui s'attache aux problèmes touchant la génèse des flores de haute montagne. Il serait toutefois présomptueux de prolonger le débat car nos connaissances cytologiques, surtout celles qui ont trait aux flores tropicales sont encore trop rudimentaires, et, comme l'a fait remarquer sagement BORGMANN (page 166), il existe dans ce domaine un grand danger d'interprétations par trop subjectives.

### *Aperçu général sur les résultats obtenus*

Le présent travail porte principalement sur l'étude du noyau de 76 Phanérogames (dont une Gymnosperme = *Ephedra rupestris*) péruviennes réparties dans 36 familles différentes. A cet effet, quelques progrès techniques ont été réalisés.

#### A - Contributions techniques (voir chapitre 2)

1° Afin de pouvoir fixer aux bons moments les boutons floraux pour l'étude de la méiose dans les anthères, nous avons préconisé une étude préalable (*ex tempore*), simple et rapide de leurs anthères.

2° - Pour le squash après coloration au carmin acétique,

- a) Une éventuelle amélioration de la fixation au Carnoy 3:1 a été discutée.
- b) Au lieu d'écraser avec du papier-buvard qui peut provoquer la formation de bulles d'air dans le squash, nous avons employé une gomme élastique.
- c) Nous avons proposé une méthode pour dépister rapidement les « bons » boutons floraux fixés, au moment de l'étude de la méiose dans les anthères.
- d) Un procédé simple, rapide et efficace a été mis au point pour conserver les squashes.
- e) Une méthode a été employée pour conserver le matériel déjà porté à l'ébullition dans le carmin acétique, en vue de son utilisation ultérieure.

3° - Pour la méthode des coupes

- a) Nous avons mis au point un procédé simple pour vaincre les tensions superficielles au moment de la fixation (au Helly et au Nawaschine), sans avoir recours à l'emploi de mouillants.
- b) Un procédé simple a été trouvé pour garder longtemps, dans des conditions simples, le réactif de Schiff.

#### B - Nombres chromosomiques - Age de la flore

1° Le nombre chromosomique de 76 espèces a été déterminé, chez 66 d'entre elles, pour la première fois à notre connaissance (voir liste des nombres chromosomiques: chapitre 26).

2° L'existence probable de races chromosomiques a été mise en évidence chez *Chloris distichophylla*, *Verbena litoralis*, *Browallia americana* (*sensu lato*) et *Relbunium hirsutum*.

3° Des nombres de base nouveaux ont été mis en lumière dans les genres suivants: *Draba* ( $x = 6$ ), *Hypericum* ( $x = 6$ ), *Cuphea* ( $x = 8$ ), *Alonsoa* ( $x = 7$ ), *Vernonia* ( $x = 15$ ), *Heliopsis* ( $x = 7$ ) et *Epidendrum* ( $x = 10$ ).

Le nombre de base ( $x = 9$ ) du genre *Tibouchina* a été mis en évidence pour la première fois.

4° La numération chromosomique a été faite pour la première fois dans les genres *Drymaria* et *Mastigostyla*.

5° Pour estimer l'âge relatif de la flore des Hautes-Andes du Pérou, nous avons appliqué aux listes de DIERS la méthode de FAVARGER. Il se confirme que la flore de la Puna de la Cordillère occidentale est plus récente que celle des Lomas et de la Sierra inférieure. Par contre, ces deux dernières ne présentent aucune différence appréciable dans le pourcentage des éléments anciens. Sous ce rapport, la flore étudiée par nous dans la Cordillère orientale occupe une position intermédiaire entre celle de la Puna (étudiée par DIERS) et celle de la Sierra inférieure (étudiée par le même auteur). Cette position

intermédiaire est attribuée par nous au fait que la collection étudiée comprenait non seulement des plantes de l'étage supérieur, mais aussi des vallées interandines. Le problème de l'âge relatif des flores de haute montagne a été discuté sur la base des statistiques actuellement disponibles.

### C - Systématique et Floristique

1° Une forme nouvelle de *Tibouchina brevisepala* a été mise en évidence à côté du type aux pétales lilas.

2° *Peperomia galioides* a révélé son existence au Pérou, sur notre matériel comme sur celui de DIERS alors que cette espèce n'est pas mentionnée dans la flore de MACBRIDE ni dans l'étude de TRELEASE et YUNCKER.

3° *Berberis empetrifolia* semble exister au Pérou sous la forme d'une sous-espèce ou d'une variété particulière.

4° *Urtica Macbridei*, à l'encontre du type, n'est pas monoïque sur notre matériel mais dioïque.

5° *Epidendrum brachyphyllum* offre au Pérou deux formes (?) ayant deux nombres chromosomiques différents appartenant à deux nombres de base distincts.

### D - Caryologie

1° Les espèces dont les noyaux sont du type semi-réticulé prédominent sur notre matériel.

2° Il existe une relation étroite entre la structure du noyau d'une part et la taille des chromosomes, le nombre de nucléoles et la formation d'auréoles périnucléolaires d'autre part.

3° Chez toutes les espèces étudiées, l'adhérence thymonucléique au(x) nucléole(s) s'observe toujours, soit dans les noyaux somatiques, soit à la prophase hétérotypique. Si les noyaux possèdent des chromocentres (*sensu lato*), quelques-uns de ces derniers se trouvent accolés au(x) nucléole(s), quelle que soit la structure nucléaire. Par conséquent, il est très probable que l'existence de chromocentres paranucléolaires est générale. Dans les cas où les noyaux ne présentent pas de chromocentres visibles ou reconnaissables comme tels et où les grains chromatiques se rassemblent en des plages chromatiques collectives, quelques-unes de celles-ci adhèrent au(x) nucléole(s).

Le rôle des chromocentres paranucléolaires dans la fusion des nucléoles du noyau a été discuté.

La possibilité de connaître le mode de formation des nucléoles chez une espèce par la seule observation de l'attitude constante de certains chromocentres vis-à-vis du nucléole a été envisagée (cf. chapitre 23: 2<sup>e</sup> partie, II, C, 5).

4° Le stade de synizesis s'observe toujours chez les espèces où la méiose a été étudiée. Il paraît certain qu'il constitue un stade régulier du processus méiotique. La « seconde contraction » par contre, n'est pas fréquente.

5° Un cas de « bourgeonnement nucléolaire » typique s'observe à la prophase hétérotypique de *Salvia macrophylla*.

6° La composition morphologique du nucléole a été observée au stade de synizesis chez *Drymaria grandiflora*. Il se compose de deux couches concentriques dont l'externe est plus « claire ».

7° Quand plusieurs noyaux se trouvent dans un cytoplasme commun, ils se divisent synchroniquement.

8° La méiose normale chez *Epidendrum brachyphyllum* et *Draba Pickeringii* permet de trouver pour chacun de ces deux genres un nombre de base nouveau.

9° Une forme d'anaphase hétérotypique anormale s'observe dans les anthères de *Stelis concaviflora* et de *Cuphea dipetala*. Ce phénomène présente l'aspect d'une formation d'« univalents ». Or, le pollen est normal. Par conséquent, il faut se baser aussi sur l'étude du pollen pour juger du caractère oui ou non hybridogène d'une plante et non sur la seule métaphase hétérotypique, comme on a tendance à le faire.

10° L'endomitose avec formation de diplochromosomes a été observée dans la racine de *Zornia diphylla* et de *Mastigostyla aff. cyrtophylla* et dans les poils stigmatiques de *Urtica Macbridei*.

11° Les principales formes du phénomène d'endomitose au sens de l'école de GEITLER ont été observées sur notre matériel, depuis la multiplication statique de la matière chromatinienne jusqu'à la formation de « chromosomes géants » (pour plus de détails, cf. chapitre 25, IV).

La désagrégation des endochromocentres ne s'observe effectivement que dans les noyaux des antipodes de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata* et dans les noyaux du trichome de *Descurainia myriophylla*.

Chez *Oxalis spiralis*, on observe une forme de désagrégation inachevée sur les endochromocentres des noyaux endomitotiques dégénérescents de la cellule apicale des poils glanduleux des sépales et du pédicelle d'une part et des cellules géantes du mésophylle des carpelles d'autre part. Il en est de même sur les poils tecteurs de *Draba Pickeringii*.

Rare est la formation de « chromosomes géants »: *Geranium ayavacense*, *Anemone helleborifolia*, *Gentianella umbellata*. Chez les deux premières espèces, la structure « double » de ces chromosomes de prophase permanente est très nette. Elle indique que l'individualisation des deux chromosomes-fils initiaux se fait pendant l'interphase, avant le déclenchement du phénomène d'endomitose.

12° Une méthode simple en vue d'estimer le rapport de volumes entre deux noyaux a été proposée (cf. chapitre 11: Discussion, 2).

13° Le critère primordial permettant une comparaison valable entre les volumes de deux noyaux (en vue d'évaluer le degré de polyploidie de l'un d'eux) a été dégagé (cf. chapitre 25: II, B, 2). C'est qu'ils appartiennent à un même tissu et qu'ils possèdent les mêmes densités de répartition de la matière chromatique.

## E - Embryologie

1° Chez *Epidendrum brachyphyllum* et *E. aff. brachyphyllum*, le caudicule renferme encore des CMP qui subissent la méiose normalement, aboutissant à la formation de grains de pollen qui ne germent pas. C'est une preuve en faveur de l'origine sporogène du caudicule des Orchidacées.

2° D'autre part, le caudicule de ces Orchidacées se compose de CMP intercalées avec des cellules nourricières. Ces dernières forment ainsi des cloisons qui compartimentent la masse sporogène. Par conséquent, c'est un cas de « Balkentapetum » typique et une preuve en faveur d'une origine sporogène du tapis.

3° Des cas de pollens anormaux ont été remarqués. Chez les Orchidacées ci-dessus, l'anomalie provient de la formation défectueuse des cloisons séparatrices des CMP. Dans le cas de *Peperomia galioides*, elle découle d'une forme d'asynédèse partielle. Chez *Anemone helleborifolia* et *Solanum probolospermum*, le noyau reproducteur peut se résoudre en un certain nombre de fragments qui restent pourtant ensemble dans le cytoplasme reproducteur.

4° Sur le pollen de *Anemone helleborifolia*, la prophase avec formation de chromosomes bien individualisés a été observée deux fois dans le noyau végétatif.

5° Chez *A. helleborifolia*, *Chloris distichophylla* et *Solanum probolospermum*, l'adhérence du noyau végétatif à la cellule reproductrice est frappante.

6° *Relbunium hypocarpium* possède un archesporium femelle multicellulaire, allant jusqu'à une trentaine de CME. Chez *Drymaria grandiflora*, par contre, cet archesporium ne dépasse jamais deux cellules.

7° L'hypostase du type conçu par VAN TIEGHEM a été remarquée chez *Oxalis spiralis*, *O. ptychoclada*, *Verbena litoralis*, *Salvia macrophylla* et *Mastigostyla aff. cyrtophylla*. Elle est formée de cellules aux membranes lignifiées.

Par contre, chez *Halenia umbellata* (et probablement aussi chez *Gentianella umbellata*) et chez *Specularia biflora*, l'hypostase se compose de cellules petites et aux noyaux pycnotiques. En raison de l'absence de lignification sur leurs membranes, ces cellules se trouvent comprimées sous la poussée du sac embryonnaire. Cela accélère leur résorption.

8° Le phénomène de multiplication des antipodes a été noté chez *Verbena litoralis*, *Drymaria grandiflora* et surtout chez *Gentianella umbellata* où le nombre d'antipodes atteint vingt-neuf et irait probablement jusqu'à une cinquantaine. Chez *Relbunium hypocarpium*, il se forme un suçoir antipodial multicellulaire.

9° Chez *Halenia umbellata* et *Anemone helleborifolia*, les antipodes ne se multiplient pas mais deviennent binucléées. Des mitoses ultérieures de types inachevés polyploïdisent les deux noyaux sans augmenter leur nombre.

10° Chez *Geranium ayavacense* et chez *Salvia macrophylla*, les synergides peuvent être binucléées.

11° Le phénomène d'endomitose au sens de l'école de GEITLER affecte les noyaux des synergides de *Geranium ayavacense* et de *Anemone helleborifolia*: on y observe quelquefois la formation de « chromosomes géants ». Chez *Salvia macrophylla*, il permet l'observation fréquente de formations analogues aux « chromosomes géants ». Dans le cas de *Berberis empetrifolia*, ce phénomène aurait une activité faible, à en juger par le faible accroissement en volume des noyaux des synergides.

La polyploïdisation des noyaux d'antipodes de *Halenia umbellata* et de *Gentianella umbellata* se fait par deux procédés successifs. D'abord, ce sont des mitoses de types inachevés, puis un phénomène d'endomitose au sens de l'école de GEITLER qui laisse voir quelquefois des formations de « chromosomes géants ».

Une multiplication statique de la matière chromatinienne est la règle dans les cellules haustoriales de l'albumen de *Specularia biflora*. Il en est de même pour le cas de l'albumen de *Salvia macrophylla*.

12° Chez *Anemone helleborifolia*, le noyau de l'oosphère laisse voir une sorte de prophase moyenne que la castration accentue et conduit à la formation de chromosomes presque métaphasiques.

13° Un essai de fécondation illégitime a été réalisé sur *Oxalis spiralis*. La proportion de graines ainsi formées est faible. Cependant, elles sont presque toutes fertiles.

14° Chez *Specularia biflora*, la cléistogamie est de règle dans les fleurs axillaires. Elle a lieu fréquemment sur les fleurs terminales quand la terre est mal approvisionnée en engrais. Malgré la faible quantité de grains de pollen dans leurs anthères, les fleurs cléistogames voient leurs ovules chacun recevoir un ou deux tubes polliniques supplémentaires; ces données sont en raison inverse sur les fleurs chasmogames.

15° Chez *Lachemilla aphanoides*, la reproduction se fait uniquement par voie apomictique.

## Resumen

El presente trabajo trata del estudio del núcleo de 76 Fanerógamas peruanas (de las cuales una gimnosperma: *Ephedra rupestris*) repartidas en 36 familias diferentes. El material ha sido recolectado por el profesor Ch. Terrier en la Cordillera de Vilcabamba.

### A - Técnica

El autor propone en primer lugar algunas mejoras a las técnicas cariológicas comunmente empleadas (p. 15 *et sq.*)

### B - Número de Cromosomas y edad de la flora

El número de cromosomas de 76 especies ha sido determinado por primera vez y según estima el autor, en 66 de ellas (ver lista, capítulo 26).

Razas cromosómicas existen probablemente en *Chloris distichophylla*, *Verbena litoralis*, *Browallia americana* (sens. lat.) y *Relbunium hirsutum*.

Nuevos números básicos se ponen en evidencia en los géneros siguientes: *Draba* ( $x=6$ ), *Hypericum* ( $x=6$ ), *Cuphea* ( $x=8$ ), *Alonsoa* ( $x=7$ ), *Vernania* ( $x=15$ ), *Heliopsis* ( $x=7$ ) y *Epidendrum* ( $x=10$ ). El número básico del género *Tibouchina* es  $x=9$ .

Los géneros *Drymaria* y *Mastigostyla*, se estudian por primera vez, bajo el punto de vista citológico. Para estimar la edad relativa de la flora de los Altos Andes del Perú, hemos aplicado a las listas de DIERS el método Favarger. Se confirma que la flora de la Puna de la Cordillera occidental es más reciente que la de las Lomas y la de la Sierra inferior.

Por el contrario, estas dos últimas, no presentan ninguna diferencia apreciable en el porcentaje de elementos antiguos. Según esta relación, la flora estudiada por nosotros en la Cordillera oriental, ocupa una posición intermedia, entre la de la Puna (estudiada por DIERS) y la de la Sierra inferior (asimismo estudiada por el mismo autor). Esta posición intermedia, la atribuimos al hecho que la colección estudiada comprendía, no solamente plantas de la plana superior, si no que, también, de los valles interandinos. El problema de la edad relativa de las floras de alta montaña, se discute, teniendo como base, estadísticas actualmente disponibles.

### C - Sistemática y Florística

Una nueva forma de *Tibouchina brevisepala* se pone en evidencia al lado del tipo de pétalos lilas.

*Peperomia galioides* ha revelado su existencia en el Perú, sobre el material estudiado por el citado autor, como sobre el de DIERS, mientras que no es mencionada ni en la flora de MACBRIDE ni en el estudio de TRELEASE y YUNCKER.

*Berberis empetrifolia* parece existir en el Perú, bajo forma de una subespecie de una variedad particular.

*Urtica Macbridei*. Contrariamente al tipo, no es monóica, en el material estudiado, sino dióica.

*Epidendrum brachyphyllum* ofrece en Perú dos formas (?) que tienen un número de cromosomas diferentes y que pertenecen a dos números básicos distintos.

### D - Cariología general

Las relaciones entre la estructura del núcleo de una parte, la talla de las cromosomas, el número de nucleolos y la formación de aureólas perinucleolares, son objeto de un estudio cuidadoso, así, como, los fenómenos de adherencia entre la cromatina (sensu lato) y el o los nucleoles. Estos ofrecen mayor generalidad en el material estudiado.

El papel de los cromocentros paranucleolares en la fusión y en el desarrollo de la yemas nucleolares es también tratado.

El autor aporta una contribución al estudio de los fenómenos de endomitosis, describiendo nuevos ejemplos:

1. - De endomitosis a diplocromosomas.
2. - De endomitosis, en el sentido de la escuela de Geitler, yendo de la multiplicación estática de la materia cromática a la formación de cromosomas gigantes (cf. capítulo 25).
3. - De desagregación de los endocromocentros.

El autor discute los métodos, empleados hasta, hoy día, para estimar el grado de poliploidía de un núcleo, según la aumentación de su volumen.

### E - Embriología

En la *Epidendrum brachyphyllum* y *E. aff. brachyphyllum*, la caudícula encierra células madres del polen que sufren la división reductiva y dan nacimientos a granos de polen de apariencia normal pero incapables de germinar. Es una prueba a favor del origen esporógeno de la caudícula de las orquidáceas.

Granos de polen anormales se han manifestado en diversas especies. Su origen se debe a numerosas causas que discute el autor.

La adherencia del núcleo vegetativo a la célula reproductiva se observa en 3 especies diferentes. En la *Relbunium hypocarpium*, el arquesporio hembra, encierra hasta 30 células madres. En la *Drymaria grandiflora* no hay más de dos. Una hipostasa (en el sentido de Van Tieghem) ha sido observada, la *Oxalis spiralis*, *Oxalis ptychoclada*, *Verbena litoralis*, *Salvia macrophylla* y *Mastigostyla aff. cyrtophylla*. El autor observa nuevos casos de multiplicación del número de las antipodas, de antipodas y de sinérgidas binucleadas. Describe fenómenos de endomitosis, afectando, sean las sinérgidas, sean las antipodas o sean finalmente al endosperma o a las haustoriales de este tejido.

Un ensayo de fecundación ilegítima es practicado en la *Oxalis spiralis*. La proporción de granos obtenidos es débil, pero por el contrario estos granos son fértiles.

En la *Specularia biflora* la cleistogamia es la regla en las flores axilares y afecta las flores terminales cuando la planta esta mal alimentada. A pesar del reducido número de granos de polen en las anteras de las flores cleistogamas, los óvulos de estas reciben cada uno numerosos tubos polínicos.

En la *Lachemilla aphanoides* la reproducción se hace únicamente por apomixis.

## O U V R A G E S C I T É S

- AFZELIUS, K. 1916. Zur Embryosackentwicklung der Orchideen. *Svensk bot. Tidskr.* 10, 183-227.
- D'AMATO, F. 1952a. New evidence of endopolyploidy in differentiated plant tissues. *Caryologia* 4, 121-42.
- 1952b. Polyploidy in the differentiated and function of tissues and cells in plants. *Ibid.* 4, 311-358.
- 1954. A brief discussion on "Endomitosis". *Ibid.* 6, 341-345.
- ARCHAMBAULT, G. 1934. Pour assurer la pénétration du fixateur. *Rev. Cytol. Cytop. vég.* 1, 173-174.
- BEAMAN, J. H., DE JONG, D. C. D. et STOUTAMIRE, W. P. 1962. Chromosome studies in the alpine and subalpine floras of Mexico and Guatemala. *Amer. J. Bot.* 49, 41-50.
- BEASLEY, J. O. 1938. Nuclear size in relation to meiosis. *Bot. Gaz.* 99, 865-871.
- BERGER, C. A., WITKUS, E. R. et JOSEPH, T. C. 1951. Tapetal cell and meiotic divisions in *Antirrhinum majus* L. and *Linaria vulgaris* Hill., *Caryologia* 4, 110-114.
- BERGMAN, B. T. 1952. Asyndesis in macrosporogenesis of diploid, triploid and tetraploid *Chrysanthemum carinatum*. *Hereditas* 38, 83-90.
- BIER, K. 1957. Endomitose und Polytänie in den Nährzellkernen von *Calliphora erythrocephala* Meigen. *Chromosoma* 8, 493-522.
- 1960. Der Karyotyp von *Calliphora erythrocephala* Meigen unter besonderer Berücksichtigung der Nährzellkernchromosomen im gebündelten und gepaarten Zustand. *Chromosoma* 11, 335-364.
- BLOT, J. 1960. Contribution à l'étude cytologique du genre *Peperomia*. *Rev. gén. Bot.* 67, 522-535.
- BONNET, J. 1912. Recherches sur l'évolution des cellules nourricières du pollen chez les Angiospermes. *Archiv f. Zellforsch.* 7, 604-722.
- BORGMANN, E. 1964. Anteil der Polyploiden in der Flora des Bismarck-Gebirges von Ost-Neuguinea. *Zeitschr. f. Bot.* 52, 118-172.
- BOWMAN, J. 1916. The Andes of Southern Peru. *Amer. geogr. Soc.*, New-York.
- BROWN, W. 1908. The nature of the embryosac of *Peperomia*. *Bot. Gaz.* 46, 445-460.
- BROWN, S. W. 1949. Endomitosis in the tapetum of Tomato. *Amer. J. Bot.* 36, 703-716.
- BUJART, E. 1950. Abrégé de Technique microscopique pour travaux d'histologie. Payot, Lausanne.
- CAILLON, M. 1958. Contribution à l'étude de la différenciation du pollen chez quelques Angiospermes. *Rev. Cytol. Biol. vég.* 19, 63-94.
- DE CANDOLLE, A. P. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. Paris. 1824-1873.
- CARNIEL, K. 1954. Endomitosis im zellulär-einkernigen Tapetum. *Österr. bot. Zeitschr.* 101, 435-436.
- 1962. Die Entwicklung des Antherentapetums der Cyperaceen und Endomitosis an Kernen mit diffus-centromerischen Chromosomen. *Österr. bot. Zeitschr.* 109, 168-173.
- 1962b. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des sporogenen Gewebes der Gramineen und Cyperaceen. II. *Cyperaceae*. *Österr. bot. Zeitschr.* 109, 81-95.
- CARTIER, D. 1960. La méiose et les associations chromosomiques multiples chez le *Foeniculum vulgare* Gaertn. *Rev. gén. Bot.* 67, 225-242.
- CHAMBERLAIN, C. J. 1897. Contribution to the life history of *Lilium philadelphicum*: the pollen grain. *Bot. Gaz.* 23, 412-452.
- CHARDARD, R. 1962. Recherches sur les cellules-mères des microspores des Orchidées. Etude au microscope électronique. *Rev. Cytol. Biol. vég.* 24, 1-148.
- 1963. Contribution à l'étude cytotoxonomique des Orchidées. *Rev. Cytol. Biol. vég.* 26, 1-58.
- CHEVALIER, E. 1945. Etude caryologique de cinq espèces australiennes d'*Acacia*. *Rev. Cytol. Cytop. vég.* 8, 77-86.
- COOPER, D. C. 1938. Embryology of *Pisum sativum*. *Bot. Gaz.* 100, 123-132.
- CZEKA, G. 1956. Strukturveränderungen endopolyploider Ruhekerne in Zusammenhang mit wechselnder Bündelung der Tochter-Chromosomen und karyologische-anatomische Untersuchungen an Sukkulente. *Österr. bot. Zeitschr.* 103, 536-566.
- 1958. Über das spontane Auftreten von Mitosen und inäqualen Cytokinesen in der endopolyploiden Epidermis von *Portulaca grandiflora*. *Planta* 51, 566-574.
- 1960. Grössenunterschiede der Chromosomen von *Kleinia spinulosa*. *Chromosoma* 11, 21-24.
- DANGEARD, P. 1934. Sur la structure et l'évolution des noyaux à chromocentres. *C. R. Acad. Sc.* 199, 1444-1446.
- 1934. Les chromocentres du noyau et leurs relations avec les nucléoles. *C. R. Soc. Biol.* 117, 375-376.
- 1934. Sur le bourgeonnement des nucléoles observé chez le *Lathrea clandestina* et chez quelques plantes à prochromosomes. *C. R. Acad. Sc.* 198, 1624-1629.
- 1940. Recherches sur la structure des noyaux et sur l'action des fixateurs particulièrement de l'acéto-carmin. *Le Botaniste* 31, 113-173.
- 1945. A propos de la structure des noyaux de la mitose chez le *Tropaeolum majus*. *Bull. Soc. bot. France* 92, 267-274.

- DARLINGTON, C. D. 1928. Studies in *Prunus*. J. Genet. 19, 213-256.  
 — 1956. Chromosome Botany. London.  
 — et WYLIE, A. P. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. London, seconde édition (1961).
- DAVIS, P. H. et HEYWOOD, V. H. 1963. Principles of Angiosperm taxonomy. London.
- DAWSON, J. W. 1959. Natural *Acaena* hybrids in the vicinity of Wellington. Transact. Roy. Soc. New-Zealand, may/1960, 13-27.
- DELAY, C. 1940. Recherches sur le noyau des Légumineuses. Paris.  
 — 1947. Recherches sur la structure des noyaux quiescents chez les Phanérogames. Rev. Cytol. Cytop. vég. 9, 169-222.  
 — 1948. Recherches sur la structure des noyaux quiescents chez les Phanérogames. Rev. Cytol. Cytop. vég. 10, 103-228.
- DELESTAING, N. 1954. Contribution à l'étude cytologique du genre *Salvia*. Rev. Cytol. Biol. vég. 15, 195-224.
- DELOFFRE, G. 1934a. Variations des dimensions du noyau et du nucléole chez le Lupin et chez le Haricot dans diverses conditions physiologiques. C. R. Soc. Biol. 117, 883-885.  
 — 1934b. Influence du nitrate de potassium sur la régénération, en présence du glucose, de noyaux préalablement réduits par le jeûne, chez le Lupin et chez le Haricot. C. R. Soc. Biol. 117, 1263-1264.
- DERMEN, H. 1936. Cytological study and hybridization in two sections of *Verbena*. Cytologia 7, 160-175.
- DEYSSON, G. et TRẦN TÂN-THÔNG. 1959. Contribution à l'étude des adjuvants de solubilisation en cytologie expérimentale. II - Action des mouillants sur la cellule végétale. Rev. Cytol. Biol. vég. 21, 385-400.
- DIERS, L. 1961. Der Anteil an Polyploidien in den Vegetationsgürteln der Westkordillere Perus. Zeitschr. f. Bot. 49, 437-488.
- DIGBY, L. 1912. The cytology of *Primula kewensis* and of related *Primula* hybrids. Annals Bot. 26, 357-388.
- DOLEZAL, R. et TSCHERMAK-WOESS, E. 1955. Verhalten von Eu- und Heterochromatin und interphasisches Kernwachstum bei *Rhoeo discolor*: Vergleich von Mitose und Endomitose. Österr. bot. Zeitschr. 102, 158-185.
- DOULAT, E. 1943. Le noyau et l'élément chromosomique chez les Spermatophytes. Thèse Grenoble.  
 — 1944. La structure du noyau et des chromosomes somatiques chez le *Phoenix dactylifera* L. Rev. Cytol. Cytop. vég. 7, 14-23.  
 — 1945. Sur la structure du noyau et sur la mitose somatique chez le *Tropaeolum majus* L. Bull. Soc. bot. France 92, 275-283.
- EFTIMIU-HEIM, Mme P. 1941. Recherches sur le noyau des Orchidées. Le Botaniste 31, 65-100.  
 — 1943. La mitose hétérotypique des Orchidées. Le Botaniste 32, 3-42.
- EHRENBERG, L. 1946. Influence of temperature on the nucleolus and its coacervate nature. Hereditas 32, 407-418.
- EHRENDORFER, F. 1958. Die geographische und ökologische Entfaltung des europäisch-alpinen Polyploidkomplexes *Galium anisophyllum* Vill. seit Beginn des Quartärs. Upsala Univ. Arsskrift 1958, 6, 176-181.
- EICHHORN, A. 1931. Recherches caryologiques comparées chez les Angiospermes et les Gymnospermes. Arch. Bot. 5, mém. 2, 1-84.  
 — 1933. Types définis et types intermédiaires dans la mitose des végétaux. Cytologia 5, 253-268.  
 — 1934. Nouvelle contribution à l'étude des végétaux à prochromosomes et à chromocentres. Rev. Cytol. Cytop. vég. 1, 150-169.  
 — 1937. Evolution nucléaire et numération chromosomique chez *Begonia pictaviensis*. C. R. Acad. Sc. 204, 1081.  
 — 1950. A propos du synzesis. C. R. Acad. Sc. 230, 1200-1201.  
 — et FRANQUET, R. 1934. A propos de la réaction nucléale de Feulgen. C. R. Soc. Biol. 117, 326-328.
- ENGLER, A. Das Pflanzenreich. Leipzig. 1900-1937.  
 — et PRANTL, K. Die natürlichen Pflanzenfamilien. Leipzig. 1889-1909.
- ENZENBERG, U. 1961. Beiträge zur Karyologie des Endosperms. Österr. bot. Zeitschr. 108, 245-285.
- FAGERLIND, F. 1937. Embryologische, zytologische und bestäubungsexperimentelle Studien in der Familie Rubiaceae nebst Bemerkungen über einige Polyploiditätsprobleme. Acta Horti Bergiani 11, 195-470.
- FARRON, C. 1957. Noyaux géants et chromosomes géants dans les antipodes d'*Ouratea* affinis. Arch. Julius Klaus-Stift. 32, 570-574.
- FAVARGER, C. 1944. Sur quelques phénomènes de pseudo-appariement des chromosomes dans les tissus somatiques. Bull. Soc. bot. Suisse 54, 579-590.  
 — 1946. Recherches caryologiques sur la sous-famille des Silénoïdées. Bull. Soc. bot. Suisse 56, 365-451.  
 — 1949. Contribution à l'étude caryologique et biologique des Gentianacées. Bull. Soc. bot. Suisse 59, 62-85.  
 — 1952. Contribution à l'étude caryologique et biologique des Gentianacées. Bull. Soc. bot. Suisse 62, 244-257.  
 — 1952. Recherches sur quelques Mélastomacées d'Afrique occidentale. Bull. Soc. bot. Suisse 62, 5-65.  
 — 1960. Sur l'emploi des nombres en géographie botanique historique. Ber. geobot. Inst. Eidg. Techn. Hochsch. Zürich 32, 119-146.  
 — 1962. Nouvelles recherches cytologiques sur les Mélastomacées. Bull. Soc. bot. Suisse 72, 306-321.  
 — 1962. Contribution à l'étude cytologique des genres *Mimuaritia* et *Arenaria*. Bull. Soc. Neuchât. Sc. Nat. 85, 53-81.  
 — 1964. Cytotaxinomie et endémisme. C. R. Soc. Biogéogr. 357, 23-44.

- FEDORTSCHUK, W. 1931. Embryologische Untersuchung von *Cuscuta monogyta* Vahl. und *C. epithymum* L. *Planta* 14, 94–111.
- FENZL, E., et TSCHERMAK-WOESS, E. 1954. Untersuchungen der Achse der Angiospermen. *Österr. bot. Zeitschr.* 101, 140–164.
- FERNANDES, A. et SERRA, J. A. 1944. Euchromatine et hétérochromatine dans leurs rapports avec le noyau et le nucléole. *Bol. Soc. Broteriana* 19, 2, a série.
- FOSTER, R. C. 1945. Studies in the Iridaceae III. Notes on *Mastigostyla* Johnston. *Contr. Gray Herb.* 155, 22–26.
- GALAN, F. 1950. Analyse génétique de la monœcie et de la diœcie zygotiques et leur différence dans *Ecballium Elaterium*. *Proc. 7th Int. bot. Congress*, 340–341 (dans *Chronica Botanica* 1953).
- GAVAUDAN, P. 1936. Sur les adhérences de la chromatine thymonucléique à l'appareil nucléolaire dans les noyaux somatiques et dans les noyaux des microsporocytes chez *Scilla peruviana*. *C. R. Soc. Biol.* 121, 1072–1074.
- 1937. Sur le devenir du nucléole pendant la caryocinèse et sur ses rapports généraux avec la chromatine thymonucléique. *C. R. Acad. Sc.* 204, 287–289.
- et PELLETIER, M. 1936. Sur deux nouveaux cas d'adhérence de la chromatine thymonucléique au nucléole dans les noyaux d'*Aesculus hippocastanum* et *Helleborus foetidus*. *C. R. Soc. Biol.* 121, 1329–1332.
- GEITLER, L. 1938. Über das Wachstum von Chromozentrenkernen und zweierlei Heterochromatin bei Blütenpflanzen. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anatomie* 28, 133–153.
- 1939. Die Entstehung der polyploiden Somakerne der Heteropteren durch Chromosomenteilung ohne Kernteilung. *Chromosoma* 1, 1–22.
- 1940a. Die Polyploidie der Dauergewebe höherer Pflanzen. *Ber. deutsch. bot. Ges.* 58, 131–142.
- 1940b. Kernwachstum und Kernbau bei zwei Blütenpflanzen. *Chromosoma* 1, 474–485.
- 1949. Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. *Fortschr. Bot.* 12, 1–18.
- 1953. Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. *Protoplasmatologia* 6, C.
- 1953b. Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. *Fortschr. Bot.* 16, 1–15.
- 1954. Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. *Fortschr. Bot.* 17, 1–15.
- 1955. Riesenkerne im Endosperm von *Allium ursinum*. *Österr. bot. Zeitschr.* 102, 460–475.
- 1956. Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. *Fortschr. Bot.* 19, 1–17.
- 1958. Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. *Fortschr. Bot.* 21, 1–11.
- GENTSCHKEFF, G. et GUSTAFSSON, A. 1940. The balance system of meiosis in *Hieracium*. *Hereditas* 26, 209–249.
- GÉVAUDAN, M. A. 1959. Mégasporogénèse et différenciation du sac embryonnaire chez *Linum usitatissimum*. *Rev. gén. Bot.* 66, 1–22.
- GILLET, J. M. 1957. A revision of the North American species of *Gentianella* Moench. *Annals Missouri bot. Gard.* 44, 195–269.
- GUERVIN, C. 1961. Contribution à l'étude cytotoxonomique des Sapindacées et caryologique des Mélianthacées et des Didiéracées. *Rev. Cytol. Biol. vég.* 23, 4–83.
- GUSTAFSSON, A. 1938. The cytological differentiation of male and female organs in parthenogenetic species. *Biol. Zentralb.* 58, 608–616.
- 1946. The plant species in relation to polyploidy and apomixis. *Hereditas* 32, 444–448.
- 1948. Polyploidy, life form and vegetative reproduction. *Hereditas* 34, 1–22.
- HAGERUP, O. 1932. Über Polyploidie in Beziehung zu Klima, Ökologie und Phylogenie. *Chromosomenzahlen aus Timbuktu. Hereditas* 16, 19–40.
- HÅKANSSON, A. 1951. Parthenogenesis in *Allium*. *Bot. Not.*, 143–179.
- 1957. Notes on the giant chromosomes of *Allium nutans*. *Bot. Not.* 110, 197–200.
- HAMEL, J. 1937. Etudes caryologiques sur quelques Bégoniacées. *Rev. Cytol. Cytop. vég.* 2, 392–414.
- 1938. Etude de la mitose somatique et numération chromosomique chez quelques Loasacées. *Rev. Cytol. Cytop. vég.* 3, 153–172.
- HASITSCHKA, G. 1956. Bildung von Chromosomenbündeln nach Art der Speichendrüsenschromosomen, spiralisierte Ruhekernechromosomen und andere Struktureigentümlichkeiten in den endopolyploiden Riesenkernen der Antipoden von *Papaver Rhoeas*. *Chromosoma* 8, 87–113.
- HASITSCHKA-JENSCHKE, G. 1958. Zur Karyologie der Samenanlage dreier *Allium*-Arten. *Österr. bot. Zeitschr.* 105, 71–82.
- 1959a. Bemerkenswerte Kernstrukturen im Endosperm und im Suspensor zweier *Helobiae*. *Österr. bot. Zeitschr.* 106, 301–314.
- 1959b. Vergleichende karyologische Untersuchungen an Antipoden. *Chromosoma* 10, 229–267.
- 1960. Beiträge zur Karyologie von Characeen. *Österr. bot. Zeitschr.* 107, 228–240.
- 1961. Das Längenverhältnis der eu- und heterochromatischen Abschnitte riesenchromosomenartiger Bildungen verglichen mit dem der Prophasechromosomen bei *Bryonia dioica*. *Chromosoma* 12, 466–483.
- 1962. Notizen über endopolyploide Kerne im Bereich der Samenanlage von Angiospermen. *Österr. bot. Zeitschr.* 109, 125–137.
- HEILBORN, O. 1936. The mechanics of so-called secondary association between chromosomes. *Hereditas* 22, 167–188.

- HEITZ, E. 1929. Heterochromatin, Chromocentren, Chromomeren. Ber. deutsch. bot. Ges. 47, 274–284.
- 1931. Die Ursache der gesetzmässigen Zahl, Lage, Form und Grösse pflanzlicher Nukleolen. *Planta* 12, 775–846.
- 1932. Nukleolen und Chromosomen in der Gattung *Vicia*. *Planta* 15, 495–505.
- 1933. Die Herkunft der Chromocentren. *Planta* 18, 571–639.
- 1934. Über  $\alpha$ - und  $\beta$ -Heterochromatin sowie Konstanz und Bau der Chromomeren bei *Drosophila*. *Biol. Zentralbl.* 54, 588–609.
- 1935. Die Nukleal-Quetschmethode. Ber. deutsch. bot. Ges. 53, 870–878.
- HILLARY, B. B. 1939. Use of the Feulgen reaction in cytology: effect of fixatives on the reaction. *Bot. Gaz.* 101, 51–64.
- HUGHES-SCHRADER, S. 1957. Differential polyteny and polyploidy in Diaspine Coccids. *Chromosoma* 8, 709–718.
- et SCHRADER, F. 1956. Polyteny as a factor in the chromosomal evolution of the Pentatomini. *Chromosoma* 8, 135–151.
- HUMBOLDT, A., BONPLAND, A. et KUNTH, C. S. 1815–1825. *Nova genera et species plantarum*. Paris.
- HUNZIKER, J. H. 1955. Morfología cromosómica de nueve especies argentinas del género «*Ephedra*». *Rev. Inv. agrícolas* 9, 201–209.
- HUREL-PY, G. 1936. Le nucléole des végétaux supérieurs et la réaction de Feulgen. *C. R. Soc. Biol.* 121, 5–7.
- HUSS, H. A. 1906. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Antipoden. *Beih. bot. Zentralb.* 20, 1, 77–174.
- INDEX to Plant Chromosome Numbers (Univ. North Carolina): supplément, pour 1956, pour 1957, pour 1958, pour 1959 et pour 1960.
- IRWIN, H. S. et TURNER, B. L. 1960. Chromosome relationships and taxonomic considerations in the genus *Cassia*. *Amer. J. Bot.* 47, 309–318.
- JÄHNL, G. 1946. Endomitotische Polyploidie in sukkulenten Laubblättern. *Chromosoma* 3, 48–51.
- JAKOWSKA, S. 1949. The trichomes of *Physaria Geyeri*, *Physaria australis* and *Lesquerella Sherwoodii*. Development and morphology. *Bull. Torrey bot. Club* 76, 177–195.
- JOHNSON, D. 1914. Studies of the development of the *Piperaceae*. II - The structure and seed development of *Peperonia hispidula*. *Amer. J. Bot.* 1, 323–339.
- JOHNSTON, I. M. 1928. Some undescribed American Spermatophytes. *Cont. Gray Herb.* 81, 85–98.
- JØRGENSEN, C. H., SØRENSEN, TH. et WESTERGAARD, M. 1958. The flowering Plants of Greenland. *Biol. Skrift Danske Vidensk. Selsk.* 9, 1–172.
- KAWAGUCHI, E. 1933. Die Heteropyknose der Geschlechtschromosomen bei Lepidopteren. *Cytologia* 4, 339–354.
- KAWAKAMI, J. 1930. Chromosome numbers in *Leguminosae*. *The bot. Mag. Tokyo* 44, 319–323.
- KILLIP, E. P. 1925. Notes on peruvian *Urticaceae* of the Marshall Field exploration. *J. Washington Acad. Sc.* 15, 48–49.
- KINOSHITA, R. et OHNO, S. 1956. Chromosomes in interphase nuclei. *Cytologia* 21, 61–64.
- KRACZKIEWICZ, Z. et MATUSZEWSKI, B. 1958. Observations sur une structure atypique des chromosomes salivaires de certains Cécidomyidés. *Chromosoma* 9, 484–492.
- KRAPOVICKAS, A. et FUCHS DE KRAPOVICKAS, A. M. 1957. Notas citológicas sobre Leguminosas. *Rev. Inv. agrícolas* 11, 215–218.
- KRISHNASWAMY, N. 1941. Untersuchungen zur Cytologie und Systematik der Gramineen. *Beih. bot. Centralb.* 60A, 2–54.
- KUWADA, Y. 1910. A cytological study of *Oryza sativa* L. *Bot. Mag. Tokyo* 24, 267–281.
- LAFONTAINE, J. G. 1958. Structure and mode of formation of the nucleolus in meristematic cells of *Vicia faba* and *Allium cepa*. *J. Biophys. Biochem. Cyt.* 4, 777–784.
- LAMARDELLE, P. 1950. Les relations entre le nucléole et les chromosomes au cours du ralentissement de la prophase provoqué expérimentalement par quelques agents chimiques. *C. R. Acad. Sc.* 231.
- LE CALVEZ, J. 1947. Morphologie et comportement des chromosomes dans la spermatogénèse de quelques Mycétophilidés. *Chromosoma* 3, 137–165.
- LEMÉE, A. 1929–1935. *Dictionnaire descriptif et synonymique des genres de plantes phanérogames*. Brest.
- LENOIR, M. 1931. Nature et rapports des composants chromatiques du noyau pendant l'interphase et la prophase chez les Phanérogames. *Rev. gén. Bot.* 43, 95–119.
- LESSLER, M. A. 1953. The nature and specificity of the nucleal Feulgen reaction. *Int. Rev. Cytol.* 2, 231–247.
- LEVAN, A. 1940. The cytology of *Allium amplexans* and the occurrence in nature of its asynapsis. *Hereditas* 26, 253–394.
- LHOTKA, J. F. et DAVENPORT, H. A. 1950. Aldehyde reactions in tissues in relation to the Feulgen technic. *Stain Tech.* 26, 35–41.
- LIPP, C. 1953. Über Kernwachstum, Endomitosen und Funktionszyklen in den trichogenen Zellen von *Corixa punctata* Illig. *Chromosoma* 5, 454–486.
- LIST, A. Jr. 1963. Some observations on DNA content and cell and nuclear volume growth in the developing xylem cells of certain higher plants. *Amer. J. Bot.* 50, 320–329.
- DE LITARDIÈRE, R. 1923. Les anomalies de la caryocinèse somatique chez *Spinacia oleracea*. *Rev. gén. Bot.* 35, 369–380.
- LLOYD, F. E. 1902. The comparative embryology of the *Rubiaceae*. *Memoirs Torrey bot. Club* 8, 27–111.
- LORZ, A. 1947. Supernumerary chromonemal reproduction, polytene chromosomes, endomitosis, multiple chromosome complexes, polysomaty. *Bot. Rev.* 13, 597–624.
- LÖVE, D. 1953. Cytotaxonomical remarks on the *Gentianaceae*. *Hereditas* 39, 225–235.

- LÖVE, A. et LÖVE, D. 1956. Cytotaxonomical Conspectus of the Icelandic Flora. Acta Horti Gotob. 20, 65–290.  
 — 1961 a. Some nomenclatural changes in the European Flora. I - Species and supraspecific categories. Bot. Not. 114, 33–47.  
 — 1961 b. Chromosome Numbers of Central and Northwest European Plant Species. Upsala.
- LUTZ, L. 1942. Traité de Cryptogamie. Paris.
- MACBRIDGE, J. F. De 1936 à 1956. Flora of Peru. Bot. Series Field Museum Nat. Hist. vol. 13.
- MAHESHWARI, P. 1950. An introduction to the embryology of Angiosperms. New-York.
- MANGENOT, S. et G. 1962. Enquête sur les nombres chromosomiques dans une collection d'espèces tropicales. Rev. Cytol. Biol. vég. 25, 411–447.
- MANTON, I. 1950a. Problems of Cytology and Evolution in the Pteridophyta. Cambridge Univ. Press.  
 — 1950b. Polyploidy and its probable significance in the Pteridophyta. Proc. 7th Int. bot. Congress, 332–333 (Chronica Botanica 1953).
- MCCLEINTOCK, B. 1929. A method for making aceto-carmin smears permanent. Stain Tech. 4, 53–56.  
 — 1934. The relation of a particular chromosome element to the development of the nucleoli in *Zea Mays*. Z. Zellforsch. mikr. Anatomie 21, 294–328.
- MCNEIL, J. 1962. Taxonomic studies in the *Alsinoideae* I: generic and infra generic group. Roy. bot. Gard. Edinburgh 24, 79–155.
- MECHELKE, F. 1952. Die Entstehung der polyploiden Zellkerne des Antherentapetums bei *Antirrhinum majus* L. Chromosoma 5, 246–295.
- METZ, C. W. 1916. Chromosome studies on the Diptera II: the paired association of the chromosomes in the Diptera and its significance. J. Exp. Zool. 21, 213–259.
- MIÈGE, J. 1959. Nombres chromosomiques de plantes d'Afrique occidentale. Rev. Cytol. Cytop. vég. 21, 373–384.  
 — 1960. Troisième liste de nombres chromosomiques d'espèces d'Afrique occidentale. Ann. Fac. Sc. Dakar 5, 75–85.
- MIRSKY, A. E. 1947. Chemical properties of isolated chromosomes. Cold Spring Harb Symp. quant. Biol. 12; nucleic acids and nucleoproteins, 143–146.
- MULCAHY, D. L. 1964. The reproductive biology of *Oxalis priceae*. Amer. J. Bot. 51, 1045–1050.
- MÜNTZING, A. 1936. The evolutionary significance of autopolyploidy. Hereditas 21, 263–378.  
 — 1932. Apomictic and sexual seed formation in *Poa*. Hereditas 17, 131–154.
- NAGL, W. 1962. Über Endopolyploidie, Restitutionskernbildungen und Kernstrukturen im Suspensor von Angiospermen und einer Gymnosperme. Österr. bot. Zeitschr. 109, 431–494.
- NEWTON, W. C. F. 1924. Studies on somatic chromosomes. I: pairing and segmentation in *Galtonia*. Annals Bot. 38, 197–206.
- NOZERAN, R. 1955. Contribution à l'étude de quelques structures florales (essai de morphologie florale comparée). Ann. Sc. nat. Bot. 2<sup>e</sup> série, 1–224.
- NUSSBAUMER, F. 1964. Nombres chromosomiques nouveaux chez les Caryophyllacées. Bull. Soc. Neuchât. Sc. nat. 87, 171–180.
- OKSALA, T. et THERMAN, E. 1958. The polarized stages in the meiosis of liliaceous plants. Chromosoma 9, 505–513.
- ORNDUFF, R. 1964. The breeding system of *Oxalis suksdorfii*. Amer. J. Bot. 51, 307–314.
- OSTERGREN, G. 1942. Note on the acetocarmin method. Hereditas 28, 239–240.
- PATAU, K. et SWIFT, H. 1953. The DNA-content (Feulgen) of nuclei during mitosis in a root tip of onion. Chromosoma 6, 149–169.
- PATAU, K. et SRINIVASACHAR, D. 1959. The DNA-content of the nuclei in the meristem of onion roots. Chromosoma 10, 407–429.
- PERRY, L. M. 1929. A tentative revision of *Alchemilla* and *Lachemilla*. Cont. Gray Herb. 84, 3–57.
- PEVELING, E. 1961. Elektromikroskopische Untersuchungen an Zellkernen von *Cucumis sativus* L. Planta 56, 530–554.
- POLUNIN, N. 1942. Flora of South Western Greenland. J. Linn. Soc. London 52, 349–406.
- PY, G. 1932. Recherches sur l'assise nourricière des microspores des plantes vasculaires. Thèse Paris.
- REESE, G. 1957. Polyploidie und Verbreitung. Z. f. Bot. 46, 339–354.
- DE RIBAUPIERRE, R. 1957. Caryologie des formes suisses de *Dianthus Carthusianorum* L. et de *D. caryophyllus* L. ssp. *silvester* (Wulfen) Rouy et Foucaud. Arch. Julius Klaus-Stift. 32, 574–576.
- RITZEROW, H. 1908. Über Bau und Befruchtung kleistogamer Blüten. Flora 98, 163–212.
- RODKIEWICZ, B. et OLSZEWSKA, M. J. 1963. Asynchronie intra- et interchromosomique de l'incorporation de thymidine <sup>3</sup>H dans les chromosomes d'*Haemanthus katherinae* Bak. Chromosoma 14, 568–571.
- ROHWEDER, H. 1939. Weitere Beiträge zur Systematik und Phylogenie der Caryophyllaceen unter besonderer Berücksichtigung der karyologischen Verhältnisse. Beih. bot. Centralb. 59, 1–59.
- RUTISHAUSER, A. 1942. Untersuchungen über die Fortpflanzung und Bastardbildung apomiktischer Potentillen. Bull. Soc. bot. Suisse 53, 5–83.  
 — 1948. Pseudogamie und Polymorphie in der Gattung *Potentilla*. Habilitationssch. Univ. Zürich.
- SATÔ, D. 1934. Chiasma studies II: chromosome pairing and chiasma behaviour in *Yucca*, *Scilla* and *Urgina*, with special reference to Interference. Bot. Mag. 48, 823–846.

- SCHLICHTINGER, F. 1956. Karyologische Untersuchungen an endopolyploiden Chromozentrenkernen von *Gibbaeum heathii* in Zusammenhang mit der Differenzierung. Österr. bot. Zeitschr. 103, 485–528.
- SCHNARF, K. 1931. Vergleichende Embryologie der Angiospermen. Berlin.
- SCHOTSMAN, H. D. 1961. Races chromosomiques chez *Callitriche stagnalis* Scop. et *Callitriche obtusangula* Legall. Bull. Soc. bot. Suisse 71, 5–17.
- SCHÜRHOFF, P. N. 1926. Die Zytologie der Blütenpflanzen. Stuttgart.
- SCHWEINFURTH, C. 1958–59. Orchids of Peru. Fieldiana 30, nos 1 et 2.
- SERRA, J. A. 1943. Sur la composition protéique des chromosomes et la réaction nucléale de Feulgen. Bol. Soc. Brotteriana, série 2, 17, 203–211.
- 1947. Composition of chromonemata and matrix and the rôle of nucleoproteins in mitosis and meiosis. Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol. 12, nucleic acids and nucleoproteins, 192–210.
- SHARMA, A. K. et BHATTACHARYYA, U. C. 1957. Cytological studies in *Begonia* - I. La Cellule 58, 307–329.
- SHARP, L. W. 1943. Fundamentals of Cytology. London.
- SIRLIN, J. L. 1961. Le nucléole et le noyau cellulaire. Endavour 20, n° 79, 146–153.
- SOKOLOVSKAJA, A. P. et STRELKOVA, O. S. 1940. Karyological investigation of the alpine Flora on the main Caucasus range, etc. C. R. Acad. Sc. URSS 29, 415–418.
- SÖLLNER, R. 1954. Recherches cytotoxinomiques sur le genre *Cerastium*. Bull. Soc. bot. Suisse 64, 221–348.
- SOROKINE, H. 1929. Idiograms, nucleoli and satellites of certain *Ranunculaceae*. Amer. J. Bot. 16, 407–420.
- SÖRSA, V. 1962. On polyploidy among the Pteridophyta. Hereditas 48, 541–542.
- SOUKUP, J. 1960. Los géneros de las monocotiledoneas peruanas. Biota 3, n° 23, 96–122.
- STEBBINS, G. L. Jr. 1950. Variation and evolution in Plants. New York (édition 1960).
- STEFFEN, K. 1955. Kern- und Nucleolenwachstum bei endomitotischer Polyploidisierung: ein Beitrag zur karyologischen Anatomie von *Pedicularis palustris* L. Planta 45, 379–394.
- 1956. Endomitose in Endosperm von *Pedicularis palustris* L. Planta 47, 625–652.
- et LANDMANN, W. 1958. Entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen am Balkentapetum von *Gentiana cruciata* L. und *Impatiens glandulifera* Royle. Planta 50, 423–460.
- STEWART, R. N. et BAMFORD, R. 1942. The chromosomes and nucleoli of *Medeala virginiana*. Amer. J. Bot. 29, 301–303.
- STOLT, K. A. H. 1921. Zur Embryologie der Gentianaceen und Menianthaceen. Kungl. Svensk vetenskapsakad. Handl. 61, n° 14.
- SWAMY, B. G. L. 1949. Embryological studies in the *Orchidaceae*. I - Gametophyte. II - Embryogeny. Amer. Midland Naturalist 41, 184–201 et 202–232.
- SWIFT, H. 1953. Quantitative aspects of nuclear Nucleoproteins. Int. Rev. Cyt. 2, 1–76.
- TERRIER, CH. 1960. Expédition aux Andes 1959. Les travaux du botaniste. Rev. Club Alp. Suisse 36, 1<sup>er</sup> trim., 66–72.
- THERMAN-SUOMALAINEN, E. 1949. The action of pyrogallol on secondary constriction. Hereditas 35, 250–251.
- 1949. Investigations on secondary constrictions in *Polygonatum*. Hereditas 35, 86–108.
- TISCHLER, G. 1927. Tab. biol. 4, 38–39.
- 1950. Die Chromosomenzahlen der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. La Haye.
- 1951. Kernteilung und Kernverschmelzung. Collection «Allgemeine Pflanzenanatomie», t. 2. Berlin.
- 1956. Angewandte Pflanzenkaryologie (p. 625–848). Collection «Allgemeine Pflanzenkaryologie». Berlin.
- TRELEASE, W. et YUNCKER, T. G. 1950. The Piperaceae of Northern South America, t. 2. Univ. Illinois.
- TSCHERMAK-WOESS, E. 1954. Über die Phasen der Endomitose, Herkunft und Verhalten der «nuclealen Körper» und Beobachtungen zur karyologischen Anatomie von *Saurauatum guttatum*. Planta 44, 509–531.
- 1956. Notizen über die Riesenkerne und «Riesenchromosomen» in den Antipoden von *Aconitum*. Chromosoma 8, 114–134.
- 1957a. Über das regelmässige Auftreten von «Riesenchromosomen» im Chalazalhaustorium von *Rhinanthus*. Chromosoma 8, 523–544.
- 1957b. Über Kernstrukturen in den endopolyploiden Antipoden von *Clivia miniata*. Chromosoma 8, 637–649.
- 1959a. Endopolyploidie der Narbenpapillen bei *Spiranema fragrans*. Österr. bot. Zeitschr. 106, 74–80.
- 1959b. Die DNS-Reproduktion in ihrer Beziehung zum endomitotischen Strukturwechsel. Chromosoma 10, 497–503.
- et DOLEZAL, R. 1952. Durch Seitenwurzelbildung induzierte und spontane Mitosen in den Dauergeweben der Wurzel. Österr. bot. Zeitschr. 100, 358–402.
- 1956. Der Formwechsel des Heterochromatins im Verlauf der Mitose von *Vicia faba*. Österr. bot. Zeitschr. 103, 457–468.
- et DOLEZAL-JANISCH, R. 1956. Rhythmisches Kernwachstum während der mitotischen Interphase von *Vicia faba*. Österr. bot. Zeitschr. 103, 588–599.
- 1957. Über das Chromosomen- und Kernwachstum in der Wurzel von *Haemanthus*. Chromosoma 9, 81–90.
- 1959. Über die karyologische Anatomie einiger Pteridophyten sowie auffallende Unterschiede im Kernvolumen bei *Cyrtamium falcatum*. Österr. bot. Zeitschr. 106, 315–324.
- et HASITSCHKA, G. 1953. Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. Chromosoma 5, 574–614.

- 1954. Über die endomitotische Polyploidisierung im Zuge der Differenzierung von Trichomen und Trichozyten bei Angiospermen. *Österr. bot. Zeitschr.* 101, 79–117.
- et HASITSCHKA-JENSCHKE, G. 1957. Über das interphasische Kern- und Zellwachstum. *Österr. bot. Zeitschr.* 104, 382–408.
- 1963. Das Verhalten von B-Chromosomen besonderer Ausbildung in den endopolyploiden Riesenkernen des chalazalen Endospermhaustoriums von *Rhinanthus*. *Österr. bot. Zeitschr.* 110, 469–480.
- TURALA, K. 1958. Endomitosa w komorkach tapetum *Cucurbita Pepo* L. (traduction anglaise). *Acta biol. cracov., série bot.* 1, 25–34.
- 1962. Cytological processes during the differentiation of the hairs of *Echinocystis lobata*. *Acta biol. cracov., série bot.* 5, 151–169.
- TURESSON, G. 1957. Variation in the apomitic microspecies of *Alchemilla vulgaris* L. *Bot. Not.* 110, 413–422.
- TURNER, B. L. et FEARING, O. S. 1959. Chromosome numbers in the Leguminosae II: african species, including phyletic interpretations. *Amer. J. Bot.* 46, 49–57.
- 1960. Chromosome numbers in the Leguminosae III: species of the Southwestern United States and Mexico. *Amer. J. Bot.* 47, 603–608.
- UMKER, O. 1920. Entwicklungsgeschichtliche-cytologische Untersuchungen an *Helosis guyanensis* Rich. Dissert. Zürich.
- VAN TIEGHEM, PH. 1901. L'hypostase, sa structure et son rôle constants, sa position et sa forme variables. *Bull. Mus. Hist. nat.* 7, 412–418.
- VAZART, J. 1950. Nouvelles observations sur les noyaux à calotte. *Rev. gén. Bot.* 57, 517–553.
- 1957. Etude cytologique de la Balsamine I: Généralités et formation du pollen. *Rev. Cytol. Biol. vég.* 18, 197–228.
- 1958. Etude cytologique du genre *Impatiens* II: Premiers stades du développement de l'ovule et prophase hétérotypique femelle chez *I. Balfourii*. *Rev. Cytol. Biol. vég.* 19, 311–336.
- VIRKKI, N. 1953. Versuch einer Kernanalyse bei den somatischen Hodenzellen der *Aphodius*-Arten. *Chromosoma* 6, 1–32.
- WAKAYAMA, K. 1932. Contributions to the cytology of Fungi IV: Chromosome number in Autobasidiomycetes. *Cytologia* 3, 260–283.
- WEBERBAUER, A. 1906. Anatomische und biologische Studien über die Vegetation der Hochanden Perus. *Bot. Jahrb.* 37, 60–93.
- 1907. Weitere Mitteilungen über Vegetation und Klima der Hochanden Perus. *Bot. Jahrb.* 39, 449–461.
- 1936. Phytogeography of the Peruvian Andes. In MACBRIDE (part 1, n° 1, 13–81).
- 1945. El mundo vegetal de los Andes peruanos. Lima.
- WEDDEL, H. A. 1855–57. *Chloris andina*. Paris.
- WHITACKER, T. W. 1939. The use of the Feulgen reaction with certain plant materials. *Stain Tech.* 14, 13–16.
- WILLIS, J. C. 1960. A dictionary of the flowering plants and ferns. Cambridge (6<sup>e</sup> édition).
- WITKUS, E. R. 1945. Endomitotic tapetal cell divisions in *Spinacia*. *Amer. J. Bot.* 32, 326–330.
- WULFF, H. D. 1936. Die Polysomie der Chenopodiaceen. *Planta* 26, 275–290.
- 1940. Die Polysomie des Wurzelperiblems der Aizoaceen. *Ber. deutsch. bot. Ges.* 58, 400–410.
- YAMAHA, G. 1926. Über die Lebendbeobachtung der Zellstrukturen, nebst dem Artefaktproblem in Pflanzenzytologie. *Bot. Mag. Tokyo* 40, 172–195.

## EXPLICATION DES FIGURES

*N.B.* Abréviations employées dans cette partie:

- He = Helly
- Na = Nawaschine
- Fe = Feulgen (avec coloration de contraste au vert lumière)
- CMP = cellule-mère de grains de pollen
- CME = cellule-mère de sac embryonnaire

Les nucléoles sont soit laissés en blanc, soit garnis de lignes parallèles ondulées.

### *Chloris distichophylla*

- 1 Fin de diacynèse mâle. Remarquer les bivalents paranucléolaires et le long bivalent qui se replie en coude.  $\times 2418$ . Squash.
- 2 Même remarque, sauf qu'ici le long bivalent prend une forme étirée.  $\times 2418$ . Squash.
- 3 Métaphase dans méristème radiculaire. Noter les deux chromosomes pourvus chacun d'une « constriction secondaire » très frappante.  $\times 3521$ . Squash.

### *Carex pichinchensis*

- 4 Métaphase somatique (méristème radiculaire).  $\times 3521$ . Squash.

### *Puya Raimondii*

- 5 Métaphase dans méristème radiculaire.  $\times 3521$ . Squash.

### *Mastigostyla aff. cyrtophylla*

- 6 Métaphase dans méristème radiculaire.  $\times 3521$ . Squash.
- 7 Métaphase hétérotypique femelle.  $\times 2418$ . He-Fe.

### *Stelis concaviflora*

- 8 Noyau au repos (racine).  $\times 3521$ . He-Fe.
- 9 Métaphase dans méristème radiculaire.  $\times 3521$ . He-Fe.
- 10 Métaphase hétérotypique mâle.  $\times 3521$ . Squash.
- 11 Tétrade normale.  $\times 2418$ . Squash.
- 12 Formation de deux microspores à  $2n$ .  $\times 2418$ . Squash.

### *Epidendrum brachyphyllum* - *E. aff. brachyphyllum* *Orchis maculata*

- 13 *Epidendrum*. Parties constituantes d'une anthère. A droite, on remarque deux pollinies dont une a été extraite du sac pollinique: le caudicule, d'aspect hérissé, sort le premier. A gauche, les deux sacs polliniques à peine fendus laissent voir les caudicules des deux autres pollinies.  $\times 28$ .
- 14 *E. aff. brachyphyllum*. Fin de stade pachytène mâle.  $\times 3521$ . Na-Fe.
- 15 *E. brachyphyllum*. Stade pachytène mâle.  $\times 3521$ . Na-Fe.
- 16 *Epidendrum*. Coupe longitudinale d'un sac pollinique. Les parties pointillées représentent l'assise mécanique sur laquelle l'intensité de la lignification est indiquée par la densité du pointillage. Les lettres *c* et *p* indiquent respectivement le caudicule et la pollinie. La flèche marque l'endroit où débute la déhiscence du sac pollinique. Le rectangle délimité sur le caudicule sera agrandi dans la figure suivante.

- 17 Figure représentant le rectangle délimité sur le caudicule dans la figure précédente. On y remarque quatre parties constituantes distinctes. 1° l'épiderme, 2° l'assise mécanique où la lignification des membranes cellulaires se fait sous forme de fers à cheval, 3° le tapis formé d'une couche cellulaire et 4° le caudicule composé d'anciennes CMP compartimentées en quatre (stage grains de pollen), à la forme allongée et aux membranes épaissies par l'imprégnation de la substance jaune sécrétée par des cellules nourricières alternant avec elles. Na-Fe.
- 18 *Orchis maculata*. Coupe longitudinale d'un sac pollinique. Remarquer les diverticules du tapis (pointillés) à l'intérieur de la masse sporogène. Na-Fe.
- 19 *E. brachyphyllum*. Formation de « laggards » dans une CMP du caudicule. Na-Fe.
- 20/21 *Epidendrum*. Deux types de disposition des microspores dans les CMP périphériques de la pollinie proprement dite. Na-Fe.
- 22 *Epidendrum*. Disposition courante des microspores dans les CMP du caudicule. Na-Fe.
- 23 *Epidendrum*. Cellule reproductrice du grain de pollen. Remarquer la forme de calotte que prend son noyau. Na-Fe.
- 24 *E. aff. brachyphyllum*. 2° mitose pollinique. × 3521. Na-Fe.
- 25 *E. aff. brachyphyllum*. Métaphase somatique (nucelle). × 3521. Na-Fe.
- 26 *E. brachyphyllum*. 2° mitose pollinique. × 3521. Na-Fe.
- 27 *Epidendrum*. Tableau résumant le mécanisme de la formation (trois cas) des grains de pollen anormaux.
- 28 *Epidendrum*. Un grain de pollen double. Plus tard, les deux cellules reproductrices (encadrées sur la figure par les deux noyaux végétatifs) donneront quatre spermatozoïdes. Squash.

*Peperomia galioides*

- 29 Métaphase somatique (racine). × 3521. Squash.
- 30 Diacinèse femelle. × 3521. He-Fe.
- 31 Sac adulte dessiné par superposition. Na-Fe.
- 32 Métaphase hétérotypique mâle. × 3521. Squash.
- 33 Formation d'un micronucleus dans une ancienne CMP après la division II. × 3521. Squash.

*Urtica Macbridei*

- 34 Métaphase somatique (nucelle). × 3521. Squash.
- 35 Un poil stigmatique adulte. × 662. Squash.
- 36 Cellules basales d'un poil stigmatique adulte. × 662. Squash.
- 37 Métaphase à 26 diplochromosomes trouvée dans une cellule initiale de poil stigmatique. × 3521. Squash.
- 38 Métaphase à 52 diplochromosomes trouvée dans une cellule initiale de poil stigmatique. × 3521. Squash.

*Cerastium viscosum*

- 39 Noyau apical hypertrophié de poil glanduleux de calice. × 1465. Squash.
- 40 Idem.
- 41 Idem.

*Cerastium mollissimum*

- 42 Noyau apical de poil glanduleux de calice avant l'apparition du phénomène d'hypertrophie. Squash.
- 43 Noyau apical de poil glanduleux de calice au cours du phénomène d'hypertrophie. × 1465. Squash.
- 44 Idem.
- 45 Idem.
- 46 Idem.

*Drymaria grandiflora*

- 47 Noyau d'une cellule de sépale. Remarquer l'accolement des chromocentres paranucléolaires au nucléole chassé du noyau par le squash.
- 48 Coupe (d'un ovule) montrant deux CME en synizesis. × 2418. He-Fe.
- 49 Stade de synizesis mâle. × 3521. Squash.

*Arenaria lanuginosa*

- 50 Stade pachytène mâle. × 3521. Squash.

*Arenaria parvifolia*

- 51 Métaphase somatique (racine). × 3521. Squash.

*Anemone helleborifolia*

- 52 Blocage du stade diplotène sur une CMP. Remarquer la répartition des éléments chromatiques du noyau en deux parties asynchroniques. × 1465. He-Fe.
- 53 Métaphase hétérotypique anormale (absence d'appariement sur les chromosomes partenaires). × 1465. He-Fe.
- 54 Attraction entre le noyau végétatif (pointillé) et la cellule reproductrice (colorée en noir-plein). × 2418. He-Fe.
- 55 Prophase sur le noyau végétatif d'un grain de pollen. × 2418. He-Fe.
- 56 Existence d'un cytoplasme reproducteur (dont les limites sont pointillées) commun aux trois fragments de l'ancien noyau reproducteur. × 2418. He-Fe.
- 57 Synchronisme mitotique entre les deux fragments de l'ancien noyau reproducteur. Ce qui indique qu'il existe alors un cytoplasme commun entre eux. × 2418. He-Fe.
- 58 « Pseudopodes » émis par le noyau végétatif (laissé en blanc). × 2418. He-Fe.
- 59 Prophase observée sur un noyau d'antipode formé d'après le mode « sticky ». × 1465. He-Fe.
- 60 Début de prophase sur le noyau de l'oosphère. × 3521. He-Fe.
- 61 Sac embryonnaire à trois antipodes binucléées. × 743. He-Fe.
- 62 Asynchronisme entre les noyaux de deux antipodes. Le deuxième noyau en prophase de l'une des deux antipodes n'est pas représenté. × 1465. He-Fe.
- 63 Noyau d'oosphère en prophase avancée. × 3521. He-Fe.
- 64 Prophase sur un noyau de synergide. × 3521. He-Fe.
- 65 Noyau d'oosphère presque en métaphase observé sur une fleur castrée. × 3521. He-Fe.
- 66 Coupe tangentielle d'un noyau de synergide hypertrophié. × 3521. He-Fe.

*Berberis empetrifolia*

- 67 Noyau somatique. He-Fe.
- 68 Idem.
- 69 Noyau diploïde en prophase d'une cellule du tapis. Squash

*Cleome Lechleri*

- 70 Fin de diacinèse mâle. × 3521. Squash.

*Draba Pickeringii*

- 71 Noyau 2n en repos (microsporocyte jeune). Squash.
- 72 Noyau hypertrophié d'un poil ramifié avancé. Remarquer les replis longitudinaux de la membrane nucléaire. × 2418. Squash.
- 73 Même remarque, sauf que le nucléole est en voie de « bipartition ». × 2418. Squash.

- 74 Même remarque. Noter le dédoublement des deux chromocentres paranucléolaires. ×2418. Squash.
- 75 Noyau hypertrophié d'un poil ramifié avancé. Ici, les deux « nucléoles-fils » sont déjà séparés. Squash.
- 76 Métaphase hétérotypique mâle: douze bivalents normaux. ×3521. Squash.
- 77 Stade pachytène mâle.

*Descurainia myriophylla*

- 78 Métaphase somatique (nucelle). ×3521. Squash.
- 79 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. Squash.
- 80 Noyau hypertrophié d'un poil avancé (réseau nucléaire non représenté). Remarquer la différence devenue énorme entre les dimensions des deux chromocentres paranucléolaires et celles des autres chromocentres. ×3521. Squash.

*Lachemilla aphanoides*

- 81 Pont chromosomique formé à la télophase hétérotypique dans une CMP. ×2418. Squash.
- 82 Formation de micronuclei après la division hétérotypique dans une CMP. ×2418. Squash.
- 83 Noyau de restitution formé après la division hétérotypique dans une CMP. ×2418. Squash.
- 84 Coupe longitudinale d'un ovule jeune. Remarquer la croissance inachevée du tégument et le développement de deux archéspores latérales. Sur cette figure, les archéspores sont seules représentées. ×743. He-Fe.
- 85 Coupe longitudinale d'un ovule adulte. Les archéspores sont seules représentées tandis que la ligne parabolique marque l'extension du nucelle. Un sac embryonnaire à deux noyaux est formé en bas de la masse sporogène femelle. A côté, on voit une archéspore dont le noyau est en anaphase: on n'y voit aucune formation de « laggards ». ×743. He-Fe.
- 86 Mêmes remarques, sauf qu'ici les archéspores périphériques se développent à l'extrémité micro-pylaire de la masse sporogène, à côté d'une archéspore centrale au noyau en synzesis, dégénérescent. ×743. He-Fe.
- 87 Mêmes remarques, à part le fait qu'ici une archéspore périphérique, située à l'extrémité micro-pylaire de la masse sporogène réussit à occuper une position centrale et que son noyau montre des chromosomes de prophase somatique. ×743. He-Fe.
- 88 Coupe longitudinale d'un ovule adulte. Les cellules de la masse sporogène sont seules représentées, la ligne parabolique marquant l'extension du nucelle. Remarquer deux archéspores périphériques bien développées à l'extrémité chalazale de la masse sporogène et deux archéspores centrales en méiose dont l'une est en synapsis, l'autre déjà divisée en deux cellules inégales aux noyaux montrant encore des « laggards ». ×743. He-Fe.
- 89 Mêmes remarques. Noter la formation de « laggards » à l'anaphase hétérotypique sur une archéspore centrale et le développement d'une archéspore périphérique dans la région micro-pylaire de la masse sporogène. ×743. He-Fe.

*Acaena ovalifolia*

- 90 Noyau somatique en repos (racine). ×3521. He-Fe.
- 91 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. He-Fe.
- 92 Métaphase somatique (méristème radiculaire). ×3521. He-Fe.

*Cassia flavicoma*

- 93 Métaphase somatique (méristème radiculaire). ×3521. Squash.
- 94 Diacinese mâle. ×3521. Squash.

*Crotalaria anagyroides*

- 95 Métaphase somatique (méristème radiculaire). ×3521. Squash.
- 96 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. Squash.

*Crotalaria sagittalis*

- 97 Métaphase somatique (méristème radulaire). ×3521. Squash.

*Lupinus paniculatus*

- 98 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. Squash.

*Desmodium canum*

- 99 Métaphase somatique (méristème radulaire). ×3521. Squash.

*Zornia diphylla*

- 100 Métaphase somatique (racine). ×3521. Squash.

- 101 Endomitose (racine). Squash.

*Geranium ayavacense*

- 102 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. Squash.

- 103 Coupe longitudinale d'un sac embryonnaire adulte. ×743. He-Fe.

- 104 Coupe, au niveau du nucléole, d'un noyau de synergide hypertrophié. ×3521. He-Fe.

*Oxalis ptychoclada*

- 105 Métaphase somatique (nucelle). ×3521. Squash.

*Oxalis spiralis*

- 106 Noyau en repos (nucelle). He-Fe.

- 107 Métaphase somatique (nucelle). ×3521. Squash.

- 108 Synzesis mâle. ×3521. He-Fe.

- 109 Stade pachytène mâle. ×3521. He-Fe.

- 110 Idem.

- 111 Stade diplotène mâle. ×3521. He-Fe.

- 112 Coupe longitudinale d'un nucelle dans lequel on remarque trois macrospores. Les cellules pointillées représentent l'hypostase. He-Fe.

- 113 Fécondation du noyau de l'oosphère. Remarquer l'accolement du spermatozoïde (dont le nucléole s'observe encore) au noyau femelle, au niveau du nucléole de ce dernier. He-Fe.

- 114 Fécondation du noyau central. Les trois unités chromatiques qu'on observe sur la figure proviennent de la matière chromatinienne mâle. He-Fe.

- 115 Albumen nucléaire du début. Remarquer les deux « centres » de mitose, caractérisés par un grand nombre de noyaux. Le « centre » chalazal se trouve vis-à-vis des antipodes (non représentées) qui persistent encore à ce stade. He-Fe.

- 116 Albumen nucléaire adulte. He-Fe.

- 117 Trois types de poils glandulaires: a) sur filets d'étamines du verticille moyen, b) sur feuilles, sépales et pédicelle et c) sur sépales et pédicelle.

- 118 Noyau endopolyploïde de la cellule apicale d'un poil du type (c) de la figure 117. ×3521. Squash.

- 119 Noyau endopolyploïde dégénéréscnt de la cellule apicale d'un poil du type (c) de la figure 117. ×3521. Squash.

- 120 Noyau endopolyploïde d'une cellule de mésophylle d'un ovaire dégénéréscnt. Remarquer la présence d'un second nucléole et l'apparition de petits chromocentres au voisinage des endochromocentres. ×2418. Squash.

- 121 Noyau endopolyploïde d'une cellule de mésophylle de carpelles. ×2418. He-Fe.

- 122 Noyau endopolyploïde d'une cellule de mésophylle d'un ovaire dégénéréscnt. ×2418. He-Fe.

*Polygala paniculata*

- 123 Métaphase somatique dans racine. ×3521. Squash.

*Hypericum paniculatum*

- 124 Métaphase somatique (racine). ×3521. Squash.

*Loasa Poissoniana*

- 125 Noyau en repos. Remarquer les deux chromocentres paranucléolaires. He-Fe.  
126 Prophase somatique. Remarquer les deux chromosomes dont un bout s'accroche au nucléole. He-Fe.  
127 Fin de prophase somatique dans cellule  $2n$  du tapis. Squash.  
128 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. Squash.

*Loasa macrantha*

- 129 Métaphase somatique (racine). ×3521. Squash.

*Cajophora coronata*

- 130 Noyau en repos (racine). He-Fe.  
131 Métaphase somatique (dans racine). ×3521. Squash.

*Cajophora Buraeavi*

- 132 Métaphase somatique (racine). ×2418. He-Fe.  
133 Métaphase somatique (racine). ×2418. Remarquer les associations entre chromosomes. Squash.  
134 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. He-Fe.

*Begonia bracteosa*

- 135 Métaphase somatique (nucelle). ×3521. Squash.  
136 Une cellule binucléée du tapis. ×2418. Squash.  
137 Stade pachytène mâle. Remarquer l'appariement parfait des deux prochromosomes paranucléolaires. ×2418. Squash.  
138 Diacrinèse mâle. ×3521. Squash.  
139 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. Squash.  
140 Ancienne CMP dont les noyaux-fils sont en prophase homéotypique. ×3521. Squash.  
141 Métaphase homéotypique mâle. ×3521. Squash.  
142 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. Squash.  
143 Stade fin de prophase II (dans CMP). ×3521. Squash.  
144 Métaphase hétérotypique mâle. Remarquer la répartition du matériel chromatinien en deux groupes distincts. ×3521. He-Fe.  
145 Ancienne CMP dont les deux noyaux-fils sont en fin de prophase homéotypique. Remarquer la formation de chaînes de chromosomes. ×3521. He-Fe.

*Cuphea dipetala*

- 146 Noyau en repos (nucelle). ×3521. He-Fe.  
147 Nucléole chassé d'un noyau de cellule du tapis par le squash. Remarquer les quatre chromocentres paranucléolaires qui y restent encore attachés. ×3521.  
148 Métaphase hétérotypique mâle. ×3521. Squash.

*Cuphea Vargasii*

- 149 Métaphase somatique (nucelle). ×3521. Squash.

*Tibouchina brevisepala*

- 150 Noyau d'une cellule de sépale. Squash.
- 151 Stade de fin de prophase (dans nucelle). Remarquer l'accolement des deux plus grands chromosomes aux nucléoles.  $\times 3521$ . Squash.
- 152 Métaphase somatique (dans nucelle).  $\times 3521$ . Squash.
- 153 Métaphase hétérotypique mâle.  $\times 3521$ . Squash.
- 154 Stade pachytène mâle. Remarquer l'appariement des deux chromocentres paranucléolaires.  $\times 3521$ . Squash.

*Oenothera multicaulis*

- 155 Métaphase somatique (méristème radulaire).  $\times 3521$ . Squash.
- 156 Fin de diacynèse dans CMP. Remarquer le bivalent paranucléolaire.  $\times 3521$ . Squash.

*Fuchsia Sanctae Rosae*

- 157 Métaphase somatique (méristème radulaire).  $\times 3521$ . Squash.
- 158 Diacynèse femelle. Remarquer l'aspect compact du geminus paranucléolaire. Les gemini aux contours pointillés ne se trouvent pas sur le même plan que le geminus paranucléolaire.  $\times 3521$ . He-Fe.
- 159 Plaque équatoriale de division hétérotypique dans une CME. Remarquer un bivalent dont les deux conjoints sont déjà séparés.  $\times 3521$ . He-Fe.

*Daucus montanus*

- 160 Métaphase I dans CMP.  $\times 3521$ . Squash.

*Halenia umbellata*

- 161 Noyau en repos (nucelle).  $\times 3521$ . Na-Fe.
- 162 Métaphase somatique (nucelle).  $\times 3521$ . Squash.
- 163 Première mitose pollinique.  $\times 3521$ . Squash.
- 164 Prophase simultanée sur deux noyaux  $2n$  d'une antipode. Squash.
- 165 Coupe d'un noyau d'antipode hypertrophiée.  $\times 3521$ . Na-Fe.
- 166 Coupe d'une antipode où la croissance post-endomitotique commence. Remarquer la formation d'un « bourgeon nucléolaire » dans le noyau et des vacuoles dans le cytoplasme.  $\times 743$ . Na-Fe.
- 167 Coupe d'une antipode hypertrophiée à l'extrême. Remarquer la dispersion des chromocentres, la pullulation des petits nucléoles et le relâchement des replis de membranes nucléaires.  $\times 743$ . Na-Fe.
- 168 Mêmes remarques. Noter ici la formation des « vésicules » cytoplasmiques (représentées sur la figure par des sections rondes) au cœur même du noyau.  $\times 743$ . Na-Fe.

*Gentianella umbellata*

- 169 Métaphase somatique (méristème radulaire).  $\times 3521$ . Squash.
- 170 Sac embryonnaire à six antipodes. Remarquer la disparition des chromocentres sur les deux antipodes supérieures.  $\times 662$ . Squash.
- 171 Métaphase simultanée sur deux noyaux d'une antipode. Chacune des deux bandes pointillées représente une plaque métaphasique formée de chromosomes enchevêtrés les uns autour des autres et dont une vingtaine se détachent nettement.  $\times 1465$ . Squash.
- 172 Deux noyaux polyploïdes d'une antipode.  $\times 1465$ . Squash.
- 173 Formations assimilables aux « chromosomes géants » observées dans un noyau d'antipode hypertrophiée.  $\times 2418$ . Na-Fe.
- 174 Coupe d'un noyau d'antipode hypertrophiée. Noter la désagrégation des endochromocentres.  $\times 2418$ . Na-Fe.

- 175 Mêmes remarques. Noter la présence d'un chromocentre « polytène » en forme de comète. × 2418. Na-Fe.  
 176 Coupe d'une antipode en cours d'expansion post-endomitotique. Remarquer le « bourgeonnement » du grand nucléole, la dispersion des chromocentres et la formation de vésicules cytoplasmiques au cœur même du noyau. × 743. Na-Fe.

*Gentianella aff. brunneotricha*

- 177 Métaphase somatique (racine). × 3521. Squash.

*Verbena litoralis*

- 178 Métaphase II d'anthère. × 3521. Squash.

*Salvia macrophylla*

- 179 Stade leptotène mâle. × 3521. Squash.  
 180 Stade pachytène mâle. × 3521. Squash.  
 181 Idem.  
 182 Idem.  
 183 Anaphase simultanée sur deux noyaux d'une cellule du tapis, présumés  $2n$  et  $6n$ . × 2418. He-Fe.  
 184 Anaphase dans une cellule du tapis: le noyau est présumé  $8n$ . × 2418. He-Fe.  
 185 Une cellule du tapis qui a deux noyaux présumés  $4n$  et quatre autres, présumés  $2n$ , à en juger par leurs volumes et leurs nombres de chromocentres. × 2418. He-Fe.  
 186 Métaphase dans une cellule du tapis. On y compte 72 chromosomes. × 3521. Squash.  
 187 Coupe, au niveau du nucléole, d'un noyau de synergide hypertrophiée au maximum. Le petit noyau en bas représente le stade pré-hypertrophique. × 3521. He-Fe.  
 188 Albumen et embryon. Sur le premier, on remarque deux haustoria micropylaires uninucléés et un haustorium chalazal binucléé. Les deux synergides dégénérées s'aperçoivent en haut de l'albumen. × 662. He-Fe.  
 189 Hypostase qui loge l'extrémité chalazale de l'albumen jeune (ligne pointillée). La flèche indique le sens de progression de l'albumen adulte. × 331. He-Fe.

*Browallia americana*

- 190 Métaphase I dans CMP. × 3521. Squash.

*Calceolaria tomentosa*

- 191 Noyau somatique en repos (nucelle). × 3521. He-Fe.  
 192 Métaphase somatique (nucelle). × 3521. Squash.  
 193 Noyau endopolyploïde (épiderme externe de l'anthère). × 3521. He-Fe.

*Alonsoa acutifolia*

- 194 Noyau pachytène mâle. × 3521. Squash.  
 195 Noyau diplotène mâle. × 3521. Squash.  
 196 Diacinèse mâle. × 3521. Squash.  
 197 Métaphase II dans CMP. Remarquer la distribution des chromosomes en deux groupes. × 3521. Squash.  
 198 Une CMP aux noyaux-fils en métaphase homéotypique. Remarquer la facilité avec laquelle les deux groupes de chromosomes d'un noyau-fils se détachent l'un de l'autre. Squash.

*Relbunium hypocarpium*

- 199 Sac embryonnaire. × 743. He-Fe.  
200 Coupe longitudinale de la partie supérieure d'un ovule montrant une partie de la masse sporogène d'où se détache une CME à deux noyaux et pourvue de deux grandes vacuoles aux deux extrémités. Ce dernier caractère indique qu'elle est devenue sac embryonnaire. D'autres CME à deux noyaux ne se développent pas alors que d'autres CME subissent la métaphase I. × 331. He-Fe.

*Specularia biflora*

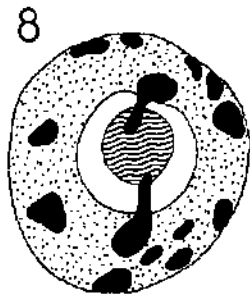
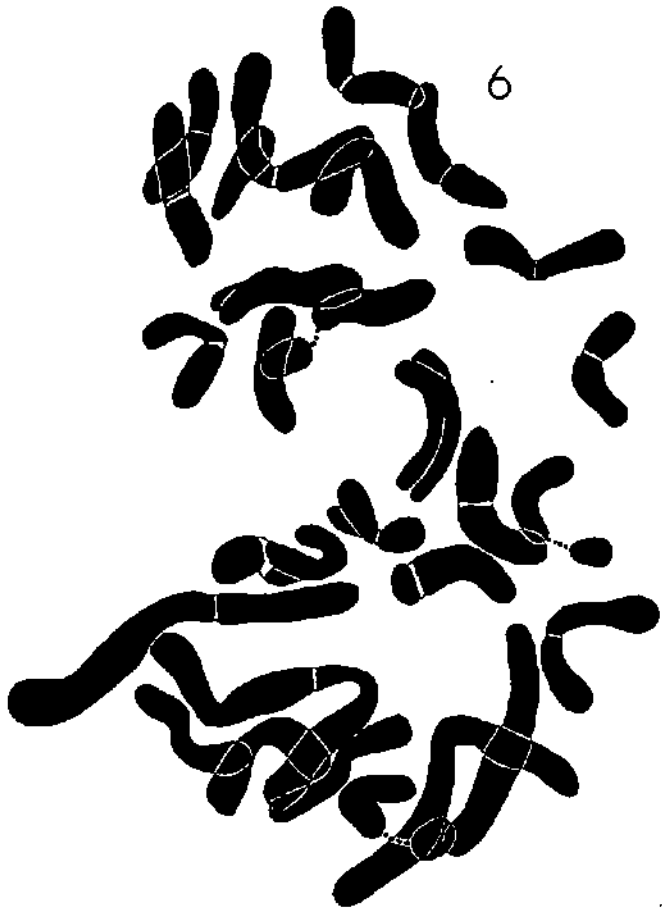
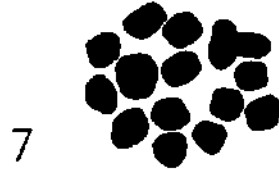
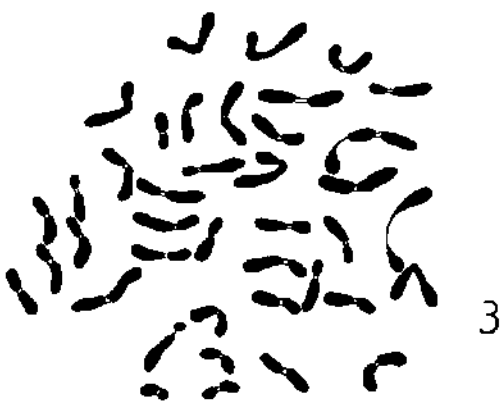
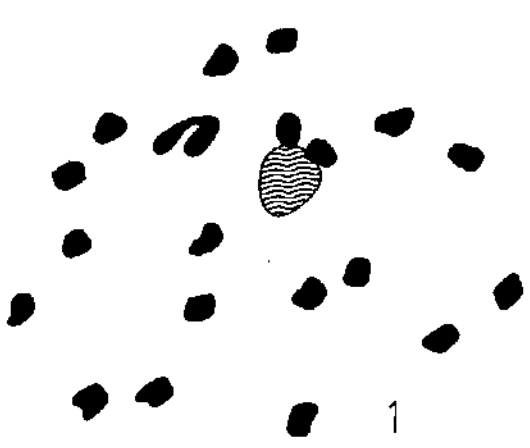
- 201 Métaphase hétérotypique mâle. × 3521. Squash.  
202 Coupe longitudinale d'une fleur cléistogame. Remarquer les deux stigmates vestigiaux (pointillés) et la calotte pétalaire qui recouvre les anthères. × 236. He-Fe.  
203 Coupe longitudinale d'un ovule montrant le tégument unique, le nucelle formé d'une couche de cellules et l'archésore devenue CME (stade synizesis). × 898. He-Fe.  
204 Sac embryonnaire entouré de cellules du nucelle recouvertes à leur tour par l'épiderme interne du tégument. × 743. He-Fe.  
205 Double fécondation. A côté de l'oosphère fécondée, on trouve un tube pollinique accessoire. × 743. He-Fe.  
206 Formation de deux cellules inégales après la première division de l'albumen. On remarque l'embryon encore uninucléé et les antipodes en dégénérescence. × 743. He-Fe.  
207 Albumen au stade de trois cellules. Remarquer le synchronisme sur les noyaux des deux cellules supérieures en prophase. × 743. He-Fe.  
208 Formation de l'hypostase. × 743. He-Fe.  
209 L'albumen au stade de quinze cellules. Remarquer la forme initiale des deux haustoria micropylaires et l'embryon en forme de tube et encore unicellulaire. × 743. He-Fe.  
210 Première prophase du noyau de l'embryon en présence d'un albumen de huit cellules. Noter la mise en place de l'enclave micropylaire et l'hypertrophie de ses haustoria. × 743. He-Fe.  
211 Coupe longitudinale d'une graine qui montre l'adhérence étroite des noyaux d'haustoria micropylaires au suspenseur en forme d'ampoule. × 743. He-Fe.  
212 Coupe longitudinale d'une graine. Le manteau est coloré en noir-plein; aux deux extrémités, il n'est pas encore fermé complètement. Ces deux brèches sont fermées par l'haustorium chalazal et les deux haustoria micropylaires. × 743. He-Fe.

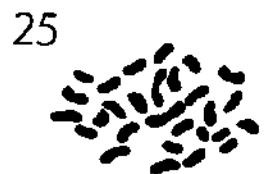
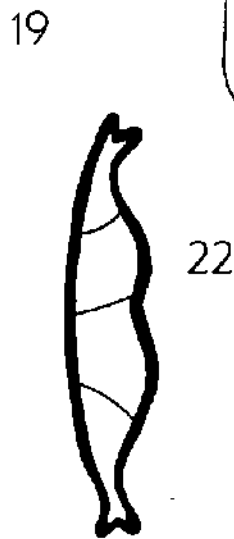
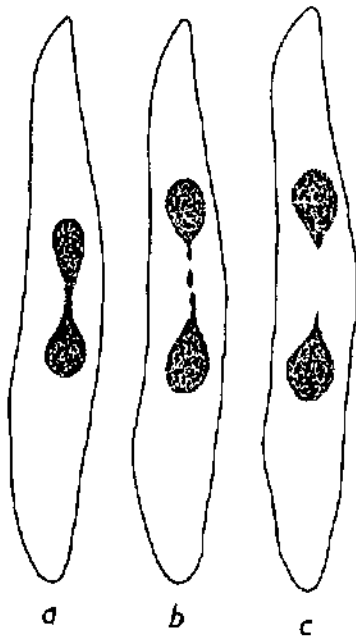
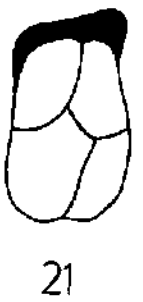
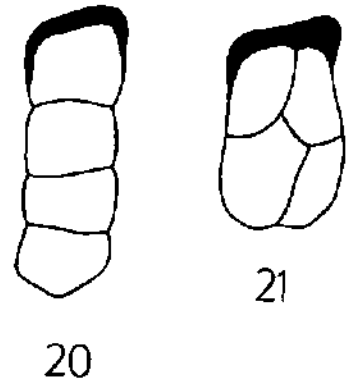
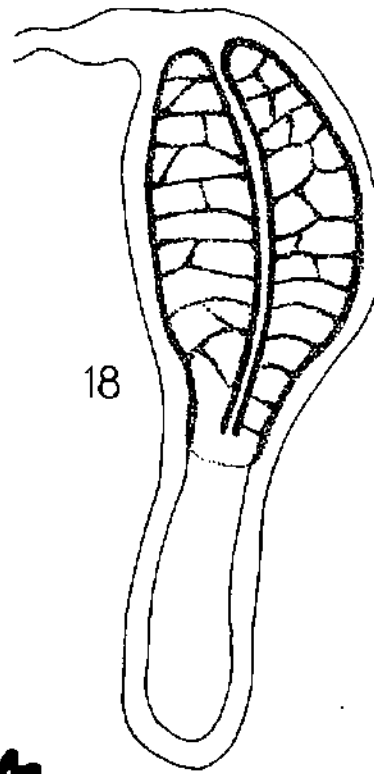
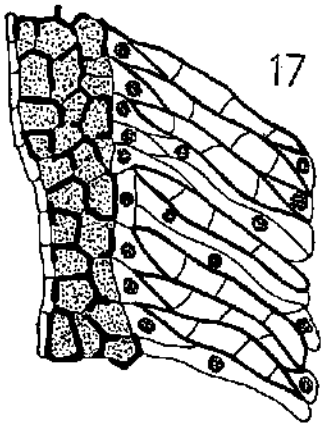
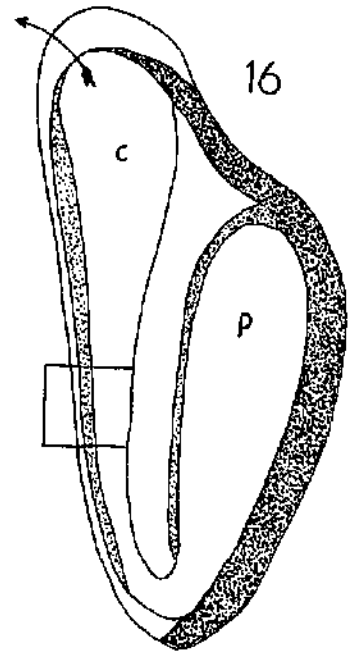
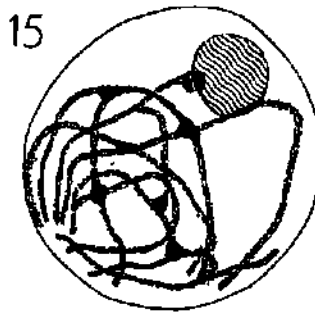
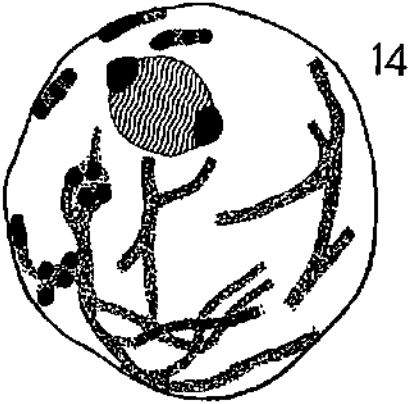
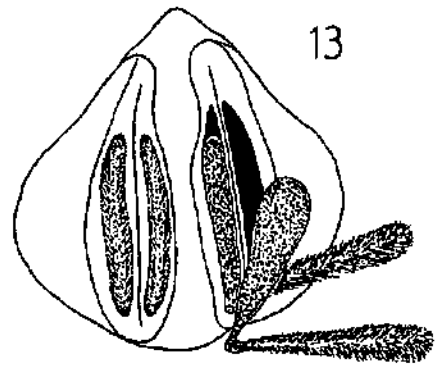
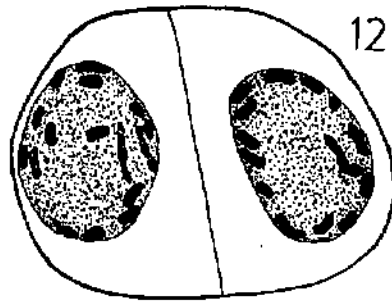
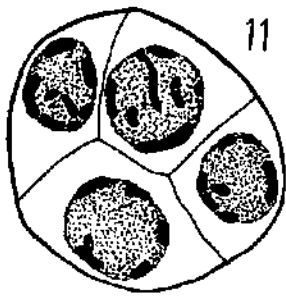
*Vernonia scorpioides*

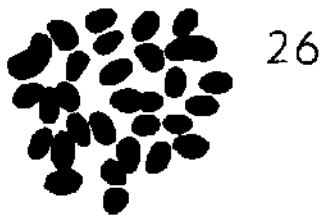
- 213 Métaphase somatique (nucelle). × 3521. Squash.

*Elephantopus scaber*

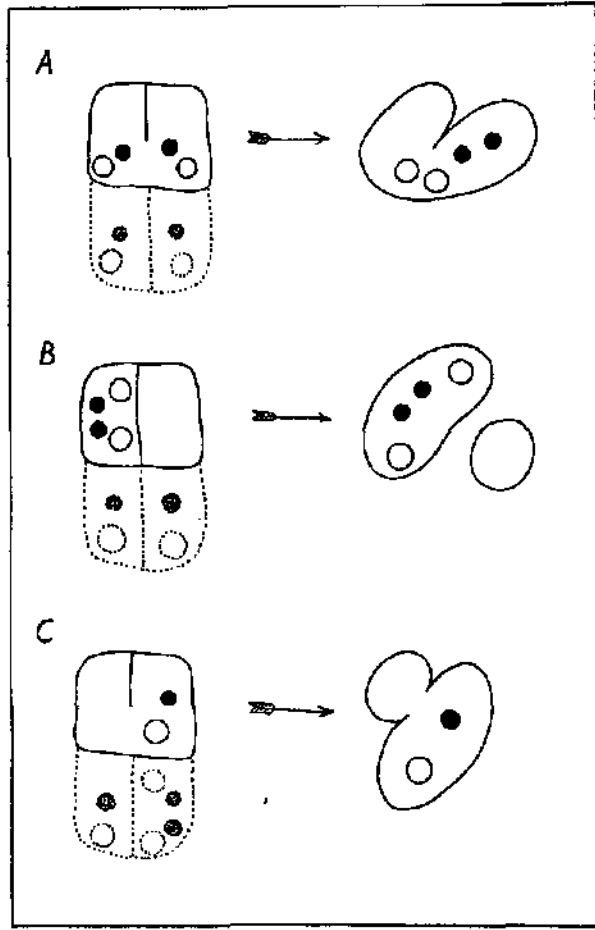
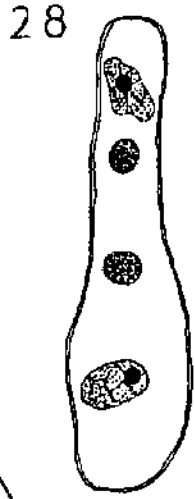
- 214 Métaphase somatique (nucelle). × 3521. Squash.



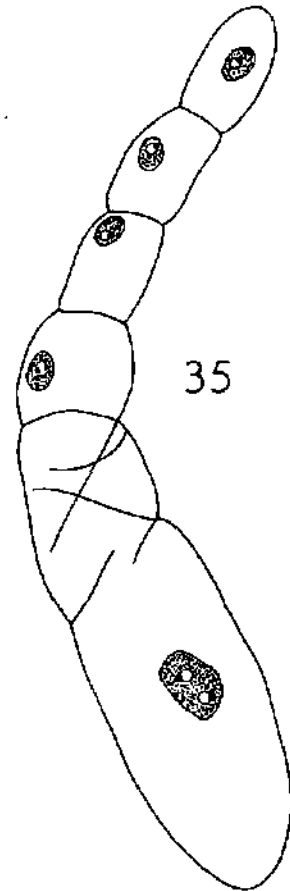
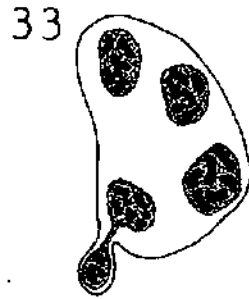
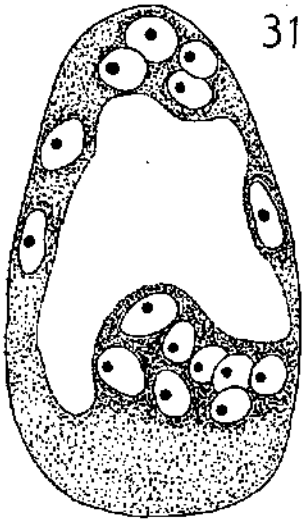




27

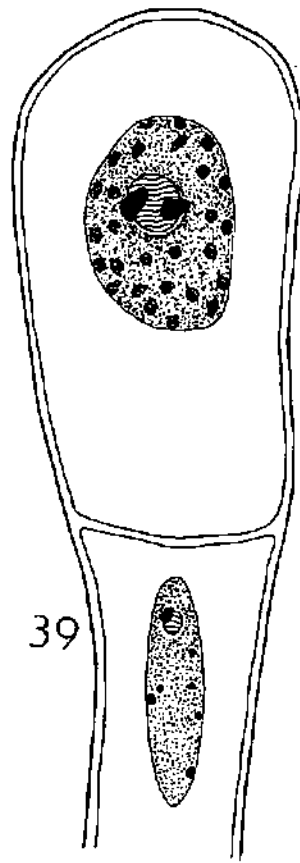


27

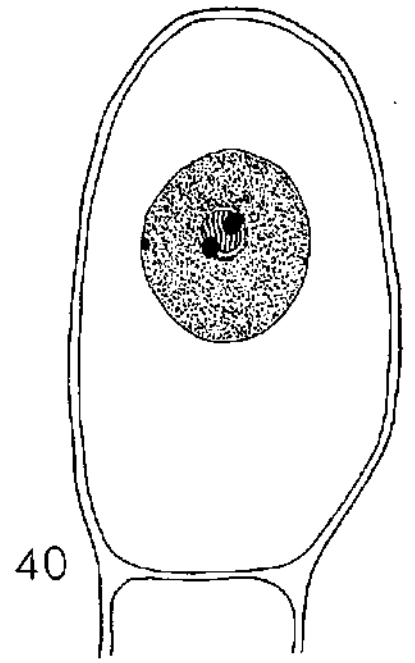




38

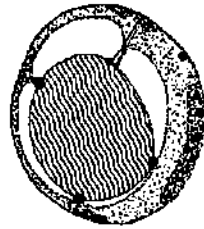
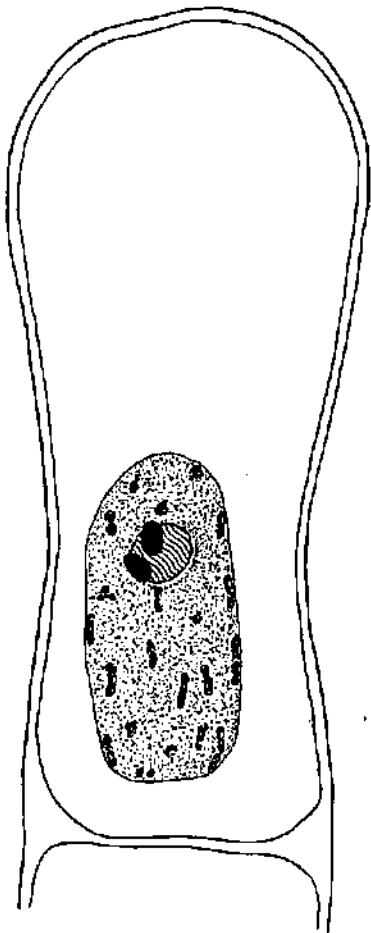


39

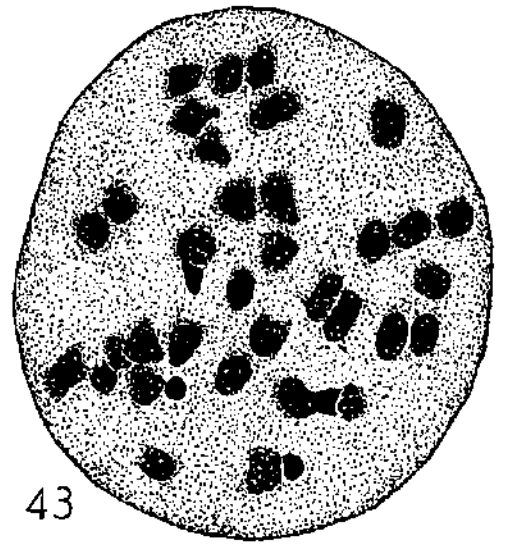


40

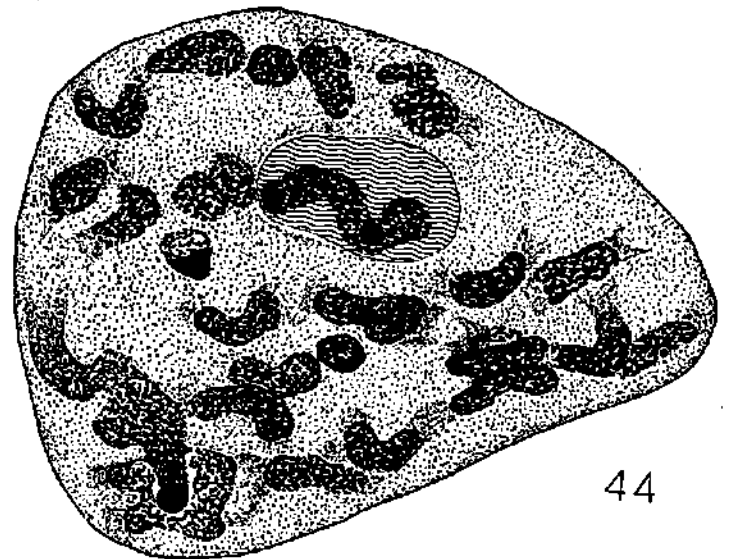
41



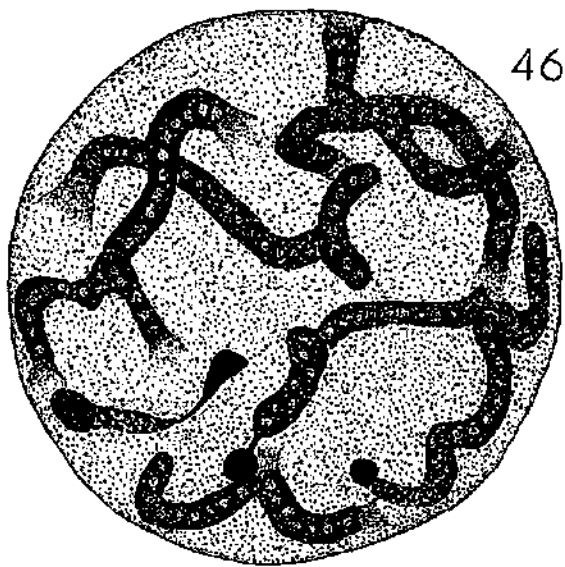
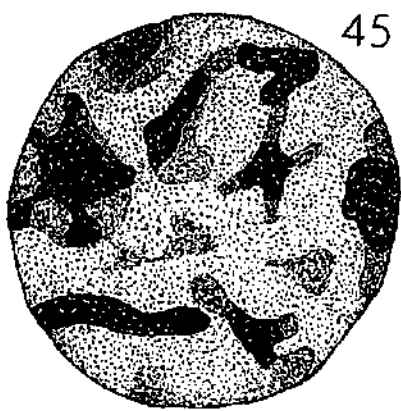
42



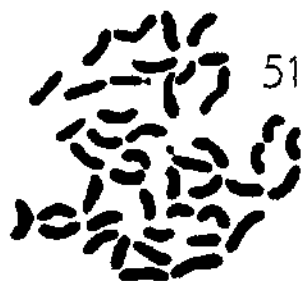
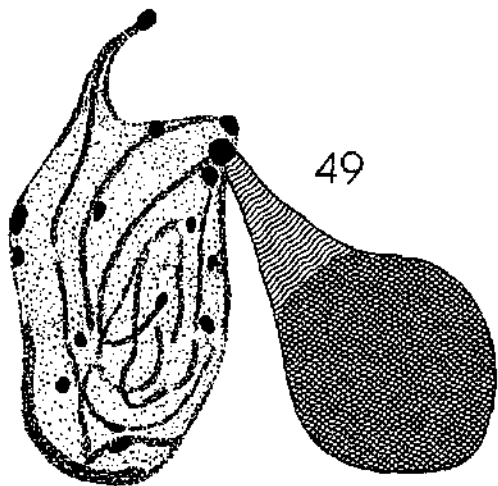
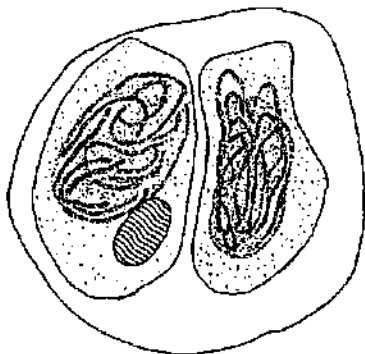
43



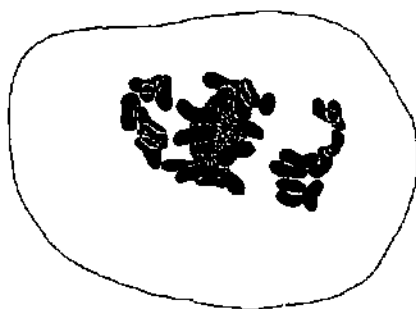
44



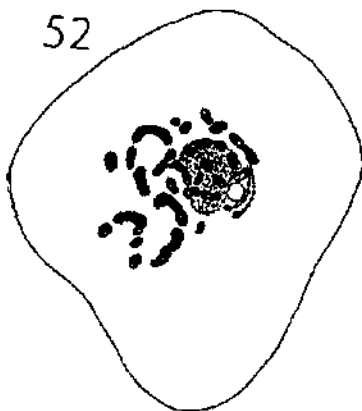
48



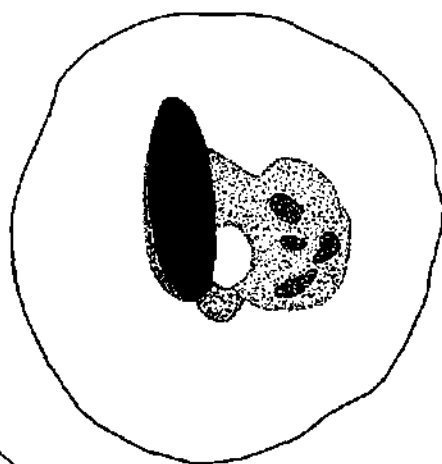
53



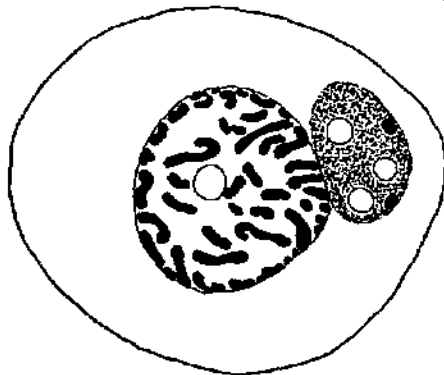
52

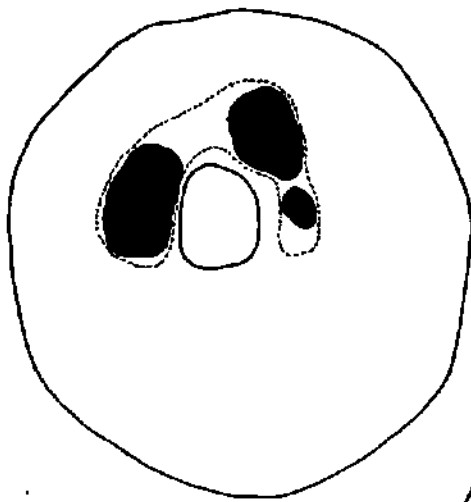


54

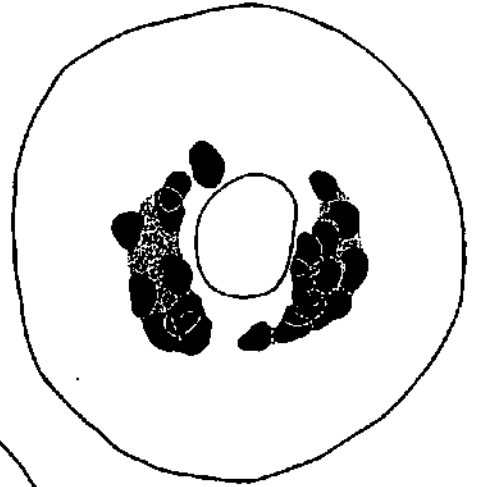


55

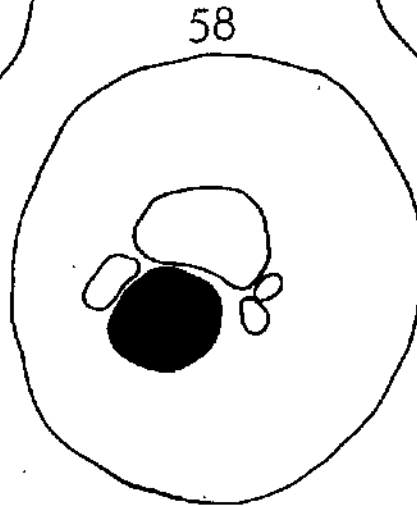




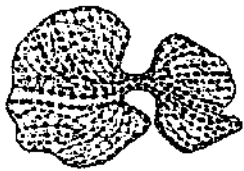
56



57



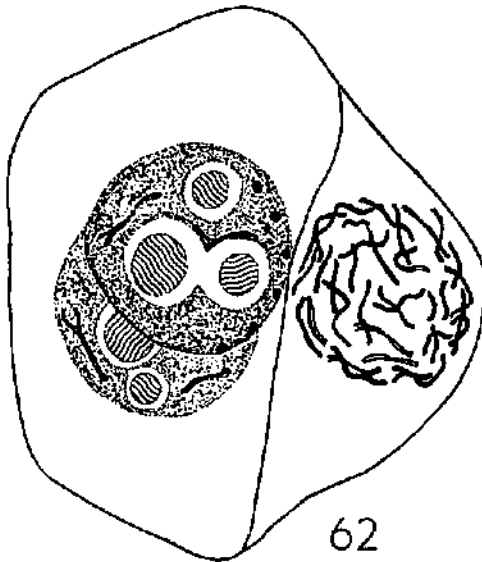
58



59



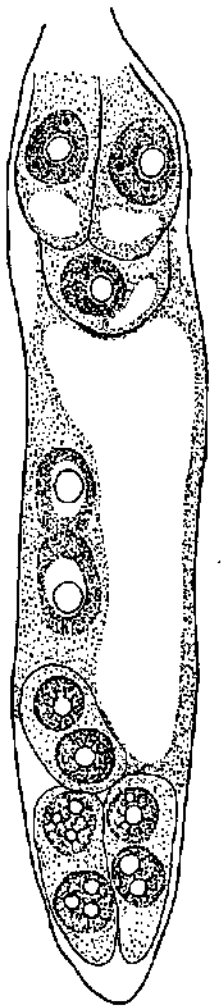
60



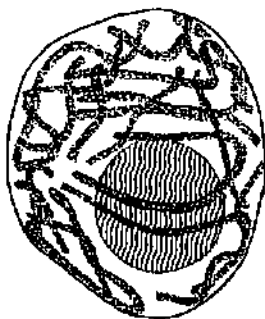
62



63



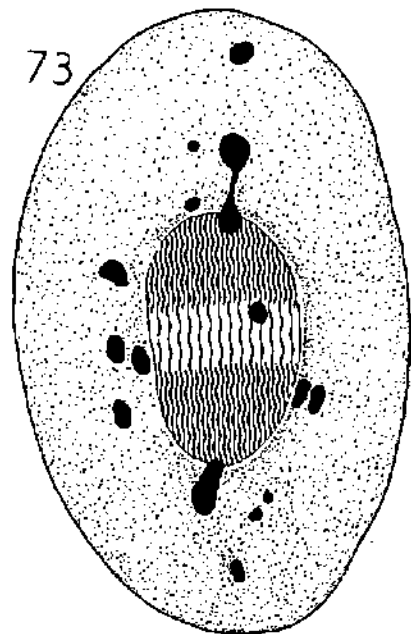
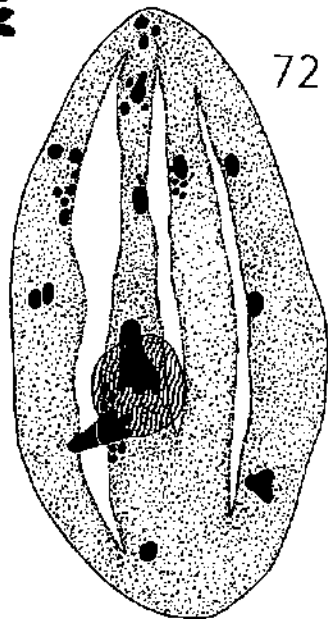
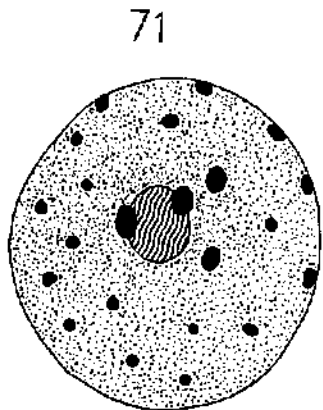
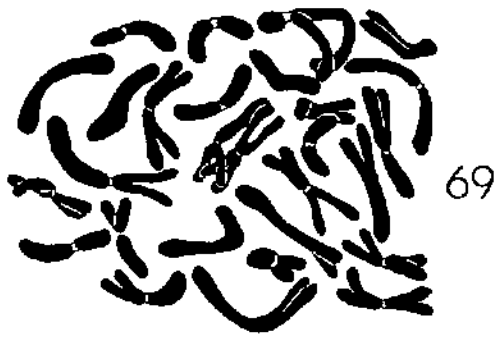
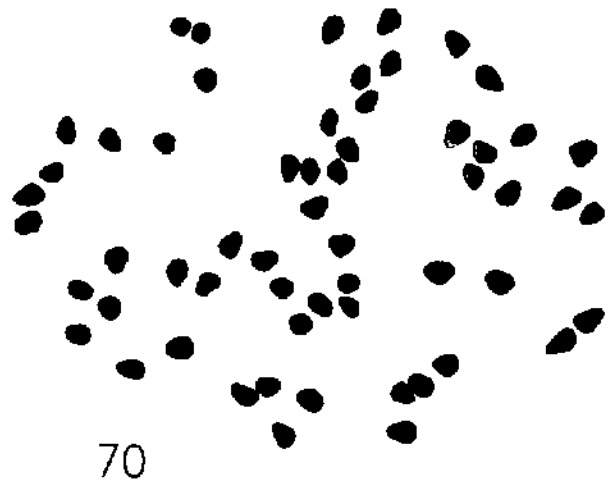
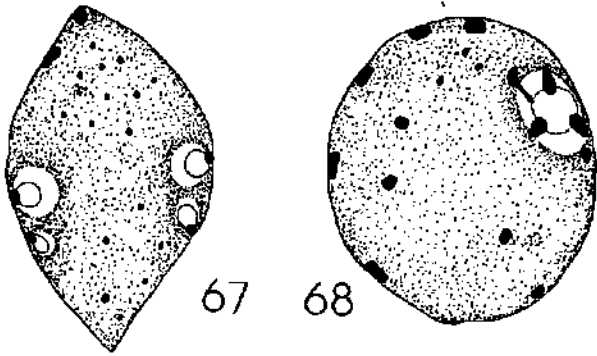
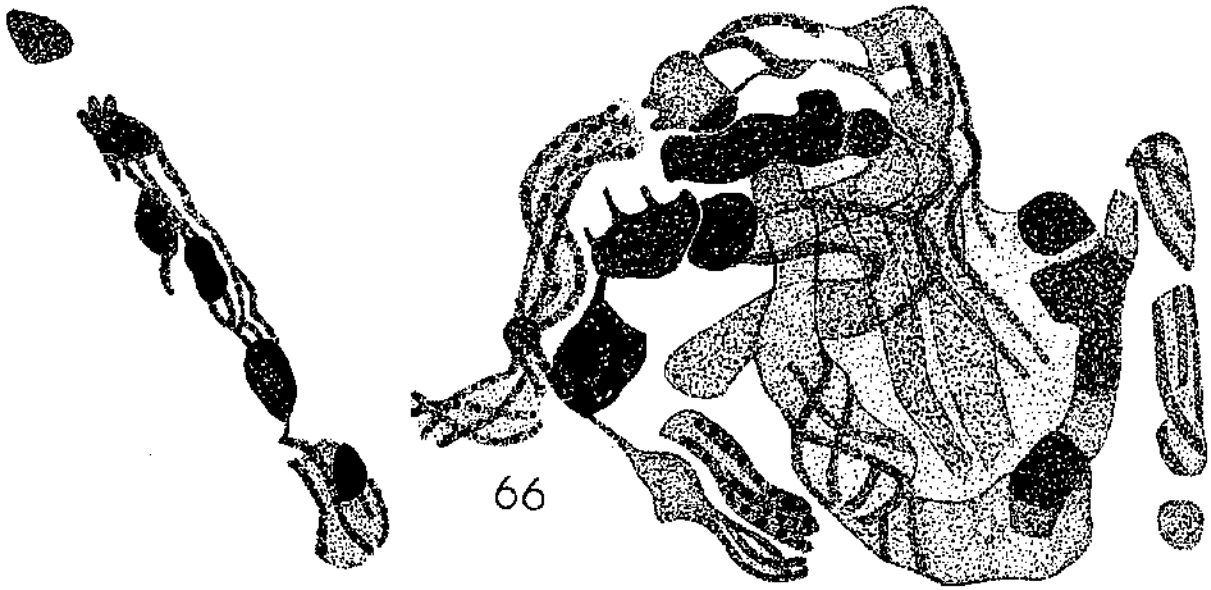
61

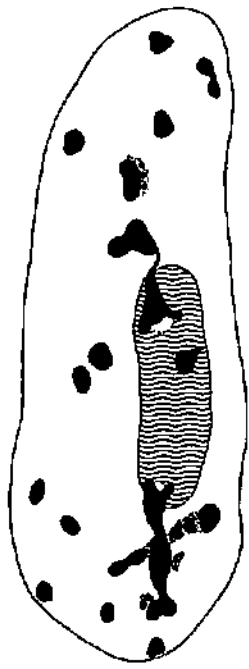


64



65





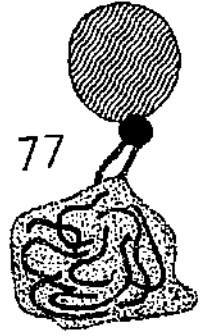
74



75



76



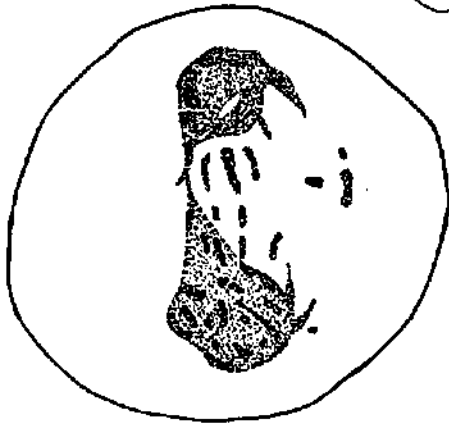
77



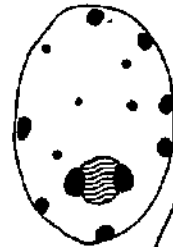
78



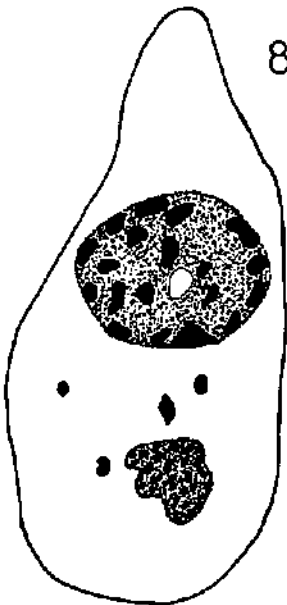
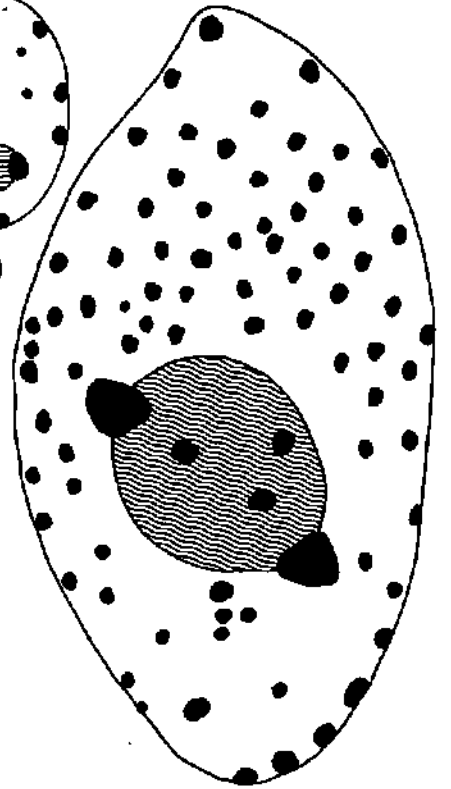
79



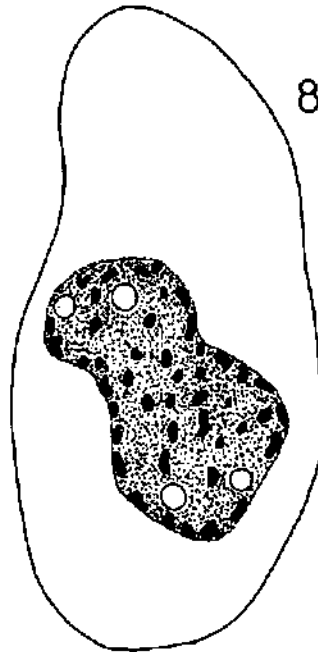
81



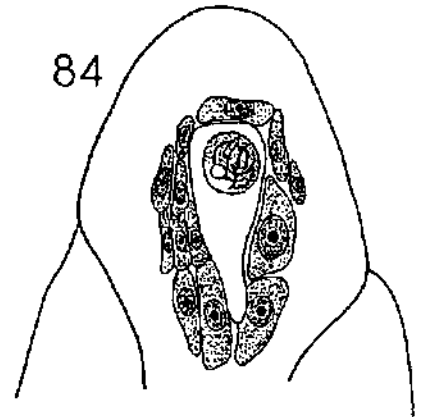
80



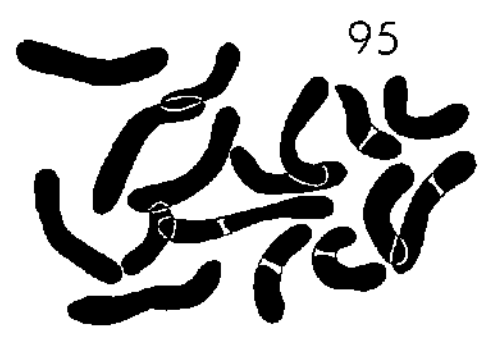
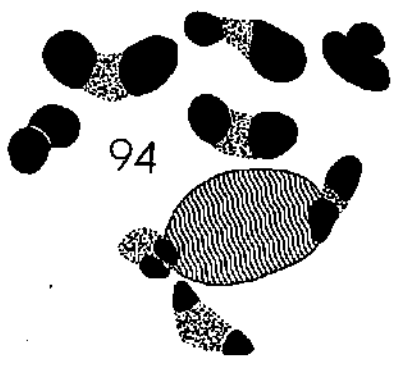
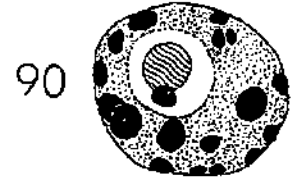
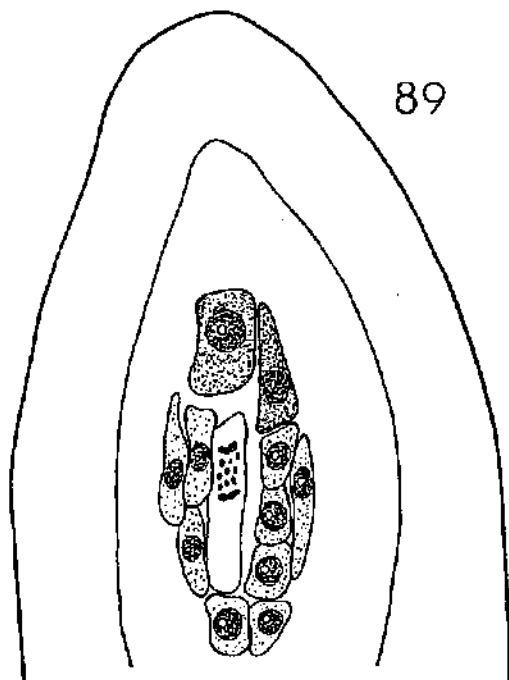
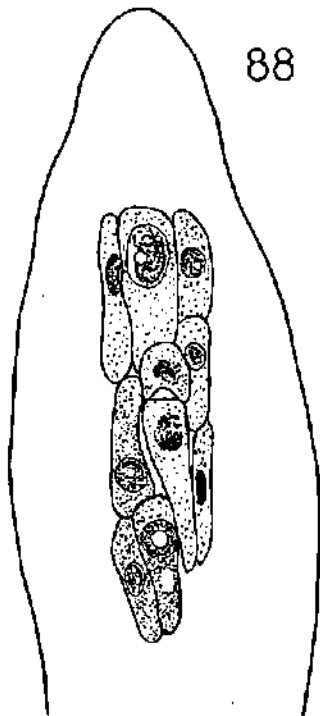
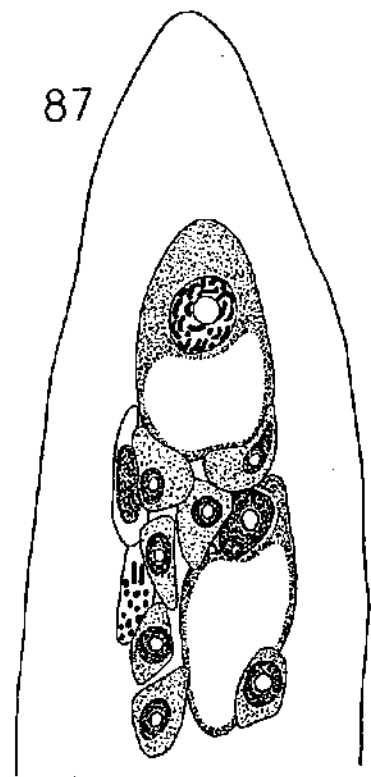
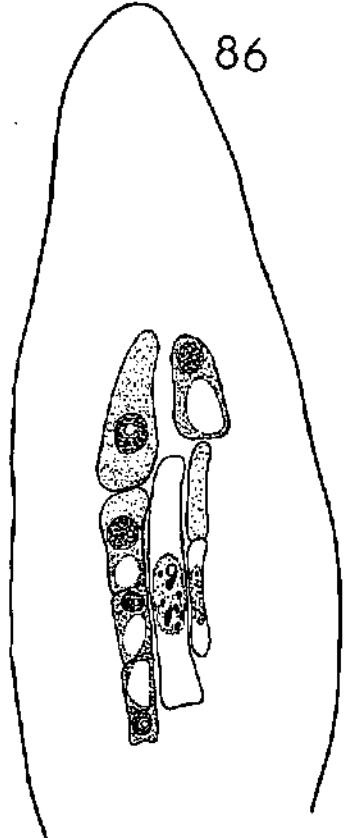
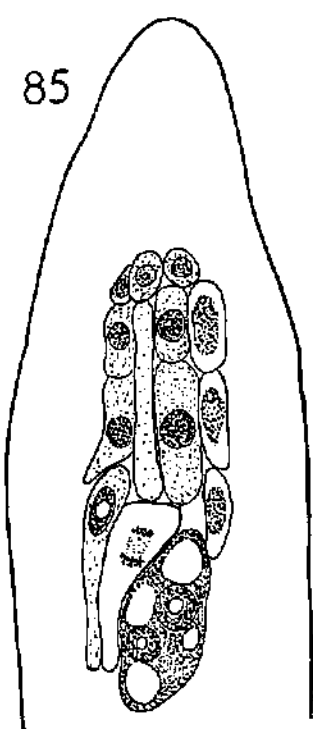
82

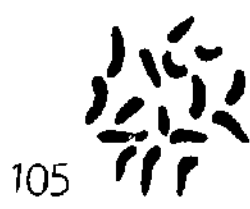
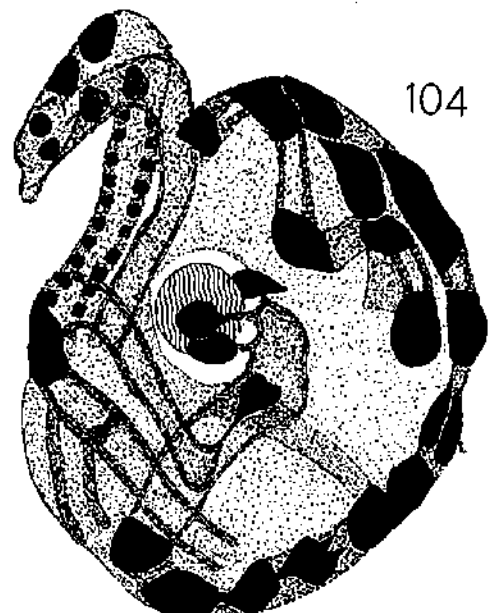
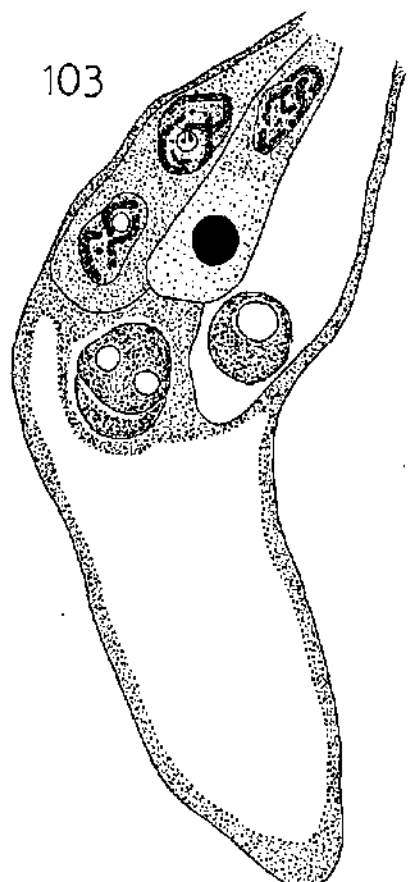
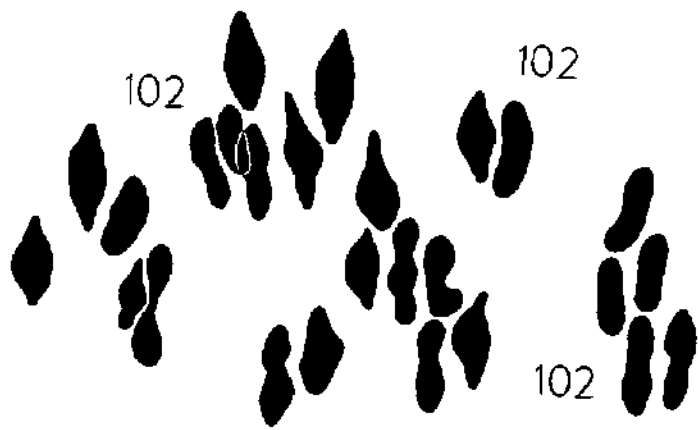
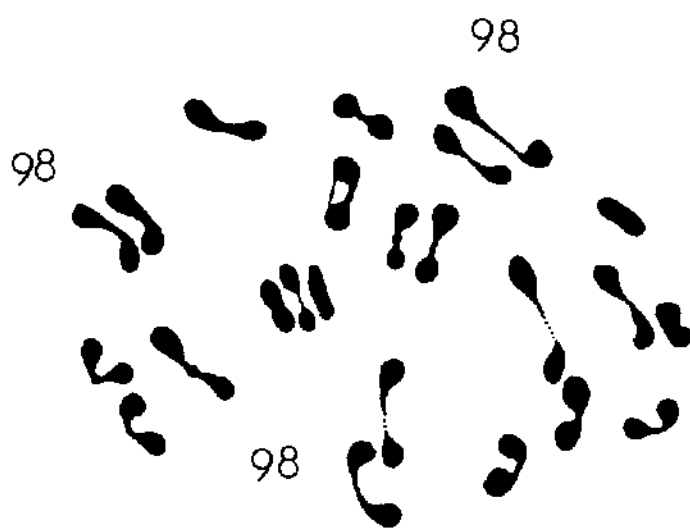
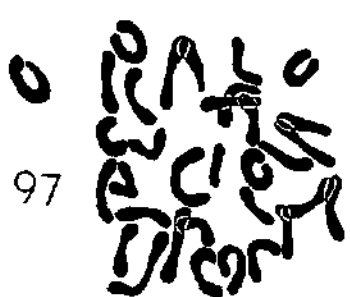
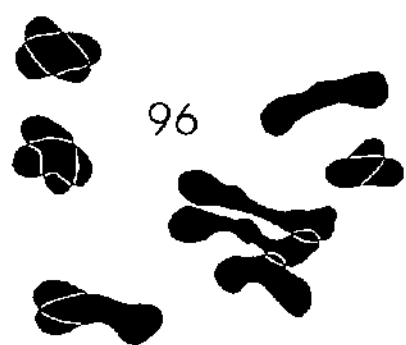


83



84



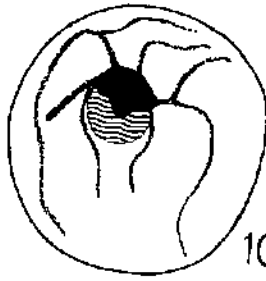




107



108



109

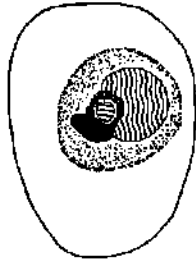


110

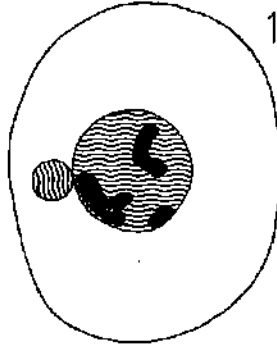
111



111

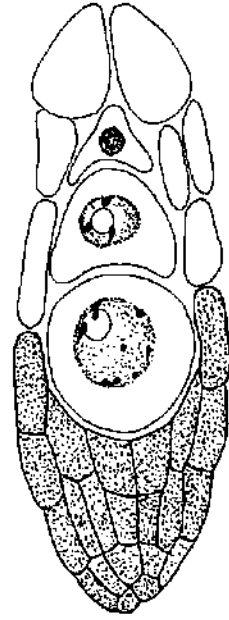


113

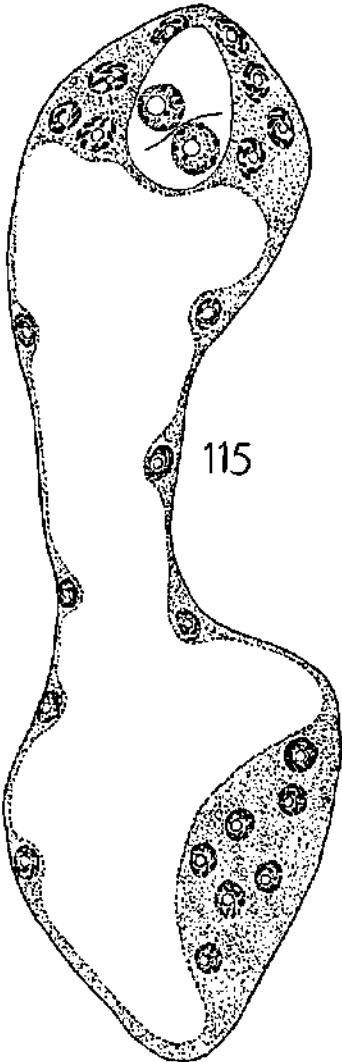


114

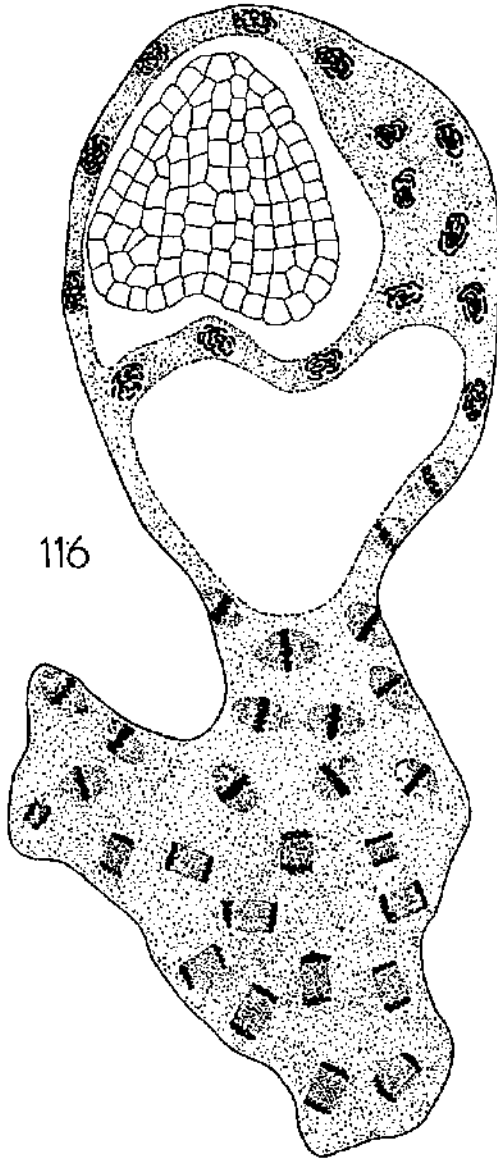
112



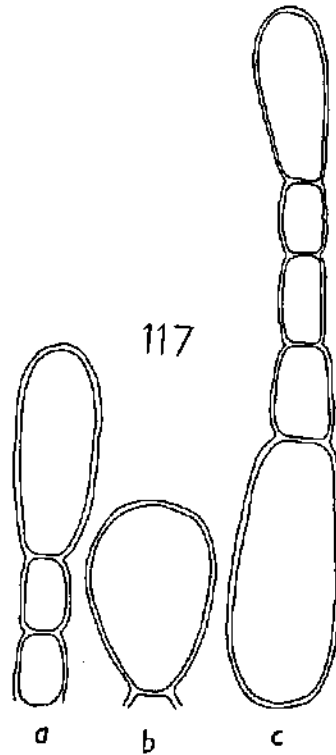
115



116



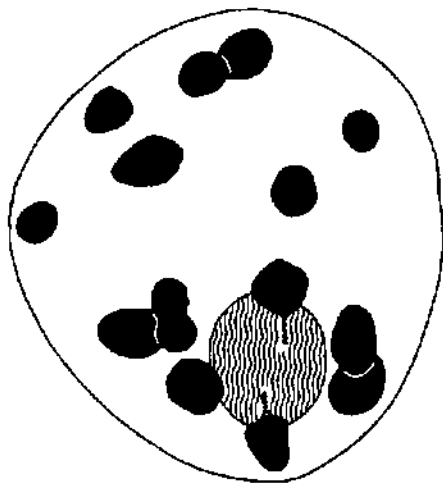
117



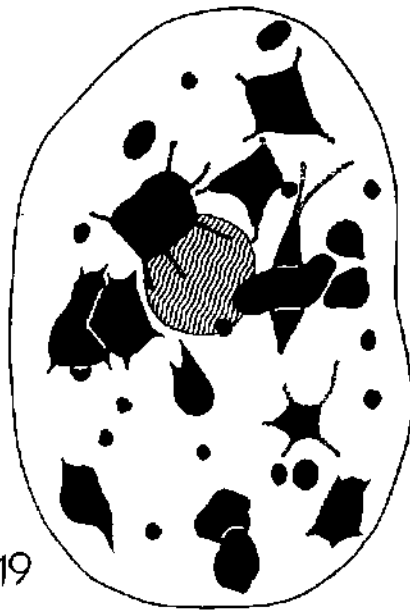
a

b

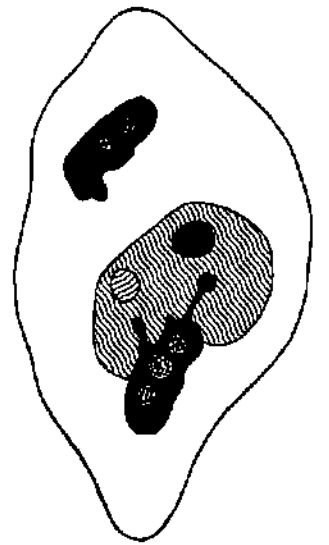
c



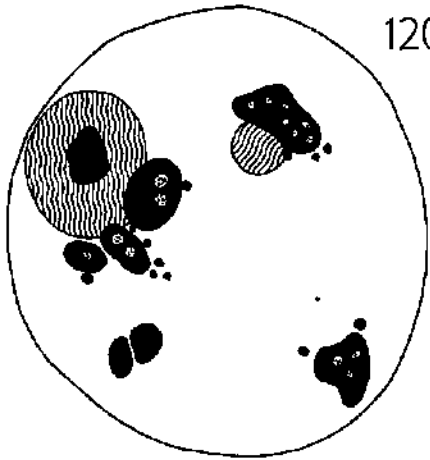
118



119



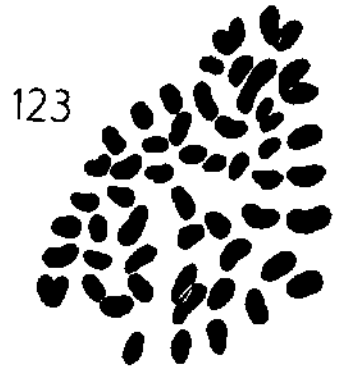
121



120



122



123



128



124



125



126



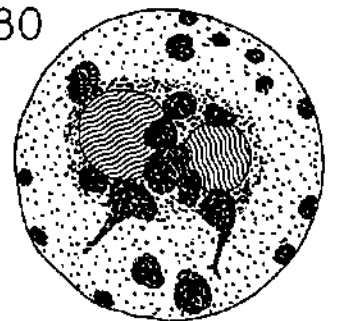
129



127



130

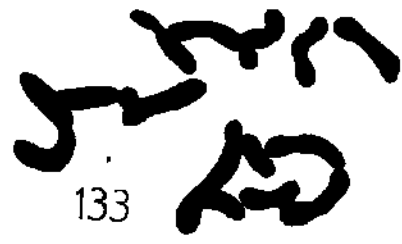




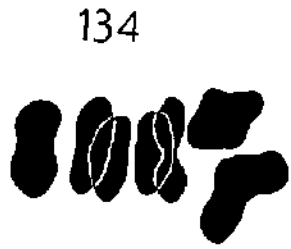
131



132



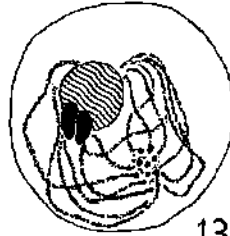
133



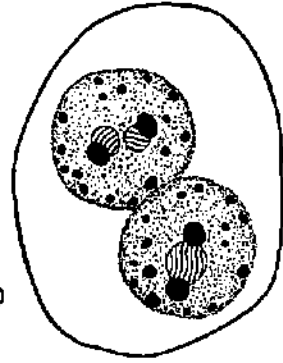
134



135



137



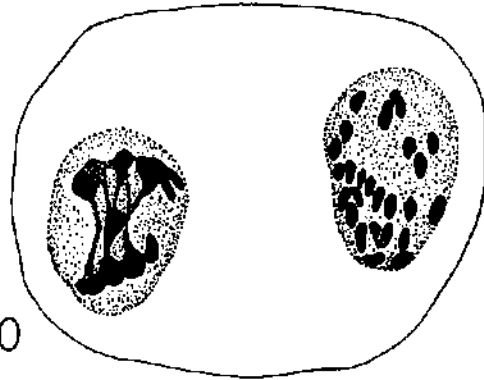
136



138



139



140



141



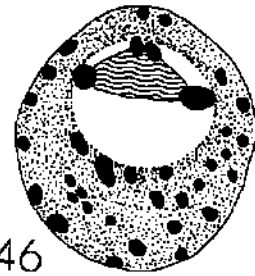
142



144



145



146



143



148



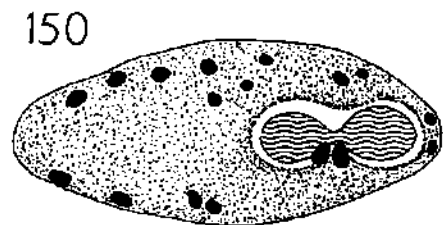
149



151



147



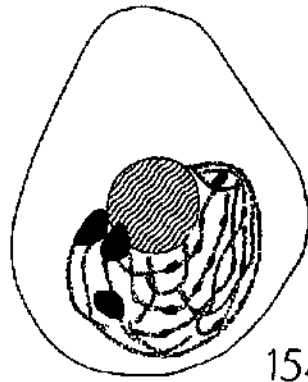
150



152



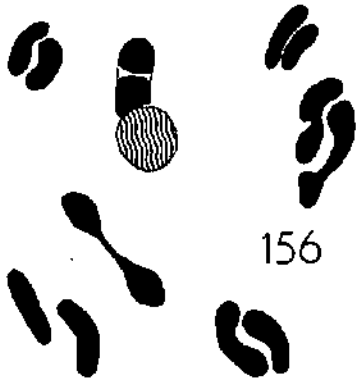
153



154



155



156



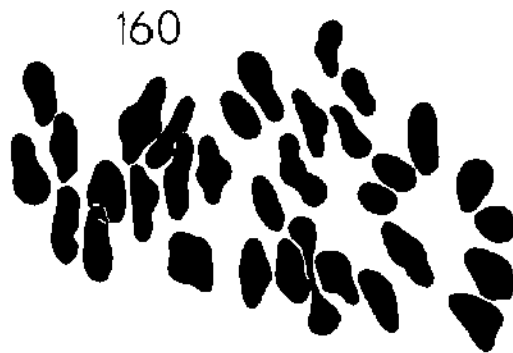
157



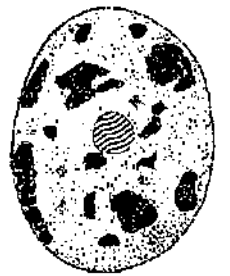
158



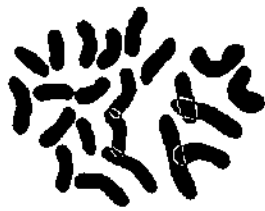
159



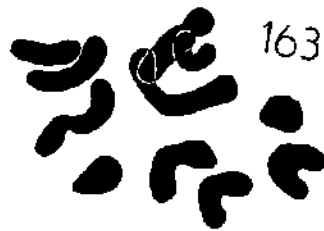
160



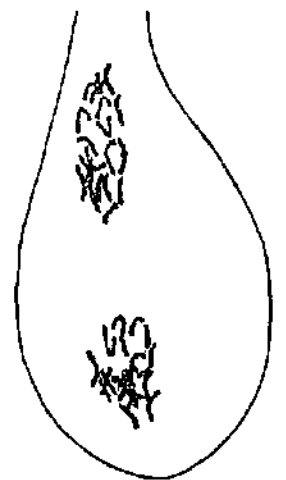
161



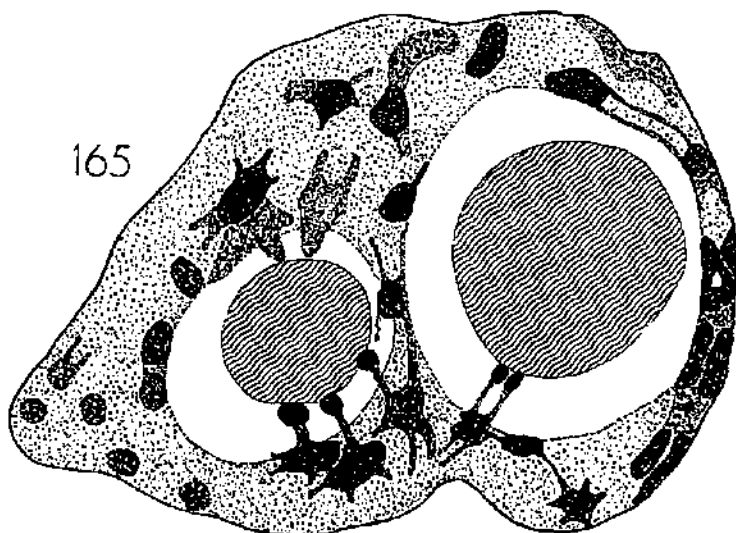
162



163



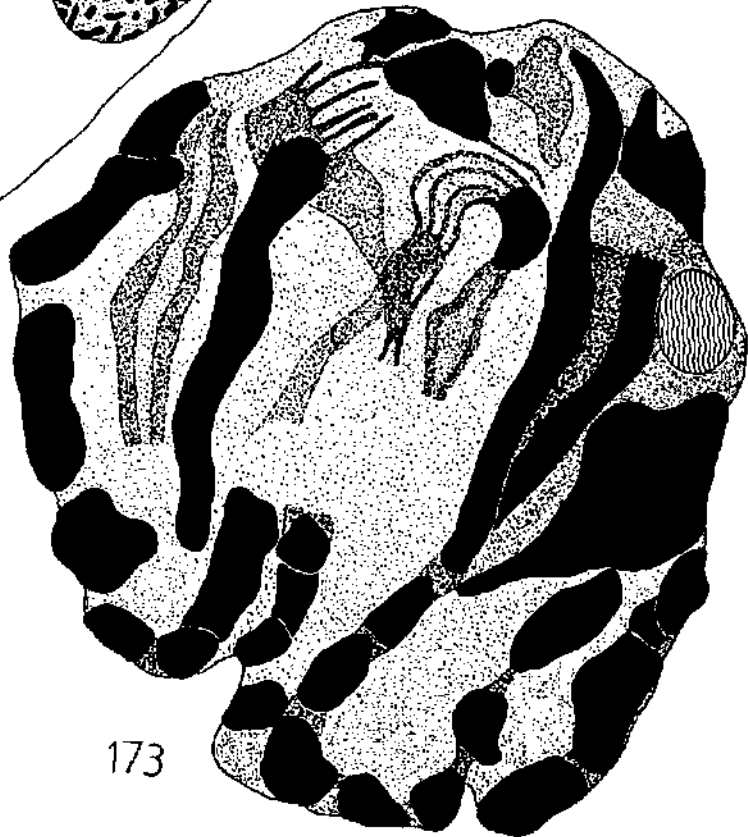
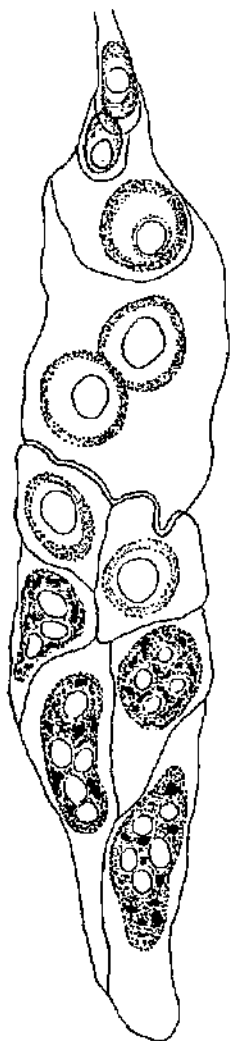
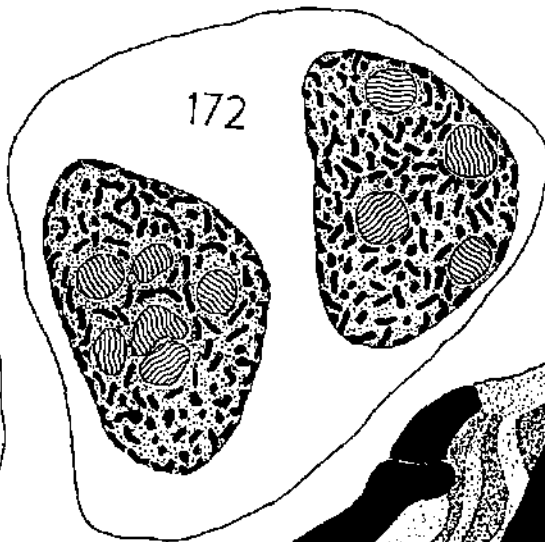
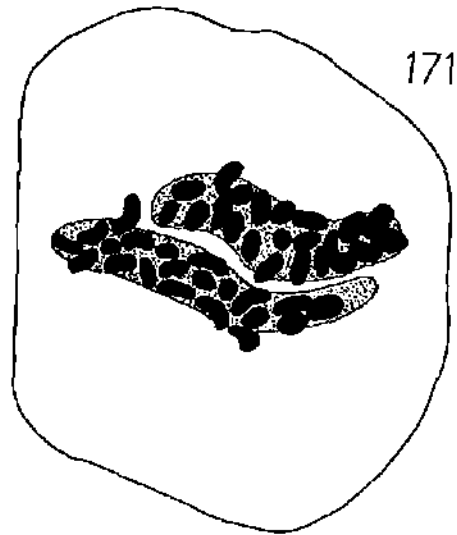
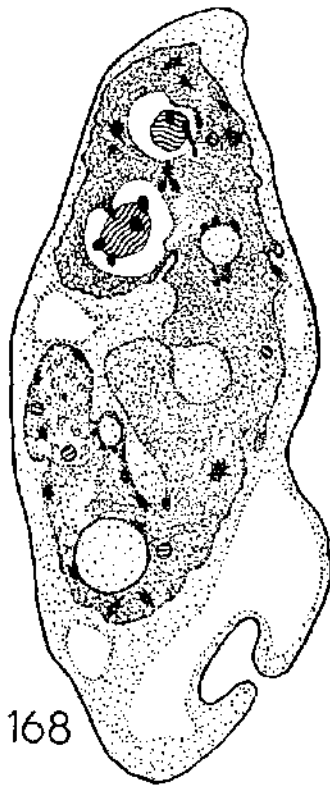
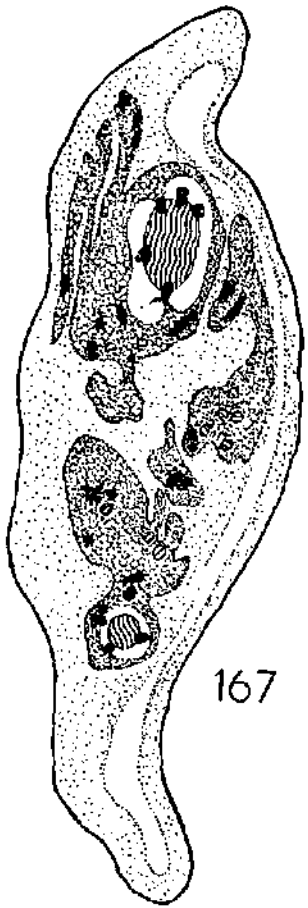
164

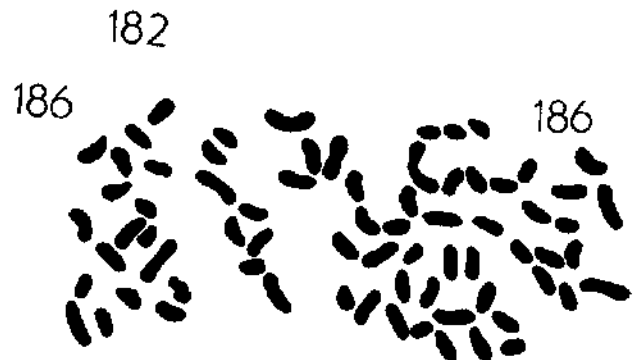
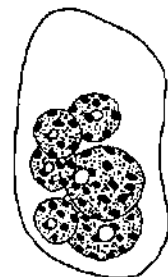
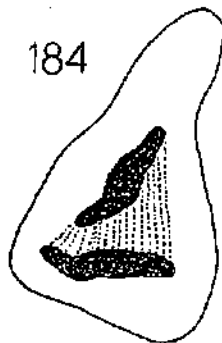
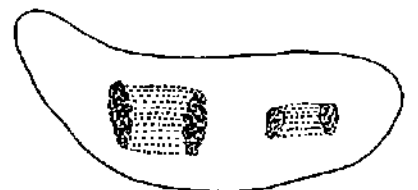
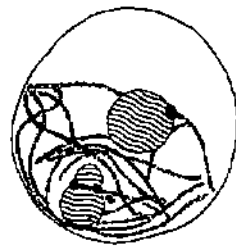
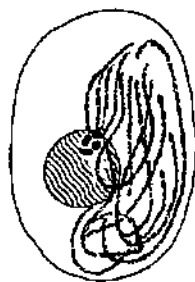
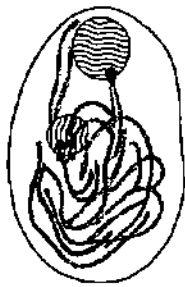
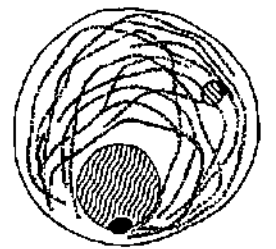
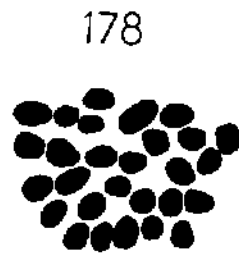
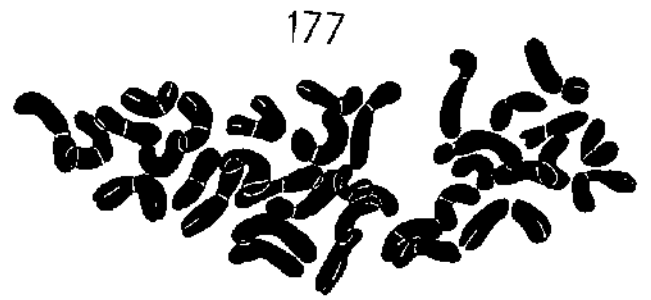
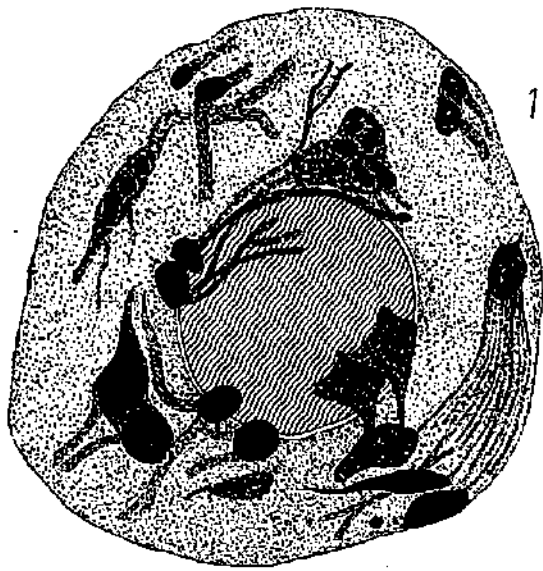
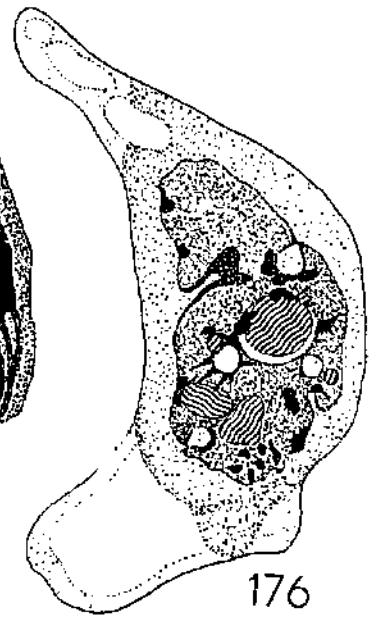
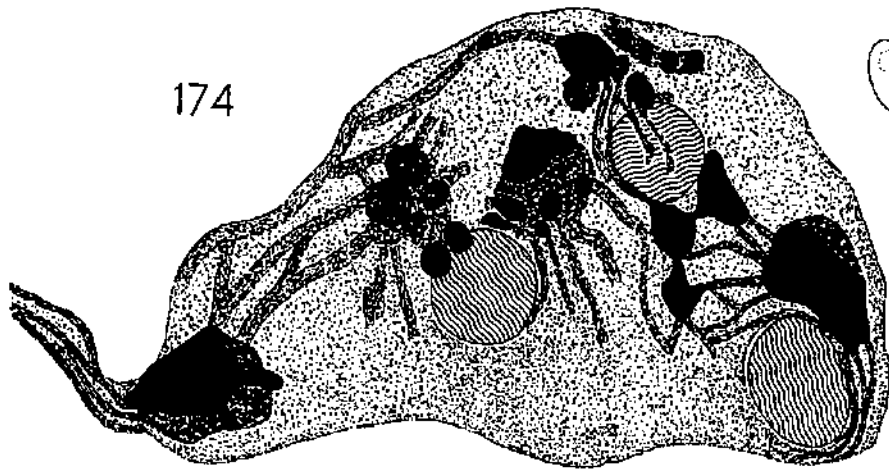


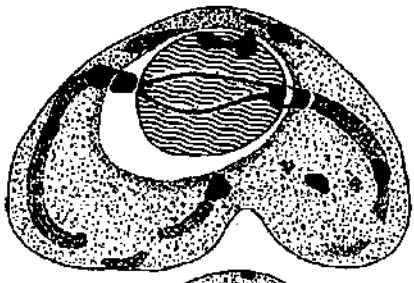
165

166





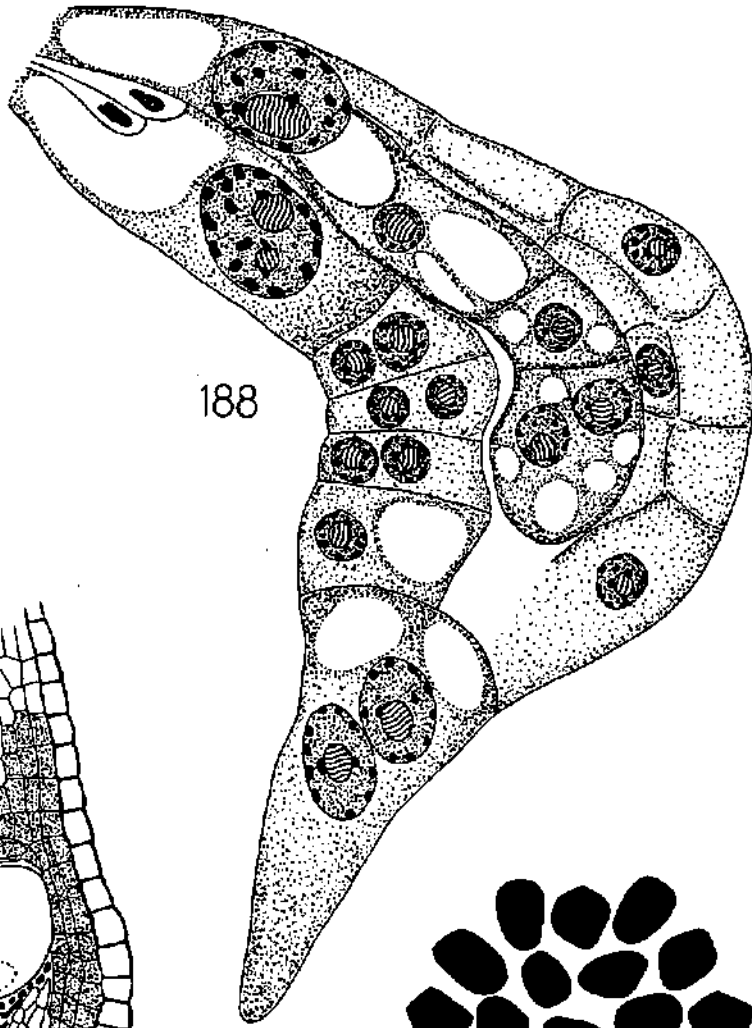




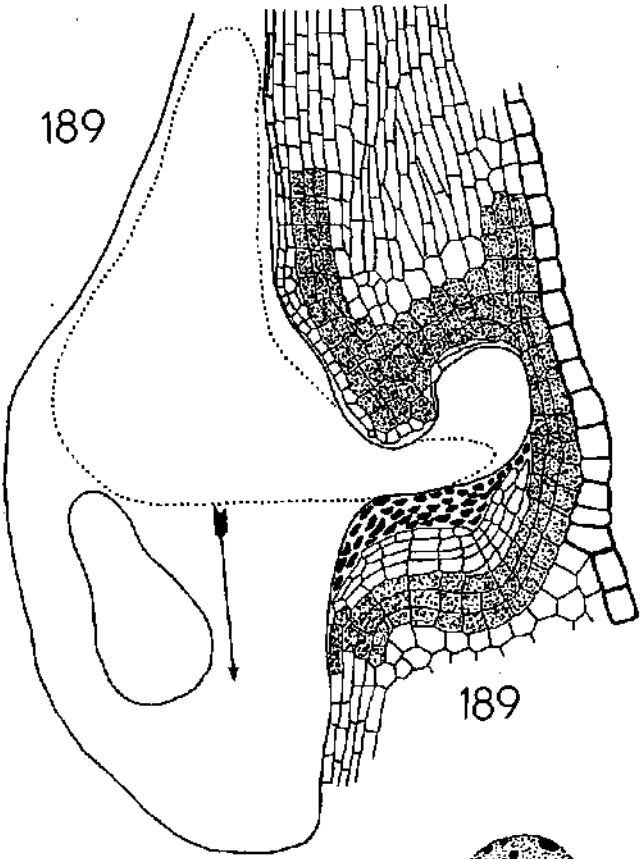
187



187

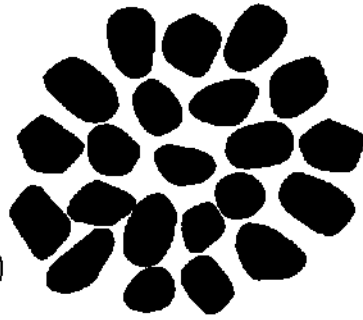


188



189

189



190

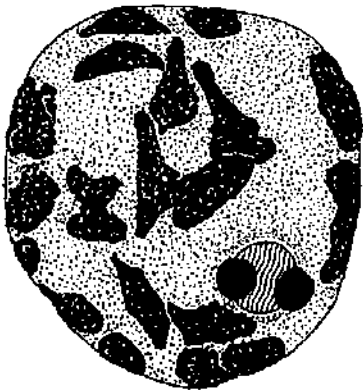


192



191

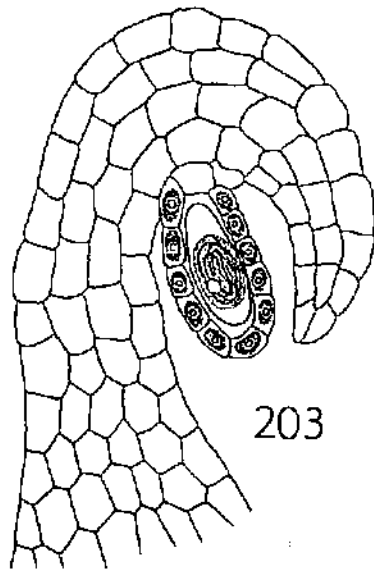
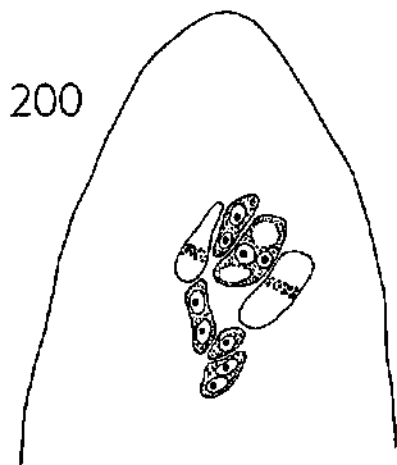
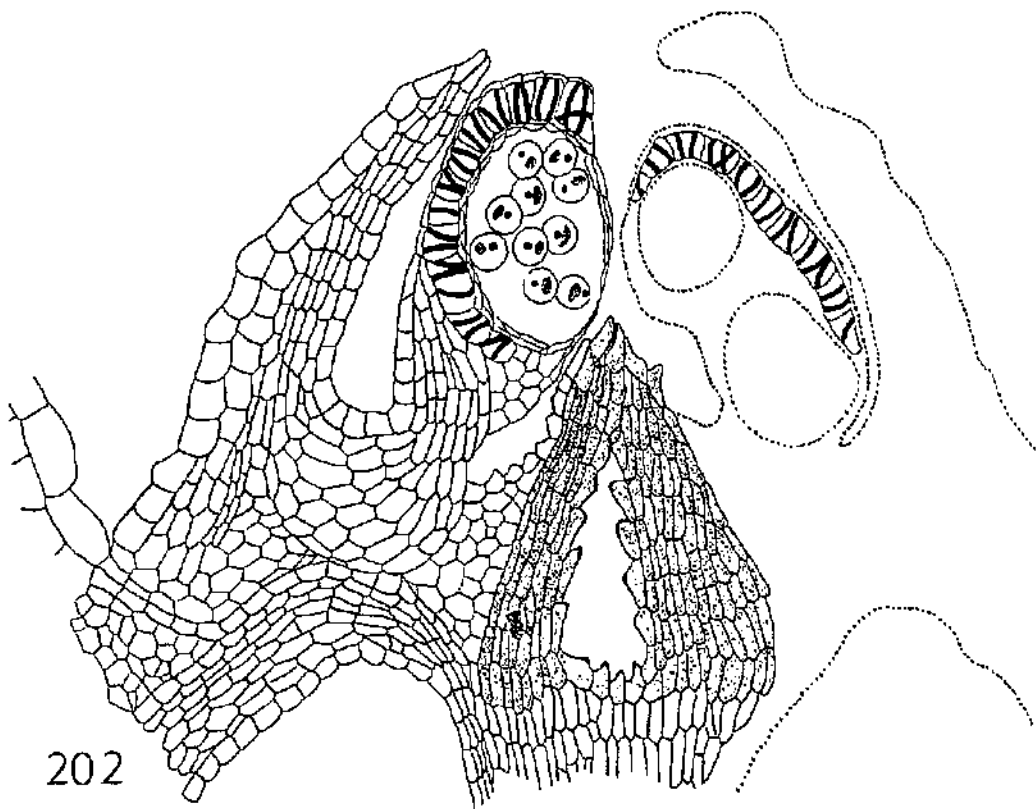
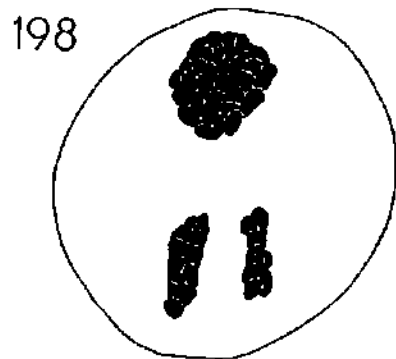
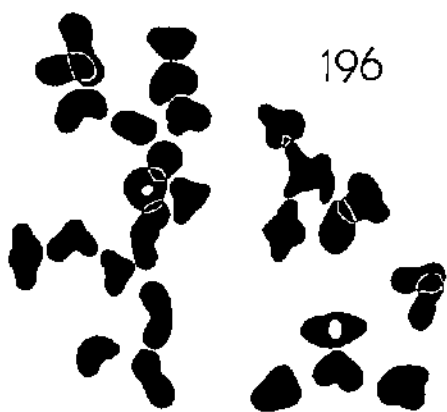
193

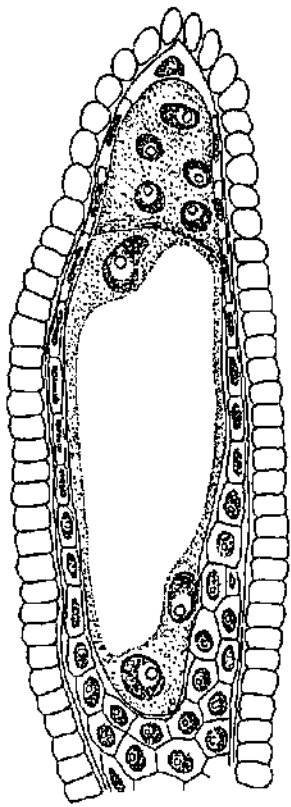


194

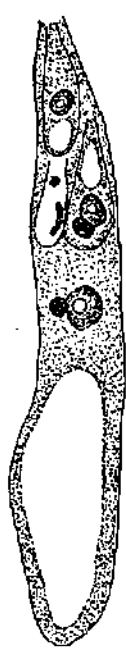


195

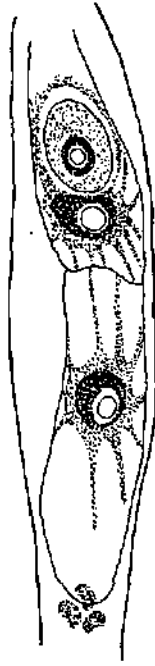




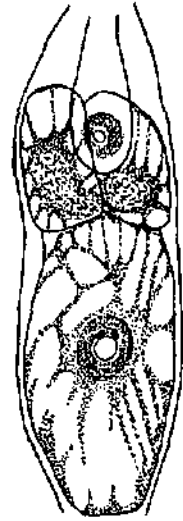
204



205

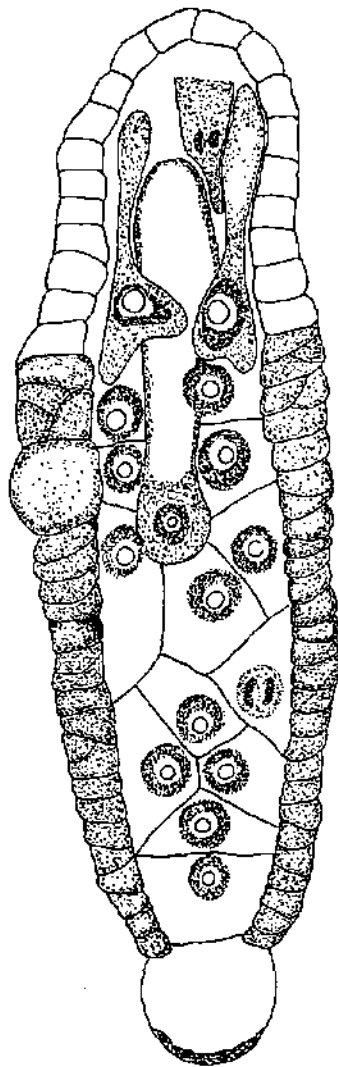


206

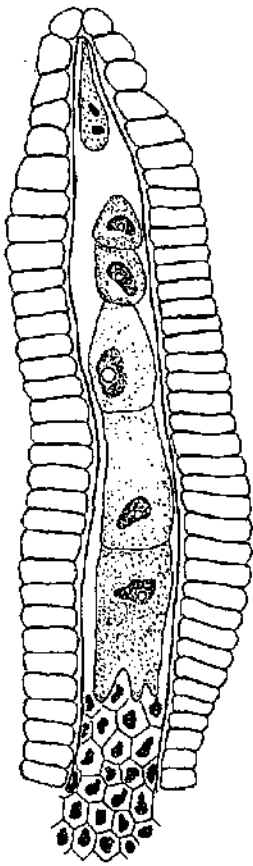


207

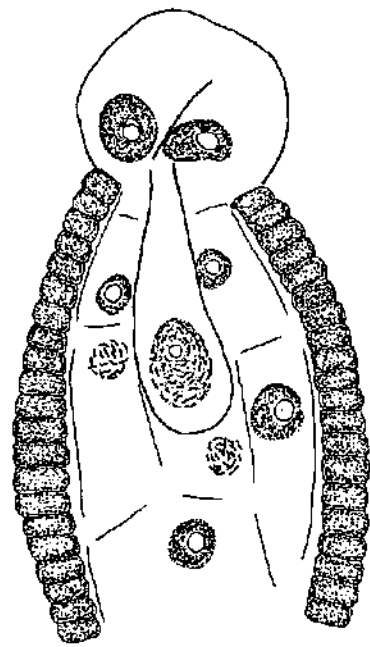
209

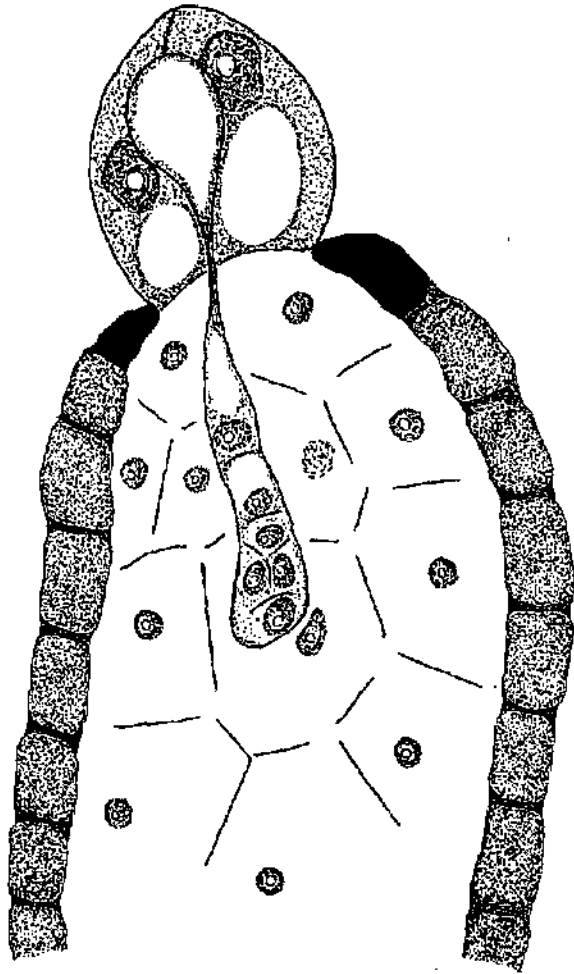


208



210



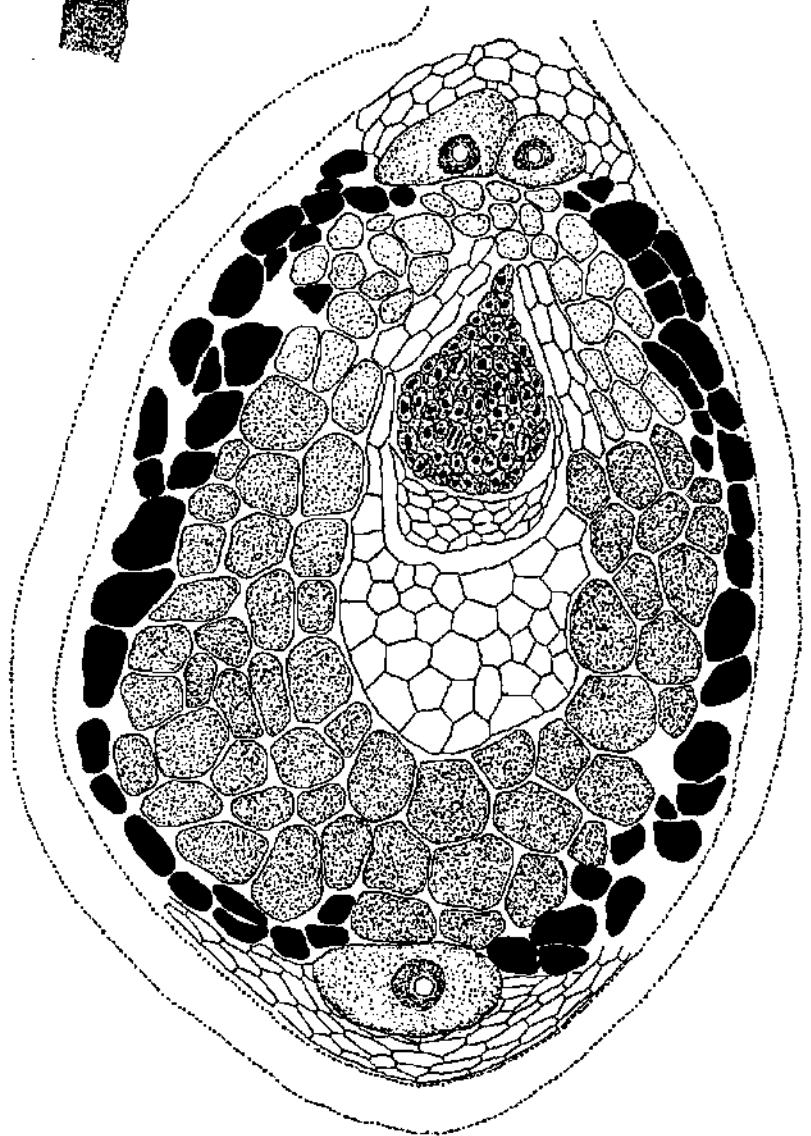


211



213

212



214

