

PROTOPLASMATOLOGIA

HANDBUCH

DER PROTOPLASMAFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN VON
L. V. HEILBRUNN UND **F. WEBER**
PHILADELPHIA GRAZ

BAND VII

3a

**DIFFERENCIATION DES CELLULES SEXUELLES
ET FECONDATION CHEZ LES PHANEROGAMES**

PAR

BERNARD VAZART

CHARGE DE RECHERCHES A L'O.R.S.T.O.M., I.D.E.R.T. BONDY (SEINE)



WIEN
SPRINGER-VERLAG
1958

PROTOPLASMATOLOGIA

HANDBUCH

DER PROTOPLASMAFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN VON

L. V. HEILBRUNN UND **F. WEBER**

PHILADELPHIA

GRAZ

MITHERAUSGEBER

W. H. ARISZ-GRONINGEN · H. BAUER-WILHELMSHAVEN · J. BRACHET-
BRUXELLES · H. G. CALLAN-ST. ANDREWS · R. COLLANDER-HELSINKI ·
K. DAN-TOKYO · E. FAURÉ-FREMIET-PARIS · A. FREY-WYSSLING-ZÜRICH ·
L. GEITLER-WIEN · K. HÖFLER-WIEN · M. H. JACOBS-PHILADELPHIA ·
D. MAZIA-BERKELEY · A. MONROY-PALERMO · J. RUNNSTRÖM-STOCKHOLM ·
W. J. SCHMIDT-GIESSEN · S. STRUGGER-MÜNSTER

BAND VII

BEFRUCHTUNG UND KERNVERSCHMELZUNG

3 a

DIFFERENCIATION DES CELLULES SEXUELLES ET FECONDATION
CHEZ LES PHANEROGAMES



WIEN
SPRINGER-VERLAG

1958

DIFFERENCIATION DES CELLULES SEXUELLES ET FECONDATION CHEZ LES PHANEROGAMES

PAR

BERNARD VAZART

CHARGÉ DE RECHERCHES A L'O.R.S.T.O.M., I.D.E.R.T. BONDY (SEINE)

AVEC 54 FIGURES



WIEN
SPRINGER-VERLAG
1958

ALLE RECHTE, INSBESONDERE DAS DER ÜBERSETZUNG
IN FREMDE SPRACHEN, VORBEHALTEN.
OHNE AUSDRÜCKLICHE GENEHMIGUNG DES VERLAGES IST ES AUCH NICHT
GESTATTET, DIESES BUCH ODER TEILE DARAUS AUF PHOTOMECHANISCHEM
WEGE (PHOTOKOPIE, MIKROKOPIE) ZU VERVIELFÄLTIGEN.

© BY SPRINGER-VERLAG IN VIENNA 1958.

PRINTED IN AUSTRIA.

Différenciation des cellules sexuelles et fécondation chez les Phanérogames

Par

BERNARD VAZART

Chargé de recherches à l'O. R. S. T. O. M., I. D. E. R. T. Bondy (Seine)

Avec 54 Figures *

Sommaire

	page
Introduction	3
Première partie : Gymnospermes	4
I. Gamétogénèse mâle	5
Structure de la microspore ; formation et destin des cellules prothalliennes	7
Première phase de la gamétogénèse mâle : individualisation du matériel gamétique sous forme de cellule génératrice ou cellule spermatogène primordiale	11
a) Division de la cellule initiale de l'anthéridie	12
b) Structure de la cellule génératrice	13
Deuxième phase : multiplication du matériel gamétique ; les deux mitoses spermatogènes ; structure de la cellule spermatogène et de l'élément stérile	14
a) Première division spermatogène : division de la cellule génératrice	15
b) Structure et évolution de la cellule stérile	16
c) Structure et évolution de la cellule spermatogène	18
d) Seconde et dernière mitose spermatogène ; formation des gamètes mâles	20
e) Anomalies	22
Troisième phase : différenciation des gamètes	22
a) Spermatozoïdes ciliés des Cycadales et du <i>Ginkgo</i>	22
b) Cellules spermatisques du groupe Taxodiaceae-Cupressaceae-Taxaceae-Cephalotaxaceae	25
c) Matériel gamétique des Pinaceae, Araucariaceae et Podocarpaceae	27
d) Gamètes mâles des Gnétales	28
II. Gamétogénèse femelle	28
Première phase : croissance du prothalle et individualisation des initiales archégoniales	29

* Les figures ou les microphotographies de certaines figures qui ne portent pas d'indication de nom d'auteurs sont des clichés originaux.

Deuxième phase : édification de l'archégone et individualisation de la cellule reproductrice femelle	36
a) Les initiales d'archégonies, première division gamétogène	36
Le col	38
La cellule centrale	40
b) Maturation de l'archégone	46
La deuxième division gamétogène	46
La cellule ventrale du canal	49
Le noyau ventral du canal	50
L'oosphère	52
III. Fécondation	55
Cycadales et Ginkgoales	55
Coniférales	58
a) Libération des gamètes mâles et plasmogamie	59
b) Caryogamie	62
c) Devenir des noyaux surnuméraires	65
Gnétales	66
Deuxième partie: Angiospermes	67
I. Gamétogénèse mâle	67
Première phase : évolution de la microspore ; première division pollinique et individualisation de la cellule spermatogène primordiale ou cellule génératrice	68
a) Structure et évolution de la microspore	68
b) Polarité et phénomènes préparatoires à la division différencielle	71
c) Déroulement de la première mitose pollinique	72
Deuxième et troisième phases : division de la cellule génératrice ; structure et différenciation de cette cellule et des cellules spermatiques	76
a) Structure et évolution de la cellule génératrice	77
Forme, déplacements, structure, comportement	78
b) Formation des cellules spermatiques	85
Caryocinèse, structure des cellules spermatiques	85
Phénomènes annexes : transformation de la cellule végétative, germination du pollen ; structure cytologique du tube pollinique	90
II. Gamétogénèse femelle	94
Principales étapes de la gamétogénèse femelle, édification du sac embryonnaire, individualisation de l'oosphère	95
a) Structure et évolution de la mégaspore	96
b) Divisions individualisant les éléments du sac	96
c) Mode d'isolement des cellules du sac	97
d) Variations dans le schéma de développement du sac embryonnaire	100
Différenciation des cellules du sac	101
a) Phase de croissance	102
b) Différenciation nucléaire et cytoplasmique	105
Les cellules reproductrices	105
1 — L'achromaticité des noyaux reproducteurs	105
2 — Evolution des éléments figurés	107
3 — L'appareil nucléolaire	109
4 — Formation du noyau secondaire	111
5 — Le cytoplasme des cellules reproductrices	115
Les cellules annexes	116
Caractères distinctifs des synergides	117
Les antipodes	120

III. Fécondation	123
Phénomènes préparatoires à la fécondation	123
a) Entrée du tube pollinique dans le sac embryonnaire	123
b) Eclatement du tube pollinique	128
c) Déplacement des gamètes dans le sac embryonnaire ; structure des cellules spermatiques	129
Syngamie	132
a) Fusion des cytoplasmes	132
b) Les noyaux spermatiques dans le cytoplasme des cellules femelles	133
c) La caryogamie	138
Comportement des substances chromatiques	141
Comportement de l'appareil nucléolaire	146
Bibliographie	148

Introduction

Les Gymnospermes et les Angiospermes voient se parfaire jusqu'en leur état actuel les modes de gamétogénèse et de fécondation élaborés dans la série phylétique Chlorophytes-Bryophytes-Ptéridophytes. Pourtant un fait nouveau fait son apparition : l'allongement de l'une des cellules du gamétophyte mâle en un tube dans lequel sont libérées les cellules reproductrices. Ce tube se développe à la suite de la germination de la microspore sur le tissu femelle. C'est d'abord un simple suçoir assurant la vie parasitaire du prothalle mâle. Puis sa croissance est nettement dirigée vers les organes reproducteurs femelles et son rôle principal devient le transport des spermatozoïdes. Ceux-ci perdent leur appareil cinétique, et leur structure s'en trouve considérablement simplifiée.

Chez les plantes à graines la réduction de la phase gamétophytique atteint un degré élevé, sinon maximum : le grain de pollen finit par se transformer en une initiale d'anthéridie bicellulaire, tandis que le gamète femelle provient parfois directement de la division de l'une des quatre mégasporos (sacs embryonnaires tétrasporiques). Néanmoins, ce niveau d'évolution ne se trouve réalisé que chez les Angiospermes, les Gymnospermes représentant à bien des égards un groupe de transition, chez lequel se précisent ou s'achèvent un certain nombre de processus plus ou moins amorcés chez les Ptéridophytes.

C'est en effet dans cet embranchement des Gymnospermes que se réalise de façon durable l'union des gamétophytes mâle et femelle, déjà annoncée par leur rapprochement fugace et purement mécanique chez les Salvini-ales. Dans les ordres primitifs, Cycadales et Ginkgoales, le prothalle femelle demeure désormais fixé sur le sporophyte de la plante-mère. Il est parasité par le gamétophyte mâle qui arrive à proximité des archégones. Cette situation se maintient dans les ordres plus évolués où la zoïdogamie est définitivement relayée par la siphonogamie.

L'hétérosporie, évidemment suivie de l'hétéroprothallie, est apparue chez les Ptéridophytes supérieurs. Elle est désormais acquise et se maintient chez tous les Phanérogames.

Enfin, l'accélération des phénomènes de gamétogénèse se poursuit. Leur déclenchement prévient même l'achèvement de la sporogénèse. Les microspores ne sont plus les gonocytes directement issus de la méiose, mais déjà le produit de leur segmentation. Le grain de pollen représente en effet un gamétophyte mâle fertile, puisqu'en règle générale, il est organisé en anthéridie, comprenant une cellule pariétale (la cellule végétative) et une cellule spermatogène primordiale (la cellule génératrice), et attenante à une ou plusieurs cellules prothalliennes qui finissent même par ne plus se former.

Il est donc logique de consacrer un chapitre spécial à l'étude des phénomènes de gamétogénèse et de fécondation chez les Gymnospermes, puisque ceux-ci se présentent comme de véritables intermédiaires entre les Ptéridophytes et les Angiospermes. On y trouve en outre une variété de structure et de fonctionnement, apparaissant comme autant d'essais dont certains seulement ont abouti, chez les Angiospermes, à la réalisation uniforme de la double fécondation et à l'utilisation intégrale de deux gamètes mâles morphologiquement identiques et provenant d'un même gamétophyte.

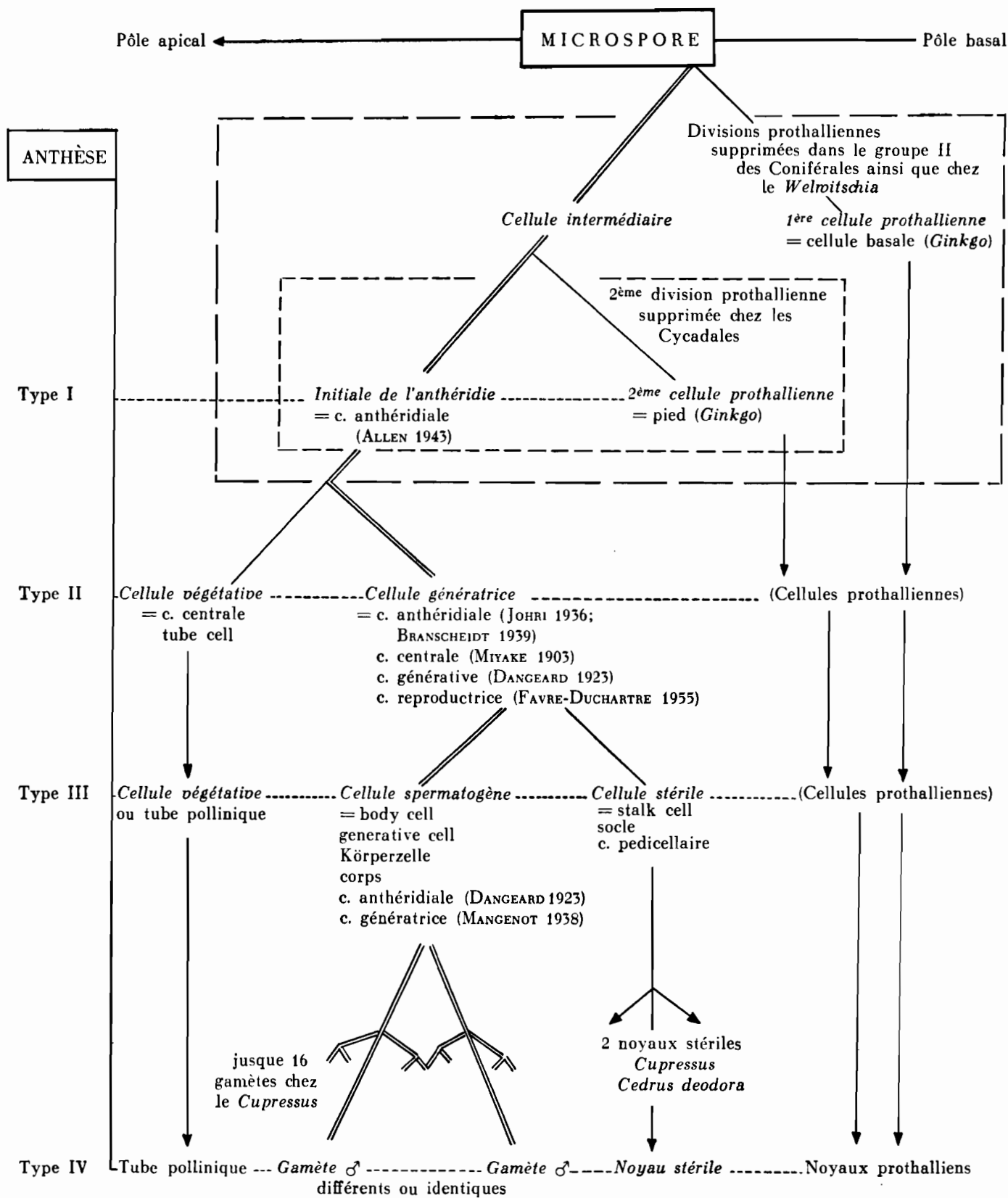
Première partie

Gymnospermes

L'embranchement des Gymnospermes constitue un groupe ancien, probablement plus riche en formes fossiles qu'en espèces vivantes. Aussi ces dernières se groupent-elles en unités relativement homogènes, mais séparées les unes des autres par de profondes dissemblances dues à la disparition des formes de transition et des genres primitifs moins spécialisés. Cet émiettement en ordres dont les relations phylogéniques sont désormais masquées est particulièrement sensible lorsqu'on prend en considération les différentes modalités de la reproduction sexuée.

D'une part, les Cycadales et les Ginkgoales se distinguent nettement des autres groupes par la persistance de la zoïdogamie, accompagnée d'un certain nombre de traits communs à la structure et à la morphogénèse des appareils mâle et femelle. D'autre part, les Gnétales, en voie de disparition, ne réunissent que trois genres morphologiquement très différents, mais néanmoins caractérisés par une facture plus moderne des structures reproductrices qui annoncent celles des Angiospermes. A un degré d'évolution intermédiaire entre celui des Gymnospermes zoïdogames et celui des Gnétales, les Coniférales forment un ordre encore en pleine vitalité, où se trouvent une bien plus grande richesse de formes et une plus grande abondance de types de fonctionnement. Du simple point de vue de la reproduction, cet ordre peut cependant se scinder en deux groupes : d'un côté, les familles des Pinaceae, Araucariaceae et Podocarpaceae, caractérisées par la formation de cellules prothalliennes (comme chez les Cycadales, les Ginkgoales et l'*Ephedra*), par la date relativement tardive de l'anthèse (qui intervient toujours après la formation de la cellule génératrice, parfois après sa division), et par la disposition isolée des archégones à la surface du prothalle femelle; de l'autre, les familles des Sciadopitaceae, Taxodia-

Tableau 1
Développement du gamétophyte mâle des Gymnospermes



Double trait : succession des cellules mères du matériel reproducteur ; les changements d'orientation correspondent aux inversions de polarité dans le gamétophyte

Trait simple : conduit aux cellules annexes

ceae, Cupressaceae, Taxaceae et Cephalotaxaceae, chez lesquelles il ne se forme plus de cellules prothalliennes (comme chez le *Welroitschia*), tandis que l'anthèse précède ou non la formation de la cellule génératrice, et que chez certaines (Taxodiaceae et Cupressaceae), les archégones ont tendance à se grouper en complexes entourés d'une assise cellulaire commune.

Nous étudierons successivement, dans ces différents groupes, la gamétogénèse mâle, la gamétogénèse femelle, puis la fécondation.

Gamétogénèse mâle

Mis à part un petit nombre de travaux contemporains, l'étude cytologique de la reproduction des Gymnospermes date du début de ce siècle, époque où les naturalistes travaillaient beaucoup plus isolément que de nos jours. Il en est résulté une complication et une confusion fort regret-

Tableau 2. *Date de l'anthèse par rapport aux phénomènes de spermatogénèse*

<i>Type I</i> (avant la formation de la cellule génératrice)	
Certaines Coniférales du Groupe II:	
<i>Taxus</i>	<i>Widdringtonia</i>
<i>Cupressus</i>	<i>Juniperus</i>
<i>Type II</i> (après la formation de la cellule génératrice, mais avant sa division)	
Cycadales	
Ginkgoales	
Coniférales du groupe II (à l'exception des 4 genres ci-dessus)	
Coniférales du groupe I (à l'exception des Pinaceae de type III et du <i>Phyllocladus</i>)	
<i>Type III</i> (après la formation de la cellule stérile)	
Certaines Pinaceae :	
(<i>Abies</i>)	<i>Pseudolarix</i>
<i>Keteleeria</i>	<i>Cedrus</i>
<i>Picea</i>	<i>Tsuga</i>
Une Araucariaceae : <i>Phyllocladus</i>	
Gnétales : (<i>Ephedra</i>)	<i>Gnetum</i>
<i>Type IV</i> (après la formation des gamètes)	
<i>Welroitschia</i>	

Abies et *Ephedra* sont intermédiaires entre les types III et IV, les gamètes se formant à l'intérieur du pollen dans un certain pourcentage de grains.

tables de la terminologie, dont l'un des tableaux ci-contre peut donner une idée. Dans la suite de ce texte on a adopté les dénominations les plus simples et surtout les plus logiques : ce sont celles qui, sur le Tableau 1, figurent en italiques, en tête des listes de synonymes.

Ce schéma permettra en outre de distinguer d'emblée le plan général du développement du gamétophyte mâle des Gymnospermes, ainsi que ses principales variantes.

Le pollen n'est dispersé à l'état de microspores unicellulaires que chez quatre genres appartenant au second groupe des Coniférales, chez lequel des cellules prothalliennes ne se forment pas (*Cupressus*, *Widdringtonia*,

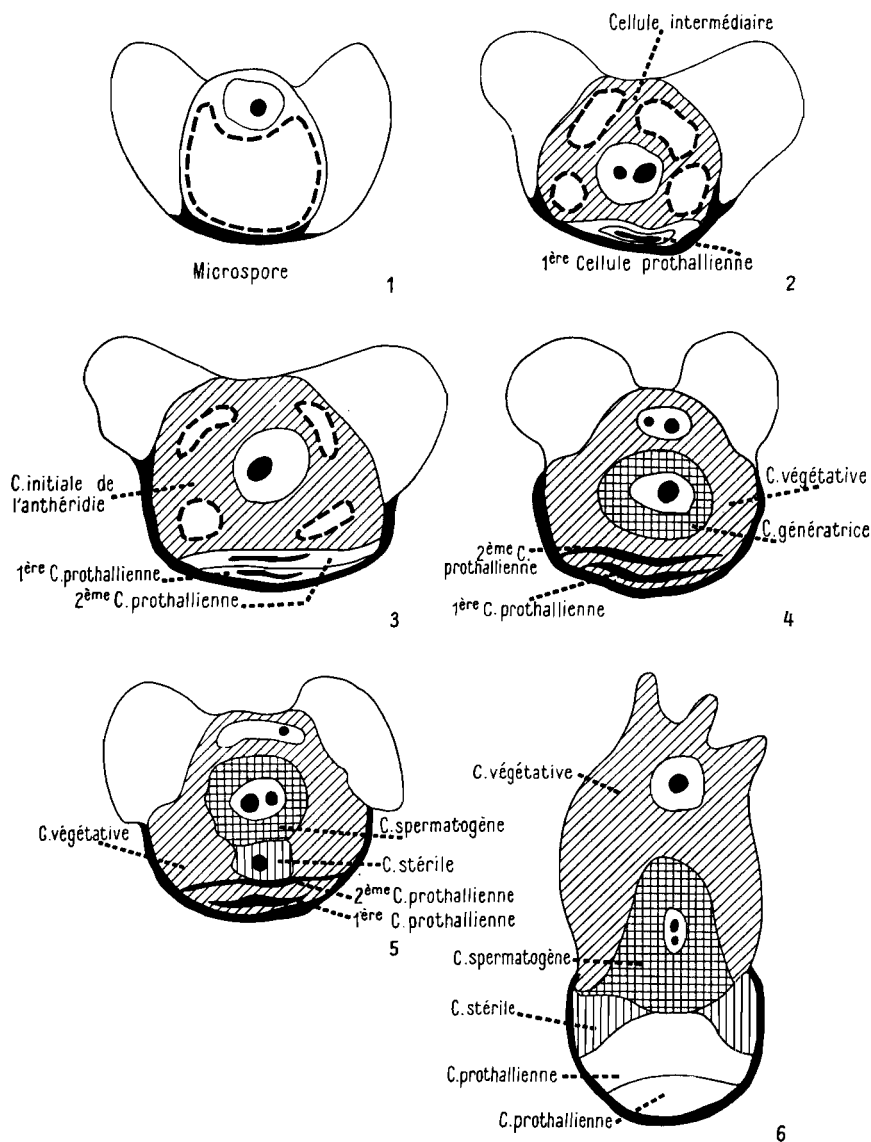


Fig. 1. Schémas du développement du gamétophyte mâle des Gymnospermes.

Taxus et *Juniperus*). Au contraire, dans le cas de beaucoup le plus habituel, l'individualisation du matériel reproducteur s'effectue avant l'anthèse, à l'intérieur du microsporang, la formation de la cellule spermatogène primordiale, ou *cellule génératrice*, étant précédée de la séparation d'une ou de deux cellules prothalliennes.

Lorsque ces dernières s'individualisent, le grain de pollen est généralement considéré comme un gamétophyte mâle composé d'une portion somatique, qu'elles représentent, et d'une anthéridie parvenue à un stade variable de son développement. Lorsqu'elles ne se forment pas, il est interprété comme un prothalle mâle, réduit à sa portion fertile ou anthéridiale. La microspore fait alors directement fonction d'initiale de l'anthéridie. Par la suite, celle-ci se partage en une cellule végétative, destinée à fournir le tube pollinique, et considérée à juste titre comme l'équivalent des cellules pariétales de l'anthéridie (EMBERGER 1949), et en une cellule génératrice, qui n'est autre que la cellule spermatogène primordiale. Chez toutes les Gymnospermes cette dernière subit deux séries de mitoses successives. La première division donne une cellule spermatogène de second ordre, appelée à donner naissance aux deux gamètes, et un second élément, souvent nommé cellule-socle (*stalk-cell*), mais qui répond plus justement au nom de *cellule stérile*, puisqu'elle représente en réalité une cellule spermatogène rendue stérile par les conditions morphogénétiques régnant à l'intérieur du grain de pollen. La deuxième mitose spermatogène ne se produit en effet que dans la cellule-sœur et individualise deux cellules spermatiques identiques ou différentes l'une de l'autre.

Structure de la microspore ; formation et destin des cellules prothalliennes

Selon les ordres et les familles, il se forme une ou deux cellules prothalliennes, éventuellement susceptibles de subir des mitoses secondaires. Ces différentes possibilités se répartissent de la façon suivante :

2 cellules prothalliennes :

l'une dégénérant avant l'anthèse, l'autre persistante :

Ginkgoales

Coniférales : Podocarpaceae

Araucariaceae (?)

dégénérant toutes deux avant l'anthèse :

Coniférales : Pinaceae

Gnétales : *Ephedra*

1 cellule prothallienne persistante :

Cycadales

Gnétales : *Gnetum* (?)

Pas de cellules prothalliennes :

Coniférales : Sciadopitaceae

Taxodiaceae

Cupressaceae

Taxaceae

Cephalotaxaceae

Gnétales : *Gnetum* (?) et *Welwitschia*

Ces cellules prennent naissance au cours de divisions inégales qui affectent le contenu de la microspore unicellulaire. Ces divisions sont toujours antérieures à l'anthèse. Elles ont peu retenu l'attention des auteurs,

et nous ne possédons sur elles et sur les stades qui les précèdent que des renseignements isolés.

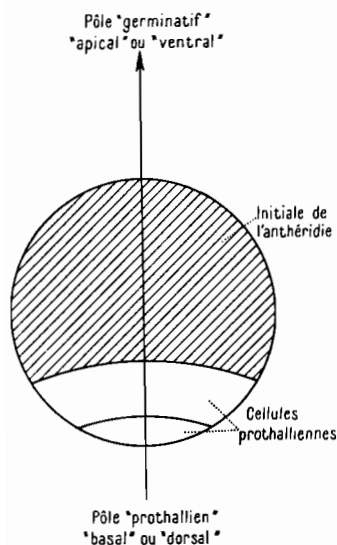
Leur allure et leur résultat indiquent pourtant qu'elles sont nécessairement précédées d'une polarisation de la microspore, polarisation particulièrement durable puisque, contrairement à ce qui se passe chez les Ptéridophytes, toutes les divisions au cours desquelles va se constituer la portion fertile du gamétophyte mâle des Gymnospermes sont de nature différencielle et semblablement orientées. En fait, les auteurs qui ont rapporté des observations ayant trait à ce phénomène ont mis en évidence, volontairement ou non, l'existence d'une telle polarisation de la microspore.

Ainsi, CHAMBERLAIN (1909) signale que chez le *Dioon edule* l'exine est plus épaisse dans la région basale de la spore, où s'individualise une cellule prothallienne lenticulaire, et plus fine dans la région opposée, d'où émergera le tube pollinique. Chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), l'exine n'est doublée par l'intine que dans la portion basale du grain, correspondant elle aussi au pôle prothallien. Chez cette même espèce LEE (1955) indique que le noyau quitte le centre de la cellule au début de la première division pour gagner ce même pôle où la division se termine en donnant naissance à deux cellules très inégales. Un semblable déplacement du noyau est signalé par JOHRI (1936), chez le *Cedrus*

Fig. 2. Formation des cellules prothalliennes.

deodora. Quant à l'orientation de la polarité de la microspore, MIYAKE et YASUI (1911) précisent que, chez le *Pseudolarix Kaempferi*, la cellule prothallienne se forme sur le côté dorsal de la microspore (Fig. 2), disposition qui peut être considérée comme universelle tant qu'elle n'aura pas été infirmée par une étude appropriée. GOEBEL (1933) admet également la généralité de cette disposition.

D'autres données rendent compte de la polarisation de la cellule en division au moment de la formation des éléments prothalliens. Plusieurs auteurs (WANG 1948, chez le *Keteleeria evelyniana* ; COKER 1902, chez le *Podocarpus coriacea*) rapportent l'existence de fuseaux asymétriques. WANG indique aussi que les phénomènes télophasiques sont particulièrement précoces dans la première cellule prothallienne, dont le noyau se met tout aussitôt à dégénérer. MIYAKE et YASUI signalent que pendant l'anaphase de ces divisions, les deux lots chromosomiques ont un aspect franchement différent l'un de l'autre chez le *Pseudolarix Kaempferi*. HUTCHINSON (1915 a et b) chez le *Picea canadensis* et l'*Abies balsamea*, JOHRI (1936) chez le *Cedrus deodora* et MULLER-STOLL (1948) chez le *Larix europea*, constatent que la perturbation accidentelle de l'axe de la première division provoque une évolution aberrante des cellules-filles qui, dans le cas où cet axe est



déplacé de 90°, peut aller jusqu'à la formation de grains doubles constitués de deux cellules anthéridiales identiques.

NEMEC (1910) a pu provoquer l'apparition de telles anomalies en soumettant le pollen à l'action du chloroforme. Enfin, dans le pollen des Conifères dépourvues de cellules prothalliennes, cette polarisation est aussi strictement déterminée et repérable grâce à la fixité de l'emplacement du point de rupture de l'exine (BRANDSCHEIDT 1939).

Les renseignements cytologiques relatifs aux stades qui précèdent l'individualisation des cellules prothalliennes sont peu nombreux. Il semble qu'en règle générale la majeure portion du grain de pollen immature soit occupée par l'élément vacuolaire, sous forme d'une grande poche centrale qui refoule le noyau contre la paroi (DANGEARD 1923 : *Taxus baccata*, *Cupressus*, *Biota*). Puis cette vacuole se fragmente et le pollen mûr est empli d'un cytoplasme creusé de nombreuses sphérules vacuolaires, disposées côte à côte, et entourant le noyau désormais situé en position centrale. Mais ces données ne concernent que des genres chez lesquels des cellules prothalliennes ne se forment pas. Chez le *Cephalotaxus* (FAVRE-DUCHARTRE 1957), les microspores comportent ainsi un noyau central entouré de volumineux grains d'amidon, de vacuoles globuleuses colorables par le rouge neutre et de petits granules lipidiques. Le noyau ne se divise qu'un mois après l'acquisition de cette structure, juste avant l'anthèse.

Chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), on distingue dans le cytoplasme de la microspore des vacuoles ramifiées filamenteuses, également colorables par le rouge neutre, et des grains d'amidon arrondis qui régressent peu à peu au cours de la maturation. COKER (1902) décrit aussi de l'amidon dans le pollen du *Podocarpus coriacea*. Cet amidon disparaît juste avant l'anthèse, après la formation de la cellule génératrice. Chez le *Larix Dahurica* (PROSINA 1928), la jeune microspore contient des mitochondries rassemblées autour du noyau. Parmi celles-ci des grains un peu plus gros que les autres se transforment progressivement en amyloplastides. Ces stades de transition sont particulièrement nombreux au moment des première et deuxième divisions du pollen, au cours desquelles ces éléments figurés se répartissent dans tout le territoire cellulaire. D'après les dessins de l'auteur, un certain nombre d'entre eux sont inclus dans les cellules prothalliennes.

Quant à la constitution de ces dernières, la discrétion des auteurs à ce sujet est encore plus grande. Elles sont de forme lenticulaire; quelques indications inclinent à penser qu'elles sont séparées de la cellule-sœur par un phragmoplaste courbe, cet état de choses étant probablement lié à une asymétrie fusoriale. Par la suite, selon les espèces, la cloison de séparation est de nature cellulosique (*Saxegothaea* NOREN 1908 ; *Microcachrys*, THOMPSON 1909) ou non (*Podocarpus coriacea*, COKER 1902 ; *Phyllocladus*, YOUNG 1910).

Le destin et l'évolution des cellules prothalliennes sont également fort variables.

Chez les Cycadales, l'unique cellule prothallienne est persistante. Lors de la germination du tube pollinique, elle demeure encastrée dans la mem-

brane pollinique entre l'exine et la cellule génératrice, puis, après la division de cette dernière, entre l'exine et la cellule stérile. Plus tardivement, elle grossit de façon appréciable et vient faire saillie dans la cellule stérile, si bien que leurs deux noyaux se trouvent souvent au même niveau (CHAMBERLAIN 1909, chez le *Dioon edule* ; BAIRD 1939, chez le *Macrozamia Reidlei* ; SWAMY 1948, chez le *Cycas circinalis*, etc.). Mais les auteurs ne donnent aucune précision sur le comportement ultérieur de ces deux éléments pendant la dernière phase de la pollinisation, lorsque l'extrémité prothallienne du tube se développe à son tour.

Même absence de renseignements complets chez le *Ginkgo*, chez lequel une première cellule prothallienne ou cellule basale avorte avant l'anthèse. La seconde ou *cellule-pied* évolue d'une façon assez semblable à celle de la cellule prothallienne des Cycadales. Elle est fortement turgescence et comprime la cellule stérile ou socle, qui finit même par se trouver réduite à un anneau écrasé entre le pied et la cellule spermatogène. FAVRE-DUCHARTRE indique que son noyau, de structure réticulée avec chromocentres granuleux, est entouré de grains d'amidon comme celui des autres cellules du tube pollinique, à l'exclusion du noyau spermatogène. La cellule-pied contient en outre des granulations lipidiques colorables par le noir Soudan. Elle continue à s'accroître et s'étend hors de la membrane pollinique, pendant que la cellule spermatogène se prépare à la division qui individualisera les deux gamètes (LEE 1955).

Chez les Coniférales, les cellules prothalliennes n'existent que dans les familles du premier groupe ; elles ont d'ailleurs un comportement très différent selon qu'il s'agit des Araucariaceae et Podocarpaceae d'une part, ou des Pinaceae de l'autre.

Chez l'*Araucaria brasiliensis*, BURLINGAME (1915) signale simplement que le tube pollinique comprend, en plus de la cellule spermatogène, un grand nombre de noyaux tous semblables. L'un de ceux-ci représenterait le noyau de la cellule prothallienne qui serait donc libéré dans le tube pollinique, à la manière de ce qui se passe chez les Podocarpaceae.

Dans cette famille, en effet, les cellules prothalliennes ne sont pas toujours limitées par des cloisons cellulósiques et leur noyau connaît un développement aussi important que celui de la cellule génératrice. Souvent cependant la première dégénère, tandis que le cytoplasme de la seconde vient se confondre avec celui du tube, dans lequel son noyau se trouve libéré, après s'être ou non divisé par amitose. Exceptionnellement, elle peut d'ailleurs évoluer de façon comparable. Après leur libération, les noyaux prothalliens deviennent beaucoup moins denses et leur aspect se rapproche de celui du noyau végétatif. Tel est le comportement du *Podocarpus coriacea*, d'après COKER (1902). Chez le *Phyllocladus* (YOUNG 1910), la première cellule prothallienne dégénère très vite ; elle est, comme la seconde, entourée d'une cloison cellulósique. Le deuxième noyau prothallien serait libéré dans le tube pollinique au moment de la germination de ce dernier.

Chez les Pinaceae, pourtant réputées comme différenciant deux cellules prothalliennes persistantes, on observe aussi une grande variabilité. Dans

le cas le plus général, les deux cellules avortent dès leur formation et, dans le grain de pollen mûr, on les trouve écrasées contre la membrane (*Picea*, MIYAKE 1903 ; *Pseudolarix*, MIYAKE et YASUI 1911 ; *Pseudotsuga*, LAWSON 1909 et ALLEN 1943 ; *Cedrus deodora*, JOHRI 1936 ; *Keteleeria*, WANG 1948). Eventuellement les restes des cellules dégénérées peuvent se détacher de la paroi et se trouver immergés librement dans le cytoplasme pollinique ; néanmoins, ils demeurent toujours à proximité du pôle prothallien. Mais chez certains genres la formation des cellules prothalliennes est très fluctuante : ainsi chez le *Picea canadensis* (HUTCHINSON 1915 a), elles peuvent ne pas se différencier, ou bien il peut ne s'en former qu'une seule, ou bien encore on en trouve deux, dont l'évolution est d'ailleurs plus ou moins aberrante à la suite de la perturbation de la polarité normale des microspores.

Chez les Gnétales, le comportement du genre *Ephedra* est peu différent de celui des Pinaceae. La première division individualise une cellule prothallienne à l'extrémité la plus étroite de la microspore ; cette cellule est limitée par une paroi bien définie. La seconde division produit une cellule adjacente, beaucoup moins bien délimitée. L'une et l'autre ont déjà dégénéré dans le pollen mûr et disparaissent totalement peu de temps après la germination du tube pollinique.

Dans les genres *Gnetum* et *Welroitschia*, le pollen mûr ne contient que trois noyaux. PEARSON pensait que l'un d'eux représentait un noyau prothallien, opinion qui fut réfutée par THOMPSON (1916) chez le *Gnetum* et, sur un plan plus théorique, par BATTAGLIA (1951). Dans ces deux genres, les divisions prothalliennes seraient donc supprimées comme dans le second groupe des Coniférales. Mais, d'après NEGI et LATA (1957), le pollen mûr du *Gnetum ula* et du *G. gnemon* serait constitué d'une cellule prothallienne, d'une cellule végétative et d'une cellule spermatogène ; ce serait la première division spermatogène qui se trouverait supprimée.

En résumé, les cellules prothalliennes apparaissent bien comme des structures vestigiales dont l'évolution peut être ramenée à trois types principaux : dégénérescence pure et simple, telle qu'on l'observe pour la cellule basale du *Ginkgo* et pour les cellules prothalliennes des Pinaceae et de l'*Ephedra* ; persistance et libération à l'intérieur du tube pollinique, comme chez les Araucariaceae, les Podocarpaceae et peut-être le *Gnetum* ; persistance sous forme d'une cellule individualisée susceptible de pendre une certaine expansion et de maintenir ses caractères propres pendant toute la durée de l'existence du gamétophyte mâle, comme cela se passe pour la seconde cellule prothallienne du *Ginkgo* et pour celle des Cycadales.

Première phase de la gamétogénèse mâle : individualisation du matériel gamétique sous forme de la cellule génératrice ou cellule spermatogène primordiale

Après l'élimination éventuelle des cellules prothalliennes, la portion la plus importante du grain de pollen est constituée par la cellule initiale de l'antheridie qui a conservé la structure cytologique de la microspore unicellulaire. Cette structure continue à évoluer jusqu'à l'anthèse : géné-

ralement l'amidon disparaît, tandis que se parachève l'édification de la membrane sporale et que la dessiccation provoque la régression et la fragmentation progressive du vacuome, à un degré d'ailleurs fort variable selon les espèces. Par rapport à ces phénomènes qui marquent le terme de la sporogénèse, la division nucléaire et la ségrégation du matériel reproducteur constituent le premier acte de la gamétogénèse.

a) Division de la cellule initiale de l'anthéridie

Dans la très grande majorité des cas, la cellule génératrice est constituée avant l'anthèse. Sinon, sa formation est reportée au moment de la germination du pollen (*Cupressus*, *Widdringtonia*, *Juniperus* et *Taxus*). OTTLEY (1909) indique que chez le *Juniperus* elle n'interviendrait qu'une quinzaine de jours après la pollinisation; chez le *Taxus*, elle pourrait être retardée jusqu'au vingtième jour, bien que se produisant normalement 2 ou 3 jours après l'anthèse. Dans tous les autres genres de Gymnospermes, la division de l'initiale de l'anthéridie a lieu à l'intérieur du microsporange, à une date variant avec les espèces et avec les conditions atmosphériques du moment. Chez le *Cryptomeria japonica*, LAWSON (1904 b) l'a observée 4 à 5 semaines avant la dispersion du pollen; chez le *Macrozamia Reidlei* (BAIRD 1939), elle devance l'anthèse d'une quinzaine de jours, tandis que chez le *Dioon edule* elle lui est immédiatement antérieure. Il en serait de même chez le *Ginkgo* et le *Pseudotsuga*. Tantôt cette division suit de peu la formation des cellules prothalliennes (*Keteleeria evelyniana*, WANG 1948), tantôt il s'écoule auparavant un temps de latence (un mois environ chez le *Macrozamia* étudié par BAIRD), pendant lequel le volume du grain de pollen peut s'accroître considérablement (*Picea canadensis*, HUTCHINSON 1915 a).

La division de l'initiale de l'anthéridie est orientée comme les divisions prothalliennes selon l'axe polaire du grain de pollen; cette orientation est fixe et repérable, même chez les Coniférales et les Gnétales dépourvues de cellules prothalliennes. La cellule génératrice se différencie au pôle prothallien ou basal, et la cellule végétative au pôle apical. Sur la mitose elle-même, on ne connaît que peu de détails. La prophase semble normalement précédée d'une augmentation du volume nucléaire (*Taxodium distichum*, COKER 1903). La métaphase est typique, avec des chromosomes nettement plus longs que les chromosomes méiotiques (*Ibid.*), et il semble que seul le mécanisme fusorial montre des caractères originaux, particuliers à ce type de division inégale et différencielle. Chez le *Picea canadensis*, HUTCHINSON précise en effet que le fuseau est peu marqué en anaphase et que, par la suite, sa substance se masse autour du noyau générateur, tandis qu'une plaque cellulaire courbe se forme au niveau de l'équateur. Chez le *Podocarpus coriacea* (COKER 1902), le fuseau est asymétrique comme celui des deux divisions prothalliennes.

Les processus de cytotinèse sont, eux aussi, mal connus. HUTCHINSON pense que lorsque la plaque cellulaire n'est pas visible, ce qui se produit dans certains cas, la délimitation entre cytoplasme générateur et cytoplasme végétatif s'effectue à l'extrémité des fibres fusoriales, en quelque sorte détachées du noyau végétatif. Chez le *Cedrus deodora*, JOHRI (1936)

signale le dépôt d'un phragmoplaste éphémère qui disparaît presque aussitôt. Une telle plaque cellulaire évanescence est également connue chez le *Gnetum* (PEARSON 1929), après quoi les deux noyaux-fils se trouveraient libres dans le cytoplasme général. Pourtant, il semble qu'il s'agisse ici d'un cas exceptionnel (en admettant que cette affirmation soit exacte), et la plupart des auteurs s'accordent à admettre que le noyau générateur est entouré d'un cytoplasme propre, limité au moins par une membrane cytoplasmique.

Chez le *Taxodium distichum*, COKER (1903) indique que cette membrane ne contient pas de cellulose. Les botanistes ayant observé les Coniférales du second groupe estiment aussi que noyau générateur et noyau végétatif sont séparés par une telle membrane cytoplasmique (*Sequoia*, *Cryptomeria*, *Cunninghamia*, *Torreya*, etc.).

b) Structure de la cellule génératrice

Tandis que la cellule végétative conserve les caractères de l'initiale de l'anthéridie et ne subira de modifications notables que lors de sa transformation en tube pollinique, la cellule génératrice acquiert de prime abord un faciès nouveau qui s'affirmera à travers les générations cellulaires qui en seront issues, jusqu'à ce que soit réalisée la structure caractéristique des éléments spermatiques.

La cellule génératrice elle-même n'a qu'une existence limitée. Avant ou après l'anthèse, elle est en effet affectée par une nouvelle division inégale qui détache de la cellule spermatogène un noyau stérile entouré d'une petite quantité de cytoplasme (cf. Tableau 2). Mais, auparavant, la cellule génératrice fait preuve d'une évolution originale dont on peut glaner les différents traits dans les descriptions monographiques des auteurs.

Tout d'abord, la cellule génératrice est-elle toujours individualisée en tant que telle? Certaines observations, concernant surtout les Coniférales du second groupe, permettraient d'en douter. BUCHHOLZ (1939), comme LAWSON (1904 a), chez le *Sequoia*, paraissent considérer que le pollen de cette espèce renferme deux noyaux nus (le noyau végétatif et le noyau générateur) dans un cytoplasme commun; et nombre d'auteurs anciens sont du même avis. Pourtant il paraît bien plus probable que la situation réelle soit celle décrite par COKER (1903) chez le *Taxodium distichum*: le grain de pollen renferme ici une cellule génératrice lenticulaire entourée d'une cloison distincte qui la sépare de la cellule végétative. Telle est aussi l'opinion générale des auteurs à propos de la cellule génératrice dans le pollen des autres groupes de Gymnospermes.

Le plus souvent, cette cellule est d'abord discoïdale, étroitement appliquée contre la membrane pollinique ou contre l'une des cellules prothalliennes lorsqu'elles existent (*Dioon edule*, CHAMBERLAIN 1909). Ce n'est qu'au moment de la germination du pollen qu'elle gonfle et, avant de se détacher de la paroi du grain, vient parfois faire hernie à l'intérieur du tube, comme FAVRE-DUCHARTE le décrit par exemple chez le *Ginkgo*.

La structure de la cellule génératrice semble traduire une importante activité synthétique: celle-ci se manifeste dans le noyau, dont le volume

augmente dans des proportions sensibles (*Taxodium distichum*, COKER 1903 ; *Sequoia sempervirens*, LAWSON 1904 a ; *Ginkgo*, FAVRE-DUCHARTRE 1955, etc.), et dans le cytoplasme dense qui l'entoure en quantité croissante. En effet, le noyau, primitivement plus petit et plus chromatique que le noyau végétatif, a reconquis un volume équivalent peu de temps après la fin de la division. Chez le *Chamaecyparis* et le *Cryptomeria japonica*, MULLER-STOLL (1948), qui a observé *in vivo* des cellules génératrices parfaitement individualisées, signale en outre le grand développement du nucléole. Quant au cytoplasme, il peut contenir de l'amidon (*Pseudotsuga Douglasii*, LAWSON 1909), ou en être dépourvu (*Cedrus deodora*, JOHRI 1936). Le vacuome y prend une consistance épaisse. Il est constamment malaxé par les mouvements cellulaires, ce qui lui confère souvent un aspect finement réticulé. Sa réaction, différente de celle des vacuoles du cytoplasme végétatif, est légèrement alcaline (DANGEARD 1923, chez le *Cephalotaxus*, le *Cupressus*, le *Biota*, etc.).

La cellule génératrice est limitée par une membrane plasmatique ne contenant pas de cellulose. D'après LAWSON, cette membrane disparaîtrait par la suite, mais le cytoplasme n'en demeurerait pas moins parfaitement distinct de celui du tube et reconnaissable à sa texture granuleuse (1904 b, chez le *Cryptomeria japonica*). La réalité de la disparition de cette membrane demanderait néanmoins à être vérifiée.

Primitivement encastrée dans le grain de pollen, entre le pôle prothallien et la cellule végétative, et soudée aux parois squelettiques des cellules voisines, la cellule génératrice, si elle ne se divise pas auparavant, s'arrondit, accentue la saillie qu'elle dessine dans le tube ou dans la cellule végétative, puis se détache complètement des parois attenantes et se trouve alors libérée dans le cytoplasme végétatif.

Deuxième phase : multiplication du matériel gamétique : les deux mitoses spermatogènes ; structure de la cellule spermatogène et de l'élément stérile

La division de la cellule génératrice se produit le plus souvent après la germination du pollen (Cycadales, Ginkgoales, Coniférales, à l'exception de 6 genres de Pinaceae). Les Gnétales et les genres *Abies*, *Picea*, *Keteleeria*, *Pseudolarix*, *Cedrus* et *Tsuga* sont pourtant le siège d'une accélération plus marquée des phénomènes de gamétogénèse et, chez ces végétaux, les divisions spermatogènes commencent avant même que le pollen soit émis hors des microsporanges.

Alors que chez les Ptéridophytes la première division spermatogène est marquée par le changement à 90° de l'orientation de l'axe mitotique, changement qui a pour résultat d'assurer une répartition égale des constituants nucléaires et cytoplasmiques entre les deux cellules-filles, chez les Gymnospermes, la division de la cellule génératrice s'effectue seulement dans une direction oblique par rapport à l'axe de polarité du gamétophyte (Fig. 3). En outre, sur les illustrations fournies par les auteurs, on constate que le fuseau mitotique est déporté, ce qui indique un déplacement antérieur du noyau générateur qui abandonne sans doute sa position centrale

avant la prophase. Il en résulte que les deux cellules-filles ont des potentialités différentes : l'une, la cellule basale, éventuellement accolée aux cellules prothalliennes a, comme elles, perdu toute capacité de se diviser ; c'est la *cellule stérile* ; l'autre, ou *cellule spermatogène*, poursuit seule une évolution normale et se partagera pour fournir les deux gamètes.

a) Première division spermatogène ou division de la cellule génératrice

Que cette division se produise avant ou après l'anthèse, elle intervient généralement avant que la cellule génératrice ne soit libérée dans le cytoplasme pollinique. Dans le cas le plus habituel, elle se déclenche peu de temps après la réhydratation du pollen arrivé sur les tissus femelles, la rupture de l'exine et l'émergence du tube. L'ensemble de ces phénomènes peut être précédé d'un temps de latence plus ou moins important.

Tel est entre autres le cas des Cycadales (*Macrozamia Reidlei*, BAIRD 1939 ; *Dioon edule*, CHAMBERLAIN 1909 ; *Cycas circinalis*, SWAMY 1948).

Par contre, chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), la cellule génératrice, après être sortie de la calotte de l'exine pour faire saillie à l'intérieur du tube végétatif lorsque celui-ci atteint une soixantaine de μ , ne se divise qu'un mois plus tard. Le noyau spermatogène reste ensuite au centre de la cellule, tandis que le noyau stérile, rejeté en direction de la cellule prothallienne, « participe à la constitution de la cellule-socle ».

Inversement, chez les six Pinaceae dont la cellule génératrice se divise avant l'anthèse, les mitoses se succèdent à une cadence rapide et la cellule génératrice n'a qu'une existence très éphémère. Chez les autres Coniférales, sa division est liée à la germination du pollen. Malgré l'absence de données cytologiques précises, il est normal d'admettre que le processus mitotique est déjà amorcé avant la dispersion du pollen et se trouve seulement interrompu par la dessiccation qui accompagne les dernières phases de la sporogénèse, pour reprendre son cours à la germination, sitôt que les conditions hydriques redeviennent favorables. C'est ce qui se passe probablement chez le *Pseudotsuga* (LAWSON 1909), le *Sequoia sempervirens* et le *Cryptomeria japonica* (LAWSON 1904 a et b). Pourtant, chez d'autres espèces, la division de la cellule génératrice est plus tardive : chez le *Cunninghamia sinensis* (MIYAKE 1910), elle se produit pendant la croissance du tube dans les tissus nucellaires, et, chez le *Taxodium distichum* (COKER 1903), plusieurs semaines après la germination du pollen. Chez le *Taxus baccata*, elle intervient 10 jours après la germination du pollen cultivé *in vitro* (BRAND-

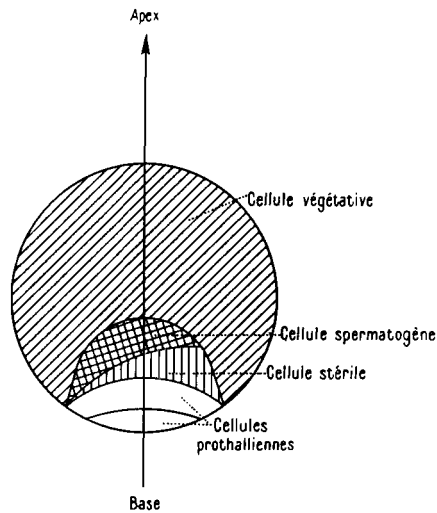


Fig. 3. Formation de la cellule spermatogène.

SCHEIDT 1939). Chez le *Cephalotaxus* et le *Juniperus*, le pollen hiberne dans l'ovule et la cellule génératrice ne se divise qu'au printemps qui suit celui où s'est effectuée la pollinisation.

On ne connaît aucune description détaillée de la division de la cellule génératrice, mais seulement quelques détails isolés. Par exemple, BURLINGAME (1915) figure, chez l'*Araucaria brasiliensis*, une télophase avec un fuseau très déporté, le noyau stérile se trouvant repoussé contre la fine membrane qui délimitait la cellule-mère. YOUNG (1910) dessine une division oblique chez le *Phyllocladus*. Il estime qu'il s'agit d'une division anticlinale et qu'il en serait de même chez le *Podocarpus*, le *Dacrydium* et le *Ginkgo*.

La division de la cellule génératrice des Gnétales n'a jamais été observée ; elle précède toujours la libération du pollen.

b) Structure et évolution de la cellule stérile

Au moment de leur formation les cellules stérile et spermatogène sont plus ou moins différentes selon les espèces. Tantôt elles sont de même taille (MIYAKE 1903, chez le *Picea excelsa*), ou renferment un cytoplasme de même nature, plus dense et plus granuleux que celui du tube (LAWSON 1909, chez le *Pseudotsuga Douglasii*) ; tantôt, et le plus souvent, la cellule stérile est plus petite que la cellule-sœur et réduite à l'élément nucléaire entourée d'une très petite quantité de cytoplasme, si bien que ce dernier est parfois passé inaperçu (*Sequoia*, BUCHHOLZ 1939 a et b, et LAWSON 1904 a ; *Cryptomeria*, LAWSON 1904 b).

Le comportement nucléaire offre la même fluctuation : le noyau stérile peut être d'abord plus gros que le noyau spermatogène (*Taxodium distichum*, COKER 1903 ; *Juniperus*, BELAJEFF 1893 ; *Cunninghamia sinensis*, MIYAKE 1910). Mais la relation de taille entre les deux noyaux peut aussi être inverse (*Sequoia* et *Cryptomeria*, LAWSON 1904 a et b ; *Picea vulgaris*, cité par COKER 1903 ; *Ephedra*, MEHRA 1950 b). Il semble que leur structure soit identique : réticulée, avec des chromocentres granuleux chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955) ; dense et compacte, avec la même structure interphasique typique chez l'*Ephedra* (MEHRA 1950 b) ; très chromatique dans les deux noyaux impossibles à discerner l'un de l'autre chez le *Cephalotaxus drupacea* (FAVRE-DUCHARTRE 1957).

Quant au cytoplasme des deux cellules, il peut aussi présenter des différences qualitatives : chez le *Widdringtonia*, SAXTON (1910) indique que celui de la cellule stérile se colore en orange, tandis que celui du tube devient violet et celui de la cellule spermatogène rouge, après utilisation de la triple coloration de Flemming. Chez le *Picea excelsa* (MIYAKE 1903), le cytoplasme stérile est vacuolisé et retient peu les colorants, contrairement à celui de la cellule spermatogène qui est plus dense et intensément chromophile.

Par ailleurs, les cellules stérile et spermatogène sont séparées et limitées par une membrane plasmatique ne contenant pas de cellulose (*Pseudotsuga*, LAWSON 1909 ; *Phyllocladus*, YOUNG 1910 ; *Taxodium*, COKER 1903). Dans certains genres, on a signalé simplement un noyau stérile englobé dans le cytoplasme de la cellule spermatogène, ce qui sous-entend que la division de la cellule spermatogène serait incomplète, la mitose n'étant pas suivie

de cytokinèse. Il est possible qu'un tel état de fait caractérise certains groupes (Coniférales du groupe II, Gnétales?). Mais les études qui leur ont été consacrées sont trop incomplètes pour permettre d'adopter une opinion valable et, dans ce cas comme dans celui de la cellule génératrice, l'existence et la nature des membranes limitantes de la cellule demanderaient à être réexaminées.

La cellule stérile est donc primitivement découpée dans la cellule-mère (cellule génératrice). Comme cette dernière, et comme la cellule spermatogène, elle a tendance à s'arrondir, à se séparer des éléments voisins, et à se trouver ainsi libérée dans le cytoplasme végétatif. Néanmoins, elle reste généralement accolée à la cellule-sœur dans laquelle elle peut même demeurer encastrée pendant un temps plus ou moins long.

D'après les rares indications données par les auteurs, la cellule stérile paraît avoir une structure cytologique intermédiaire entre celle de la cellule spermatogène et celle des cellules prothalliennes. De même que ces dernières, dans certains genres, se trouvent finalement immergées de toutes parts dans le cytoplasme pollinique, et y perdent leur individualité, de même, le destin de la cellule stérile est de se voir privée de ses limites et de son cytoplasme propre, son noyau demeurant attaché au cytoplasme spermatogène, puis rejoignant le noyau du tube au sein du cytoplasme végétatif. Auparavant, la cellule stérile ébauche une évolution qui ressemble davantage à celle de la cellule spermatogène. En effet, elle commence par accroître son volume, tandis que le noyau gonfle également et subit des remaniements structuraux sur lesquels on ne possède malheureusement que des renseignements très insuffisants. Ces phénomènes, bien qu'assez uniformes dans leur ensemble, se présentent sous un aspect légèrement différent suivant les groupes.

Chez les Cycadales et le *Ginkgo*, la cellule stérile est progressivement envahie par une cellule spermatogène qui fait saillie à l'intérieur, et la rejette sur le côté avant même que tous ces éléments aient commencé à émigrer dans le tube. Il n'en demeure pas moins que la cellule stérile augmente d'abord de volume en même temps que la cellule-sœur (CHAMBERLAIN 1909; FAVRE-DUCHARTRE 1955; LEE 1955).

L'augmentation de taille de la cellule stérile et de son noyau a d'ailleurs été notée par un grand nombre d'auteurs : LAWSON 1909, chez le *Pseudotsuga Douglasii*; MIYAKE 1903, chez le *Picea excelsa*; LAWSON 1904 a et b, chez le *Sequoia* et le *Cryptomeria*, etc. Dans le noyau, MIYAKE signale d'abord la présence de plusieurs nucléoles. Puis le noyau gonfle, s'arrondit, et l'on n'y distingue plus qu'un nucléole unique et volumineux qui se pulvérise bientôt en un certain nombre de granules. BELAJEFF (1891) décrit aussi un gros nucléole très colorable dans tous les noyaux contenus dans le tube pollinique du *Taxus baccata*. De façon générale, tous les auteurs indiquent que l'augmentation de volume de la cellule stérile offre moins d'ampleur que celle de la cellule spermatogène, si bien que l'élément stérile finit par prendre l'aspect d'une simple annexe de cette dernière.

Quoi qu'il en soit, tôt ou tard, l'ensemble formé par la cellule spermatogène et le noyau stérile, entouré ou non de cytoplasme, se trouve libéré

dans le cytoplasme pollinique et s'engage dans le tube à la suite du noyau végétatif.

Le moment où la cellule stérile perd son cytoplasme est probablement variable selon les espèces : très précoce chez le *Sequoia*, chez lequel BUCHHOLZ (1939) et LAWSON (1904 a) ont décrit des noyaux stériles libres, plus tardif chez le *Picea excelsa*, où le noyau stérile est encore entouré de cytoplasme lors de son déplacement dans le tube. On ignore comment ce cytoplasme disparaît; d'après SAXTON (1910), chez le *Juniperus*, il se confondrait simplement avec celui du tube. Mais il est possible aussi qu'il soit progressivement réduit par épuisement, la cellule étant dépourvue de toute aptitude à en synthétiser de nouveau.

Le plus souvent, l'élément stérile demeure accolé à la cellule spermatogène, à la suite de laquelle il pénètre dans le tube pollinique. Mais il la dépasse en cours de route (LAWSON 1909, chez le *Pseudotsuga Douglasii*; FERGUSON 1901, chez le *Pinus silvestris*; MIYAKE 1903, chez le *Picea excelsa*). Pourtant, chez le *Gnetum africanum* (WATERKEYN 1954), le noyau stérile est caractérisé par un comportement spécial : il est de prime abord en dégénérescence pycnotique et demeure à la base du tube pollinique, dans la portion incluse dans la membrane du grain de pollen. (Néanmoins, d'après NEGI et LATA 1957, il s'agirait non pas du noyau stérile, mais d'une cellule prothallienne.) Chez nombre d'espèces, le noyau stérile se détache ensuite de la cellule spermatogène et va rejoindre le noyau végétatif à l'apex du tube (*Taxodium distichum*, COKER 1903; *Cunninghamia sinensis*, MIYAKE 1910; *Cephalotaxus Fortunei*, COKER 1907). Mais chez d'autres, il lui reste accolé jusqu'à la formation des gamètes mâles (*Picea excelsa*, MIYAKE 1903; *Sequoia sempervirens* et *Cryptomeria japonica*, LAWSON 1904 a et b; *Chamaecyparis pisifera*, SUGIHARA 1938). Chez le *Taxus baccata*, le *Juniperus*, le *Thuja* et le *Torreya taxifolia* (BELAJEFF 1891; LAND 1902; COULTER et LAND 1905), la cellule spermatogène, le noyau stérile et le noyau végétatif sont tous trois accolés et constituent un « groupe voyageur » qui se déplace à l'intérieur du tube pollinique. Finalement, il est de règle que le destin du noyau stérile soit lié à celui du noyau végétatif. Il adopte la structure de ce dernier dès sa libération dans le cytoplasme pollinique et dégénère en même temps que lui.

e) Structure et évolution de la cellule spermatogène

La cellule spermatogène hérite des caractères cytologiques de la cellule génératrice et continue à se différencier dans le même sens que cette dernière. La situation et l'orientation du noyau générateur en mitose font qu'elle se trouve formée par la majeure partie du cytoplasme de la cellule-mère et localisée vers le pôle apical, entre la cellule végétative et la cellule stérile. Cette disposition n'a d'ailleurs qu'une valeur théorique, puisque, chez certaines espèces, la cellule génératrice est libérée dans le tube pollinique dès avant sa division et se trouve alors entourée de toutes parts par le cytoplasme végétatif. Il n'en demeure pas moins que la cellule spermatogène se différencie toujours vers l'apex du tube et la cellule stérile vers la base.

La cellule spermatogène a généralement une existence assez longue, au cours de laquelle sa structure évolue de plus en plus vers l'organisation typique des gamètes mâles. Chez les Gymnospermes zoidogames, c'est dans cet élément qu'apparaît l'ébauche de l'appareil cinétique. La différenciation de cet organite, se rattachant directement aux phénomènes qui marquent la dernière phase de la spermatogénèse, sera étudiée plus loin, lors de l'étude de la différenciation des cellules mâles.

Les caractères cytologiques de la cellule spermatogène sont assez mal connus. Plusieurs auteurs ont mentionné l'absence de membrane définie autour de cette cellule, ainsi que son aptitude à se laisser modeler par les constituants environnants, par exemple au moment de son passage éventuel dans le tube pollinique (MIYAKE 1903, chez le *Picea excelsa*, et 1910, chez le *Cunninghamia sinensis*).

A propos du *Sequoia sempervirens* et du *Cryptomeria japonica*, LAWSON (1904 a et b) donne une interprétation fort curieuse de ses observations. Le noyau générateur, libre dans le cytoplasme général du tube, se diviserait pour fournir un noyau stérile et un noyau spermatogène, tous deux libres également, mais demeurant à proximité l'un de l'autre. Puis, le noyau spermatogène augmente de 3 à 4 fois son volume et s'entoure d'une zone cytoplasmique dense et granuleuse. Celle-ci se séparerait du tube par une membrane distincte, qui englobe l'amidon groupé au voisinage du noyau spermatogène. Le noyau stérile demeure attaché à ce cytoplasme. La présence d'amidon dans le cytoplasme spermatogène est d'ailleurs connue chez un certain nombre d'espèces. COKER (1903) la constate chez le *Taxodium distichum*; il y décrit aussi l'apparition de granules colorables par la safranine, et peut-être analogues aux vacuoles paranucléaires de la cellule spermatogène du *Ginkgo*.

Chez le *Cephalotaxus*, FAVRE-DUCHARTRE (1957) signale de l'amidon dans la cellule spermatogène qui, écrit-il, est entourée d'une membrane épaisse au moment de sa formation. Mais plus tard, au cours de la seconde année du développement du pollen, le cytoplasme spermatogène ne contient plus qu'un abondant chondriome, formé de très fines mitochondries uniformément réparties et de quelques granules sidérophiles.

Quant au noyau, LAWSON (1909) indique que celui du *Pseudotsuga* est pourvu de deux nucléoles très chromophiles; il est de structure réticulée à chromocentres. COKER (1903) mentionne aussi un gros nucléole dans le noyau spermatogène du *Taxodium distichum*. Chez le *Cunninghamia sinensis* (MIYAKE 1910), le noyau spermatogène, plus dilaté que le noyau stérile, renferme deux nucléoles moins volumineux, mais qui, par la suite, croissent de façon considérable et se déforment en constituant des amas aux contours irréguliers.

La cellule spermatogène est destinée à fournir directement les deux gamètes mâles. Chez les Cycadales et les Ginkgoales, elle demeure à la base du tube pollinique, portion qui s'ouvrira ultérieurement dans la chambre sous-archégoniale. Chez les autres Gymnospermes, le tube libère les gamètes mâles par l'extrémité opposée et la cellule spermatogène se déplace vers l'apex. Au cours de cette migration, elle augmente considé-

ablement de volume ainsi que son noyau ; en même temps, elle s'emplit d'un cytoplasme dense, tandis que, dans le noyau, après des transformations complexes (émiettement, etc.), les nucléoles se fusionnent en une masse unique, volumineuse, sphérique et intensément chromophile. Ces transformations sont corrélatives de la préparation à la dernière mitose spermatogène, au cours de laquelle seront individualisés les gamètes mâles.

d) Seconde et dernière mitose spermatogène ; formation des gamètes mâles
(le cas des Cycadales et du *Ginkgo* sera examiné ultérieurement)

La division de la cellule spermatogène en deux cellules spermatiques intervient plus ou moins tôt dans le développement du gamétophyte. C'est chez les Pinaceae et les Gnétales que cette division est la plus précoce. En effet, elle est déjà accomplie dans 10% des grains de l'*Abies*. Dans les grains restants, elle intervient dès la germination du pollen sur le micro-pyle.

Chez l'*Ephedra altissima* (BERRIDGE 1909), les deux gamètes mâles se forment à l'intérieur même du grain de pollen. Pourtant le pollen de quelques espèces, étudiées par MEHRA (1950 b), n'est constitué que de deux cellules prothalliennes évanescents et d'une grande cellule végétative, contenant une petite cellule spermatogène, à la périphérie de laquelle se trouve placé le noyau stérile. L'entrée en prophase et la division du noyau spermatogène ont lieu dès que le pollen se réhydrate, après avoir trouvé un substrat convenable (nucelle ou milieu de culture artificiel).

Dans nombre de Gymnospermes, la cellule spermatogène se divise pendant son déplacement dans le tube pollinique (*Picea excelsa*, MIYAKE 1903 ; *Pseudotsuga Douglasii*, LAWSON 1909 ; *Pseudotsuga taxifolia*, ALLEN 1943 ; *Sequoia sempervirens*, LAWSON 1904 a ; *Cupressus*, *Chamaecyparis*, etc.). Chez d'autres, cependant, la division de la cellule spermatogène se trouve retardée jusqu'à la fin de la croissance du tube pollinique et n'intervient que juste avant son ouverture (*Araucaria brasiliensis*, BURLINGAME 1915 ; *Sequoia sempervirens*, BUCHHOLZ 1939 b ; *Torreya taxifolia*, *Cephalotaxus*, etc.). Chez d'autres encore (tels le *Cupressus arizonica*, DOAK 1932, et les *Juniperus communis* et *virginiana*, OTTLEY 1909), cette division a lieu à un moment variable, soit pendant la croissance du tube, soit immédiatement avant la fécondation.

La division de la cellule spermatogène a été étudiée avec plus d'attention que celle de la cellule génératrice, car on s'est efforcé d'y rechercher des structures analogues aux blépharoplastes des Cycadales et du *Ginkgo*. En fait, on observe bien chez les Coniférales des transformations rappelant celles qui précèdent l'apparition de ces corpuscules chez les plantes zoïdogames ; mais ces transformations représentent seulement l'achèvement de celles qui sont amorcées dans la cellule initiale de l'anthéridie et qui se poursuivent dans la cellule génératrice et la cellule spermatogène ; elles ne s'accompagnent d'aucune différenciation d'un appareil cinétique, même à l'état rudimentaire ou vestigial.

Les auteurs ont accordé peu d'intérêt à l'orientation de cette dernière mitose spermatogène. Pourtant, il semble bien que le fait que les cellules

spermatiques soient identiques ou dissemblables dépende en partie de cette orientation, en partie de la position du noyau spermatogène au moment de sa division, en partie, enfin, de la structure du fuseau, qui est elle-même probablement déterminée par les deux facteurs précédents. C'est surtout dans le travail de MEHRA (1950 b) que l'on trouve quelques données précises à ce sujet. Pourtant, BRANDSCHEIDT (1939) note aussi que, chez le pollen du *Taxus baccata*, les trois divisions (1 anthéridiale et 2 spermatogènes) sont orientées de la même façon.

Les Gnétales sont caractérisées par des cellules spermatiques fort différentes l'une de l'autre (*Welwitschia*, certaines espèces d'*Ephedra* et de *Gnetum*) ou au contraire identiques (*E. foliata*, *E. sinica*). MEHRA a étudié la division de la cellule spermatogène de 6 espèces d'*Ephedra*, parmi lesquelles 4 forment des fuseaux hétéropolaires aboutissant à la constitution de gamètes mâles dissemblables. Chez ces 4 espèces, le fuseau, très fortement asymétrique, développe un pôle émoussé au contact du noyau stérile et un pôle aigu immergé dans le cytoplasme spermatogène. Le noyau en mitose est donc nettement déporté sur un côté de la cellule, et la division se fait selon un axe passant par le centre de ce noyau et par celui du noyau stérile. Cette orientation n'est pas différente, semble-t-il, de celle de la première mitose spermatogène au cours de laquelle s'individualisent aussi deux noyaux, puis deux cellules dissemblables : la cellule spermatogène et la cellule stérile.

Par ailleurs, la mitose semble se dérouler selon le schéma habituel. Chez le *Picea excelsa*, MIYAKE mentionne la présence d'un fuseau et d'un phragmoplaste. BUCHHOLZ (1939 b) indique que le fuseau est intranucléaire chez le *Sequoia sempervirens*. Un phragmoplaste sépare les deux noyaux-fils (LAWSON 1904 a). Ce dernier auteur constate également l'intervention d'un fuseau et d'une plaque cellulaire lors de la division de la cellule spermatogène du *Cryptomeria*. Puis la plaque cellulaire se clive, assurant ainsi la séparation des deux cellules-filles. Chez le *Taxodium distichum* (COKER 1903), la division est précédée de la fragmentation du nucléole qui apparaît entouré de granulations qui ne seraient pas de nature chromatique. Au contraire, juste avant la mitose, le noyau du *Cunninghamia sinensis* est pourvu d'un unique et volumineux nucléole : il s'allonge légèrement et l'on y voit un réseau bien marqué (MIYAKE 1910). Chez le *Cephalotaxus* étudié par COKER (1907), le noyau spermatogène est très excentré et, par la suite, les deux cellules spermatiques sont très inégales. Par contre FAVRE-DUCHARTRE (1957) décrit chez le même genre des cellules mâles égales, séparées par une membrane. Il fournit d'ailleurs de belles images de la prophase du noyau spermatogène (Fig. 4). Enfin, chez l'*Ephedra* (MEHRA 1950 b), le noyau spermatogène, qui, dans le pollen, a une structure interphasique typique, entre en prophase peu de temps avant la germination du pollen. On constate alors que la disposition des chromosomes est restée la même qu'au cours de la précédente télophase. Pendant l'anaphase, on distingue nettement le clivage et la spiralisation des chromosomes qui vont s'amasser à chacun des deux pôles : en télophase, les chromosomes se décontractent et acquièrent une structure chromomérique.

e) Anomalies

Pendant cette seconde période de la spermatogénèse, correspondant à la multiplication des gamètes, les exceptions et les anomalies consistent surtout en l'intervention de mitoses supplémentaires qui affectent l'une ou l'autre des cellules-mères des gamètes. Le phénomène est de règle chez

certaines espèces. Il est par exemple bien connu dans le genre *Cupressus*.

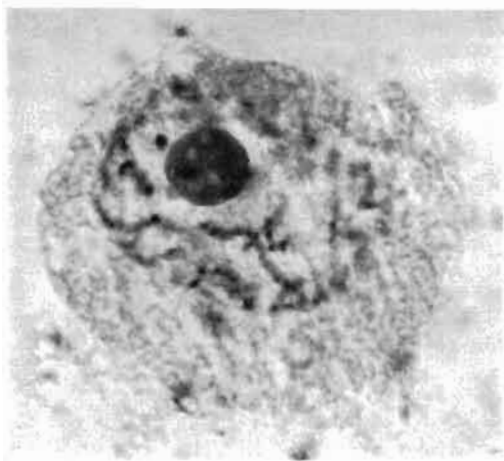


Fig. 4. Prophase du noyau de la cellule spermatogène chez *Cephalotaxus drupacea*. Helly ; Foulgen-vert lumière : $\times 1000$ (FAVRE-DUCHARTRE 1957.)

Chez le *Cupressus arizonica*, par exemple, la cellule stérile et la cellule spermatogène se différencient normalement, puis il s'intercale entre la différenciation de la cellule spermatogène et celle des cellules spermatiques une phase de multiplication qui peut être relativement importante, puisqu'on a compté ensuite jusqu'à 14 cellules spermatiques (probablement 16, correspondant à 3 séries de mitoses supplémentaires). Par ailleurs, le noyau stérile se divise égale-

ment en deux noyaux-fils. On observe un comportement analogue chez *C. Goveniana* (JUEL 1904), et *C. sempervirens* (SUGIHARA 1956).

Chez le *Cedrus deodora*, étudié par JOHRI (1936), il arrive que le noyau stérile se divise aussi, probablement par étranglement.

Troisième phase : différenciation des gamètes

CHAMBERLAIN (1910b) distinguait chez les Gymnospermes trois sortes de cellules spermatiques : les spermatozoïdes ciliés des Cycadales et du *Ginkgo*, les cellules mâles bien individualisées du groupe Taxodiaceae-Cupressaceae-Taxaceae-Cephalotaxaceae, et les gamètes moins nettement délimités des Abietaceae-Araucariaceae. Ces trois types de différenciation spermatique seront étudiés successivement.

a) Spermatozoïdes ciliés des Cycadales et du *Ginkgo*

La structure des spermatozoïdes ciliés des Gymnospermes offre beaucoup d'analogies avec celle des gamètes mâles multiflagellés des Ptéridophytes. Il est donc logique de penser que les processus de leur différenciation sont pour le moins comparables, et que, étant donnée la taille beaucoup plus importante des cellules mâles de ces Phanérogames primitives, certains problèmes demeurés non résolus chez les Mousses et les Fougères reçoivent leur solution d'une étude détaillée de la spermatogénèse des Gymnospermes. En fait, si certains détails, tels que l'évolution et le mode de croissance des cils, sont mieux connus dans ce groupe, il n'en reste

pas moins que des questions d'un intérêt primordial, telles que celle de l'origine des blépharoplastes, n'y ont pas non plus reçu de réponse définitive.

Chez les Gymnospermes, les blépharoplastes apparaissent, comme chez les Filicales, dans le cytoplasme de la cellule-mère des gamètes, c'est-à-dire dans celui de la cellule spermatogène. Mais on ne les a jamais observés sous forme d'un granule unique. Les stades les plus précoces montrent deux sphérules de taille réduite accolées au noyau (LEE 1955, chez le *Ginkgo*). Bientôt les deux grains se séparent et gagnent des positions diamétralement opposées. Ils sont d'abord situés en avant et en arrière de la cellule spermatogène, puis ils se déplacent de 90°, tandis que la cellule s'arrondit grâce à l'élargissement du tube (WEBER 1897 c ; CHAMBERLAIN 1916 ; SEDGWICK 1924 ; BAIRD 1939 ; LEE 1955). D'après SEDGWICK, les deux blépharoplastes de l'*Encephalartos* seraient engagés dans une invagination de la membrane nucléaire.

Pendant leur déplacement, les blépharoplastes augmentent de taille, se vacuolisent, et sont fréquemment le centre de convergence de stries cytoplasmiques. Chez le *Ginkgo*, ils se teintent très légèrement par le réactif de Feulgen (LEE 1955), et sont également sidérophiles, soudanophiles et colorables par la solution de Millon-Denigès (FAVRE-DUCHARTRE 1955). Au bout d'un certain temps (cette évolution dure plusieurs mois), leur contenu devient granuleux et ils prennent l'aspect d'une sphère corticale rigide, renfermant quelques gouttelettes. Ils atteignent alors 2 μ de diamètre.

L'évolution de la cellule spermatogène est particulièrement bien connue chez le *Ginkgo*, qui a fait l'objet de deux études récentes (FAVRE-DUCHARTRE et LEE). Après s'être isolé de la cellule stérile, cet élément prend un développement considérable. Son cytoplasme, abondant, est creusé de nombreuses petites vacuoles qui lui donnent un aspect spongieux. Il est parsemé de mitochondries granuleuses régulièrement réparties dans l'hémisphère apical où se trouve le noyau. Puis apparaissent des chondriosomes et, au moment de la formation des blépharoplastes, des leucoplastes. D'après WEBER (1897), la cellule spermatogène du *Zamia* serait emplie de petits grains d'amidon. La cellule est entourée d'une membrane mince, difficilement discernable, mais colorable par le rouge de ruthénium.

Le noyau spermatogène, globuleux, grossit également dans des proportions sensibles. Chez le *Ginkgo*, son diamètre passe ainsi de 7,5 à 20 μ . Corrélativement, la chromatine, représentée par un fin réseau porteur de très petits chromocentres, se délie de plus en plus. Chez l'*Encephalartos*, la forme du noyau est plus irrégulière, mais sa structure est analogue. Dans l'un et l'autre genre, il contient un ou deux volumineux nucléoles creusés d'importantes cavités.

Cependant, chez le *Ginkgo*, apparaissent entre le noyau et les blépharoplastes des sortes de vacuoles attenantes à ces derniers par leur pointe étirée. Elles sont emplies d'un coagulum fixant l'hématoxyline (LEE). FAVRE les considère comme un exsudat nucléaire. De son côté, le noyau devient totalement achromatique. LEE signale en outre la présence d'un granule de

nature inconnue, accolé au noyau, et qui se divise en même temps que la cellule spermatogène.

La mitose qui préside à la constitution des deux cellules spermatiques est de type normal. Les chromosomes récupèrent leur colorabilité en prophase : le nucléole et la membrane nucléaire disparaissent comme on le constate habituellement. Pendant la division les leucoplastes se groupent à proximité des pôles, près desquels sont également situés les deux blépharoplastes. Ceux-ci semblent alors se résoudre en plusieurs centaines de petits granules qui demeurent accolés les uns aux autres (CHAMBERLAIN 1916 ; SWAMY 1948 ; FAVRE-DUCHARTRE 1955). Pourtant WEBER (1901), qui avait proposé cette interprétation dès 1897, est revenu sur son opinion première et estime que la membrane des blépharoplastes ne se disloque pas, mais devient simplement moins colorable et s'étire en un ruban spiralé destiné à devenir la bande cilifère.

Après la division du noyau spermatogène, deux noyaux spermatiques se reconstituent rapidement. Chez le *Ginkgo*, ils contiennent deux ou trois petits nucléoles et redeviennent bientôt totalement achromatiques. Ils s'étirent en un appendice qui est attenant à la région occupée par le blépharoplaste, à la périphérie de la cellule. LEE précise que dans chaque spermatozoïde, la pseudo-vacuole émigre à la base du noyau auquel elle s'attache. La chromatine se diffuserait alors dans cet espace qui devient la tête du spermatozoïde. Chez le *Stangeria paradoxa* (CHAMBERLAIN 1916), pendant que la cellule spermatique augmente de taille, la plupart des granules blépharoplastiques s'allongent et se disposent en ligne. Les cils poussent tous d'un même côté sur la bande ainsi constituée. Au début, cette bande est irrégulièrement disposée et recourbée : puis, son orientation se régularise, si bien que tous les flagelles se trouvent dirigés vers la périphérie de la cellule. Ils percent le cytoplasme, après que la bande se soit rapprochée de la surface du protoplasme, et demeurent un moment comprimés par la paroi squelettique de la cellule-mère.

Chez le *Zamia integrifolia*, WEBER décrit un comportement analogue : le ruban spiralé issu du blépharoplaste s'accroche à la paroi limitante de la cellule. Le premier tour de spire est localisé à l'équateur : puis viennent 5 à 6 tours enroulés jusqu'au pôle antérieur. Les flagelles se développent à partir de protubérances apparues à la surface de la bande lorsqu'elle encercle à peu près la cellule. La bande devient de plus en plus étroite au fur et à mesure qu'elle s'étire. À maturité, elle n'est plus large que de 5 à 8 μ et se confond avec la membrane cellulaire qui dessine un renfoncement à son niveau. Cet auteur admet également que les cils percent la membrane ectoplasmique.

À maturité, le spermatozoïde du *Ginkgo* est nettement plus petit que celui des Cycadales. Sa taille ne dépasse pas 50 à 80 μ . Les flagelles pulseurs sont disposés suivant trois tours de spire situés autour de la partie postérieure du gamète. Le noyau occupe la plus grande portion de la cellule : il épouse les déformations de la surface cellulaire, provoquées, comme chez le *Zamia*, par l'encastrement de la bande cilifère au fond d'une sorte de gouttière. Dans le cytoplasme on ne peut plus distinguer aucun chon-

driosome : les plastes se vésiculisent de plus en plus et parfois disparaissent. Le noyau demeure totalement Feulgen-négatif et pourvu d'un nucléole mesurant de 5 à 6 μ .

Chez les Cycadales, les spermatozoïdes mûrs du *Stangeria paradoxa* mesurent 150 à 180 μ de diamètre (CHAMBERLAIN 1916) et sont constitués en grande partie par un noyau très dense, le cytoplasme étant réduit à une mince gaine qui contient la bande spiralée. Celle-ci dessine habituellement 5 à 6 tours : exceptionnellement, on a pu en compter jusqu'à 10. Les spermatozoïdes sont tout d'abord enfermés dans la cellule spermatogène : mais, bientôt, ils brisent sa paroi, et leurs flagelles se mettent à battre vigoureusement. Le spermatozoïde du *Macrozamia Reidlei* atteint 210 à 220 μ de diamètre (BAIRD 1939). Là aussi, le battement des cils serait responsable de la rupture de la paroi de la cellule-mère. Chez le *Cycas circinalis* (SWAMY 1948), les spermatozoïdes piriformes, mûs par une bande ciliée dessinant de 5 à 6 tours, seraient libérés tout d'abord dans la cellule végétative, par rupture et dissolution des parois des cellules spermatiques.

b) Cellules spermatiques du groupe Taxodiaceae-Cupressaceae-Taxaceae-Cephalotaxaceae

Sommairement, on trouve deux cellules spermatiques identiques dans le tube pollinique des Taxodiaceae et des Cupressaceae, tandis que chez les Taxaceae et les Cephalotaxaceae les deux gamètes mâles sont très différents l'un de l'autre. Cette règle souffre d'ailleurs des exceptions. Ainsi, chez le *Cephalotaxus Fortunei* (COKER, 1907), les deux cellules mâles sont dissemblables, alors que chez le *Cephalotaxus drupacea* (LAWSON 1097 : L'AVRE-DUCHARTRE 1957), le noyau de la cellule spermatogène se divise en deux noyaux spermatiques de même taille et de même structure.

En outre, il est normal de ne pas attacher une importance excessive à ce caractère d'identité ou de dissemblance des deux gamètes. Il présente en effet une variabilité assez prononcée : chez le *Taxus baccata*, par exemple, BRANDSCHEIDT (1939) a obtenu en culture des cellules mâles initialement identiques, tandis qu'elles sont notablement différentes l'une de l'autre dans les conditions normales (BELAJEFF 1891 : DUPLER 1917). Cette observation met en valeur l'influence des tissus femelles sur la différenciation du tube pollinique et des cellules qu'il renferme. Pourtant ces cellules, primitivement identiques, évoluent ensuite différemment, indiquant par là même que les conditions de milieu ne sont pas seules responsables de l'inégalité de la dernière division spermatogène et de l'aspect des deux gamètes, mais que l'une et l'autre sont aussi sous la dépendance de facteurs génétiques qui peuvent caractériser certaines espèces ou certains groupes.

On connaît aussi, chez les Gnétales, l'exemple de l'*Ephedra*, chez lequel certaines espèces différencient des gamètes mâles identiques, et d'autres des gamètes mâles dissemblables.

La structure des cellules spermatiques du second groupe des Coniférales semble relativement uniforme : chez le *Sequoia sempervirens*, les gamètes sont piriformes : leur pointe est tournée vers le col de l'archégone au

moment de la fécondation (BUCHHOLZ 1959 b). LAWSON (1904 a) précise que les deux noyaux-fils issus de la division spermatogène demeurent étroitement accolés pendant un moment ; ils sont aplatis sur leur face commune et arrondis du côté opposé. Puis ils grossissent de telle sorte qu'ils ont à peu près doublé de volume lorsque les deux cellules se séparent l'une de l'autre. Ils contiennent de la chromatine réticulée et un gros nucléole de forme irrégulière. Ceux du *Cryptomeria japonica* (LAWSON 1904 b) présentent également un accroissement de taille considérable. Ils contiennent chacun 2 ou 3 nucléoles.

Chez le *Taxodium distichum* COKER (1905) mentionne la présence d'une membrane distincte autour de chaque cellule mâle. L'amidon forme une gaine serrée autour des noyaux. Dès leur formation, ceux-ci s'emplissent de chromatine jusqu'à devenir des masses denses au moment de la fécondation. Un petit nucléole y demeure visible jusqu'à ce stade.

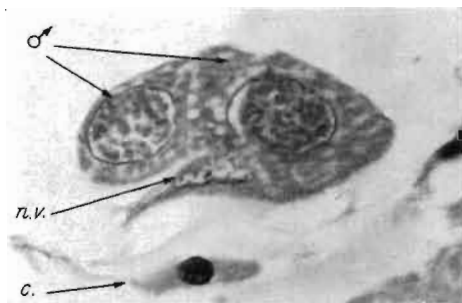


Fig. 5. Portion de la chambre archégoniale chez le *Cephalotaxus drupacea*. Cellules mâles (♂) ; noyau végétatif (n.v.) et cellule du col (c). Helly ; Feulgen-vert lumière ; $\times 360$.

(FAVRE-DUCHARTRE 1957).

Le *Cunninghamia sinensis* (MIYAKE 1910) différencie des cellules spermatiques analogues, constituées d'un gros noyau entouré d'une masse de cytoplasme dense. Celui-ci renferme d'abondants grains d'amidon qui, dans les gamètes arrivés à maturité, forment gaine autour du noyau.

Dans les cellules mâles du *Cupressus arizonica*, DOAK (1932) figure un noyau arrondi contenant un nucléole et des chromocentres, et entouré de cytoplasme limité par une membrane bien visible. Plus tard, les gamètes deviennent piriformes. Les noyaux mâles du *Chamaecyparis pisifera* (SUGIHARA 1958) sont aussi contenus dans une masse cytoplasmique nettement délimitée du cytoplasme général. Chez le *Widdringtonia* (SAXTON 1910), même structure : les cellules spermatiques sont enveloppées par une membrane définie ; leur cytoplasme est dense et très homogène ; chacune est pourvue d'un gros noyau, ici sans nucléole.

Les spermatozoïdes du *Juniperus* (OTTLEY 1909), hémisphériques, sont juxtaposés par leur face plate, sans toutefois se trouver en étroit contact.

Chez les Taxaceae, l'une des cellules mâles est très réduite (*Taxus baccata*, excepté dans le cas où le pollen est cultivé *in vitro*). BELAJEFF (1891) constate qu'au moment de la division de la cellule spermatogène, l'un des noyaux-fils s'arrondit au centre de la cellule-mère, tandis que le second devient lenticulaire et reste englobé dans la zone périphérique du cytoplasme dont il est séparé par une épaisse membrane ; on ne distingue aucun cytoplasme propre autour de lui. Les deux cellules mâles du *Torreya* sont inégales et ressemblent beaucoup à celles du *Taxus* (COULTER et LAND 1905).

Chez le *Cephalotaxus Fortunei* (COKER 1907), la plus petite des deux cellules spermatiques est, comme dans le cas général, celle qui est située le

plus près de l'apex. Elle s'arrondit la première et son noyau ne devient pas aussi dense que celui de la cellule-sœur, qui est seule fonctionnelle. Chez ce même genre, FAVRE-DUCHARTRE (1957) a observé deux cellules spermatiques égales, mais non équivalentes (Fig. 5). La mitose qui leur donne naissance est toujours suivie de la formation d'une membrane. Chaque noyau mâle contient un réseau chromatique et un nucléole. Quant au cytoplasme spermatique, il est peuplé de mitochondries qui sont réparties avec la même densité dans les deux cellules. Celles-ci progressent à la suite l'une de l'autre, en restant associées. Une seule est utilisée à la fécondation : celle qui se trouve le plus près du col lorsqu'elles ont atteint la chambre archégoniale.

c) Matériel gamétique des Pinaceae, Araucariaceae et Podocarpaceae

Dans ce groupe, la cellule spermatogène a déjà acquis des caractères de dédifférenciation très prononcés au moment de sa division et la dernière mitose a tendance à ne pas être suivie de cytokinèse. Chez les Pinaceae, les deux noyaux spermatiques demeurent ainsi immergés dans une masse cytoplasmique commune, tandis que chez les Araucariaceae et les Podocarpaceae, les cellules mâles ne sont séparées que par une membrane plasmatique extrêmement mince et difficilement repérable.

Les noyaux spermatiques de l'*Abies balsamea* (HUTCHINSON 1915 b), comme ceux du *Cedrus deodora* (JOHRI 1936), se forment dès la germination du pollen sur le micropyle. Ils restent inclus dans un cytoplasme indivis qui se distingue de celui du tube par une plus grande densité optique. Dans le nucelle du Pin maritime (MANGENOT 1938), le tube pollinique renferme aussi une masse de cytoplasme dense où se trouvent les deux noyaux mâles : ce cytoplasme ne contient pas d'amidon, mais un chondriome formé de nombreuses et volumineuses mitochondries. Chez les *Pinus Lambertiana* et *monophylla* (HAUPT 1941), le cytoplasme mâle est séparé de celui du tube par une membrane délicate : les noyaux spermatiques sont dépourvus de nucléoles.

Les noyaux mâles du *Picea excelsa* (MIYAKE 1903), très éloignés l'un de l'autre au moment de leur formation, se rapprochent ensuite graduellement. Ils sont d'abord de taille inégale et demeurent inclus dans un cytoplasme commun. Puis ils augmentent de taille et deviennent intensément colorables pendant la fin de la croissance du tube pollinique. Le *Pseudotsuga taxifolia* forme aussi deux noyaux mâles de taille inégale (ALLEN 1943).

Au contraire, chez l'*Araucaria brasiliensis* (BURLINGAME 1915), les deux noyaux sont originellement identiques, toutefois l'un d'eux peut dégénérer après une division incomplète du cytoplasme. Mais ils peuvent aussi être encore étroitement associés lorsqu'ils pénètrent dans l'archégone. D'ailleurs, chez les Araucariaceae, l'existence d'une cytokinèse complétant la division spermatogène reste douteuse. BURLINGAME indique que la séparation entre les deux « cellules spermatiques » est toujours très mal repérable.

Chez les Podocarpaceae, il n'existe qu'une seule cellule mâle fonctionnelle chez le *Podocarpus coriacea* (COKER 1902) : le cytoplasme dense, sans amidon, entoure un noyau dans lequel la chromatine très condensée masque

presque totalement un nucléole de forme irrégulière. L'ensemble est assez délimité par rapport au contenu du tube. Quant aux cellules spermatiques du *Phyllocladus* (YOUNG 1910), elles sont de taille inégale et l'une d'entre elles montre précocement des signes de dégénérescence. L'autre a un noyau plus gros et un cytoplasme plus abondant. Leur séparation, difficile à mettre en évidence, serait pourtant réelle.

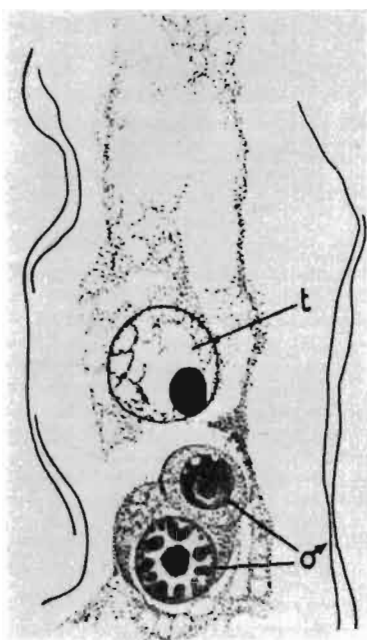


Fig. 6. Extrémité du tube pollinique chez le *Gnetum africanum*. ♂ : noyaux gamètes ; t : noyau du tube ; $\times 1690$.
(WATERKEYN 1954.)

d) Gamètes mâles des Gnétales

Dans le genre *Ephedra*, certaines espèces ont des gamètes identiques entre eux, et d'autres des gamètes dissemblables. Comme chez l'*Abies* et le *Cedrus*, leur formation s'opère au moment de la germination du pollen. Leur taille s'accroît progressivement pendant la croissance du tube pollinique. Chez l'*Ephedra altissima*, BERRIDGE (1909) décrit deux gamètes enclos dans une gaine cytoplasmique bien distincte, encore visible lorsque l'apex du tube atteint le niveau des archéogones : leur noyau est de structure granuleuse. Leur formation précéderait la germination du pollen.

Chez le *Gnetum africanum* (WATERKEYN 1954), les noyaux spermatiques, de taille inégale, sont entourés d'une gaine de cytoplasme dense bien individualisé. Le plus volumineux est rempli d'amas chromatiques qui lui donnent un aspect prophasique, tandis que le plus petit se colore plus intensément (Fig. 6). D'après PEARSON (1929), les noyaux spermatiques contiendraient en outre de gros nucléoles, et l'un d'entre eux dégénérerait avant la fécondation.

Ce comportement est aussi celui du *Welwitschia*, qui différencie deux gamètes de taille inégale (PEARSON 1929).

Gamétogénèse femelle

Le développement du gamétophyte femelle est relativement uniforme. Le prothalle a pour origine l'une des quatre mégaspores (exception faite du *Gnetum*). A la suite de divisions nucléaires libres, accompagnées par une vacuolisation en relation avec la disposition pariétale des noyaux, se forme un syncytium appliqué contre la paroi de la mégaspore. Les premières séries de divisions sont généralement simultanées. Les suivantes, qui peuvent se poursuivre jusqu'à la douzième ou la treizième génération, sont moins synchronisées, et la constitution des parois cellulaires se réalise plus ou moins précocement suivant les

groupes, tandis que le prothalle croît régulièrement de façon centripète jusqu'à ce qu'il ait atteint le centre du sac embryonnaire. C'est à partir de ce stade que s'individualisent les initiales archégoniales. Originellement, celles-ci peuvent être très nombreuses, mais seul un petit nombre d'entre elles arrivent à maturité tandis que certaines ne se développent même pas. Les archégonies tendent à voir leur nombre se fixer et cette ligne évolutive, peu précise toutefois, se subdivise suivant deux directions : soit des archégonies isolés les uns des autres, avec, chacun, sa chambre pollinique et son assise nourricière, soit des archégonies groupés en un complexe comprenant une chambre et une jaquette communes.

Dans les types les plus primitifs, deux divisions gamétogènes d'orientation strictement définie sont nécessaires pour isoler la cellule reproductrice. La première sépare la cellule basale ou centrale de la cellule apicale qui donne naissance à un col composé de une à plusieurs rangées de cellules. La seconde partage la cellule centrale en oosphère et cellule du canal du ventre. Une deuxième tendance évolutive s'affirme dans la suppression de cette division de maturation. La cellule du canal du ventre, avec paroi cellulaire nettement constituée, est présente seulement chez le *Ginkgo* et les Pinaceae et peut-être chez certaines Cycadales. Dans les autres groupes, la division est plus ou moins incomplète et le noyau apical demeure libre dans le cytoplasme commun. Chez le *Torreya*, cette division serait totalement supprimée, de sorte que la cellule centrale fonctionne directement comme oosphère.

Chez les Gnétales, ce rôle est même rempli par l'initiale de l'archégonie chez le *Welwitschia*, tandis que chez le *Gnetum*, il n'y a plus d'initiale différenciée, c'est un noyau libre du gamétophyte avec quelque peu de cytoplasme qui donne naissance à l'oeuf.

Première phase : croissance du prothalle et individualisation des initiales archégoniales

On admet que le prothalle dérive du développement de l'une des quatre mégaspores, la plus interne d'une rangée axiale. Il s'en faut de beaucoup que cette origine ait été vérifiée chez les représentants des divers groupes. Ainsi, chez les Cycadales, la sporogénèse n'a été étudiée que chez 3 des 9 genres vivants, le *Ceratozamia longifolia* (TREUB 1881), le *Stangeria paradoxa* (LANG 1900) et le *Zamia floridana* (SMITH 1910). SEDGWICK (1924) indique à ce propos que ce groupe est un mauvais matériel pour une telle étude, car les jeunes cônes sont entièrement cachés par les écailles du bourgeon et l'examen superficiel ne permet pas de savoir si le bouton contient ou non un cône. Cette étude est certainement plus aisée chez le *Ginkgo*, où la cellule-mère peut être repérée dans la région axiale du nucelle, au niveau où ce tissu est au contact du tégument (CAROTHERS, SPRECHER 1907). FAVRE-DUCHARTRE (1955) précise qu'on la distingue avec certitude des cellules qui l'entourent quand ses dimensions atteignent $25 \times 20 \mu$. Son noyau n'est guère plus volumineux que celui des cellules nucellaires voisines, tandis que dans le cytoplasme, les éléments chondriosomiques, d'aspect granuleux, se groupent vers le pôle hilaire de la cellule.

Cet amas correspond sans doute à la masse « kinoplasmique » décrite par CAROTHERS à la partie inférieure de cette cellule. A la méiose, cette localisation du chondriome n'est pas modifiée, de sorte que la cellule basale de la tétrade en hérite presque en totalité (FAVRE-DUCHARTRE 1955). C'est cette mégaspore, plus profondément incluse dans le tissu nucellaire, qui donne naissance au prothalle, tandis que les 3 autres dégénèrent.

Chez le *Pinus* (FERGUSON 1904), c'est également la cellule basale d'une rangée linéaire de 4 mégaspores qui est fonctionnelle. Trois cellules seulement peuvent être constituées (EMIG 1935). A la suite d'une première division inégale de la cellule-mère, la plus petite cellule, proche du micropyle, ne se divise pas. Un comportement comparable est certainement réalisé chez le *Pseudotsuga Douglasii* où l'on note à l'extrémité micropylaire, au-dessus de la mégaspore fonctionnelle, deux structures qui peuvent être interprétées comme des spores en dégénérescence (LAWSON 1909). Bien qu'il ne soit pas possible d'indiquer si une troisième spore est originellement constituée, la position occupée par les 3 cellules rend compte de leur disposition axiale et du fonctionnement de la plus interne.

Il peut arriver que plusieurs gamétophytes soient formés à la suite du développement de plus d'une mégaspore, provenant soit d'une même tétrade, soit de tétrades différentes. Cette éventualité serait assez commune chez le *Taxus canadensis* où DUPLER (1917) a trouvé plusieurs ovules dans lesquels trois gamétophytes avaient atteint le stade d'archégone. Chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), exceptionnellement, 2 tétrades plus ou moins éloignées l'une de l'autre peuvent être présentes dans un même nucelle. L'auteur indique que, sur certains arbres, près de un pour cent des ovules mûrs contiennent 2 prothalles, et moins de un pour mille 3 prothalles. La germination de plus d'une mégaspore a été signalée chez plusieurs Taxodiaceae (*Taxodium*, COKER 1903 ; *Sequoia* et *Cryptomeria*, LAWSON 1904 a et b; *Cunninghamia*, MIYAKE 1910) et chez le *Sciadopitys* (LAWSON 1910). Chez le *Sequoia sempervirens* (BUCHHOLZ 1939 b), plusieurs gamétophytes sont en compétition, mais un seul arrive à maturité.

Par contre, chez le *Gnetum*, il est de règle que le gamétophyte ait une origine tétrasporique (FAGERLIND 1941). A la suite des deux divisions méiotiques, se forme une cellule unique renfermant quatre noyaux libres, de taille égale, qui se groupent généralement au centre de la cellule. Chez le *Gnetum africanum* (WATERKEYN 1954), parmi les nombreux sacs embryonnaires qui commencent à se développer, un seul persiste. Les autres disparaissent assez précocement dans le nucelle ou après les stades à 8, 16 ou 32 noyaux libres. Chez le *Gnetum ula* et le *G. gnemon*, la vacuolisation du gamétophyte ne commencerait qu'à partir du stade à 4 noyaux (NEGİ et LATA 1957).

Peu de temps avant que ne se réalise la méiose, ou aussitôt après, au début de la croissance de la mégaspore, les cellules adjacentes subissent quelques modifications qui les font reconnaître parmi les cellules nucellaires voisines. Elles montrent habituellement un cytoplasme plus dense, leur noyau étant sensiblement plus volumineux. Elles forment un tissu bien individualisé qui a reçu le nom de tissu spongieux et dont la fonction

serait exclusivement nourricière. LAWSON (1909) indique qu'on peut également les considérer comme des cellules archésporiales qui n'ont pas atteint le stade cellule-mère. Chez le *Pseudotsuga*, le tapis ne comprend primitivement qu'une rangée de cellules, mais il croît en même temps que le prothalle et peut présenter plusieurs couches cellulaires, tandis qu'il ne se constitue pas chez le *Podocarpus* (Coker 1902). Chez le *Keteleeria evelyniana* (Wang 1948), ce tapis nucellaire se développe plus tardivement et ne disparaît qu'après le complet développement du gamétophyte. Il comporte 4 ou 5 assises de cellules. Chez le *Pinus* (EMIG 1935), ces cellules digèrent progressivement la totalité du nucelle à l'exception de la portion apicale. Chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), pendant les premiers stades du développement prothallien, les cellules du tapis se multiplient activement. Celles qui sont voisines du gamétophyte sont progressivement digérées, de sorte que ce tissu nourricier conserve une épaisseur constante de 5 ou 6 assises cellulaires. A partir de la septième série de mitoses dans le syncytium, des irrégularités de division conduisent à la constitution de cellules binucléées, puis tétranucléées. Il est possible également que se réalisent des processus endomitotiques et que, dans certaines cellules, les noyaux fusionnent. Quoi qu'il en soit, leur destruction se poursuit et, lorsque commencent à s'individualiser les initiales d'archégones, ces cellules, qui ne forment plus qu'une ou deux assises, dégénèrent.

La mégaspore privilégiée se transforme en gamétophyte sans passer par une période de repos. Son volume augmente et, à la suite de mitoses successives qui se déroulent sans que se déposent des cloisons cellulaires entre les noyaux-fils, le nombre de ces derniers croît très rapidement. Chez le *Pinus*, EMIG (1935) observe des parois incomplètes aux stades à 4 et 8 noyaux. Mais plus tardivement, ces formations ne sont plus visibles. Il se constitue de cette façon un tissu cénocytique haploïde qui est repoussé à la périphérie du prothalle sous la pression d'une vacuole centrale. Chez le *Welwitschia* (PEARSON 1929), les divisions nucléaires et la néosynthèse du cytoplasme compensent la croissance rapide du prothalle, de sorte que la vacuole centrale se résorbe précocement sitôt après la deuxième division, seule exception, semble-t-il, au mode général de développement du jeune prothalle chez les Gymnospermes.

Suivant les espèces, la phase cénocytique comprend un nombre varié de séries mitotiques. D'une manière générale, elle s'étend au moins jusqu'au stade à 256 noyaux libres qui correspondent à 8 séries de divisions (*Taxus baccata*, JÄGER 1899, et *T. canadensis*, DUPLER 1917; *Torreya taxifolia*, COULTER et LAND 1905; *Ephedra trifurca*, LAND 1904, et *E. intermedia*, MEHRA 1950 a). Pendant cette première phase de la croissance, les divisions nucléaires sont rigoureusement simultanées. Chez le *Ginkgo*, à partir de la huitième série, ce synchronisme n'est plus maintenu. Dans la région chalazienne, les noyaux entrent en mitose les premiers et l'onde mitotique s'étend progressivement jusque vers la région micropylaire. Cette progression s'effectue en sens inverse chez l'*Ephedra intermedia*, à partir de la septième série (MEHRA 1950 a). En outre, certains noyaux ne se divisent plus, de sorte que, lorsque se constituent les parois cellulaires, le nombre

total des noyaux du prothalle oscille entre 210 et 240. Parfois, la formation des cellules ne commence qu'au stade à 450 noyaux (théoriquement, neuvième série). BERRIDGE et SANDAY (1907) ont eux-mêmes compté jusqu'à 1.000 noyaux libres chez l'*Ephedra distachya*, tandis que chez le *Gnetum africanum*, le nombre de 506 noyaux environ, trouvé dans le plus grand des sacs à noyaux libres, implique 7 mitoses (WATERKEYN 1954). Ces fluctuations expliqueraient les chiffres variés rencontrés chez d'autres espèces où le nombre des divisions successives est supérieur à 8. Chez le *Ginkgo*, FAVRE-DUCHARTRE indique que les mitoses affectent toujours la totalité des noyaux; toutefois l'évaluation de leur nombre au stade cénocytique le plus avancé est de l'ordre de 7.680 pour une valeur théorique de 8.192 (13 séries). Un chiffre aussi élevé (plus de 6.000) n'a été avancé que par BUCHHOLZ (1939 a) chez le *Sequoia*. Il n'est pas exclu qu'il puisse en être de même chez d'autres espèces où, d'après les auteurs, la succession des divisions nucléaires n'excéderait pas 10 ou 11 séries (1.000 noyaux chez le *Dioon edule*, CHAMBERLAIN 1906; le *Macrozamia Reidlei*, BAIRD 1939; le *Juniperus communis*, NOREN 1907; 1.020 chez le *Pinus*, EMIG 1935 et 2.000 chez le *Pinus strobus* d'après FERGUSON 1904; 1.015 à 1.360 chez le *Welwitschia*, PEARSON 1929). D'après CHAMBERLAIN (1935), l'étendue de la période nucléaire serait en relation avec le volume et la forme de la macrospore.

En fait il est logique de penser que, puisque la croissance de l'ovule est nécessairement limitée, les noyaux libres qui sont répartis à la surface interne de la macrospore sur une couche unique en raison de la minceur de la pellicule cytoplasmique, atteignent rapidement une densité maxima, au-delà de laquelle les caryocinèses ne peuvent se réaliser. FAVRE-DUCHARTRE mentionne que, chez le *Ginkgo*, cette dernière favorise par ailleurs la disposition équidistante des éléments nucléaires. Lorsque ce stade est atteint, l'aspect du syncytium se modifie. La couche protoplasmique augmente d'épaisseur et des vacuoles apparaissent qui bientôt fusionnent et se distribuent régulièrement autour des noyaux. A la suite de la dernière série de divisions, des phragmoplastes se déposent sur les fuseaux anaphasiques et, plus tardivement, sur les fuseaux secondaires apparus entre les noyaux voisins. Chaque noyau devient alors le centre d'un alvéole fermé de toutes parts sauf vers le centre du sac. La suite de l'évolution se réalise suivant plusieurs modalités (CHAMBERLAIN 1935).

Dans un premier cas (type *Pinus*), les noyaux se divisent aussitôt en direction anticlinale et cette mitose est suivie de la formation d'une membrane qui vient clore la première assise cellulaire. Ce mécanisme se répète plusieurs fois jusqu'à ce que la cavité embryonnaire soit totalement comblée.

Dans un second cas (type *Taxus*), les parois latérales des alvéoles s'étendent jusqu'au centre du sac. Puis chaque alvéole se ferme plus ou moins tardivement. Ce n'est qu'ultérieurement que le noyau se divise à plusieurs reprises, transformant chacun des ces éléments en une file de cellules. Chez le *Ginkgo*, FAVRE-DUCHARTRE fournit les précisions suivantes : dans chaque loge, le noyau gagne l'extrémité ouverte et, comme la croissance des membranes est plus lente que le déplacement nucléaire, l'ensemble de ces noyaux se trouve pour un temps dans une couche cytoplasmique commune.

Quand les alvéoles sont sur le point de se rencontrer au centre du prothalle, une membrane est élaborée. Chacune des cellules ainsi constituées se divise, donnant naissance à des files cellulaires orientées vers le centre du sac.

D'après CHAMBERLAIN, la différenciation des initiales archégoniales suivrait le déroulement de ces phénomènes. Chez le *Pinus*, elles s'individualiseraient avant que le tissu prothallien n'ait gagné le centre du sac ou ne soit complètement organisé (*Cunninghamia*, MIYAKE 1919). Chez le *Taxus*, par contre, elles ne se constitueraient que plus tard. Il ne paraît pas toutefois qu'une telle régularité puisse être retenue. Chez le *Ginkgo*, chez lequel la formation des parois cellulaires répond au premier type d'organisation, les initiales archégoniales apparaissent précocement avant que le prothalle n'ait comblé sa cavité centrale (FAVRE-DUCHARTRE 1955 et LEE 1955), tandis que chez le *Keteleeria evelyniana* (WANG 1948), elles ne sont repérables que lorsque l'endosperme a atteint un stade avancé de développement.

Chez les Gnétales, les premiers stades de la constitution du tissu prothallien cellulaire n'ont pas été observés. Les étapes ultérieures montrent quelques différences avec les cas examinés précédemment. Le sac embryonnaire en forme de cône de l'*Ephedra* (PEARSON 1929 et MEHRA 1950 a) s'organise en effet en deux régions : l'une micropylaire, où commence la formation cellulaire, est la région fertile. On y note la présence de grandes cellules hyalines; l'autre, inférieure, plus étroite, est la région nourricière. Elle se subdivise d'ailleurs ensuite en une zone en voie de multiplication active, composée de petites cellules polygonales et où s'accumulent les matériaux de réserve, et en une zone basale ou haustoriale, qui ne comprend qu'une ou deux assises de cellules.

Une telle différenciation est plus accusée chez le *Welwitschia* (PEARSON 1929). Chez cette espèce où, comme nous le savons, il n'y a pas de vacuole centrale, lorsque cessent les divisions nucléaires libres, les noyaux sont distribués à peu près uniformément dans l'ensemble du prothalle. Le sac s'allonge alors considérablement, devenant trois fois plus long que large et cette croissance étant plus importante dans la région micropylaire, les noyaux y sont répartis de façon moins dense et séparés les uns des autres par de nombreuses vacuoles. Par suite, lorsque se déposent les parois cellulaires, qui n'apparaissent pas nécessairement en relation avec les fuseaux anaphasiques de la dernière série de divisions, les compartiments n'englobent pas tous un même nombre d'éléments nucléaires. Par ailleurs, dans la région antérieure, seule fertile, les loges cellulaires sont sensiblement moins grandes, de sorte qu'elles ne renferment guère plus de 2 ou 3 noyaux chacune. Certaines d'entre elles s'allongent et deviennent les homologues d'initiales archégoniales. Dans les autres régions du sac, les compartiments cellulaires comprennent un nombre variable mais toujours élevé de noyaux, de l'ordre d'une douzaine. Ces derniers, primitivement comparables à ceux de la région micropylaire, perdent leur pouvoir sexuel (PEARSON 1929, p. 114), en fusionnant dans une même cellule. Les noyaux de fusion se divisent ensuite et des plaques cellulaires sont élaborées, ces phénomènes ayant pour résultat la constitution d'un tissu dont les éléments sont sensiblement plus petits.

Chez le *Gnetum*, les noyaux sont d'abord uniformément répartis dans un cytoplasme pariétal. Mais plus tard, ils sont observés en plus grand nombre dans la partie inférieure du sac, dans un cytoplasme également plus dense (PEARSON 1929 et WATERKEYN 1954). Comme chez le *Welwitschia*, cette distribution inégale provient vraisemblablement de la croissance plus importante de la portion antérieure du sac qui s'élargit et se renfle tandis que la partie antipodiale demeure plus étroite. Toutefois, le cloisonnement ne se réalise que dans la moitié inférieure. Dans la portion micropylaire, qui reste dans la condition nucléaire libre, la grande vacuole est peu à peu résorbée et les noyaux se dispersent dans le cytoplasme finement vacuolisé. Le cloisonnement de la moitié inférieure est fondamentalement comparable à celui du *Welwitschia* : formation de compartiments plurinucléés sans rapport avec la présence de fibres fusoriales, constitution de cellules uninucléées après fusion des noyaux englobés dans une même loge, enfin division normale de ces éléments donnant naissance à des cellules plus petites, toujours uninucléées et de taille souvent variable. WATERKEYN insiste sur le fait que, contrairement à l'opinion généralement admise, on ne peut actuellement préciser si le cloisonnement débute uniquement à la base du sac ou à tout autre niveau.

Dans ce dernier groupe, il y a bien une différenciation morphologique de la portion fertile par rapport à l'ensemble du prothalle. Dans les autres, cette localisation est sans doute moins marquée bien que, chez le *Sequoia*, LOOBY et DOYLE (1937) indiquent que le gamétophyte femelle, long et étroit, est différent dans ses parties hautes et basses. En particulier, la région antipodiale, de développement plus tardif, est faite d'un tissu plus compact où les cellules sont en voie de division active. Quoi qu'il en soit, d'une manière générale, les initiales archégoniales ne se constituent que dans la région antérieure, à partir de cellules superficielles ou sous-épidermiques, parfois à partir d'éléments inclus plus profondément à deux ou trois couches de l'apex (*Sequoia* et *Cryptomeria*, LAWSON 1904 a et b). Bien qu'originellement de nombreuses cellules soient potentiellement fonctionnelles, et FAVRE-DUCHARTRE pense, à ce sujet, que toute cellule du prothalle aurait cette potentialité chez le *Ginkgo*, seul un petit nombre d'entre elles se différencient et un nombre plus réduit encore d'initiales atteignent le stade d'archégone.

Ainsi, chez le *Ginkgo*, tandis que progresse la croissance centripète du prothalle, certaines cellules de la portion micropylaire se divisent et deviennent sensiblement plus petites. Elles sont primitivement semblables. Puis, l'une d'elles, superficielle, s'élargit tandis que les cellules adjacentes, qui donneront naissance à la jaquette archégonale, s'arrangent plus ou moins régulièrement autour d'elles. Deux groupes sont ainsi formés (LEE 1955), plus rarement trois ou quatre. Chez les Cycadales, ce nombre est initialement plus élevé, mais, à maturité, on ne trouve habituellement que trois ou quatre archégones chez le *Dioon* et le *Cycas*. BROUGH et TAYLOR (1940) mentionnent que, chez le *Macrozamia spiralis*, près de 80% des ovules renferment quatre ou cinq archégones. Exceptionnellement, dans ce groupe, les initiales du *Microcycas* forment un ensemble important sur

toute la surface du prothalle; seules, toutefois, celles de l'extrémité micropylaire se développent; on en compte pourtant environ une centaine (SEDGWICK 1924).

Parmi les Coniférales, plusieurs modalités se rencontrent. On y retrouve tout d'abord des dispositions analogues à celles déjà signalées chez les espèces précédentes (Ginkgoales et Cycadales). Ainsi se comportent les Pinaceae auxquelles on peut rattacher également les Podocarpaceae, les Taxaceae et les Cephalotaxaceae. Le nombre des archégonies y est relativement peu élevé et il paraît évident, d'après leur position, que les initiales proviennent de cellules superficielles du prothalle. Par ailleurs, les archégonies sont nettement isolées les uns des autres, au moins dans leur portion antérieure, par une masse importante de tissu stérile, tandis qu'ils peuvent entrer en contact dans leur partie médiane plus large. Chaque élément est entouré d'une gaine nourricière monocellulaire qui se constitue plus ou moins précocement suivant les espèces, exception faite de celle du *Torreya* (COULTER et LAND 1905), qui est habituellement absente ou faiblement organisée au moment de la fécondation. Chez le *Cephalotaxus Fortunei*, la jaquette, fréquemment interrompue par des cellules ordinaires, serait moins bien développée que chez d'autres Coniférales (COKER 1907).

Moins d'une douzaine d'archégonies sont ainsi disposés à l'extrémité micropylaire du gamétophyte, où ils sont arrangés en cercle, chez le *Keteleeria evelyniana* (WANG 1948). On en trouve le plus souvent cinq ou six chez le *Pseudolarix Kaempferi* (MIYAKE et YASUI 1911) et le *Pseudotsuga* (LAWSON 1909 et ALLEN 1943), de trois à cinq chez le *Pinus monophylla* et le *Pinus Lambertiana* (HAUPT 1941), un seul chez le *Pinus radiata* (JOHANSEN 1950). Chez les Podocarpaceae, six à dix archégonies sont dénombrés chez le *Podocarpus* (COKER 1902), tandis que le *Phyllocladus* n'en comporterait que deux (YOUNG 1910). JOHANSEN (1950) signale également un nombre peu important chez les diverses espèces de *Taxus*, de trois à huit, tandis qu'une seule initiale, sensiblement déportée par rapport à l'axe central, se différencie chez le *Torreya taxifolia* (COULTER et LAND 1905). Enfin, récemment, FAVRE-DUCHARTRE (1956) a donné le nombre de deux à six pour le *Cephalotaxus drupacea*, indication qui s'accorde avec celle de COKER (2 à 5, 1907) et de LAWSON (4, 1907).

Les Cupressaceae et les Taxodiaceae se comportent différemment. Un plus grand nombre d'initiales évoluent en archégonies qui, proches les uns des autres, constituent un ou parfois plusieurs groupes compacts. Chacun d'eux est disposé à la base d'une unique dépression du prothalle et se trouve enserré dans une jaquette nourricière commune. Suivant les espèces, les initiales se différencient à partir de cellules superficielles ou de cellules incluses plus profondément, soit à l'extrémité micropylaire du gamétophyte, soit à proximité de la marge, du côté où croissent les tubes polliniques. Suivant ces modalités, le complexe archégonial est alors situé à l'apex (cas le plus fréquemment rencontré), ou placé latéralement (*Sequoia*, *Callitrix*, *Widdringtonia*).

Ces distinctions ne présentent pas toutefois une réelle constance. Ainsi, le nombre des archégonies varie relativement d'un genre à l'autre, en général

il est de l'ordre de 6—7 à 20—25. Chez le *Widdringtonia cupressoides* (SAXTON 1910), les archégones sont répartis latéralement en plusieurs groupes, leur nombre total différant, selon les cas, de 30 à plus d'une centaine. D'après COKER (1903), ces variations seraient en relation avec la vigueur du gamétophyte. Des prothalles faiblement développés du *Taxodium* renfermeraient moins d'une demi-douzaine d'archégones, alors que leur nombre habituel oscille entre 10 et 20.

De semblables variations affectent aussi le groupement des archégones et la différenciation de la jaquette. Chez le *Tetraclinis articulata* (JOHANSEN 1950), les archégones sont réunis par 10 à 15 et ces groupes peuvent être apicaux ou, à la fois, apicaux et latéraux. Quelques rares exceptions sont notées par COKER (1903) chez le *Taxodium*, où les archégones sont parfois distribués par petits ensembles séparés les uns des autres par quelques rangées de cellules prothalliennes. Le complexe archégonial du *Cunninghamia sinensis* (MIYAKE 1910) diffère de celui du *Cryptomeria* et du *Taxodium*. Il montre, en effet, une disposition qui lui est propre, les archégones étant arrangés régulièrement autour d'un tissu prothallien stérile, relativement important. Chez le *Sequoia*, par contre, les auteurs s'accordent sur l'absence d'un complexe réel, la distribution des archégones étant beaucoup plus en relation avec l'intrusion pollinique. En outre, ces archégones sont dépourvus d'une assise nourricière typique, celle-ci n'étant représentée que par des éléments cellulaires discontinus (BUCHHOLZ 1939 a et b). Une jaquette monocellulaire entoure le complexe archégonial du *Chamaecyparis pisifera* (SUGIHARA 1938) et du *Cupressus funebris*, mais il n'en existe pas chez le *C. sempervirens*, chaque archégone étant entouré simplement par une couche de cellules à parois épaisses (SUGIHARA 1956).

Deuxième phase : édification de l'archégone et individualisation de la cellule reproductrice femelle

a) Les initiales d'archégones, première division gamétogène

Peu d'études récentes nous renseignent sur les caractères cytologiques des initiales archégoniales. Si l'on se rapporte aux travaux effectués au début de ce siècle, on peut admettre que, de façon générale, ces cellules privilégiées se distinguent aisément de leurs voisines par leur taille plus grande, exception faite du *Picea excelsa*, espèce chez laquelle la première division gamétogène surviendrait alors que l'initiale est à peine plus importante que les cellules prothalliennes stériles (MIYAKE 1903). Le cytoplasme est plus facilement repérable en raison de son aspect grossier et de ses caractéristiques de colorabilité. Chez le *Sequoia sempervirens*, LAWSON (1904 a) indique que le cytoplasme de l'initiale, d'aspect hautement granuleux, est vivement colorable par l'orange G. Des vacuoles s'y trouvent réparties de manière uniforme tout autour du noyau proéminent et chromatique, lequel occupe primitivement une position centrale. Chez le *Ginkgo biloba* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), le noyau de l'initiale n'est guère différent de l'un quelconque de ceux du prothalle, quoique plus volumineux. Toutefois, les petits chromocentres, visibles précédemment, ont disparu et la

substance chromatique n'est représentée que par des filaments Feulgen-positifs.

La croissance de l'initiale se poursuit et s'effectue surtout au profit des vacuoles qui se dilatent, puis fusionnent, tandis que le noyau émigre progressivement vers l'apex. Une initiale pleinement différenciée montre donc, dans une cellule relativement grande, un noyau lui-même volumineux et

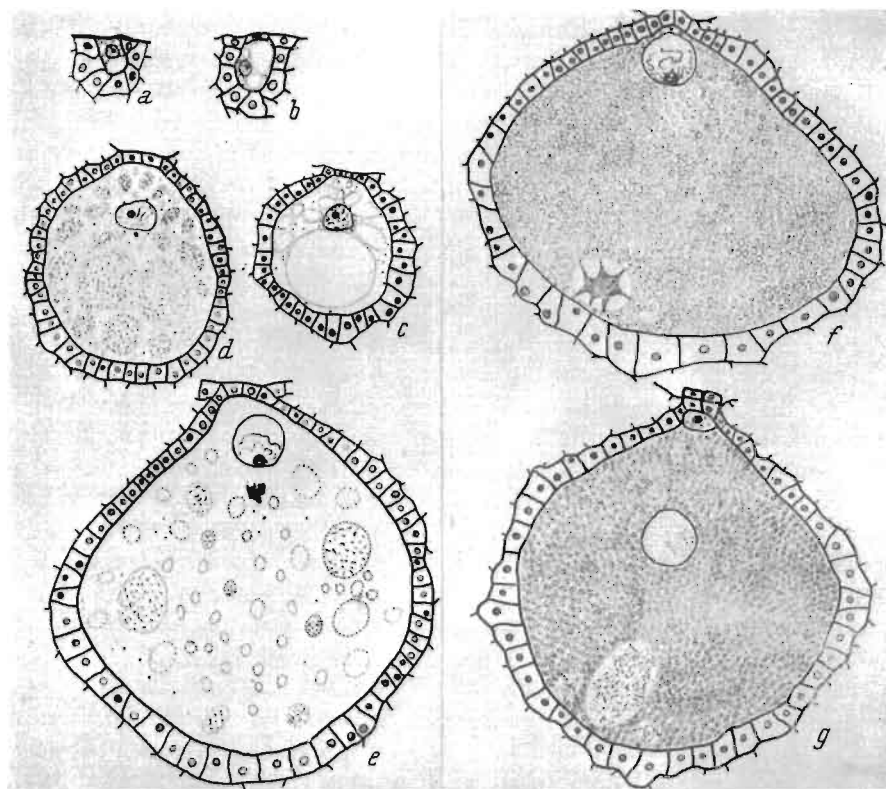


Fig. 7. Evolution de l'archégone du *Ginkgo*; $\times 100$. *a* : cellule initiale de l'archégone, fin juin ; *b* : cellule centrale et cellule-mère du col, fin juin ; *c* : mi-juillet ; *d* : fin juillet ; *e* : mi-août ; *f* : fin avril, 2^{ème} année ; *g* : début septembre, oosphère, cellule ventrale du canal et col quadricellulaire.

(FAVRE-DUCHARTRE 1955).

proche de l'extrémité antérieure du prothalle, et une grande vacuole empiétant la presque totalité de l'espace disponible. Le cytoplasme est distribué au voisinage du corps nucléaire ainsi qu'à la périphérie sous une couche fine. C'est à partir de ce stade, réalisé plus ou moins tardivement suivant les espèces, qu'intervient la première division gamétogène.

Vraisemblablement en raison de la différenciation accusée de la cellule initiale, cette première division est rigoureusement orientée, le fuseau étant parallèle au grand axe de la cellule. Peu d'auteurs ont pu suivre les stades successifs de son déroulement. Il ne paraît pas toutefois que cette mitose présente d'autres caractéristiques que la distribution inégale du cytoplasme entre les deux cellules-filles. Cette particularité a pour résultat la consti-

tution d'une grande cellule inférieure, ou *cellule centrale*, et d'une petite cellule supérieure et aplatie, ou *primordiale du col*.

Le col

Le col est pour le moins bicellulaire. La division de la cellule primordiale survient précocement. Elle est nettement polarisée et la formation de la plaque cellulaire s'effectue suivant un plan perpendiculaire à celui de la précédente division. Les divisions ultérieures, une ou plusieurs, ne présentent pas une telle régularité. En outre, elles peuvent se dérouler plus tardivement, et il est vraisemblable que c'est là une des raisons pour lesquelles nombre d'auteurs ont attribué à ces mitoses un caractère occasionnel. Ainsi BAIRD (1939), BROUGH et TAYLOR (1940) chez le *Macrozamia Reidlei* et le *M. spiralis*, SWAMY (1948) et SILVA et TAMBIAH (1952) chez le *Cycas*, considèrent le col bicellulaire, chez ces espèces, comme caractéristique des Cycadales. Mais ils ont également noté l'éventualité d'une deuxième division, qu'ils interprètent comme une « exception », déjà reconnue précédemment comme telle chez le *Stangeria* (CHAMBERLAIN 1916) et l'*Encephalartos* (SEDGWICK 1924). D'après FAVRE-DUCHARTRE (1955), qui indique, par ailleurs, ainsi que LEE (1955), la présence d'un col quadricellulaire chez le *Ginkgo biloba*, celui de l'archégone du *Cycas revoluta* posséderait normalement quatre cellules et non pas deux. Cette erreur d'interprétation proviendrait du fait que, chez ces espèces, comme chez le *Ginkgo*, le col demeurerait assez longtemps constitué par deux cellules, leur seconde division, simultanée, n'intervenant que peu de temps avant la deuxième mitose gamétogène. Des faits analogues se dérouleraient chez le *Zamia umbrosa* (BRYAN et EVANS 1957). Les deux cellules du col se sont considérablement dilatées et leur division, simultanée ou indépendante, s'effectue le plus souvent au moment où le noyau de la cellule centrale se divise lui-même.

Dans ces deux premiers groupes, les cellules du col semblent manifestement jouer un rôle particulier peu de temps avant la fécondation. Chez le *Macrozamia spiralis* (BROUGH et TAYLOR 1940), elles passeraient successivement par deux phases bien caractérisées dont l'évolution serait en rapport avec celle de la cellule centrale. Au cours d'un premier stade, alors que la cellule centrale montre une vacuolisation maxima, les cellules du col ont une taille relativement insignifiante. Puis, à la suite de cette première étape, les vacuoles de la cellule diminuent en nombre et en taille et, corrélativement, se produit un accroissement considérable de la dimension des cellules du col qui se projettent littéralement dans la chambre archégoniale. A ce stade, elles sont hautement vacuolisées, tandis que le noyau, occupant une position centrale, est lui-même proéminent. Elles sont en outre entourées par une membrane dont la finesse contraste visiblement avec celle beaucoup plus épaisse de l'œuf. Chez le *Cycas* (SWAMY 1948), lorsque l'archégone est mûr, les cellules du col, larges et turgescentes, surplombent la chambre archégoniale. De telles structures, chez le *Boronia* (LAWSON 1926) et le *Macrozamia Reidlei* (BAIRD 1939), auraient un rôle sécréteur, suggestion également avancée par LEE (1955) à propos du *Ginkgo*. BRYAN et EVANS (1957) ont par ailleurs noté chez le *Zamia umbrosa* la pré-

sence d'une substance vivement colorable et de nature probablement mucilagineuse, qui coiffe l'apex de l'archégone et qui pourrait être sécrétée par les cellules du col. Chez le *Boronia*, ces phénomènes seraient favorisés par les différences d'épaisseur existant entre les membranes des faces interne et externe des cellules qui, lorsqu'elles perdent leur turgescence, basculeraient et permettraient ainsi une plus large ouverture des archégones et une introduction plus aisée des gamètes mâles.

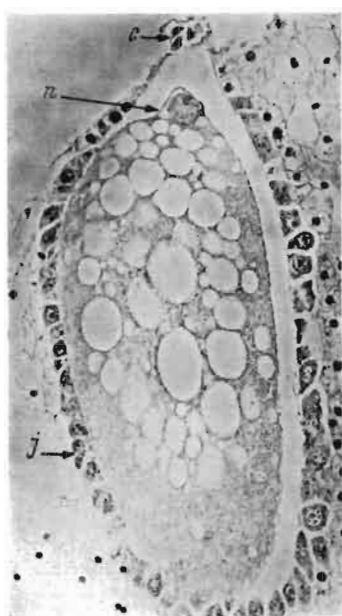


Fig. 8.



Fig. 9.

Fig. 8. *Pinus nigra*, coupe longitudinale d'un archégone au stade de la cellule centrale. *c* : cellule du col ; *j* : assise nourricière ; *n* : noyau de la cellule centrale, situé à l'apex, cytoplasme hautement vacuolisé. Matériel prélevé le 4 juin dans la région parisienne, comme les suivantes. Nawaschin ; Feulgen ; contraste de phase ; $\times 135$.

Fig. 9. *Pinus nigra*, coupe longitudinale d'un archégone. Noter la présence de petites vacuoles à l'extrémité apicale de la cellule centrale, signalée précédemment par HACPT (1941) chez le *Pinus*. Matériel prélevé le 4 juin. Nawaschin ; hématoxyline ; $\times 130$.

D'après FAVRE-DUCHARTRE (1955), les deux premières cellules du col du *Ginkgo* montrent leur maximum de développement peu avant la fécondation. A ce stade, elles ne contiennent pas d'amidon, mais on y remarque un chondriome abondant. Après la seconde division, qui précède de peu celle de la cellule centrale, elles produisent de l'amidon et se gonflent. Les membranes cellulaires, nouvellement constituées, se séparent et laissent entre elles un étroit passage.

Parmi les autres groupes, le col de l'archégone est généralement beaucoup plus important chez les Ephedraceae, chez lesquelles il comporte au moins une trentaine de cellules (*E. campylopoda*, PEARSON 1929 et NARANG 1955 a), tandis que chez les Coniférales on voit s'ébaucher une tendance à la réduction du nombre des cellules du col. En outre, ce nombre varie souvent à l'intérieur d'une même unité systématique.

Chez les Pinaceae, on trouve, en effet, 4 ou 8 rangées de cellules avec 2 ou 4 cellules dans chaque rangée chez le *Picea excelsa* (MIYAKE 1903) : presque toujours 2 rangées chez le *Pinus* et le *Pseudolarix* (BLACKMAN 1898 ; MIYAKE et YASUI 1911) ; une ou 2 rangées chez le *Pseudotsuga* (LAWSON 1909 et ALLEN 1943) ; chez ce dernier genre, une première série de divisions de la cellule primordiale donne naissance à une file de cellules dont quelques unes peuvent se diviser à leur tour pour former une seconde rangée. Par contre, le col de l'*Araucaria brasiliensis* ne comprend qu'une douzaine de cellules disposées en un seul rang (BURLINGAME 1915).

YOUNG (1910) attribue au col du *Phyllocladus* une rangée de 4 cellules et mentionne que celles-ci se divisent exceptionnellement sans que se constituent des parois cellulaires. Par contre, les archéogones du *Podocarpus* montrent une variabilité plus grande (2 à 25 cellules d'après COKER 1902 : toutefois l'auteur n'en a observé 25 qu'une seule fois et ce nombre n'a pas été retrouvé depuis).

Chez les Cupressaceae, le col de l'archéogone du *Widdringtonia* (SAXTON 1910) est composé d'une seule assise de 4 cellules, tandis que 8 à 12 cellules arrangées en une ou deux files sont présentes chez le *Chamaecyparis* (SUGIHARA 1938).

Quant aux Taxodiaceae, l'amplitude de variation est moindre. Le col est typiquement quadricellulaire (*Sequoia*, *Cryptomeria* et *Cunninghamia*). Tel est également le cas du *Taxodium distichum* (COKER 1903). Toutefois, chez cette espèce, lorsque l'archéogone est à maturité, de nouvelles divisions affectent les cellules du col, à la suite desquelles des parois cellulaires peuvent ou non être constituées. Sitôt après les dernières divisions, les cellules commencent à se désorganiser ; par ailleurs, COKER précise qu'elles renferment de l'amidon jusqu'à ce stade. Par contre, chez le *Sequoia*, le col semble bien être constitué par 4 cellules, contrairement aux premières observations d'ARNOLDI (1900 b) et de LAWSON (1940 a). Chez le *Sequoia sempervirens*, LAWSON indique en effet un nombre typique de 2, mais précise qu'il a remarqué 4 cellules distinctes dans un nombre considérable d'archéogones. Il est vraisemblable que, dans le cas le plus fréquent, le col est formé de 4 cellules disposées en une seule rangée (*Sequoia gigantea*, LOOBY et DOYLE 1937 ; BUCHHOLZ 1939 a), mais, comme le mentionnent LOOBY et DOYLE, la seconde division peut ne pas avoir lieu.

Le col du *Cephalotaxus* ne comprend le plus souvent que 2 cellules (ARNOLDI 1900 a ; LAWSON 1907), mais peut en comporter jusqu'à 5 (COKER 1907 ; FAVRE-DUCHARTRE 1957).

Chez le *Torreya* (Taxaceae) (COULTER et LAND 1905), la cellule primordiale ne subirait dans tous les cas qu'une seule division.

La cellule centrale

Sitôt individualisée, la cellule centrale s'agrandit considérablement et LEE souligne que c'est là une de ses caractéristiques essentielles. Sa croissance est surtout dirigée vers le centre du prothalle, bien que, chez le *Sequoia sempervirens*, LAWSON (1904 a) note que son élongation a toujours

lieu en direction de la cellule primordiale du col qu'elle repousse vers les régions périphériques. L'augmentation de taille ne correspond pas à une synthèse de cytoplasme, mais à une vacuolisation intense de la cellule. Les vacuoles sont primitivement distribuées de façon quelconque, le noyau occupant une position centrale ou sensiblement plus proche du col. Puis, lorsqu'elles commencent à prendre de l'importance, le noyau est nettement déporté vers le col. On ignore la cause de ce déplacement (LEE 1955) qui se réalise quelle que soit la position de l'ovule sur l'arbre (FAVRE-DUCHARTRE 1955). On constate simplement que cette asymétrie se précise ultérieure-

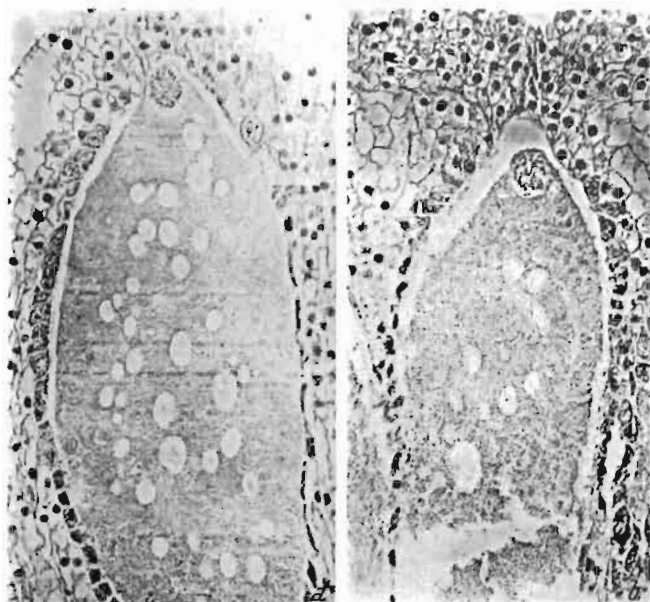


Fig. 10. Coupes longitudinales d'archéogones du *Pinus nigra*. Stades plus âgés que ceux des Fig. 8 et 9 (régression du vacuome). Matériel prélevé le 4 juin (a) et le 11 juin (b). Nawaschin ; Feulgen ; contraste de phase ; $\times 135$.

ment, tandis que l'archégone acquiert sa taille définitive, et qu'elle traduit une polarité définie de la cellule et de ses constituants.

Pendant sa migration progressive, le noyau augmente notablement de taille. Chez le *Ginkgo*, d'après les données de FAVRE-DUCHARTRE, il atteindrait plus de 600 fois son volume initial. Mais le volume de chromatine n'augmente pas dans les mêmes proportions et celle-ci se présente dès lors sous un aspect diffus. Après la réaction nucléaire, le noyau de la cellule centrale du *Ginkgo* est presque achromatique (LEE 1955). SHIMAMURA (1954) note pour ce noyau une réaction négative, tandis que le réticulum peut être mis en évidence par l'hématoxyline et les colorants basiques. FAVRE-DUCHARTRE fait remarquer qu'après une hydrolyse appropriée, le réactif de Schiff colore toujours de fins filaments chromonématiques. Ces éléments, surtout groupés dans la portion du noyau qui est opposée au col, sont entourés d'un manchon de substance acidophile de densité variable, qui donnerait naissance aux nucléoles (Fig. 11). Par contre, le traitement par

l'hématoxyline confère aux chromonémas une structure d'aspect chromomérique. Certaines des granulations, dont le volume est particulièrement important, sont assimilées par l'auteur à de petits nucléoles qui sont libérés dans la cavité nucléaire. Leur nombre et leur taille peuvent être éminemment variables selon les prothalles, mais sont comparables dans les archégones d'un même gamétophyte.

Le noyau renferme, en outre, un ou deux nucléoles nettement plus volumineux et creusés de cavernes de moindre densité. Au cours de l'évolution de l'archégone, la taille de ces nucléoles augmente peu, mais leur

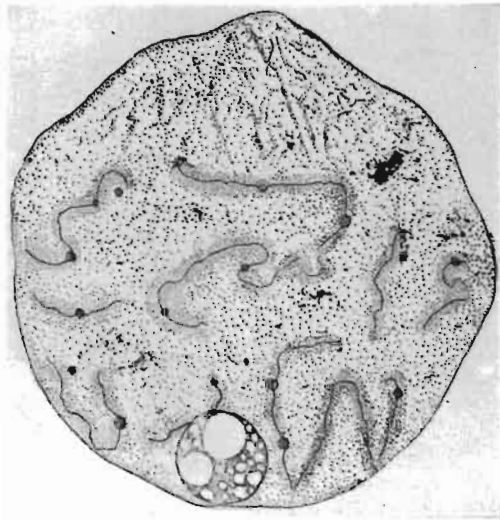


Fig. 11. Noyau de la cellule centrale adulte, peu de temps avant sa division chez le *Ginkgo*, Helly : Feulgen-vert lumière : $\times 1250$. (FAVRE-DUCHARTRE 1955.)

affinité pour le vert lumière diminue sensiblement. Si l'on compare ce comportement avec celui des nucléoles des cellules reproductrices du sac embryonnaire des Angiospermes, il est vraisemblable que leur colorabilité par les colorants basiques augmente corrélativement, bien que ce fait n'ait pas été vérifié. Par ailleurs, FAVRE-DUCHARTRE précise que ces nucléoles, qui restent en relation avec plusieurs éléments chromonématiques, sont toujours situés à proximité de la membrane nucléaire, dans la région où sont groupés les chromonémas. Cette polarité peut être facilement perturbée par centrifuga-

tion, ce qui indique la faible viscosité du nucléoplasme. Par contre, elle n'est pas modifiée lorsque les ovules sont maintenus artificiellement hors de leur position normale sur l'arbre.

Parmi les autres groupes de Gymnospermes, les renseignements dont on dispose sont beaucoup plus imprécis. Les auteurs se sont davantage intéressés à l'édification de l'archégone et beaucoup moins aux transformations importantes dont il est le siège. Pourtant, chez l'*Encephalartos*, SEDGWICK (1924) remarque que l'augmentation du volume nucléaire est considérable par rapport à celle du matériel colorable. Il distingue un stade spirème, au cours duquel se coloreraient à la fois la chromatine et d'autres substances. Ces constituants se présentent sous un aspect contracté que l'auteur interprète comme une conséquence de la brusque dilatation nucléaire. Des quantités appréciables de cytoplasme seraient absorbées par le noyau au cours de cette évolution rapide et pourraient être à l'origine de ces corpuscules arrondis et peu colorables qui sont visibles dans l'espace intranucléaire.

Chez les *Pinus Lambertiana* et *monophylla* (HAUPT 1941), la substance chromatique forme, dans le noyau de la cellule centrale, un réseau irrégulier

sensiblement moins colorable que les deux nucléoles. Ces derniers sont vacuolisés et de taille très inégale.

Pour le *Pinus Thunbergii*, SHIMAMURA (1956) indique que le noyau, primitivement Feulgen-positif, devient Feulgen-négatif au fur et à mesure que son volume augmente. Rappelons à ce sujet qu'il est prouvé qu'une certaine quantité d'acide désoxyribonucléique est nécessaire pour que la réaction de Feulgen puisse se produire de façon décelable. Il est donc probable qu'en raison de la forte dilatation nucléaire, la faible teneur en DNA des chromonémas considérablement allongés ne permet pas d'obtenir une réaction positive. Personnellement, nous avons pratiqué cette réaction sur le *Pinus nigra* et le *P. silvestris* (résultats non publiés) et constaté que, chez ces espèces, on observe toujours un fin réticulum colorable (Fig. 12). Ce dernier est distribué uniformément dans la totalité de l'espace intranucléaire, quoique sensiblement contracté après fixation par le liquide de Nawaschin. Il apparaît dans les jeunes cellules sous l'aspect de fines granulations chromomériques disposées les unes à la suite des autres. Cette structure rappelle, mais de façon plus ténue, celle des noyaux de l'assise nourricière. Peu de temps avant la deuxième division gamétogène, ces éléments, à fort grossissement, prennent un faciès diffus et ne peuvent plus être dissociés les uns des autres. Toutefois, l'examen du noyau, à faible grossissement, montre encore une légère coloration après la réaction nucléale. Par ailleurs, on remarque également la présence d'un, plus rarement de deux nucléoles vacuolisés. Ceux-ci présentent une structure très hétérogène après coloration par l'hématoxyline, tandis que les agents acides ne les teintent pas.

Chez le *Taxodium distichum* (COKER 1903), le noyau de la cellule centrale est plus grand que ceux du tissu adjacent, mais sa structure n'est pas différente. Il possède un réticulum périphérique colorable par le violet de gentiane. Par contre, le nucléole est souvent remplacé par un amas de granules agglomérés, situé au centre du noyau.

Dans le noyau de la cellule centrale du *Cephalotaxus drupacea* (FAVRE-DUCHARTRE 1957), le fin réticulum est Feulgen-positif. En outre, le suc

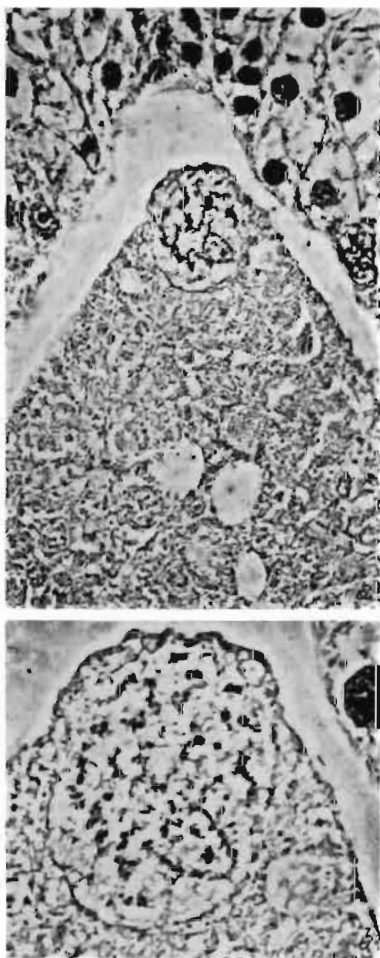


Fig. 12. Noyau de la cellule centrale du *Pinus nigra* (cf. b, Fig. 10). Matériel prélevé le 11 juin. Nawaschin ; Feulgen ; contraste de phase ; a : $\times 340$; b : $\times 800$.

nucléaire et les nucléoles sont soudanophiles après fixation par les liquides de Regaud ou de Helly.

Au cours des premières étapes de la croissance, la cellule centrale passe d'abord par un stade de vacuolisation maxima. D'après CHAMBERLAIN (1906 et 1935), chez le *Dioon edule*, qui est choisi comme un exemple type des Cycadales, se constitue une grande cavité remplie d'un liquide non colorable. Sous la pression de cette vacuole, le cytoplasme est repoussé vers le col, au voisinage du corps nucléaire, ainsi qu'à la périphérie, sous une mince pellicule. Une semblable organisation est décrite chez d'autres espèces appartenant soit aux Pinaceae, soit aux Taxodiaceae ou aux Cupressaceae. MIYAKE et YASUI (1911) considèrent qu'elle représente la condition normale des jeunes cellules centrales. Dans d'autres cas, cependant, plusieurs vacuoles de dimension variable coexistent.

Pendant les stades ultérieurs, le système vacuolaire subit des transformations importantes. Les vacuoles sont en nette régression mais subsistent encore dans la portion basale, tandis qu'une synthèse cytoplasmique se réalise à l'extrémité opposée, à proximité du noyau. La cellule centrale est abondamment nourrie par des matériaux provenant des cellules de la jaquette, ce transfert s'effectuant par l'intermédiaire de perforations creusées dans sa membrane. Ces dernières sont souvent groupées par 3 ou 4 et à leur intérieur s'étendent des émergences cytoplasmiques de la cellule centrale (*Microcycas*, REYNOLDS 1924 ; *Macrozamia spiralis*, BROUGH et TAYLOR 1940). Du cytoplasme et divers matériaux nutritifs s'écoulent ainsi dans la cellule centrale et, lorsque les cellules de la jaquette sont épuisées, les pores se bouchent (*Cycas*, SWAMY 1948). De telles communications ont été mises en évidence chez le *Ginkgo* (STOPES et FUJII 1906 ; HERZFELD 1927). Toutefois, en raison de l'étroitesse de ces plasmodesmes, STOPES et FUJII suggèrent que les réserves protéo-lipidiques, visibles dans le cytoplasme de la cellule centrale sous l'aspect de granules, ne peuvent entrer que sous une forme soluble plus simple, se condensant ultérieurement pour acquérir finalement l'état solide.

L'accumulation de telles réserves revêt en fait un aspect plus nuancé et leur distribution dans des territoires déterminés de la cellule laisse supposer l'existence de zones à métabolisme différent. FAVRE-DUCHARTRE (1955), chez le *Ginkgo*, fournit à ce sujet les précisions suivantes. Au début, les vacuoles, qui peuvent atteindre de grandes dimensions, apparaissent toujours vides. Dans le cytoplasme, plusieurs catégories d'éléments peuvent être remarqués : chondriome abondant composé de mitochondries et de chondriocoutes en bâtonnets ; amyloplastes globuleux ou fusiformes, mais petits et peu nombreux, et localisés dans les régions marginales de la cellule ; enfin, au voisinage du noyau, granules protéo-lipidiques, pour lesquels l'auteur suggère une origine nucléaire.

Puis, tandis que les chondriosomes se multiplient activement dans la zone périnucléaire tournée vers le centre de la cellule, le cytoplasme y apparaît synthétisé d'une manière plus dense et le vacuome est en régression. On y remarque également des concrétions qui présentent les mêmes caractéristiques de colorabilité que celles des granules protéo-

lipidiques. Dans la portion plus profonde, opposée au col, le contenu de certaines vacuoles est colorable par les réactifs des protides et des lipides et présente un aspect fibreux, tandis que chez d'autres, plus petites, il demeure apparemment incolore comme précédemment. Les amyloplastes des régions périphériques augmentent à peine de volume.

Plus tardivement, enfin, les vacuoles à contenu incolore se fragmentent et il ne tarde pas à se former, dans chacune de ces innombrables cavités, une concrétion protéo-lipidique, tandis que les travées cytoplasmiques s'épaississent et se chargent elles-mêmes de substances de nature comparable. Corrélativement, les granules colorables se résorbent graduellement et disparaissent. Il demeure, proche du noyau, mais d'un seul côté, opposé au col, un amas de cytoplasme dense, riche seulement d'éléments chondriosomiques et, dans la portion postérieure de la cellule, quelques vacuoles protéo-lipidiques.

Il n'est guère possible actuellement de préciser si ce mode d'évolution de la cellule peut être étendu aux diverses espèces des autres groupes. Toutefois, les observations sont sensiblement concordantes sur un même schéma de transformations du système vacuolaire ainsi que sur l'aspect fortement granuleux du cytoplasme. En outre, l'attention est également attirée sur la constitution et le moment de l'apparition des vacuoles protéidiques, dont la présence (*Pseudotsuga*, LAWSON 1909; *Pseudolarix*, MIYAKE et YASUI 1911) ou l'absence (*Cunninghamia*, MIYAKE 1910) est souvent signalée. Chez le *Cunninghamia*, MIYAKE indique simplement l'existence de granules plus intensément colorables, distribués çà et là dans le cytoplasme. Par contre, BURLINGAME (1915) remarque l'absence de toute réserve chez l'*Araucaria brasiliensis*. FERGUSON (1901), chez le *Pinus strobus*, trouve seulement quelques corps protéiques dans le cytoplasme de la cellule centrale, peu de temps avant la deuxième division gamétogène, tandis que HAUPT (1941) indique que ces matériaux, abondants, apparaissent parfois plus précocement chez les espèces qu'il a étudiées (*Pinus Lambertiana* et *P. monophylla*).

FAVRE-DUCHARTRE insiste sur le caractère nettement tardif de la « vitello-génèse » (élaboration des réserves protéo-lipidiques intravacuolaires) chez le *Ginkgo*. Il en serait de même chez le *Taxodium* (COKER 1903), où les vacuoles protéidiques commencent à se constituer dans le cytoplasme de l'œuf immédiatement avant la fécondation. Chez les deux espèces de *Pinus* que nous avons examinées, la transformation du vacuome se réalise en moins d'une semaine au terme de laquelle intervient la division de la cellule, précédant elle-même de peu la fécondation. Chez le *Picea excelsa* (MIYAKE 1903), quelques vacuoles protéidiques sont déjà présentes avant cette division, mais elles sont beaucoup plus nombreuses dans le cytoplasme de l'oosphère. Chacune contient d'abord plusieurs granules de taille différente. Puis, ceux-ci paraissent s'unir les uns aux autres, donnant naissance à une concrétion occupant la presque totalité de la vacuole. D'autres éléments de même nature sont également visibles dans le cytoplasme. Les oosphères du *Pinus pinaster* (MANGENOT 1938) renferment de nombreuses inclusions protéiques. Récemment, enfin, FAVRE-DUCHARTRE (1957) mentionne

l'existence de granulations vitellines oblongues à la fin de la maturation de l'archégone du *Cephalotaxus drupacea*. Chacun de ces éléments est entouré par la vacuole au sein de laquelle ils se sont formés.

b) Maturation de l'archégone

Peu de temps avant la fécondation, le noyau de la cellule centrale, proche du col, se divise et donne naissance au noyau de l'oosphère et au noyau ventral du canal. Une seule famille, les Taxaceae, ferait exception à cette règle. Cette division n'a pas été observée en effet chez le *Torreya taxifolia* (COULTER et LAND 1905), et CHAMBERLAIN (1935) considère qu'en raison de l'importance du matériel étudié, ainsi que de la compétence des observateurs, ces indications ne sauraient être mises en doute. Chez le *Torreya californica*, ROBERTSON (1904) aurait constaté toutefois la présence d'un noyau ventral du canal. Juger de l'absence de cette division sur le seul fait qu'elle n'a pas été observée paraît insuffisant. Toutefois, d'autres critères permettent de souligner les caractères particuliers de cette tendance évolutive. Ce sont, d'une part, la réduction du nombre des cellules du col et le manque d'activité mitotique de ces cellules au cours des stades précédant la fécondation, d'autre part, l'absence d'une jaquette nourricière nettement différenciée.

Chez les Taxodiaceae, par suite, vraisemblablement, d'informations insuffisantes sur le déroulement de cette mitose ainsi que de l'existence éphémère du noyau ventral, certains auteurs ont hésité à se prononcer sur la réalité de cette caryocinèse (BUCHHOLZ 1939 b, chez le *Sequoia sempervirens*), ou l'ont mise en doute (ARNOLDI 1900 b, chez le *Sequoia*, le *Taxodium*, le *Cryptomeria*, le *Cunninghamia*). Ces faits ne semblent pas avoir été confirmés (COKER 1903, chez le *Taxodium* ; LAWSON 1904 a et b, chez le *Sequoia sempervirens* et le *Cryptomeria japonica* ; MIYAKE 1910, chez le *Cunninghamia sinensis* ; LOOBY et DOYLE 1937, chez le *Sequoia gigantea*).

Dans les autres familles, la deuxième division gamétogène a généralement été observée, mais seulement chez le *Ginkgo*, les Pinaceae et, exceptionnellement peut-être, chez quelques Cycadales, elle est suivie par l'élaboration d'une plaque cellulaire. Chez les autres espèces, les deux noyaux-fils sont plongés dans un même cytoplasme indivis. Quelles que soient ces modalités, la cellule ou le noyau ventral, dont le rôle est apparemment superflu, sont voués à une dégénérescence dont l'échéance est souvent précoce. Parfois, le noyau ventral subit des transformations qui l'amènent à un état voisin de celui du noyau reproducteur proprement dit. Dans un certain nombre de cas, peu nombreux il est vrai, mais cependant signalés chez les divers groupes, des structures comparables ont été décrites dans la portion supérieure de l'oosphère, au voisinage de son noyau. Leur origine n'a pu être précisée et des hypothèses variées ont été formulées à ce sujet.

La deuxième division gamétogène

présente, comme celle qui l'a précédée, certains caractères propres aux cellules hautement différenciées.

— Tout d'abord, elle survient à un moment précis de la maturation de

l'archégone, généralement peu de temps avant la fécondation, de sorte que, dans les conditions normales, son avènement annonce l'imminence de celle-ci. Chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), ces divisions sont rigoureusement simultanées pour les divers archégones d'un même prothalle et il paraît en être de même chez le *Cunninghamia sinensis* (MIYAKE 1910), bien que les premiers stades de leur déroulement n'aient pas été observés. Chez le *Juniperus communis* (NICHOLS 1910), elles ne seraient qu'approximativement synchrones, tandis que chez le *Cephalotaxus drupacea* (FAVRE-DUCHARTRE 1957), elles se réalisent de proche en proche dans un même gamétophyte, comme par contagion, à partir d'un archégone initiateur. Rappelons à ce sujet que, pendant le même temps, intervient également, chez quelques espèces, la deuxième division des cellules du col (*Ginkgo*, Cycadales), et que les noyaux de l'assise nourricière montrent fréquemment des stades de division (*Pinus*, VAZART, n. p.).

— Ensuite, elle se déroule à un endroit nettement privilégié de la cellule, le noyau se trouvant placé presque au contact de la limite apicale du cytoplasme. COKER (1903) signale que, chez le *Taxodium*, la membrane nucléaire est très proche de la paroi de la cellule, de sorte qu'il est souvent impossible de distinguer du cytoplasme entre ces deux structures.

— Enfin, l'axe de division est orienté, parallèle à celui, longitudinal, de l'archégone. HERZFELD (1927) note toutefois exceptionnellement, chez le *Ginkgo*, une orientation perpendiculaire à cet axe.

Bien que d'apparence banale, cette division aboutit à la constitution de deux noyaux qui, souvent réunis dans un même cytoplasme, sont voués à des destinées différentes. l'un étant appelé à dégénérer tôt ou tard *in situ*, tandis que l'autre est fonctionnel. Au moment de la division, la chromatine se présente sous un aspect granuleux qui paraît constituer un réticulum ininterrompu. On a souvent noté à ce stade une contraction sensible du matériel chromatique (*Pinus strobus*, FERGUSON 1901 ; *Picea excelsa*, MIYAKE 1903 ; *Encephalartos*, SEDGWICK 1924 ; *Pinus Lambertiana* et *P. monophylla*, HAUPT 1941). Nous avons nous-même constaté chez le *Pinus nigra* et le *P. silvestris* une contraction du matériel colorable. Celle-ci se remarque seulement dans le noyau de la cellule centrale et peu de temps avant sa division. En l'absence d'informations plus complètes, nous ne saurions indiquer néanmoins si c'est là un stade préparatoire à la division ou un effet du fixateur utilisé (en l'occurrence celui de NAWASCHIN).

Par contre, on a interprété certains aspects fibrillaires du cytoplasme



Fig. 13. *Pinus nigra*, 2ème division gamétogène, métaphase. Matériel prélevé le 11 juin. Nawaschin ; Feulgen ; contraste de phase ; $\times 340$.

peu de temps avant la mitose comme un mode particulier de formation du fuseau. De fines « chaînes kinoplasmiques » se différencieraient de part et d'autre du noyau suivant son grand axe. A ce niveau, les portions de membrane nucléaire disparaîtraient et ces fibrilles, s'étendant graduellement, se rejoindraient dans la cavité (*Tsuga canadensis*, MURRILL 1900 : *Pseudotsuga Douglasii*, LAWSON 1909). Des travaux plus récents n'ont pas confirmé la réalité de tels phénomènes, mais insisté sur le développement particulièrement important d'un fuseau intranucléaire. BRYAN et EVANS (1957) ont récemment indiqué que le fuseau apparaît d'abord à l'intérieur

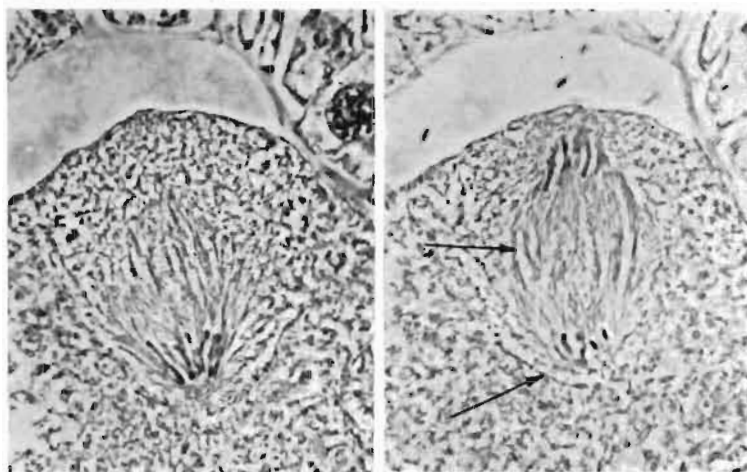


Fig. 14. *Pinus silvestris*, 2ème division gamétogone, fin d'anaphase. Noter le groupement des fibres fusoriales en faisceaux et la présence d'une portion de membrane nucléaire. Matériel prélevé le 11 juin. Nawaschin : Feulgen ; contraste de phase ; $\times 800$.

du noyau chez le *Zamia umbrosa*. LEE (1955) note chez le *Ginkgo* la disposition particulière des fibres fusoriales qui, d'un côté, convergent nettement en un point situé à proximité du col, tandis que de l'autre, cette convergence est assez mal définie. Chez le *Pinus silvestris* (VAZART, n. p.), en anaphase, les fibres apparaissent groupées par faisceaux (Fig. 14). Le nucléoplasme demeure distinct du cytoplasme en métaphase et ne semble pas présenter une grande densité, car certains éléments cytoplasmiques sont visibles par transparence. Les chromosomes, colorables sans excès, sont particulièrement longs lorsqu'on les compare à ceux de mitoses banales observées sur une même coupe dans des cellules prothalliennes. BRYAN et EVANS ont constaté que, bien que la membrane nucléaire disparaisse normalement en métaphase, certaines portions sont parfois présentes plus tardivement au début de l'anaphase. De telles portions ont été observées chez le *Pinus silvestris*, en fin d'anaphase : mais nous pensons qu'il s'agit plutôt d'une reconstitution précoce de la membrane nucléaire ou d'une différenciation cytoplasmique au contact du nucléoplasme.

Les stades télophasiques sont particulièrement intéressants, car on peut attendre, dès ce moment, une différenciation lors de la reconstitution des deux noyaux-fils. Les observations sont toutefois assez décevantes à ce

sujet. Tantôt il est fait état d'une étroite ressemblance entre ces noyaux (*Pinus silvestris*, BLACKMANN, 1898 ; *Cephalotaxus drupacea*, LAWSON 1907 ; *Abies balsamea*, HUTCHINSON 1915 b ; *Keteleeria evelyniana*, WANG 1948). Tantôt quelques différences peuvent être notées dès la fin de l'anaphase. Chez le *Ginkgo*, FAVRE-DUCHARTRE mentionne qu'au pôle micropylaire les chromosomes peuvent présenter dès ce stade des signes de dégénérescence ou reconstituer un noyau qui devient rapidement pycnotique. Chez le *Pinus*, HAUPT (1941) indique que le noyau du pôle apical apparaît moins intensément colorable. Il se contracte et différencie ensuite une membrane. Chez l'*Ephedra altissima*, BERRIDGE (1909) remarque que les deux sont parfois semblables ; néanmoins on peut rapidement les distinguer par suite de l'augmentation sensible du volume de l'un d'eux.

Cellule ventrale du canal

Dans un premier groupe d'espèces qui comprend les Ginkgoales et, parmi les Coniférales, les Pinaceae, une cytokinèse inégale isole une petite cellule ventrale de la volumineuse oosphère. Le mode de formation de la paroi ne semble pas avoir retenu plus amplement l'attention. Généralement, la cellule ventrale, de forme ovoïde ou lenticulaire et dont le noyau retourne à la condition de repos avant de se désorganiser, dégénère promptement. Elle apparaît nettement séparée de l'oosphère, à une petite distance de cette cellule, et se présente ensuite sous l'aspect d'une coiffe qui rappelle sensiblement les cellules mégasporiennes non fonctionnelles (Fig. 15 b). Cependant, il arrive qu'elle soit encore visible lors de la fécondation. Chez le *Keteleeria* (WANG 1948), certaines figures observées permettent de constater un début d'activité mitotique. Chez le *Pseudotsuga Douglasii* (LAWSON 1909), la membrane cellulaire persiste jusqu'à la fécondation, mais le noyau n'est plus reconnaissable. C'est également la conclusion d'ALLEN (1943) pour une espèce voisine, le *Pseudotsuga taxifolia*. Toutefois, le noyau pourrait s'agrandir anormalement et se dégager de son enveloppe cellulaire qui se désorganise. L'auteur signale également l'existence d'une cellule renfermant 5 noyaux, tandis qu'une autre a été observée en mitose. Pour ces deux derniers cas, la possibilité d'une fécondation éventuelle de cette cellule ne serait pas exclue, mais aucun détail cytologique concernant la réalité de cette caryogamie n'a été apporté. Chez l'*Abies balsamea*, par contre, (HUTCHINSON 1915 b), le noyau ventral « brise » la paroi cellulaire et émigre normalement dans le cytoplasme de l'oosphère. Il s'y dilate et sa structure est alors semblable à celle du noyau reproducteur proprement dit, mais son volume est moitié moindre. Sa fécondation par le second gamète mâle ou par des gamètes provenant de tubes supplémentaires aurait été constatée dans plusieurs cas.

Chez les Cycadales (*Zamia* et *Cycas*), WEBER (1897 c) insiste sur la présence constante d'une cellule distincte à l'apex de l'archégone et REYNOLDS (1924) note, chez le *Microcycas*, l'existence d'une paroi qui se désorganise ensuite ou peut persister. De semblables exceptions n'ont pas été relevées par d'autres auteurs.

Noyau ventral du canal

Dans un deuxième groupe qui réunit toutes les autres espèces chez lesquelles s'effectue la division du noyau de la cellule centrale, le noyau ventral du canal n'est pas isolé de l'oosphère. Néanmoins sa destinée est peu

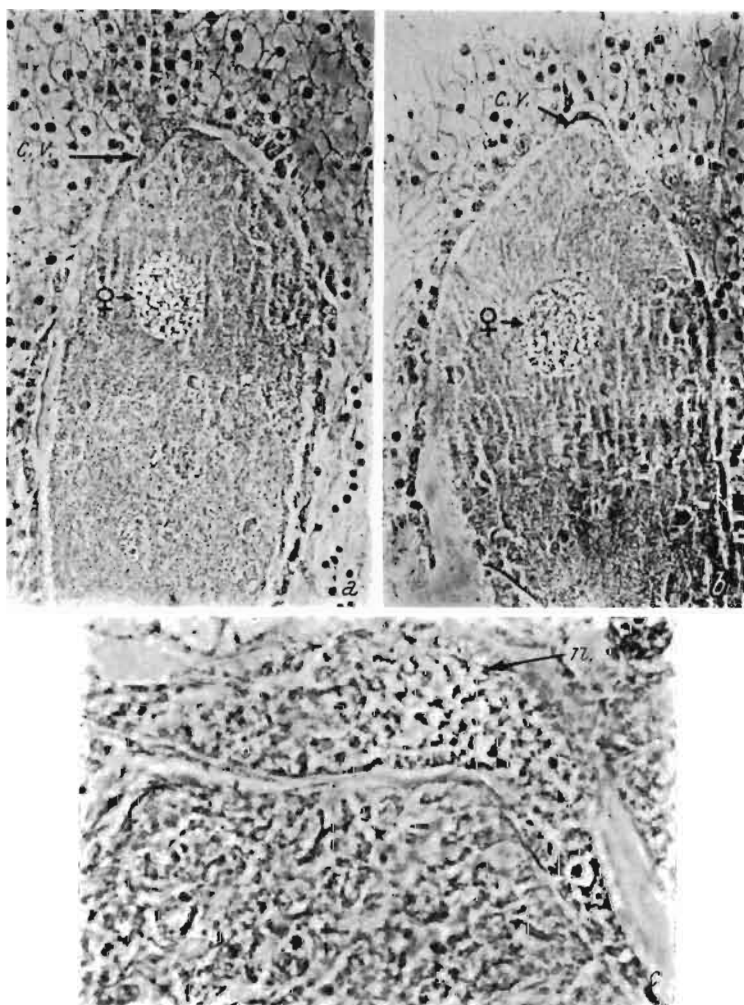


Fig. 15. Coupes longitudinales d'archéogones du *Pinus nigra* à maturité. c. v. : cellule ventrale du canal ; ♀ : noyau de l'oosphère. Noter en c le noyau de la cellule ventrale (n) et l'espace séparant la cellule ventrale de l'oosphère. Matériel prélevé le 11 juin. Nawaschin ; Feulgen ; contraste de phase ; a et b : $\times 135$; c : $\times 800$.

différente de celle qui affecte ce même noyau lorsqu'une cellule est constituée. Il est observé, en effet, dans la région primitivement occupée par le noyau parental et demeure peu volumineux. Souvent comprimé à la périphérie de l'oosphère, il dégénère bientôt, n'étant généralement plus repérable au moment de la fécondation.

D'autres comportements ont été constatés et laissent subsister un doute sur l'origine d'un noyau supplémentaire décrit dans le cytoplasme de

l'oosphère au moment de la fécondation (SCHNARF 1933 ; FAVRE-DUCHARTRE 1956). Parmi les travaux anciens, nous avons retenu les descriptions de COKER sur le *Podocarpus* (1902) et le *Taxodium* (1903) ainsi que celle de SEDGWICK (1924) sur l'*Encephalartos*.

D'après COKER, chez le premier des deux genres, le noyau ventral est d'abord étroitement appliqué contre la paroi de l'archégone et légèrement déporté par rapport à son axe. Il demeure habituellement dans cette région jusqu'à la fécondation, ce qui lui permet de ne pas être détérioré lorsque le tube pollinique décharge son contenu dans l'oosphère. Il se déplace ultérieurement, augmente de volume et, fréquemment, se divise amitotiquement. A ce stade, il présente un réticulum assez comparable à celui du noyau de l'œuf. Lorsque l'archégone n'est pas fécondé, le noyau ventral peut également modifier sa position et même venir au contact du noyau reproducteur femelle. Des phénomènes analogues sont notés dans les archégonés fécondés ou non du *Taxodium*. Dans le premier cas, le noyau vient occuper le centre de l'archégone. Il se dilate et se divise par amitose donnant naissance à plusieurs éléments nucléaires de taille différente, localisés dans la moitié supérieure de l'œuf. Dans cette région, le protoplasme apparaît séparé de celui qui entoure les noyaux du proembryon. Dans le second cas, le noyau ventral augmente d'abord de volume *in situ* et émigre ensuite au centre de l'oosphère. Sa division n'a pas alors été observée.

Chez l'*Encephalartos*, le noyau ventral, sitôt constitué, est plus petit que celui de la cellule reproductrice. Ces différences de taille, qui laisseraient présumer une étape de sa dégénérescence, sont toutefois trompeuses, car, ultérieurement, le noyau ventral s'agrandit considérablement et subit une maturation comparable à celle du noyau reproducteur, au voisinage duquel il vient se placer. Par ailleurs, en raison d'autres constatations : absence de fécondation mais présence d'un proembryon, SEDGWICK suggère l'éventualité d'une fusion des deux noyaux femelles, hypothèse émise précédemment par CHAMBERLAIN (1912) à propos du *Ceratozamia* et de l'*Encephalartos*.

Récemment, deux séries de travaux (BRYAN et EVANS 1957, sur le *Zamia umbrosa*, et FAVRE-DUCHARTRE 1957 sur le *Cephalotaxus drupacea*) ont traité de ces structures nucléaires, de caractère exceptionnel. Pour BRYAN et EVANS, elles proviennent d'un développement particulier du noyau central au moment de sa division ou sitôt après, et ces auteurs ont ainsi défini 4 types de comportement. Le plus fréquemment, le noyau ventral est normalement formé dans la région apicale de la cellule femelle. Toutefois, il ne dégénère pas mais subit sur place une lente croissance, à la suite de laquelle le noyau, qui peut alors être diversement lobé, émigre à des endroits variés de la portion supérieure de l'oosphère. Dans une variante de ce premier type, plus rare, le noyau ventral est initialement plus éloigné de l'apex de la cellule. Cette tendance, à peine ébauchée dans ce cas, est plus nettement marquée dans un troisième type, également peu fréquent : les deux noyaux issus de la deuxième division gamétogène évoluent de façon comparable et se déplacent tous deux vers le centre de l'archégone, constituant, en fait, deux noyaux reproducteurs potentiels. Enfin, dans un dernier type, la divi-

sion normale du noyau central n'est pas observée. Plus tard, après que le noyau se soit considérablement dilaté, sa chromatine se sépare en deux masses distinctes qui s'isolent ensuite l'une de l'autre par « fission » du noyau initial. Dans ce cas, deux éléments reproducteurs potentiels, égaux ou inégaux, sont également individualisés.

Chez le *Cephalotaxus drupacea*, par contre, le noyau ventral du canal dégénère dans tous les cas. Dans 3 archégones non fécondés, sur plus de 200 examinés, FAVRE-DUCHARTRE note la présence de deux noyaux reproducteurs femelles. En raison de l'existence, dans l'un des archégones, d'un noyau ventral dégénéré, mais repérable par suite de sa réaction Feulgen-positive, l'auteur suppose que ces deux éléments proviennent normalement de la

division du noyau de l'oosphère. Cette mitose, cependant, n'a pas été observée.

Il paraît encore difficile de comparer les phénomènes constatés chez ces deux espèces à des exemples similaires signalés antérieurement. L'évolution particulière du noyau ventral chez le *Zamia umbrosa* est certainement moins discutable que l'origine hypothétique du noyau supplémentaire, fils du noyau de l'oosphère chez le *Cephalotaxus*, dans la mesure où sont obtenus des stades successifs de sa transformation : ce qui ne semble pas devoir être mis en doute en raison des nombreuses illustrations photographiques

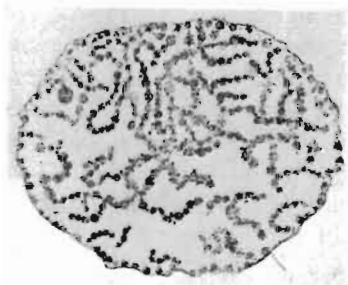


Fig. 16. Noyau de l'oosphère adulte chez le *Ginkgo*. Nawaschin : Feulgen-vert lumière ; $\times 500$.

(FAVRE-DUCHARTRE 1955.)

données par les auteurs. Par ailleurs, elle est également plus proche des descriptions de COKER (*Podocarpus*, 1902. et *Taxodium*, 1903), CHAMBERLAIN (*Ceratozamia*, 1912), HUTCHINSON (*Abies*, 1915 b), SEDGWICK (*Encephalartos*, 1924), LOOBY et DOYLE (*Sequoia*, 1937).

Oosphère

Dans l'oosphère, le noyau reproducteur émigre généralement au centre de la cellule ou dans une région sensiblement plus proche du col. Pendant le même temps, il se dilate et cette augmentation de volume, rapide et démesurée, est tout aussi peu expliquée que celle du noyau de la cellule centrale. Chez le *Macrozamia Reidlei* (BAIRD 1939), il mesurerait $500 \times 300 \mu$. Ses dimensions sont moins importantes chez les Coniférales (de l'ordre de 100 à 150μ dans son plus grand axe).

Il renferme un matériel ténu, d'aspect granuleux, que FAVRE-DUCHARTRE (1955) interprète comme étant des chromonémas complètement despiralisés chez le *Ginkgo* (Fig. 16). Ce même auteur mentionne chez cette espèce ainsi que chez le *Cephalotaxus drupacea* une réaction nucléale positive au niveau de ces fins filaments. Chez le *Pinus pinaster*, cette réaction est presque négative (MANGENOT 1958), tandis que chez le *Pinus Thunbergii* (SHIMAMURA 1956), le noyau deviendrait Feulgen-négatif lorsqu'il atteint son développement maximum. Indiquons que, dans les conditions actuelles de l'observation microscopique, cette estimation de la colorabilité du noyau repro-

ducteur est assez malaisée. A de faibles grossissements (80 à 100 fois), nous avons pu repérer chez le *Pinus nigra* et le *P. silvestris*, après la réaction nucléale, une faible coloration rosée du noyau de l'oosphère. Celle-ci n'est pas évidente à des grossissements plus élevés (au-delà de 300 fois). Chez le *Ginkgo biloba* (LEE 1955), des mesures cytophotométriques indiqueraient que la quantité de DNA contenu dans le noyau de l'oosphère est égale à celle renfermée par les noyaux des cellules de la jaquette.

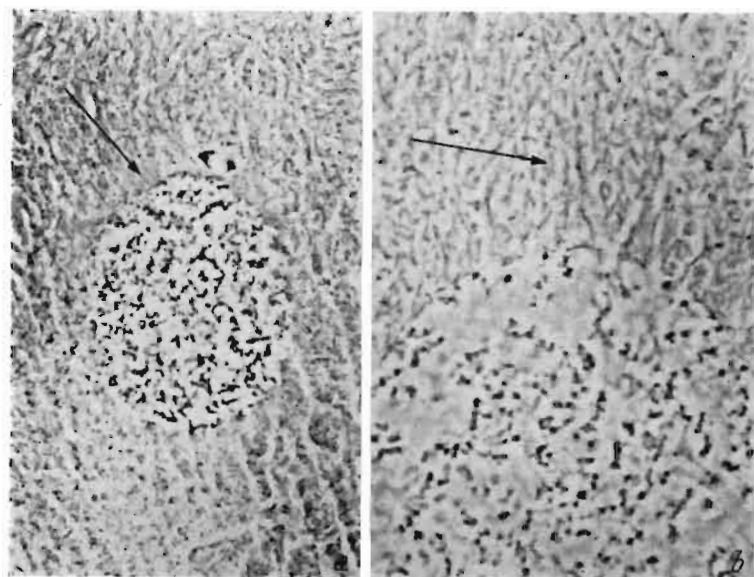


Fig. 17. Coupes longitudinales du noyau de l'oosphère du *Pinus nigra*. Noter l'aspect fibrillaire du cytoplasme situé au voisinage du noyau reproducteur et entre ce dernier et l'extrémité apicale de la cellule, ainsi qu'en *b* la finesse et l'irrégularité de l'épaisseur de la membrane nucléaire. Matériel prélevé le 11 juin. Nawaschin ; Feulgen ; contraste de phase : *a* : $\times 340$ (cf. *b*, Fig. 15) ; *b* : $\times 800$.

L'appareil nucléolaire est représenté par un ou plusieurs nucléoles, habituellement vacuolisés et de volume relativement peu élevé. On observe parfois d'autres unités beaucoup plus petites et plus nombreuses. Chez le *Pinus Lambertiana*, HAUPT (1941) signale près de 130 de ces éléments répartis par petits groupes dans la totalité de l'espace intranucléaire.

Le cytoplasme ne semble pas subir de modifications importantes. D'une manière générale, le vacuome a tendance à régresser graduellement, exception faite peut-être de certaines Taxodiaceae et Cupressaceae, où l'on constate encore, au moment de la fécondation, la présence d'une vacuole relativement grande dans la portion profonde de l'archégone. Chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), le chondriome, formé de mitochondries et de chondriocentes, est réparti entre les vacuoles vitellines, tandis que, chez le *Pinus pinaster* (MANGENOT 1938), il est exclusivement composé de mitochondries très petites qui existent également dans le cytoplasme périnucléaire dépourvu de vitellus. FAVRE-DUCHARTRE (1957) note, par ailleurs, chez le *Cephalotaxus*, la présence de 2 ou 3 sphères creuses alignées axialement en-dessous du noyau.

Enfin quelques auteurs (COKER 1903, chez le *Taxodium* ; NOREN 1904 et 1907, chez le *Juniperus* ; MIYAKE 1910, chez le *Cunninghamia*) ont accordé une certaine importance à l'existence de territoires cytoplasmiques plus denses et d'aspect souvent fibrillaire. Chez le *Pinus* (VAZART, n. p.), de fins

filaments irradiant autour du noyau de la cellule centrale et des structures comparables ont été observées dans l'oosphère au contact de la membrane nucléaire, plus nombreuses toutefois dans la région orientée vers le col (Fig. 17). Des différenciations cytoplasmiques d'aspect analogue ont été décrites comme révélatrices de stades préparatoires au fuseau achromatique, ou en relation avec la brusque migration du noyau reproducteur (LAWSON 1909).

Nous pensons qu'elles sont de nature différente sans pouvoir toutefois le préciser davantage dans l'immédiat.

Quelques indications sur les « cellules » reproductrices femelles du *Gnetum africanum* ont été données récemment par WATERKEYN (1954). Au moment de l'arrivée des tubes polliniques au sommet du sac embryonnaire, certaines modifications surviennent à ce niveau dans la disposition des éléments nucléaires. Ceux-ci, libres et uniformément répartis dans un cytoplasme finement vacuolisé, présentent d'abord un aspect identique. Ensuite, un à trois d'entre eux, plus volumineux, sont observés dans un cytoplasme plus dense et plus colorable qui apparaît alors nettement séparé

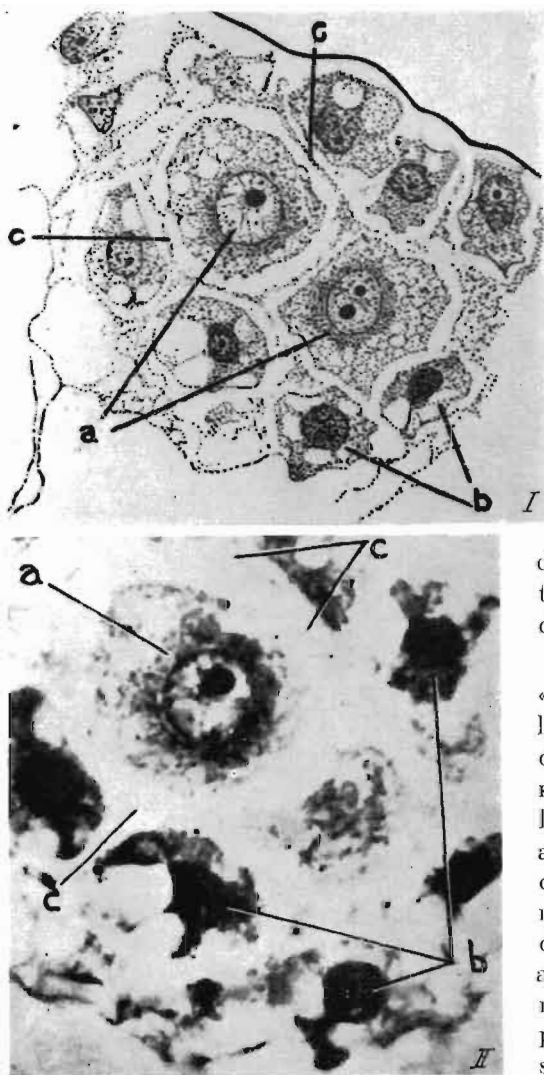


Fig. 18. Dessin (I) et photomicrographie (II) représentant l'ensemble des « cellules » situées au sommet d'un sac embryonnaire prêt à la fécondation chez le *Gnetum africanum*. a : « cellules » gamètes femelles ; b : « cellules » plus petites, bordant les précédentes ; c : traînées de cytoplasme granuleux, séparant ces différentes « cellules ». I $\times$ 825 ; II $\times$ 1200. (WATERKEYN 1954.)

des cytoplasmes voisins. Ces derniers forment une sorte de bordure plus ou moins régulière autour de ces « cellules » qui représenteraient des gamètes femelles (Fig. 18). Un doute subsiste néanmoins sur leur qualité car, selon

WATERKEYN, elles pourraient tout aussi bien constituer un jeune zygote. A ce stade, l'auteur précise qu'aucune paroi cellulaire ne peut être discernée autour de ces éléments.

III. Fécondation

Les premières étapes de la fécondation se déroulent différemment chez les Cycadales et Ginkgoales d'une part, et chez les Coniférales d'autre part. Ces dernières, en effet, ne possèdent pas de spermatozoïdes individualisés : les gamètes mâles, comme chez les végétaux Angiospermes, sont véhiculés jusqu'au voisinage de leur partenaire femelle, par l'intermédiaire du tube pollinique. Dans les premiers groupes, ce relais n'est que partiellement réalisé. Les Cycadales sont encore zoïdogames, mais sont aussi siphonogames : le *Ginkgo* par contre ne serait plus réellement siphonogame (MARTENS 1947). Quant aux Gnétales, où la siphonogamie est également présente, l'hétérogénéité du groupe, ainsi que les caractères particuliers des phénomènes de la fécondation chez le *Welwitschia* et le *Gnetum*, autorisent à les envisager séparément.

Cycadales et Ginkgoales

Chez les Cycadales, l'extrémité du boyau pollinique se rompt et les gamètes qui s'en échappent sont recueillis sur le plancher de la chambre archégoniale. Ils trouvent à ce niveau un milieu favorable à leur déplacement. LAWSON (1926) indique que, chez le *Bowenia*, les cellules du col sécrètent à ce moment une goutte d'eau qui s'ajoute au liquide déversé par les tubes. D'après BROUGH et TAYLOR (1940), cette excrétion doit être tenue pour négligeable car elle nuirait aux gamètes en diminuant la forte pression osmotique du milieu ; par contre, on peut admettre que le liquide d'origine mâle est amplement suffisant, puisque, chez le *Macrozamia spiralis*, près de 20 tubes polliniques peuvent ainsi se déverser dans une seule chambre. Par ailleurs, l'atmosphère de la chambre doit être elle-même saturée d'humidité, ce qui suffit à expliquer qu'elle favorise pour un temps la bonne conservation des gamètes lorsque ceux-ci ne s'introduisent pas immédiatement entre les cellules du col. CHAMBERLAIN (1910 a) avait déjà constaté chez le *Dioon edule* l'humidité relative de la chambre pollinique avant que les tubes n'aient commencé à décharger leur contenu.

Chez le *Ginkgo*, au moment de la fécondation, la cavité pollinique est totalement remplie par un liquide de réaction acide (FAYRE-DUCHARTRE 1955) et dont l'origine a été diversement interprétée. Selon HIRASE (1918), le « liquide de fécondation » serait sécrété par le tissu prothallien voisin des archégonies et par les archégonies eux-mêmes. Selon FAYRE-DUCHARTRE, il proviendrait des cellules nucellaires qui se libéreraient soudainement de leur turgescence. Cette étape dure de 4 à 12 jours, au terme de laquelle ces éléments se dessèchent et meurent tandis que la chambre pollinique s'affaisse et adhère au prothalle. L'étude macroscopique du nucelle pour lequel l'auteur définit trois aspects successifs permet alors d'apprécier le moment de la libération des spermatozoïdes.

D'autres hypothèses ont été avancées pour expliquer la pénétration de ces derniers, dont la taille est particulièrement importante, à l'intérieur des cellules du col. Après avoir admis, puis rejeté, à la suite des expériences de MIYAKE (1906), une attirance de nature chimique, CHAMBERLAIN fait appel à des phénomènes d'osmose et de plasmolyse auxquels sont sujettes les cellules du col (*Dioon edule*, 1910 a, et *Stangeria paradoxa*, 1916), ainsi qu'à l'épaisseur différente de leurs parois (*Bowenia*, 1926). Par ailleurs, les spermatozoïdes se déplacent à l'aide de mouvements amoeboïdes et grâce aux battements de leurs cils. Chez le *Macrozamia spiralis*, BROUGH et TAYLOR (1940) n'ont pas remarqué de différences notables dans l'épaisseur des membranes cellulaires du col. D'après ces auteurs, un tel mécanisme serait inopérant, du moins chez cette espèce. Par contre, des variations minimales de la turgescence de ces cellules, en relation avec la poussée provenant de la turgescence élevée de l'oosphère, suffiraient à les séparer. L'ouverture ainsi créée, même si elle mesure moins de $215\ \mu$, dimension qui représente le diamètre moyen des gamètes, permettrait à ceux-ci de s'introduire dans l'archégone, soit en modifiant leur aspect extérieur, condition qui est déjà notée dans le tube pollinique, soit en forçant quelque peu le passage. BRYAN et EVANS (1957) précisent que chez le *Zamia umbrosa*, la séparation des cellules du col s'effectue au niveau des parois récemment constituées à la suite de la deuxième division.

Chez le *Ginkgo* (LEE 1955) l'ouverture du col serait favorisée par une projection de l'oosphère à travers la cellule ventrale du canal, à ce moment fortement détériorée. Par ailleurs, la cellule reproductrice femelle sécréterait quelque liquide qui attirerait probablement les gamètes mâles. FAVRE-DUCHARTRE a montré que les 4 cellules du col sont disposées à ce stade en deux couples qui se chevauchent. A la suite de leur dilatation, ces couples présentent une cohésion moindre et se disjoignent suivant le plan de séparation de la précédente division.

Quoiqu'il en soit, les cellules du col ne paraissent pas altérées lors du passage des gamètes qui s'effectue rapidement. Plusieurs d'entre eux pénètrent habituellement dans l'archégone. CHAMBERLAIN (1916) en signale 7 dans un cas chez le *Stangeria*, et, dans de nombreux exemples, 1 ou 2. Cinq spermatozoïdes additionnels sont notés dans l'archégone du *Macrozamia spiralis* (BROUGH et TAYLOR 1940) et du *Cycas* (SWAMY 1948), fréquemment 1 ou 2 dans celui du *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955 et LEE 1955). Par contre, un seul est observé dans l'archégone du *Macrozamia Reidlei* (BAIRD 1939).

Un seul spermatozoïde est toutefois fonctionnel et pénètre rapidement dans le cytoplasme de l'oosphère. Les gamètes surnuméraires sont aisément reconnaissables à l'apex de l'œuf, sous les cellules du col où ils dégénèrent lentement. Occasionnellement, l'un d'eux s'introduit quelque peu dans l'œuf, mais dans ce cas, ne se libère pas de sa gaine ciliée. Il ne se mélange pas au protoplasme femelle et demeure longtemps visible sous l'aspect d'une masse opaque vivement colorable (*Zamia*, WEBER 1897 c ; *Dioon*, CHAMBERLAIN 1910 a ; *Cycas*, SWAMY 1948). Un cas de dispermie a été signalé chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955) : le noyau d'une oosphère présentait deux invaginations renfermant chacune un noyau mâle.

Tous les auteurs s'accordent sur le déroulement des premiers stades de la syngamie et sur les destinées apparemment différentes du cytoplasme et du noyau de l'élément mâle. Dès que le spermatozoïde entre en contact avec l'oosphère, son noyau s'échappe en effet de la gaine cytoplasmique et se dirige seul vers son partenaire femelle. A ce stade, il apparaît parfois sensiblement contracté (SWAMY 1948, chez le *Cycas*; FAVRE-DUCHARTRE 1955.

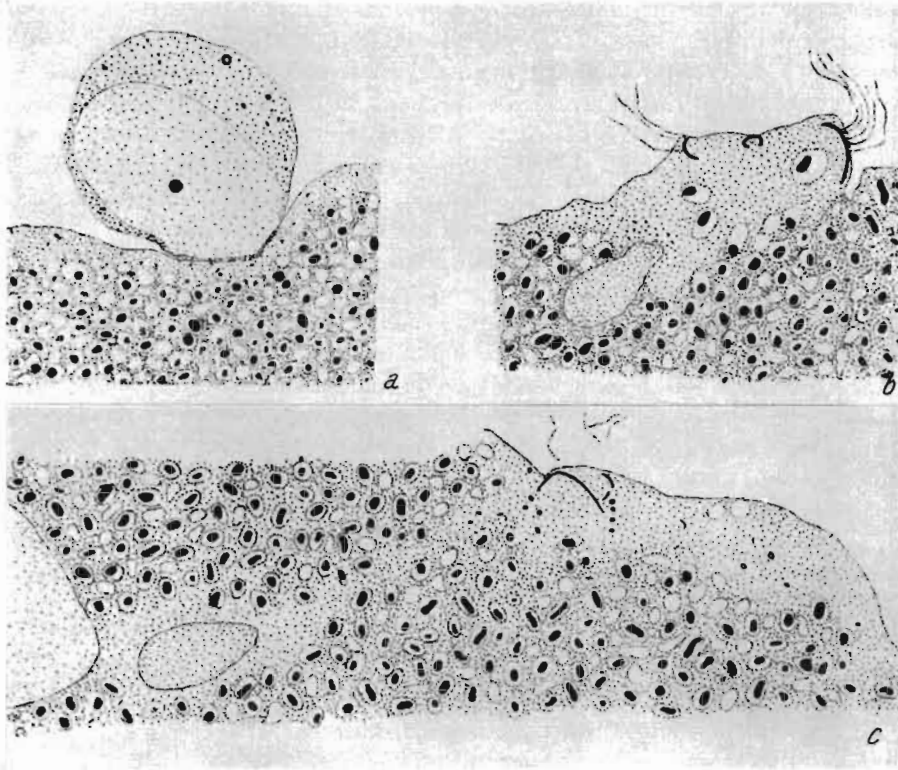


Fig. 19. *Ginkgo biloba*, pénétration du spermatozoïde dans l'oosphère ($\times 800$) ; Regaud ; hématoxyline-éosine ; début septembre. *a* : Entrée en contact du spermatozoïde avec l'oosphère. *b* : Noyau mâle très rétracté en début de pénétration. Le cytoplasme mâle et le mastigosome spiralé sont restés à la périphérie de l'oosphère mais s'intègrent à celle-ci. *c* : Noyau mâle sur le point d'atteindre le noyau femelle (dont un fragment seulement est figuré à la partie gauche du dessin) ; des restes du mastigosome et des plastas vésiculés, d'origine mâle, sont visibles à droite, dans le cytoplasme dépourvu de vitellus.

(FAVRE-DUCHARTRE 1955.)

chez le *Ginkgo*) ou augmente de volume (LAWSON 1926, chez le *Boronia*). L'enveloppe cytoplasmique et l'appareil cilifère sont graduellement incorporés à l'œuf, et, sitôt après l'achèvement des fusions nucléaires, ils ne sont plus identifiables. SHIMAMURA (1928) signale, cependant, que la bande ciliée peut être abandonnée par le gamète avant son entrée dans l'oosphère et FAVRE-DUCHARTRE indique qu'une partie des cils demeure à l'extérieur de la cellule femelle et n'est pas absorbée ultérieurement par elle. Par contre, le cytoplasme, nettement reconnaissable par son chondriome granuleux et son manque de réserves protidiques, s'étale largement dans les régions périphériques de l'œuf (Fig. 19).

Le noyau mâle s'approche du noyau femelle et prend contact avec lui dans sa région apicale. LEE (1955) constate toutefois que cette entrée n'est pas confinée à une région déterminée de l'élément femelle chez le *Ginkgo*. La différence de taille entre les deux noyaux est nettement marquée (*Macrozamia*, BAIRD 1939; BROUGH et TAYLOR 1940). LAWSON (1926) indique pour le *Bowenia* un rapport de taille de 3 pour 1. Chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1950), le noyau femelle serait à ce moment 10 fois plus volumineux que le noyau mâle. Les descriptions des co-pénétrations ont été interprétées différemment. IKENO (1898) chez le *Cycas revoluta*, puis WEBER (1901), chez le *Zamia*, ont accordé au noyau femelle une certaine activité, celui-ci se creusant intérieurement pour ménager une logette hémisphérique, en englobant progressivement le noyau mâle. JOHANSEN (1950) considère ces descriptions comme douteuses. Les travaux ultérieurs tendent en effet à attribuer un rôle passif au noyau femelle (TISCHLER 1951) : l'invagination qui est généralement observée serait, au contraire, provoquée par la pénétration de l'élément mâle. Dans tous les cas, ce dernier paraît littéralement englouti, mais demeure pour un temps individualisé. Chez le *Bowenia* (LAWSON 1926), la membrane nucléaire mâle persiste plus longtemps que les portions d'origine femelle qui lui sont contiguës. Chez le *Ginkgo* (FAVRE-DUCHARTRE 1955), où la caryogamie se déroule lentement, le noyau spermatique retrouve peu à peu une réaction Feulgen-positive, depuis le moment où il est enclavé dans le noyau femelle jusqu'à la résorption des membranes nucléaires limitantes. Les deux noyaux sont à ce moment au stade de repos, phénomène déjà constaté par CHAMBERLAIN (1916) chez le *Stangeria paradoxa* et plus récemment, par SWAMY (1948) chez le *Cycas*. Chez le *Macrozamia Reidlei* (BAIRD 1939), le noyau de fusion apparaît uniformément colorable.

Les stades ultérieurs ont été succinctement décrits. Les premiers auteurs ont mentionné l'existence de fuseaux séparés et disposés parallèlement lors de la première mitose. Ces particularités demeureraient visibles au cours des 4 ou 5 générations de mitoses suivantes. Indiquons à ce sujet que chez le *Ginkgo* où de tels phénomènes ont été relatés (IKENO 1901 et HERZFELD 1927), des observations plus récentes (FAVRE-DUCHARTRE 1955 et LEE 1955) semblent bien prouver que le mélange des chromatines à l'état de chromosomes est parfaitement réalisé dès la prophase de la première division de l'œuf.

Coniférales

Malgré le nombre relativement important de travaux consacrés à l'étude des phénomènes de la fécondation chez les Coniférales, en particulier chez le genre *Pinus*, les renseignements que nous possédons sont encore peu satisfaisants. Certaines descriptions anciennes sont critiquables. Quelques unes, plus récentes, omettent souvent des détails essentiels. Par ailleurs, les unes et les autres sont loin d'être concordantes en tous points.

Deux modes principaux peuvent se dégager de cet ensemble et paraissent en relation, d'une part, avec la disposition des archégones, d'autre part, avec l'individualisation plus ou moins marquée des cellules mâles à l'intérieur des tubes polliniques. Chez les Pinaceae et, de façon générale,

chez les Coniférales du premier groupe, un seul gamète mâle serait fonctionnel, chaque archégone étant fécondé par un tube pollinique. Chez les Taxodiaceae et Cupressaceae où les deux gamètes, d'ailleurs plus volumineux, sont nettement isolés l'un de l'autre, un même tube pourrait féconder deux archégonies voisins, mais de telles potentialités ne paraissent pas avoir été vérifiées de façon certaine.

a) Libération des gamètes mâles et plasmogamie

— Coniférales du premier groupe (Pinaceae, Araucariaceae, Podocarpaceae), Cephalotaxaceae et Taxaceae :

Chez les Pinaceae, le tube pollinique s'introduit à l'intérieur des cellules du col et parfois lèse ces cellules au passage (chez le *Keteleeria evelyniana*, par exemple, WANG 1948). Puis son extrémité apicale se « dissout » au contact de la cellule archégoniale et vient s'aboucher au cytoplasme femelle dans lequel il déverse la presque totalité de son contenu. Rien ne permet d'indiquer que le tube traverse la membrane de la cellule femelle ou qu'il pénètre à l'intérieur de celle-ci. Chez le *Keteleeria*, WANG mentionne qu'il perce parfois la cellule ventrale.

Dès cette première étape accomplie, en raison d'informations différentes, on doit admettre l'existence de variations concernant le nombre des éléments apportés par le tube. Certains auteurs (COULTER 1897 et MANGENOT 1938, chez le *Pinus*) signalent, en effet, que, seule, la cellule spermatogène binucléée, ainsi qu'un peu de cytoplasme pollinique, entrent dans l'oosphère. Pour d'autres (DIXON 1894, BLACKMAN 1898, FERGUSON 1901 et CHAMBERLAIN 1910 b, chez le *Pinus* ; ALLEN 1946, chez le *Pseudotsuga taxifolia*), elle est accompagnée par le noyau du tube et le noyau stérile. D'après HAUPT (1941) chez les *Pinus Lambertiana* et *monophylla*, les deux noyaux spermiques et le noyau végétatif peuvent être identifiés avec certitude. Il n'en est pas de même du noyau stérile qui dégénérerait rapidement.

Dans les autres familles, des comportements différents sont également constatés.

Ainsi, chez l'*Araucaria brasiliensis* (BURLINGAME 1915), l'extrémité du tube commence à s'enfoncer dans l'archégone au voisinage des cellules du col. Puis elle se rompt et les « cellules mâles », sans détériorer les cellules du col, poursuivent seules le court trajet qui les sépare de l'oosphère. Cependant, leur entrée revêt un caractère violent, le noyau reproducteur femelle paraissant déplacé vers les régions profondes de la cellule. Le plus fréquemment, un seul gamète est trouvé dans le cytoplasme femelle.

Le gamétophyte mâle du *Podocarpus coriacea* (COKER 1902) se comporterait comme celui des Pinaceae et l'ouverture du tube pollinique pourrait être nettement observée, mais l'auteur n'indique pas quels sont les éléments qui sont déversés dans l'oosphère. Chez le *Phyllocladus* (YOUNG 1910), le « contenu » du tube pollinique pénétrerait dans l'œuf, en laissant intactes les cellules du col. Par contre, chez le *Podocarpus andinus* (LOOBY et DOYLE 1944), il semble que le tube libère son contenu juste au-dessus de l'archégone, au contact d'une projection cytoplasmique émise par l'oosphère entre les cellules du col. Un noyau spermique entouré de cytoplasme traverse

cette masse de substance colorable et vient se joindre au noyau archégonial. L'autre demeure à l'extérieur de l'œuf ou peut également s'y introduire ainsi que le noyau stérile et le noyau végétatif. Toutefois l'existence éphémère de ces derniers rend leur identification douteuse.

Une disposition voisine est constatée par ARNOLDI (1900 a) chez le *Cephalotaxus* où le tube rejoint la portion cytoplasmique de l'oosphère qui s'immisce entre les cellules du col. FAVRE-DUCHARTRE (1957) retrouve cet aspect particulier de l'oosphère au moment de la fécondation, mais il l'interprète comme une modification due à la fragilité du gamète femelle, plutôt qu'à un processus normal. D'après cet auteur, il est plus probable que le tube, enserrant les cellules du col, s'insinue entre elles et les cellules prothalliennes. Les indications données au sujet des constituants du tube apportés dans l'oosphère diffèrent selon les auteurs. Pour ARNOLDI (1900 a) et LAWSON (1907), les noyaux végétatif et stérile seraient fréquemment observés dans le cytoplasme femelle en plus des noyaux spermiques. D'après COKER (1907), ils demeureraient généralement en deçà du col, tandis que FAVRE-DUCHARTRE (1957) insiste sur le fait qu'ils occupent toujours cette position. Leurs reliquats ne seraient pas repérables après coloration par l'hématoxyline, mais la réaction nucléale permet de les identifier.

Chez les Taxaceae enfin, seule la plus grande des deux cellules mâles pénétrerait dans le gamète femelle (*Taxus baccata*, JAEGER 1899, et *Torreya taxifolia*, COULTER et LAND 1905), les autres éléments du tube demeureraient à proximité du col de l'archégone ; cependant, d'après DUPLER (1917), chez le *Taxus canadensis*, ils accompagneraient le gamète mâle fonctionnel.

Quant à la plasmogamie proprement dite, il est indéniable que, chez ces diverses espèces, du cytoplasme provenant soit de la cellule spermatogène ou des gamètes mâles, soit du tube pollinique, et, dans ce cas, souvent accompagné de grains d'amidon, se joint à celui de l'oosphère. Il est moins évident toutefois que, dans tous les cas, il participe effectivement à la fécondation.

Chez l'*Abies balsamea* HUTCHINSON (1915 b) signale que l'apport cytoplasmique mâle n'est pas appréciable lorsque les deux noyaux reproducteurs se rejoignent. Chez le *Pinus*, plusieurs auteurs constatent qu'il demeure dans la région antérieure de l'œuf. MANGENOT (1938) précise, à ce sujet, que les grosses mitochondries de la cellule génératrice n'accompagnent pas le noyau fonctionnel lorsque ce dernier rejoint son partenaire femelle. Seules, les fines mitochondries d'origine femelle sont repérables autour du noyau de fusion. L'auteur suggère que les éléments du chondriome mâle, groupés au pôle apical de l'œuf, au voisinage du second gamète et de quelques grains d'amidon également déversés par le tube, sont graduellement résorbés, sans être incorporés au cytoplasme du proembryon.

Par contre, dans les autres familles, il est mentionné que le cytoplasme de la cellule mâle fonctionnelle vient habituellement entourer le noyau de fusion. Chez l'*Araucaria brasiliensis* (BURLINGAME 1915), il serait facilement repérable en raison de sa forte densité. Chez le *Torreya taxifolia* (COULTER et LAND 1905), sa colorabilité est sensiblement différente de celle du cytoplasme de l'œuf et ces différences peuvent être suivies au cours de la pre-

mière et de la deuxième division embryonnaire. Par ailleurs, le cytoplasme femelle serait quelque peu troublé lors du passage de l'élément mâle. FAVRE-DUCHARTRE (1957) signale que, chez le *Cephalotaxus drupacea*, la pénétration du protoplasme mâle provoque des modifications apparentes des granules lipidiques situés entre le col et le noyau femelle, toutefois, seuls les fins éléments du chondriome, véhiculés par leur cytoplasme, peuvent être repérés, et enveloppent progressivement le noyau diploïde. Ceux-ci, en raison de leur abondance, proviendraient des deux cellules spermiques. Chez le *Podocarpus andinus* (LOOBY et DOYLE 1944), le cytoplasme mâle se mélange à celui de l'œuf uniquement dans la portion coiffant l'extrémité antérieure du noyau de fusion. Chez le *Podocarpus coriacea*, COKER (1902) avait indiqué précédemment que les deux noyaux n'étaient limités que par une zone cytoplasmique d'aspect plus dense mais relativement peu définie par rapport au protoplasme général de l'archégone.

— Coniférales du deuxième groupe (à l'exception des *Cephalotaxaceae* et *Taxaceae*).

Dans la famille des *Taxodiaceae*, l'expansion pollinique croît jusqu'à ce qu'elle atteigne l'extrémité du prothalle au voisinage de la dépression commune surmontant le complexe archégonial. Peu de temps avant la libération des gamètes mâles, chez le *Sequoia sempervirens* et le *Cryptomeria japonica* (LAWSON 1904 a et b), les archégonies sont directement au contact des tubes dont l'un peut recouvrir plusieurs archégonies adjacents. La fécondation dépend, par suite, de la résorption de la paroi pollinique qui sépare encore les gamètes mâles des cols archégoniaux. Toutefois, LOOBY et DOYLE (1937) admettent que, chez les *Sequoia gigantea* et *sempervirens*, certains d'entre eux, sensiblement enfoncés dans les tubes, en sont encore isolés par la membrane de la mégaspore, finement amincie à ce niveau. Ces auteurs n'ont pu malheureusement préciser les relations existant à ce moment entre ces structures. Quoiqu'il en soit, elles ne sont pas un obstacle pour la réunion des gamètes puisque plusieurs archégonies d'un même complexe sont généralement fécondés. D'après LAWSON, la paroi pollinique, proche d'un archégone, se dissout et l'une des cellules mâles s'introduit entre les cellules du col. Ces dernières sont plus ou moins désorganisées au passage tandis que le gamète se déforme lui-même et s'allonge.

Chez le *Sequoia*, une partie seulement du cytoplasme mâle pénètre dans l'œuf. Le reliquat dénucléé demeure visible sous la forme d'une cellule vacuolisée à l'endroit primitivement occupé par son noyau. LOOBY et DOYLE (1937) précisent que la quantité de cytoplasme entourant le noyau spermique est moins importante à ce stade que lorsqu'il se trouvait dans le boyau pollinique et qu'elle est fonction de la poussée qui survient lors de l'ouverture du tube.

Chez le *Cryptomeria* au contraire (LAWSON 1904 b) et le *Cunninghamia sinensis* (MIYAKE 1910), l'ensemble de l'une des cellules mâles avec son amidon, son protoplasme et son noyau, pénètre dans la région supérieure de l'œuf. Chez le premier, la membrane cellulaire du gamète est encore apparente à ce stade. Chez le *Taxodium distichum* (COKER 1903), où des dispositions analogues semblent réalisées, les divers éléments d'un tube

peuvent pénétrer dans l'archégone, mais une seule cellule mâle s'unit à l'œuf tandis que les structures surnuméraires dégénèrent lentement à l'apex. Dans tous les cas, le cytoplasme d'origine mâle participe à la fécondation.

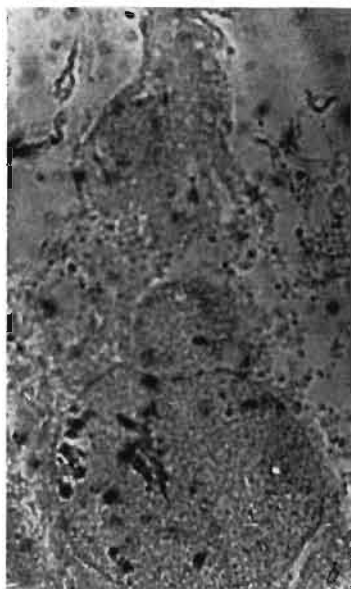
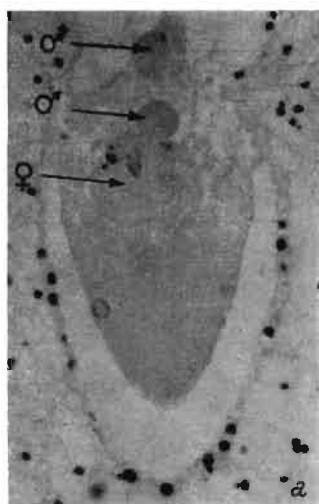


Fig. 20. *Cephalotaxus drupacea*, archégone fécondé, montrant au centre les noyaux reproducteurs mâle et femelle en contact et, dans la portion apicale, l'autre noyau mâle, non fonctionnel. Helly ; Eulgen-vert lumière ; a : $\times 150$; b : $\times 425$.

(FAVRE-DUCHARTRE 1957.)

témoin en serait l'enveloppe cytoplasmique dense qui entoure le noyau de l'œuf et dont l'amidon proviendrait en grande partie du gamète mâle. Selon LAWSON, la seconde cellule mâle du *Sequoia* est toujours fonctionnelle : chez le *Cryptomeria*, cette éventualité, quoique réalisable, est difficilement vérifiable en raison de la présence de nombreuses cellules mâles identiques, déversées à un même moment au-dessus du complexe archégonial.

Chez les Cupressaceae, le développement de deux archégones voisins suggère également la possibilité de leur fécondation simultanée par un même tube pollinique (chez le *Widdringtonia cupressoides*, SAXTON 1909). Une seule cellule mâle pénètre ainsi dans l'archégone. Toutefois, dans la région supérieure de ce dernier, la présence occasionnelle de noyaux surnuméraires, d'origine incertaine, a laissé supposer des comportements différents ou même la fécondation du noyau ventral du canal (LAND 1902). Dans un cas, chez le *Chamaecyparis pisifera*, SUGIHARA (1938) signale l'entrée d'une seconde cellule mâle. De façon générale, le noyau spermiqne fonctionnel s'échappe de sa gaine cytoplasmique avant de se joindre au noyau femelle. Son cytoplasme, d'aspect granuleux et souvent colorable, vient ensuite s'étaler autour du noyau de fusion (*Thuja occidentalis*, LAND 1902 ; *Juniperus*, NOREN 1907, OTTLEY 1909, NICHOLS 1910 et MATHEWS 1939 ; *Chamaecyparis*, SUGIHARA 1938 ; *Callitris*, BAIRD 1953).

b) Caryogamie

Le déroulement de la caryogamie est peu différent de celui qui a été décrit précédemment pour les Cycadales et les Ginkgoales. Hormis quelques exceptions (*Picea*, MIYAKE 1903), habituellement le noyau mâle augmente considérablement de volume pendant le court intervalle de temps qui sépare son entrée dans l'oosphère de son rapprochement avec le noyau femelle. Quelques auteurs ont insisté sur le caractère particulièrement rapide de cette jonction (BLACKMAN 1898, chez le *Pinus silvestris* :

FAVRE-DUCHARTRE 1957, chez le *Cephalotaxus drupacea*). COKER (1905 chez le *Taxodium* et MIYAKE (1910) chez le *Cunninghamia* ont tenu compte des modifications de rapport de taille entre les noyaux gamétiques mâle et femelle pendant ce laps de temps : 1/5 à 1/2 dans le premier cas ; 1/2 à 1/1 dans le second, le noyau mâle demeurant toutefois sensiblement plus petit que le noyau femelle chez le *Cunninghamia*. TISCHLER (1951), dans une revue de

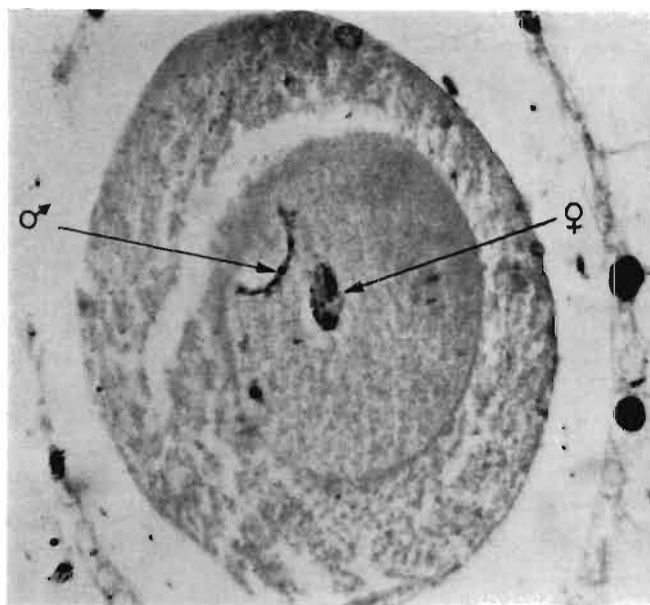


Fig. 21. *Cephalotaxus drupacea*, caryogamie. Coupe transversale d'un archégone où s'achève la fécondation ; le noyau mâle (♂) en calotte enfoncé dans le noyau femelle dont la chromatine (♀) est très regroupée ; déchirure artéfact dans le cytoplasme où l'on discerne des granules protéo-lipidiques et des grains de vitellus ; Helly ; Feulgen-vert lumière ; $\times 400$.

(FAVRE-DUCHARTRE 1957.)

la littérature traitant de cette question, conclut que les deux noyaux reproducteurs finissent par être de même taille. Il est évident que chez certaines familles (Taxodiaceae et Cupressaceae), les différences de taille entre les noyaux gamétiques sont moins accusées que chez d'autres (Pinaceae par exemple), aux stades correspondants.

En fait, nous pensons que les noyaux ne paraissent de même volume que dans un nombre limité de cas. Le *Juniperus*, le *Sequoia*, en sont des exemples (OTTLEY 1909 ; LAWSON 1904a et LOOBY et DOYLE 1937). BUCHHOLZ (1939b) indique cependant que, chez cette dernière espèce, le noyau mâle demeure parfois plus petit que le noyau femelle. Chez l'*Araucaria brasiliensis* où les différences de taille sont atténuées en raison d'une contraction du noyau femelle, au moment de la prise de contact, BURLINGAME (1915) constate que la forme complexe des noyaux en présence rend cette interprétation difficile. Généralement, le noyau mâle est environ 3 fois moins volumineux que son partenaire femelle (BLACKMAN 1898 ; HAUPT 1941 et

SHIMAMURA 1956, chez le *Pinus* : MIYAKE 1903, chez le *Picea* : HUTCHINSON 1915, chez l'*Abies* ; LAWSON 1907, chez le *Cephalotaxus* ; LOOBY et DOYLE 1944, chez le *Podocarpus andinus*).

La pénétration du noyau mâle à l'intérieur du noyau femelle s'effectue selon deux modalités, pour le moins. Dans un premier cas, semblable à ce qui est constaté chez le *Ginkgo*, l'élément nucléaire mâle modifie peu son aspect extérieur. Il repousse graduellement la membrane nucléaire femelle et se trouve finalement entouré presque totalement par celle-ci (BLACKMAN 1898, *Pinus silvestris* ; MIYAKE 1903, *Picea excelsa* ; LAWSON 1904 a et b et



Fig. 22. *Pinus Thunbergii* caryogamie.
(SHIMAMURA 1956.)

1907, *Sequoia*, *Cryptomeria* et *Cephalotaxus* ; LOOBY et DOYLE 1944, *Podocarpus andinus*). Dans le second cas, l'invagination femelle est moins marquée, les deux noyaux présentant préalablement une zone de contact plus étendue et le noyau mâle tend alors à adopter une forme plus allongée ou lenticulaire (HAUPT 1941 et SHIMAMURA 1956, *Pinus* ; MURILL 1900, *Tsuga* ; ALLEN 1946, *Pseudotsuga* ; COKER 1907 et FAVRE-DUCHARTRE 1957, *Cephalotaxus* ; MIYAKE 1910, *Cunninghamia* ; OTTLEY 1909 : *Juniperus* ; etc.). On peut remarquer que chez certaines espèces (*Pinus* et *Cephalotaxus*) les deux modalités ont été constatées, ce qui semble indiquer, ou bien une variation peu commune, ou bien une interprétation inexacte des faits. Chez l'*Araucaria brasiliensis*, le noyau femelle conserve sa forme arrondie et le gamète mâle s'applique en croissant contre lui. Dans ce cas, comme dans la seconde série d'exemples, la membrane du noyau de fusion est alors composée de portions d'origine différente.

Chez les *Pinus Lambertiana* et *monophylla* (HAUPT 1941), une fine couche de cytoplasme est incluse entre les deux noyaux reproducteurs au moment de leur rapprochement. LAWSON (1909) a également supposé que des masses cytoplasmiques pouvaient être introduites dans le noyau de l'œuf chez le *Pseudotsuga Douglasii*.

Les noyaux en contact présentent des structures voisines. BLACKMAN (1898) signale que, chez le *Pinus*, l'élément mâle est d'abord plus colorable que son partenaire femelle, mais que ces différences ne sont plus sensibles lorsqu'il est ensuite immergé. ALLEN (1946) a décrit une telle diminution de la colorabilité du noyau mâle chez le *Pseudotsuga taxifolia*. Chez le *Taxodium*, COKER (1903) constate, au contraire, que le réticulum mâle manifeste brusquement à ce moment une affinité plus vive pour le violet de gentiane. Des études plus récentes pratiquées après coloration selon la méthode de Feulgen ont donné des résultats différents : chez le *Pinus Thunbergii* (SHIMAMURA 1956), le noyau de fusion ne présente une coloration que dans la zone de contact des deux noyaux (Fig. 22). Ultérieurement, de fines chaînes chromatiques sont décelables dans les portions mâle et femelle ; d'après FAVRE-DUCHARTRE (1957), des éléments Feulgen-positifs peuvent

toujours être mis en évidence dans les deux noyaux reproducteurs du *Cephalotaxus drupacea*.

L'appareil nucléolaire est habituellement représenté dans le noyau mâle par un ou deux petits nucléoles. Chez le *Taxodium* (COKER 1903), le nucléole se pulvériserait en un certain nombre de granules qui demeurent groupés et occupent une position quelconque dans l'espace intranucléaire. Chez le *Podocarpus andinus*, LOOBY et DOYLE (1944) mentionnent l'existence d'un volumineux nucléole dense qui se désintègre dès l'union des deux noyaux.

Dans tous les cas, le déroulement de la caryogamie revêt une certaine lenteur. Les portions de membrane nucléaire, en particulier celles d'origine mâle, tardent à se résorber et ne disparaissent qu'au moment de l'entrée en mitose qui est simultanée pour les deux lots chromatiques mâle et femelle. Il en résulte qu'un « noyau de fusion » n'est pas véritablement constitué. Le *Sequoia* et le *Cryptomeria* (LAWSON 1904 a et b et LOOBY et DOYLE 1937) représentent à ce sujet des exceptions. Chez les autres espèces, les éléments chromosomiques paraissent évoluer séparément, du moins au cours des premiers stades de la mitose, et les deux stocks de chromosomes sont isolés l'un de l'autre. ALLEN (1946), chez le *Pseudotsuga*, indique que le lot d'origine paternel est formé dans la région périphérique du noyau de l'œuf, tandis que l'autre occupe la portion centrale. SCHNARF (1941) explique ces comportements par le fait que les gamètes se trouveraient déjà en cours d'évolution mitotique au moment de leur union. Il est difficile de juger cette interprétation à la faveur des descriptions anciennes. Par ailleurs, les modalités de la fusion des noyaux polaires chez les Angiospermes et l'édification du premier noyau de l'albumen nous incitent à penser que les substances chromatiques ne sont pas seules en cause.

Quoi qu'il en soit, il importe de souligner que, si deux fuseaux de division sont souvent formés, ceux-ci s'interpénètrent l'un l'autre, de sorte qu'une seule plaque métaphasique réunit les chromosomes mâles et femelles. ALLEN remarque que les chromosomes de même taille (homologues ?) ont tendance à se rapprocher et que ce serait là les seules ébauches de l'appariement décrit par HUTCHINSON (1915 b) chez l'*Abies*, appariement qu'aucune description ultérieure n'a jamais confirmé (BEAL 1934 et HAUPT 1941, entre autres). A partir de ce stade, aucune distinction ne peut plus être faite entre les éléments mâle et femelle.

c) Le devenir des noyaux surnuméraires

Généralement, les noyaux surnuméraires, d'origine mâle ou femelle, se désorganisent plus ou moins précocement. Leurs reliquats sont trouvés dans la portion proche du col de l'archégone ou à divers endroits entre

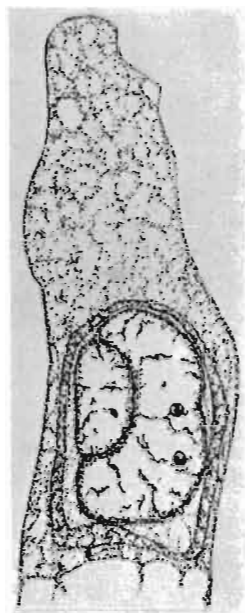


Fig. 23. *Cupressus funebris*, caryogamie.
(SUGIHARA 1956.)

l'apex de la cellule et le noyau de l'œuf. Lorsque se déroulent les premières divisions proembryonnaires, ils ne sont souvent plus repérables. Parfois, cependant, certains d'entre eux paraissent devoir prolonger cette existence, apparemment inutile, en manifestant certains degrés d'activité mitotique qui se traduit par des phénomènes d'amitose ou de divisions régulières (*Chamaecyparis*, SUGIHARA 1956), voire de fusions nucléaires (*Pseudotsuga*, ALLEN 1946).

Chez le *Cephalotaxus drupacea* (FAVRE-DUCHARTRE 1957), une première division régulière du noyau spermique non employé survient en relation avec la deuxième division des noyaux de l'œuf. Les divisions ultérieures (deuxième et troisième) auraient lieu par amitose.

Peut-on rapprocher ces phénomènes de ceux qui affectent occasionnellement le noyau ventral ou qui aboutissent à sa fécondation, laquelle demeure souvent hypothétique ? Il ne faut pas oublier que ce sont là des anomalies, d'ailleurs disparates. Elles proviennent de déviations des mécanismes normaux, et ne se réalisent qu'exceptionnellement. Par conséquent, elles peuvent difficilement être considérées comme l'amorce d'une évolution régulière.

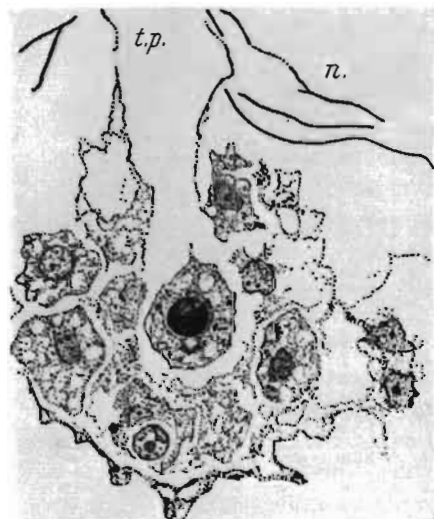


Fig. 24. Sommet d'un sac embryonnaire avec débouché d'un tube pollinique *t.p.* et, dans son prolongement, une cellule considérée comme « zygote ». $\times 825$.

(WATERKEYN 1954.)

Sans doute s'agit-il d'une sorte de contamination de ces structures par les facteurs qui, normalement, dirigent les transformations de l'oosphère.

Gnétales

Les renseignements que nous possédons sur le déroulement de la fécondation dans ce groupe sont très succincts.

Les Ephedraceae paraissent se comporter comme les Coniférales. Le tube pollinique arrive au contact de l'oosphère et y déverse seulement deux cellules mâles. Leur cytoplasme se mêle *in situ* à celui de la cellule reproductrice femelle et l'un des noyaux spermiques vient se joindre au noyau de l'oosphère. A ce moment, ce dernier est enveloppé par une gaine de cytoplasme dense qui se prolonge jusqu'à la base de l'archégone (*Ephedra trifurca*, LAND 1907, et *E. campyloda*, NARANG 1955 b). Cette différenciation cytoplasmique n'est pas présente chez l'*E. altissima* (BERRIDGE 1909) : par contre, tandis que se réalise la caryogamie, le cytoplasme montre de fins éléments qui irradiant tout autour du noyau de fusion.

La constitution d'un pseudotissu, de durée éphémère, dans la zone apicale de l'œuf (*E. trifurca*, LAND 1907, et *E. distachya*, BERRIDGE et SANDAY 1907), ainsi que le rapprochement occasionnel du second noyau mâle et du noyau ventral du canal (*E. campyloda*, HERZFELD 1922, et *E. foliata*, KHAN

1940 et 1943) ont laissé supposer l'éventualité d'une « double fécondation » habituelle chez ces espèces. De telles interprétations demanderont sans doute à être vérifiées. Les deux noyaux de la région supérieure de l'œuf, décrits dans un cas chez *E. foliata* (KAHN 1940) pourraient être tout aussi bien celui de la cellule mâle non fonctionnelle et celui du noyau ventral que ceux issus de leur union.

Chez l'*E. foliata* (KHAN 1943) et l'*E. campyloda* (NARANG 1955 b), nombre de cellules de l'assise nourricière entourant l'oosphère deviennent binucléées, quadrinucléées à la suite de mitoses. Leurs membranes se dissolvent et les noyaux émigrent dans la cellule reproductrice.

Chez le *Welwitschia*, aucune confirmation n'a été apportée aux descriptions déjà anciennes de PEARSON (1909).

Quant aux Gnetaceae, WATERKEYN (1954) reconnaît n'avoir pu « mieux que ses devanciers, rencontrer les stades de la fécondation ». Les cellules différenciées dans la portion apicale du sac embryonnaire, lorsque certains tubes polliniques ont atteint ces régions de l'ovule, sont peut-être des zygotes, ou sont encore des gamètes (Fig. 24).

Deuxième Partie

Angiospermes

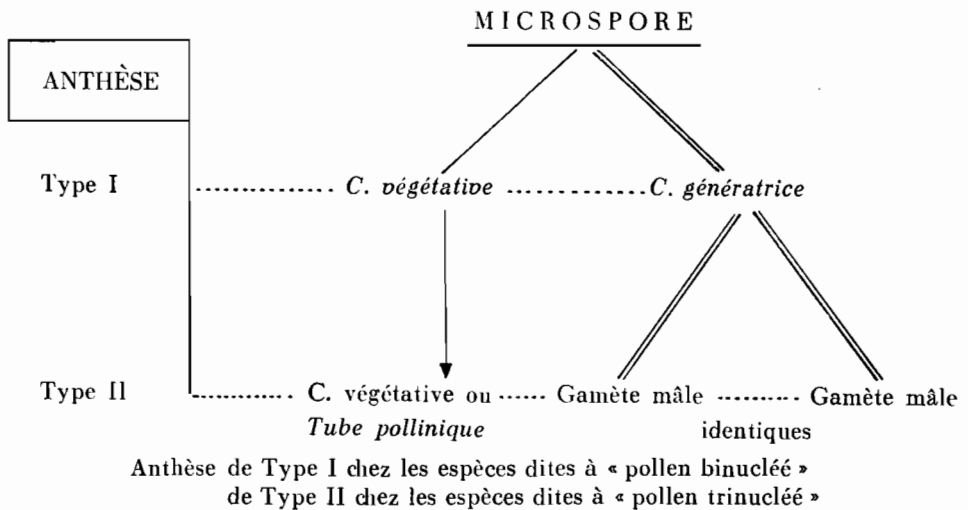
I. Gamétogénèse mâle

Chez les Angiospermes, l'individualisation du matériel gamétique mâle, sous forme d'une cellule génératrice découpée dans une région privilégiée du grain de pollen, précède toujours la libération des microspores. La première phase de la spermatogénèse se déroule donc à l'intérieur du microsporange, qui n'est autre que l'anthère (Tableau 3). Elle se superpose aux phénomènes de sporogénèse qui transforment le gamétophyte en un organe déshydraté, enclos dans une membrane épaisse, vivant en anabiose sans le secours de tissus ou de cellules environnantes, et susceptible d'être efficacement disséminé.

La vitesse relative des deux séries de phénomènes varie selon les familles. Le plus souvent, le pollen est mûr et dispersé au moment où le noyau de la cellule génératrice entre en mitose pour donner les deux noyaux spermatiques. La division nucléaire est stoppée pour un temps et ne se termine que lorsque le pollen commence à germer sur un substrat approprié. Mais l'anthèse peut être plus tardive, le pollen emportant dans sa membrane la cellule végétative et deux cellules spermatiques déjà bien constituées. Cette question a été particulièrement étudiée par SCHNARF qui précise la structure du pollen mûr de plusieurs centaines d'espèces dans ses deux articles de 1937 et 1939. Il semble évidemment que ce soit dans les familles les plus évoluées (Ombelliferae et Composeae par exemple) que l'accélération de la gamétogénèse est le plus sensible, conduisant à la dispersion du pollen à l'état tricellulaire.

Quoi qu'il en soit, le matériel reproducteur se trouve séparé du soma au cours de la première division pollinique. Comme toute mitose ayant un

Tableau 3
Développement du gamétophyte mâle des Angiospermes



rôle différenciel analogue, celle-ci est caractérisée par un certain nombre de traits particuliers qui ont attiré l'attention de chercheurs relativement nombreux et qui vont être maintenant examinés.

Première phase: Evolution de la microspore, première division pollinique et individualisation de la cellule spermatogène primordiale ou cellule génératrice

a) Structure et évolution de la microspore

A l'issue de la méiose, les microspores, habituellement groupées en tétrades, se présentent sous la forme de cellules de petite taille, dépourvues de membranes différenciées, et renfermant un gros noyau central à l'intérieur d'un cytoplasme dense.

Ce noyau est normalement constitué ; il répond au type nucléaire spécifique. Néanmoins, les phénomènes télophasiques qui terminent les divisions méiotiques sont spécialement lents, si bien qu'il est fréquent que le noyau n'ait pas encore récupéré une structure interphasique absolument typique avant que ne se manifestent les phénomènes morphologiques et biochimiques annonçant la première mitose pollinique. D'après BRYAN (1951), chez le *Tradescantia paludosa*, le noyau de la microspore contient une quantité relativement élevée d'acide désoxyribonucléique ($1,4 \times c$, si c désigne la teneur haploïde théorique de cette espèce). Cette teneur augmente lentement tant que ne s'est pas déclenchée l'activité prémitotique. Pendant cette période, le noyau s'enrichit également en protéines, dans la proportion

d'environ 25%. Les nucléoles sont gros, souvent confondus en un seul, et puissamment acidophiles.

Initialement, le cytoplasme des tétrades ne fixe que peu ou pas les colorants basiques. Puis, au fur et à mesure de la croissance de la microspore, il accumule de l'acide ribonucléique qui lui serait fourni par les cellules du tapis en dégénérescence et, chez le *Rhoeo discolor*, par des microspores avortées (PAINTER 1943). Sa teneur en protéines s'accroît parallèlement (LA COUR 1949).

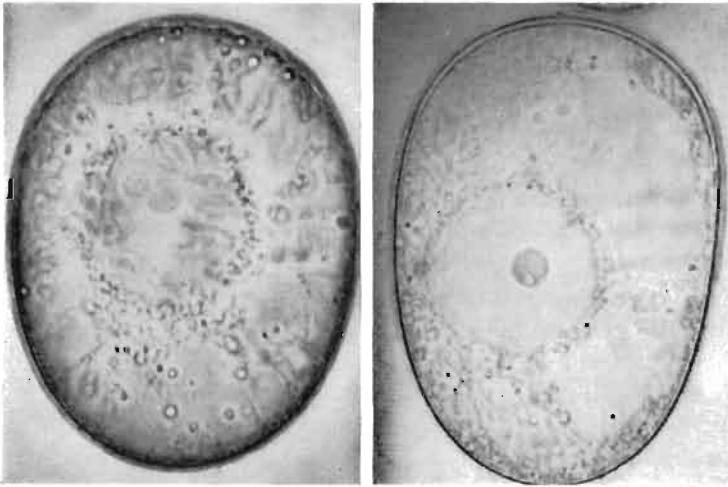


Fig. 25. Grains de pollen du *Secale cereale*, *in vivo*, provenant d'anthères immatures. $\times 1000$.

Le chondriome s'était pulvérisé en fines mitochondries au début de la méiose (LEWITZKY 1911, chez l'*Asparagus officinalis* ; GUILLIERMOND 1920, chez le *Lilium candidum* ; PY 1929, chez l'*Erigeron canadensis*, le *Senecio vulgaris* et l'*Helleborus foetidus*). Ces mitochondries passent dans les microspores, où, d'après DOUZE-KRJATSCHENKO (1925), elles se regrouperaient en surface pour participer à l'élaboration des membranes. (Il s'agit probablement, si le phénomène est confirmé, d'une disposition particulière des proplastides.)

Dans les cellules-mères du pollen, les plastides, également régressés à l'état de granules, ne se différenciaient plus des mitochondries. A dater du synizésis, ils retrouvent une taille supérieure à celles des éléments du chondriome. Pendant la métaphase la forme filamenteuse domine. Elle est suivie d'une fragmentation qui correspond donc à une multiplication des plastides. Leur division se poursuit jusqu'à la fin de la méiose et ne se ralentit qu'après la délimitation des grains de pollen (GUILLIERMOND 1920). Au cours du développement de la microspore, les granules plastidiaux se distinguent des mitochondries par une taille plus élevée. Ils conservent ces dimensions ou grossissent (WAGNER 1917, chez le *Veratrum album* ; KRUPKO 1926, chez le *Gagea lutea* ; PY 1930). Immédiatement avant la première division pollinique, ils se multiplient à nouveau activement, tout en diminuant sensiblement de volume (KAIENBURG 1950).

Le vacuome, disparu durant la méiose, peut à nouveau être mis en évidence sous la forme de petites gouttelettes éparses dans le cytoplasme de la microspore (PY 1929).

L'évolution du constituant membranaire est la plus complexe. La différenciation subie par les cellules préméiotiques, puis par les tétrades, s'accompagne d'une modification des propriétés élaboratrices du cytoplasme superficiel : les jeunes cellules-mères s'entourent encore de membranes celluloso-pectiques, puis la cellulose disparaît. Les parois des cellules en méiose et des tétrades sont uniquement formées de callose (MANGIN 1889 a et b et BEER 1906, chez les genres *Oenothera*, *Gaura* et *Epilobium*). Ensuite chaque microspore se revêt d'un dépôt de nature pectique intimement accolé à la paroi de callose, enfin de nouvelles couches dont l'ensemble formera l'exine. Celle-ci subit éventuellement une cutinisation secondaire.

Chez de nombreuses espèces, la croissance de l'exine est très rapide et conduit à un décollement total dont le rôle et la nature demeurent énigmatiques. Puis, avec le développement des grandes vacuoles, la cellule gonfle et reprend contact avec sa membrane.

La période qui suit immédiatement la méiose est donc caractérisée par la formation de l'exine, durant laquelle les éléments iutracytoplasmiques conservent un caractère semi-différencié et relativement instable. BEER signale, par exemple, l'apparition suivie de la disparition d'amidon, tandis que d'autres plastides se divisent, grossissent, et se multiplient en se pulvérisant à nouveau. Pendant cette première phase, le vacuome ne montre qu'un développement négligeable. Au contraire, au cours de l'épisode suivant, il envahit la cellule, modifiant considérablement son aspect et même sa topographie, puisqu'il refoule contre la paroi pollinique le cytoplasme et le noyau.

Le point d'apparition de ces vacuoles serait fixe pour une même espèce : chez le *Tradescantia bracteata*, LA COUR (1949) indique qu'une seule vacuole se développe à l'une des extrémités du grain, à proximité du futur pore germinatif. Sa formation coïncide avec la disparition de grains protéiques présents dans le cytoplasme pendant la durée de la méiose. Chez l'*Impatiens balsamina*, deux vacuoles se forment aux deux bouts du grain, entre la membrane cytoplasmique et les « granules protéiques » situés de part et d'autre du noyau (J. VAZART 1957).

BRYAN (1951) a cru devoir établir une relation entre le brusque accroissement de taille de la microspore pendant cette période et l'intensité de l'acidophilie nucléolaire. Pourtant cette « croissance » ne correspond pas à une synthèse de substance cytoplasmique, que l'on pourrait supposer à dominante protéique, mais bien plutôt à l'élaboration de substances nucléaires, à dominante glucidique. Par conséquent, la remarque de BRYAN n'est peut-être pas entièrement justifiée. Par contre, l'apparition des grandes vacuoles est peut-être liée à l'épaississement simultané de la paroi pollinique, les métabolites produits lors de la synthèse des matières membranaires venant s'accumuler dans ces vastes poches formées au sein du cytoplasme.

b) Polarité et phénomènes préparatoires à la division différencielle

La première division pollinique est annoncée par une série de transformations cellulaires dont les unes précèdent régulièrement toute mitose et dont les autres n'interviennent qu'avant certaines divisions qui président à la différenciation d'organes ou de cellules à fonctions spécialisées (organes reproducteurs, stomates, idioblastes divers, etc.).

Parmi la première catégorie de phénomènes, citons la brusque élévation de la teneur en acide désoxyribonucléique du noyau prémitotique. Encore dans la microspore cette teneur quadruplerait-elle comme avant la méiose au lieu de doubler comme avant une mitose banale (BRYAN 1951, en désaccord sur ce point avec SWIFT 1950).

Parmi les phénomènes annonceurs des divisions différencielles, on constate le déplacement du noyau dans une région déterminée de la cellule, la synthèse à son contact d'une masse de cytoplasme dense, et une orientation strictement définie de l'axe mitotique. Ces trois événements déterminent l'évolution ultérieure de la mitose et le destin des deux cellules à la formation desquelles elle aboutit. Ils ne sont autres que la conséquence visible de l'existence d'une polarité dans la microstructure de la cellule, polarité qui, d'après GOEBEL (1933), paraît déjà présente dans les tétrades, à la fin des divisions méiotiques.

Selon cet auteur, la polarité de la microspore serait inversée chez les Angiospermes, parce que la cellule génératrice occuperait toujours la face externe ou ventrale du pollen tandis que les cellules prothalliennes du pollen des Gymnospermes seraient localisées en position diamétralement opposée. Outre la valeur fort discutable de ce raisonnement, on doit noter qu'il est fondé sur des observations ne correspondant pas à la réalité.

Cette question fut reprise par GEITLER (1935), qui précisa que la localisation de la cellule génératrice, déterminée par la position du noyau immédiatement avant la mitose, représentait un caractère spécifique. Chez beaucoup d'espèces la disposition observée par GOEBEL est réalisée, mais bon nombre d'autres ont un pollen dont la constitution est fondamentalement différente. De façon générale, la cellule génératrice est découpée sur la face interne ou dorsale dans tous les cas où le pollen est monocolé. Dans les pollens tricolpés, son emplacement est fort variable : externe (*Vaccinium*), interne (*Erica*) ou latéral (*Caltha palustris*). Enfin, chez l'*Acanthus spinosus* et le *Periploca septum* (SAX et HUSTED 1936), la position de la cellule génératrice varierait d'un grain à l'autre, ce qui paraît néanmoins tout à fait exceptionnel.

On ignore la cause réelle du déplacement du noyau vers un point privilégié de la microspore. Il semble peu probable que ce soit simplement un phénomène passif provoqué par l'action mécanique des grandes vacuoles. D'ailleurs, celles-ci n'existent pas toujours (*Gasteria*, *Chlorophytum*, GEITLER 1935 ; CAILLON 1957). Comme le remarque GEITLER, le facteur déterminant ne peut appartenir qu'au cytoplasme « vivant » : « le processus primaire correspond à certaines particularités de ce cytoplasme qui, à des endroits déterminés, différencie des vacuoles, et, à un autre endroit déter-

miné, englobe le noyau ». Il est vrai, par ailleurs, que si, à la suite de conditions anormales de développement, les grandes vacuoles ne se développent pas (*Tradescantia bracteata*, LA COUR 1949; *Sorghum*, DARLINGTON et THOMAS 1941), le noyau de la microspore demeure central. Mais on peut penser, contrairement à l'interprétation des auteurs, que l'agent responsable de ces anomalies a détruit du même coup dans la cellule toute capacité de différenciation et d'évolution normale. L'hypothèse la plus plausible est que le noyau se déplace dans la cellule selon une direction correspondant à un gradient d'ordre chimique, physique ou électrique, établi en correspondance avec la structure polarisée de la microspore. Dans le pollen, on ne connaît pas les facteurs induisant la réalisation de cette structure asymétrique qui, dans l'initiale de l'anthéridie des Ptéridophytes, s'établit sous l'influence directe des rayons lumineux.

On ignore tout autant quels sont les facteurs responsables de l'orientation de la première division pollinique. D'après SAX et HUSTED (1936), l'axe mitotique ferait un angle de 45° avec celui des deux divisions méiotiques, mais cette règle est loin d'être générale. La direction du fuseau n'est pas non plus induite par une disposition particulière des chromosomes dans le noyau prémitotique (GEITLER 1935).

Néanmoins, divers agents peuvent perturber le développement normal du pollen, en faussant la direction de l'axe de la première division. Ils sont de nature génétique (génome anormalement constitué, LA COUR 1949; DARLINGTON et THOMAS 1941; SAX 1935, 1937, 1942) ou de nature physique: LA COUR a pu détruire (ou masquer?) la polarité de la microspore chez le *Tradescantia bracteata* et le *Luzula purpurea* par simple choc thermique. Chez le *Tradescantia*, KOLLER (1943) a obtenu des résultats analogues par irradiation. Enfin, certaines substances chimiques, tel le chloroforme, ont un effet semblable (NEMEC 1910).

Chez ce type de plantes anormales, la formation des grandes vacuoles peut ou non être inhibée. D'après LA COUR, les grains nains du *Tradescantia* sont déficients en protéines et en acide ribonucléique. L'axe mitotique est déplacé de 0 à 90° , si bien que la différenciation ultérieure des cellules végétative et génératrice échoue partiellement et que ces cellules font preuve d'un comportement aberrant: on y observe, par exemple, des divisions surnuméraires du noyau végétatif, de nouvelles divisions cellulaires aboutissant à la formation de fausses tétrades, l'édification de « grains doubles », etc. De telles perturbations peuvent, d'ailleurs, se produire accidentellement dans la nature et conduire à la formation d'anomalies de même type qui ont été signalées à plusieurs reprises (*Scilla sibirica*, LA COUR 1949).

c) Déroulement de la première mitose pollinique

Lorsque débute les premiers signes caractéristiques de la mitose, la microspore est donc fortement vacuolisée, pourvue d'un gros noyau renfermant une quantité d'acide désoxyribonucléique correspondant à une garniture chromosomique tétraploïde, et protégée par une épaisse mem-

brane. Le cytoplasme est réduit à une couche pariétale peuplée de quelques mitochondries et plastes régressés. Tantôt les vacuoles sont confondues en une poche unique écrasant le noyau contre la paroi, tantôt elles forment plusieurs cavités distinctes, le noyau restant suspendu dans un trabécule cytoplasmique plus ou moins déformé sous la pression vacuolaire.

Ainsi la forme du noyau prophasique lui est en quelque sorte imposée par les autres constituants cellulaires : vacuoles et paroi pollinique. Ce noyau grossit considérablement comme il est habituel au cours de la prophase. La structure fine des chromosomes a été analysée en détail par MARQUARDT (1941), chez l'*Allium albidum*.

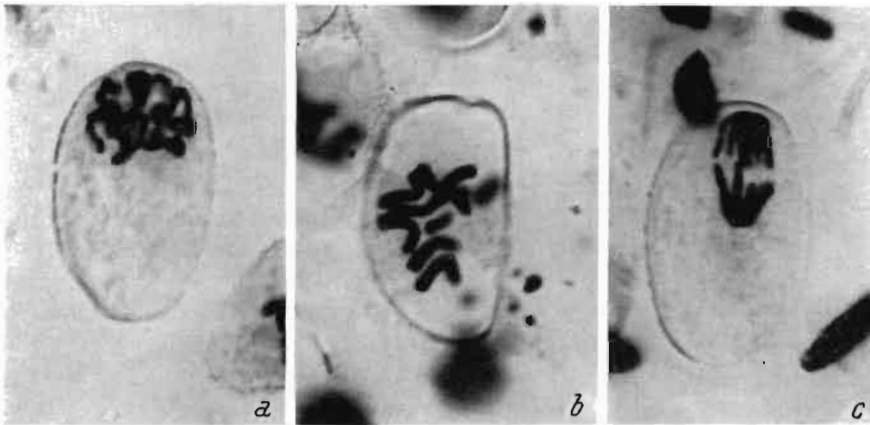


Fig. 26. Déroulement de la 1ère mitose pollinique chez le *Vicia faba*. *a* : fin de prophase ; *b* : métaphase ; *c* : anaphase. En prophase, les chromosomes sont orientés, leur centromère se trouvant dirigé vers les régions périphériques du noyau. Nawaschin ; Feulgen ; $\times 1000$.

Au début de la prophase, ceux-ci sont contournés en une spirale résiduelle. Le clivage devient bientôt visible, et les deux chromatides apparaissent elles-mêmes spiralées et formées d'appareils chromomères ; en réalité, il s'agit de la trace des tours de spire des hélices nouvelles. Puis la spirale résiduelle s'étire et les hélices chromatidiennes se relâchent. Un peu plus tard, chaque chromatide se dédouble à son tour et semble alors composée de 2 rangées d'appareils chromomères. Il est probable que les demi-chromatides commencent, elles aussi, à se spiraliser dès leur formation. Ces spirales surajoutées sont responsables de l'épaississement des chromosomes jusqu'en métaphase. BRYAN, en accord avec les données de CASPERSSON (1950), admet que les protéines nucléaires disparaissent progressivement du nucléoplasme au cours de la prophase. Par ailleurs, il est fréquent que la contraction chromosomique soit plus accentuée que dans les mitoses ordinaires. Plusieurs auteurs signalent qu'à la fin de la prophase les chromosomes ressemblent davantage à des gémis qu'à des chromosomes mitotiques. BARBER (1942) pense qu'un tel phénomène peut être attribué à une prolongation de la durée de la prophase, conduisant à une spiralisation plus poussée.

En métaphase, le noyau de la microspore se singularise par une asymétrie fusoriale prononcée. D'après BRUMFIELD (1941), cette asymétrie serait

due à la déformation du noyau prophasique : chez l'*Allium*, elle est d'autant plus marquée que le noyau est plus écrasé contre la paroi. Elle est beaucoup moins visible chez le *Pancreatium* où la déformation nucléaire est légère.

Mais la plupart des auteurs s'accordent à imputer l'asymétrie du fuseau à un décalage dans le temps du développement de l'un et l'autre pôle : le pôle générateur, appliqué contre la paroi, évoluerait moins vite que le pôle végétatif, associé à une plus grande quantité de cytoplasme.

En réalité, cette asymétrie fusoriale, qui atteint son point maximum en télophase, ne semble guère mériter l'attention prolongée que lui ont portée

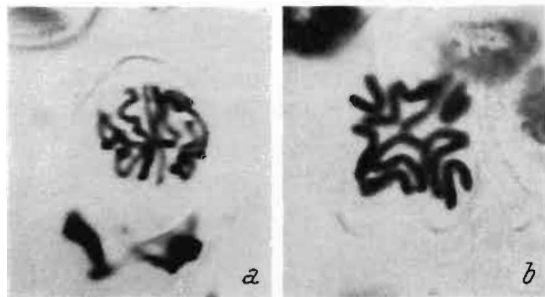


Fig. 27. Prophase et métaphase de la 1ère division pollinique chez le *Tradescantia virginiana*. Noter en *a* la disposition particulière des chromosomes en prophase (cf. *a*, Fig. 26). Alcool acétique : Feulgen ; $\times 1000$.

les auteurs. Elle n'est en rien indispensable au rôle différentiel de la première division pollinique. Elle est en outre affectée d'une forte variabilité intra- et interspécifique : DARLINGTON (1936) signale que chez le *Podophyllum* la même anthère renferme des grains à fuseau symétrique à côté de grains à fuseau asymétrique. Chez l'*Anthericum*, les deux pôles sont identiques et

émoussés (GEITLER 1935). Il en est de même chez l'*Asclepias* (GAGER 1902), tandis que chez l'*Adoxa* (LAGERBERG 1909), ils sont tous deux pointus. Par ailleurs le noyau et, par la suite, le fuseau ne se trouvent pas toujours complètement déportés comme on l'observe dans la majorité des cas. Chez l'*Adoxa*, le *Myricaria* (FRISENDAHL 1912), le *Sambucus* (SCHÜRHOFF 1921), le *Cotylanthra* (OEHLER 1927) et l'*Upularia* (GEITLER 1935), le fuseau, à peu près central, occupe presque toute l'épaisseur du grain de pollen. Les deux cellules-filles dont la taille est peu différente n'en sont pas moins totalement dissemblables. La forme et l'emplacement du fuseau n'ont donc qu'une importance restreinte pour la suite de la différenciation du pollen, la nature différente des deux cellules devant être attribuée à des facteurs qualitatifs inégalement distribués entre l'une et l'autre.

En règle générale, l'établissement de la plaque métaphasique est normalement précédé de la disparition du nucléole et de la membrane nucléaire. MARQUARDT (1941) précise qu'à ce stade chaque chromatide est clivée au moins en 4 éléments. Les chromosomes métaphasiques de la première division pollinique seraient donc formés de 8 chromonémas accolés. Au début de ce stade, chaque chromatide acquerrait une matrice propre, ce qui la transformerait en chromosome. Cette matrice était probablement préformée à l'intérieur du chromosome-père, sous forme d'une matrice de chromatide, et il en est sans doute de même de chaque élément d'ordre inférieur. Puis, le chromosome atteint son stade de contraction maximum.

C'est en métaphase que l'on note les premiers signes de ségrégation entre cytoplasme végétatif et cytoplasme générateur.

Les chromosomes anaphasiques s'écartent les uns des autres de la manière habituelle : chacun est constitué de deux chromatides, souvent allongées parallèlement l'une à l'autre, souvent aussi quelque peu entrelacées. Après l'arrivée aux pôles, la matrice devient moins dense et les chromatides se desserrent ; on voit alors que chacune d'entre elles est constituée de deux filaments accolés. L'asymétrie fusoriale, qui s'accroît pendant toute la durée de cette phase, entraîne une disposition différente des chromosomes dans les deux lots anaphasiques : les chromosomes destinés à former le noyau végétatif convergent vers un pôle effilé et sont réunis en un groupe massif à peu près hémisphérique ; les chromosomes attribués au noyau générateur se déplacent au contraire sur des fibres presque parallèles les unes aux autres et demeurent plus longtemps assemblés en une plaque dont les dimensions se restreignent progressivement.

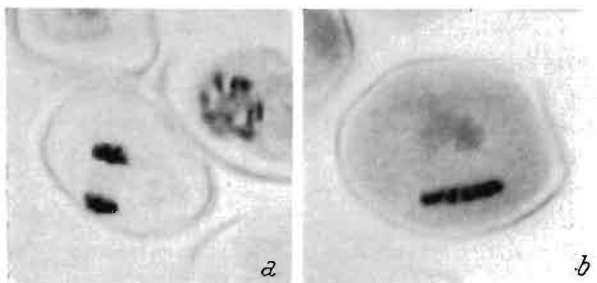


Fig. 28. Grains de pollen de l'*Asparagus officinalis*. *a* : fin d'anaphase de la 1^{ère} division ; *b* : noyau de la cellule génératrice peu de temps avant sa division. Alcool acétique ; Feulgen ; $\times 1200$.

Les mesures de BRYAN (1951) chez le *Tradescantia paludosa* et celles de OGUR *et al.* (1951) chez le *Lilium longiflorum* indiquent que l'acide désoxyribonucléique se partage également entre les deux noyaux-fils. Chacun en reçoit la quantité 2 *c*. Par contre, les protéines nucléaires, pourtant normalement liées à l'acide désoxyribonucléique, s'accumulent à une cadence très différente dans le noyau végétatif et dans le noyau générateur. Finalement, le premier en contient deux fois plus que le second, ce qui s'accorde avec leur rapport volumétrique. Pendant l'anaphase, l'acide ribonucléique envahit tout le fuseau, à l'exception du pôle générateur. LA COUR pense que le cytoplasme de la cellule génératrice serait composé uniquement ou en grande partie de cette portion achromatique de substance fusoriale, provenant du nucléoplasme du noyau-père, opinion sur laquelle il convient évidemment de faire toute réserve.

Ces phénomènes se poursuivent en télophase, où MARQUARDT confirme que chaque chromosome-fils est déjà clivé en 4 filaments. Chez l'*Allium*, la décontraction chromosomique aboutit alors à la constitution d'un réseau apparent dont la maille a pour unité la chromatide spiralée, peut-être même dédoublée et plus que dédoublée en spirales d'ordre inférieur.

Les deux noyaux télophasiques sont caractérisés par la vitesse différente de leur évolution : les chromosomes du noyau végétatif se dés spiralisent rapidement, tandis que les protéines nucléolaires et nucléoplasmiques s'accumulent en grande quantité, conduisant à l'édification d'un gros noyau renfermant un ou plusieurs nucléoles volumineux : ceux du noyau générateur demeurent plus longtemps contractés, entourés d'un nucléoplasme peu abondant, et associés à des nucléoles de petite taille. La plupart des auteurs

s'accordent pour attribuer cette différence de morphologie nucléaire à la différence qualitative et quantitative des matériaux cytoplasmiques dont peuvent disposer les deux noyaux au moment de leur reconstitution, le cytoplasme générateur étant plus rare et moins riche que celui de la cellule végétative. Il convient pourtant de remarquer que la différenciation nucléaire se manifeste dès l'anaphase, à un moment où les deux cytoplasmes ne devraient pas encore être séparés.

Les informations recueillies sur la cytokinèse sont d'ailleurs fort insuffisantes. De façon générale, il semble qu'un phragmoplaste plan s'établisse dans la région médiane du fuseau vers la fin de l'anaphase. L'existence de ce phragmoplaste paraît générale. D'après GEITLER, il ne s'établirait pas sur l'emplacement même de la plaque équatoriale, mais à un niveau plus rapproché du noyau générateur, ce qui contribuerait à renforcer l'inégalité des deux cellules-filles. Par la suite, ce phragmoplaste se recourbe autour du pôle générateur tandis que les fibres fusoriales se détachent du noyau végétatif (HAGERUP 1938, chez l'*Orchis*). Il donne naissance à une membrane cellulaire, qui, selon les espèces, enveloppe plus ou moins la cellule génératrice. Il reste possible que la séparation des deux cellules soit parachevée par un mécanisme extra-fusorial, tel qu'un étirement de cytoplasme, qui pourrait se montrer efficace dès la métaphase. A ce stade, en effet, les deux masses cytoplasmiques végétative et génératrice sont déjà parfaitement reconnaissables, mais il est difficile de préciser si elles sont séparées l'une de l'autre.

Deuxième et troisième phases : division de la cellule génératrice, structure et différenciation de cette cellule et des cellules spermatiques

Chez les Gymnospermes, et dans les groupes plus primitifs des Ptéridophytes et des Bryophytes, la cellule spermatogène primordiale ne se distingue des cellules somatiques que par ses caractères prononcés de dédifférenciation (membrane sans épaississement secondaire, cytoplasme dense sans grandes vacuoles, chloroplastes régressés) et par son aptitude à la multiplication cellulaire, aptitude révélée par la taille élevée de son noyau riche en nucléoplasme et en protéines nucléolaires, et surtout par la synthèse précoce d'acide ribonucléique au niveau des éléments chromosomiques. De fait, cette cellule se divise à plusieurs reprises avant que les cellules-filles, les gamètes, ne subissent à leur tour de nouveaux remaniements structuraux qui leur permettent d'accomplir leur rôle fécondant.

Chez les Angiospermes, l'accélération des processus de spermatogénèse est telle que tout d'abord la cellule génératrice, équivalente de la cellule spermatogène primordiale, ne se divise qu'une fois, et que, en outre, cette division est précédée d'une différenciation de la cellule-mère qui lui confère partiellement d'ores et déjà l'aspect qui sera celui des cellules spermatiques fonctionnelles. De même que le début de la spermatogénèse interfère avec les phénomènes de sporogénèse, de même l'avancement dans le temps de la différenciation terminale des gamètes amène cette dernière à débiter

avant même que les éléments mâles ne soient formés par division de la cellule génératrice : il y a chevauchement de la deuxième et de la troisième phase de la gamétogénèse mâle.

a) Structure et évolution de la cellule génératrice

Par le jeu de la première division pollinique, la cellule génératrice hérite de la garniture chromosomique de l'espèce, qui s'organise en un noyau de constitution normale, simplement remarquable par sa pauvreté en nucléoplasme et en substance nucléolaire : elle reçoit en outre une portion privilégiée du cytoplasme de la microspore, avec ses inclusions vacuolaires, chondriosomiques et plastidiales. Enfin, elle est entourée d'une membrane provenant du développement du phragmoplaste formé sur le fuseau mitotique. Plusieurs observations indiquent qu'elle recueille aussi la totalité des matériaux provenant de ce fuseau, soit qu'ils soient inclus dans sa membrane, soit qu'ils se dispersent dans son cytoplasme.

A l'origine, la cellule génératrice diffère surtout de la cellule végétative par sa taille réduite et par l'aspect de son noyau. Mais son originalité ne tarde pas à se manifester dans le comportement de tous les autres constituants cellulaires.

La membrane, primitivement soudée à la paroi pollinique dans la majorité des cas, ne demeure pas plus longtemps dans son état initial. On n'a malheureusement aucun renseignement sur l'évolution chimique de cette partie non négligeable de la cellule. Mais, du simple point de vue morphologique, on constate que l'enveloppe solide qui limitait la cellule génératrice se transforme progressivement, peut-être par gélification, en une couche plus malléable qui se laisse modeler sous l'effet des pressions internes et externes. Cette transformation a pour double conséquence le décollement de la cellule génératrice de la paroi pollinique et son arrondissement à l'intérieur de la cellule végétative dans laquelle elle se trouve ainsi libérée. Il est probable que ce phénomène est comparable à la gélification des parois des spermatides au moment où elles commencent à se transformer en spermatozoïdes dans l'anthéridie des Bryophytes ou des Ptéridophytes. Il correspond à une modification (sinon à un arrêt) de l'activité élaboratrice du cytoplasme superficiel.

D'après LA COUR, le cytoplasme générateur est caractérisé par l'absence d'acide ribonucléique. Cet état est peut-être en relation avec l'inertie apparente de ses éléments figurés. Les mitochondries qui se multiplient activement dans la cellule végétative demeurent telles quelles, dans la cellule génératrice. Il en est de même des chloroplastes, disparus pendant la division et qui grossissent de nouveau jusqu'à atteindre un diamètre

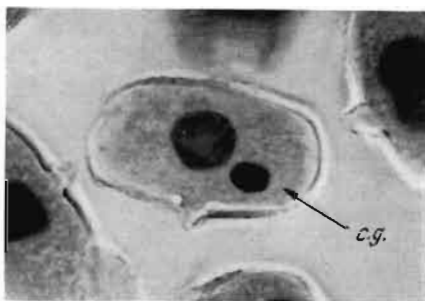


Fig. 29. Grain de pollen mûr du *Pisum sativum*. cellule génératrice (c.g.) et noyau du tube. Nawaschin ; Feulgen : $\times 940$.

d'environ $0,3\ \mu$ après la formation de la membrane (KAIENBURG 1950). Dans la cellule génératrice du *Lilium candidum* (GUILLIERMOND 1920), qui n'élabore pas d'amidon, on peut également distinguer, parmi les mitochondries granuleuses très abondantes, quelques éléments un peu plus gros que les autres, qui représentent les plastides. Quant aux vacuoles, elles se fragmentent en une « gaine de gouttelettes », groupées principalement à l'avant et à l'arrière de la cellule et qui ont été décrites par de nombreux auteurs, sinon toujours correctement interprétées.

Dans le noyau, les phénomènes préparatoires à la mitose sont fort précoces, puisque l'enrichissement en acide désoxyribonucléique intervient dès le moment où la cellule génératrice se décolle de la paroi pollinique. Les premières transformations morphologiques deviennent visibles peu de temps après, généralement lorsque le noyau commence à se déformer.

L'évolution de la cellule génératrice à l'intérieur du grain de pollen est remarquable à deux points de vue : 1° cette cellule acquiert à l'intérieur du grain une forme propre, parfois compliquée et caractéristique de l'espèce ; 2° elle effectue dans ce grain une série de déplacements, qui malheureusement n'ont pas jusqu'à présent été suffisamment élucidés.

Forme de la cellule génératrice : après un stade où la cellule génératrice revêt une forme sphérique, qui traduit probablement un état d'équilibre entre ses propres forces d'expansion et la pression qu'exercent sur toute sa surface les constituants de la cellule végétative (la sphère correspond à un volume de substance maximum limité par une surface minima), la cellule génératrice s'allonge et se déforme progressivement pour prendre une configuration définitive, acquise au moment où le grain de pollen a atteint sa maturité. La cellule génératrice est alors habituellement elliptique ou fusiforme. Chez le *Cuscuta* (FINN 1937), et chez l'*Ottelia* (ISLAM 1950), elle s'allonge tellement qu'elle occupe toute l'épaisseur du grain et vient buter de part et d'autre contre l'exine. Chez le *Monochoria* (BANERGI et HALDAR, 1942), elle atteint une telle taille qu'elle doit incurver ses deux extrémités découpées en forme de lanière pour tenir à l'intérieur du grain dont le diamètre est un tiers plus petit. Chez le *Campanula rapunculoides* (SCHNARF 1937), ses deux pointes sont dissemblables, l'une étant effilée et l'autre plus ou moins émoussée et renflée en une sorte de tête. Enfin, il n'est pas rare que la cellule génératrice soit recourbée en croissant ou même parfois enroulée et verniforme (*Asynema limonifolium*, SCHNARF 1937). En général, le noyau est simplement allongé et ne pénètre pas dans les extrémités effilées de la cellule.

On ignore les raisons des formes si particulières revêtues par la cellule génératrice. SCHNARF voit dans son allongement un phénomène préprophasique, explication qui semble peu valable. Il paraît plus logique de considérer cet allongement comme un phénomène homologue de l'allongement général des cellules reproductrices mâles, et, en particulier, de celui des spermatozoïdes des Bryophytes et des Ptéridophytes. Mais, dans ces groupes, la déformation de la cellule est précédée et, en quelque sorte, induite, par la déformation du noyau, elle-même corrélative du développement de l'ap-

pareil cinétique. Chez les Angiospermes, le noyau s'allonge aussi, mais il paraît difficile d'admettre qu'il soit responsable de la forme particulière revêtue par le cytoplasme auquel il est associé. D'ailleurs, dans l'état actuel de nos connaissances, la déformation nucléaire demeure tout aussi inexpiquée que l'acquisition d'une forme définie et spécifique par l'ensemble de la cellule génératrice. On peut supposer, néanmoins, qu'en collaboration avec d'autres facteurs, intervient la déshydratation des constituants cellulaires, déshydratation liée à la maturation de la microspore et ressentie aussi bien par la cellule génératrice que par la cellule végétative. A ce propos, on peut relever l'observation de STEFFEN (1953) selon laquelle, chez le *Galanthus nivalis*, après réhydratation et gonflement du grain, la forme de la cellule gamétogène mâle n'est plus déterminée que par l'action des courants cytoplasmiques et par les rapports spatiaux existant à l'intérieur du grain, puis dans le tube pollinique.

Déplacements de la cellule génératrice :

après s'être détachée de la paroi pollinique, la cellule génératrice semble libre d'aller et venir dans le grain de pollen. En fait, elle paraît bien user de cette liberté. Chez les *Oenotheraceae*, KAIENBURG note qu'après cet évènement la cellule génératrice et le noyau végétatif sont accolés au centre du grain. LINDEMANN (1956) fait la même remarque à propos du *Bellevalia romana* et de l'*Agapanthus umbellatus*. Chez l'*Impatiens Balsamina*, J. VAZART observe que la cellule génératrice quitte son emplacement initial pour rejoindre immédiatement le noyau végétatif vers lequel le cytoplasme mâle commence par émettre une sorte de pointe. Enfin, chez plusieurs espèces chez lesquelles la division de la cellule génératrice se fait à l'intérieur du pollen, CAILLON a constaté que cette division se déroulait à proximité immédiate du noyau végétatif. La réunion de la cellule génératrice et du noyau végétatif paraît donc être un phénomène relativement fréquent dont on ignore encore la signification.

Les auteurs ne sont guère d'accord sur la façon dont s'effectuent les déplacements de la cellule génératrice à l'intérieur du grain de pollen. STRASBURGER (1908) et HAKANSSON (1924) pensent qu'il s'agit de mouvements actifs, la cellule génératrice étant douée d'une motilité propre.

Structure de la cellule génératrice différenciée : après avoir revêtu sa forme spécifique, la cellule génératrice se comporte donc comme un élément isolé, suspendu dans le cytoplasme de la cellule végétative. Nous ne reviendrons pas sur l'existence de cette cellule en tant que telle. Toutes les observations qui, à ce stade, l'ont état d'un noyau reproducteur nu, ont été infirmées, et l'existence d'une cellule génératrice ou reproductrice est désormais universellement admise.

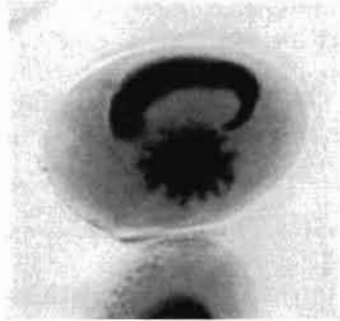


Fig. 30. Grain de pollen mûr du *Tradescantia virginiana*. Forme incurvée du noyau de la cellule génératrice. Le noyau du tube n'a pas reconstitué sa membrane et certains éléments chromosomiques sont disposés en boucle autour d'une masse centrale plus compacte, l'ensemble dessinant une forme en oursin très caractéristique. Alcool acétique ; Feulgen ; $\times 1000$.

A l'examen microscopique, la cellule génératrice apparaît entourée d'une membrane très réfringente que la plupart des auteurs interprètent comme une membrane limitante sans se prononcer autrement sur sa nature (cf., par exemple, ANDERSON 1939 ; SCHNARF 1941 et KOSTRIUKOVA 1941 chez le *Convallaria majalis*, le *Lilium Martagon*, le *Tulipa gesneriana* et le *Paris quadrifolia*). HOFMEISTER (1956) a prouvé indirectement l'existence réelle d'une telle membrane ou plutôt l'aptitude du cytoplasme générateur à s'entourer d'une telle surface limitante. En faisant éclater du pollen mûr de *Gladiolus* dans l'eau distillée, il a observé que la cellule génératrice s'arrondissait à l'intérieur de sa membrane, tandis que le cytoplasme végétatif, dépourvu d'une telle aptitude, se mélangeait à l'eau. Le même phénomène se produit pour le pollen du *Veltheimia* et pour celui du *Tradescantia virginiana*. Enfin, dans 5% environ des grains plasmolysés expérimentalement, la cellule génératrice s'invagine légèrement, participant ainsi à la plasmolyse, ce qui implique qu'elle est entourée de sa propre membrane. WOYCICKI (1926) décrit ainsi les cellules génératrices de l'*Haemanthus Katharinae*, l'*Hippeastrum hybridum*, le *Galanthus nivalis* et le *Leucojum vernalis* : à l'intérieur du grain de pollen, on peut voir, dans le cytoplasme de la cellule génératrice, des vacuoles régulièrement disposées tout autour du noyau. Ce dispositif est rompu lorsque la cellule génératrice entre dans le tube pollinique. Les vacuoles se groupent alors en deux coiffes situées à l'avant et à l'arrière du noyau. Dans les cas les plus favorables, on peut distinguer, autour de ce vacuome, une couche de cytoplasme finement granuleux, non vacuolisé, et massé surtout à l'extrémité antérieure de la cellule où il constitue une sorte d'antenne.

Le cytoplasme de la cellule génératrice est généralement homogène. En contraste de phase, il apparaît d'un gris plus clair que le cytoplasme végétatif ; d'où STEFFEN conclut qu'il doit être plus hydraté. Il contient en suspension les éléments habituels, à savoir :

— Des mitochondries très abondantes (ANDERSON 1939, chez le *Lilium*) dont certaines sont colorables par le vert Janus. (Il est probable que les autres représentent des proplastides.)

— Des chloroplastes, qui parfois contiennent encore de la chlorophylle (RUHLAND et WETZEL 1924, chez le *Lupinus luteus*, le *Narcissus incomparabilis*, et le *Crocus vernus* ; STEFFEN 1953, chez le *Galanthus nivalis*), et parfois n'en renferment plus (RUHLAND et WETZEL, chez d'autres espèces de *Lupin*). Ces chloroplastes disparaîtraient progressivement lors du passage de la cellule génératrice dans le tube pollinique. Dans la cellule âgée, ils retrouvent une forme analogue à celle des chondriosomes dont on ne peut plus les distinguer.

Chez le *Lilium*, dont la cellule végétative contient une grande quantité d'amidon, GUILLIERMOND (1920) a noté l'absence de ces réserves dans la cellule génératrice.

Un vacuome représenté par des gouttelettes donnant les réactions des vacuoles à suc plein, c'est-à-dire riches en acides gras, est mis en évidence vitalement, soit par coloration en fluorescence (STEFFEN 1953), soit plus simplement par le rouge neutre (DANGEARD 1956). Jusqu'à présent, toutefois,

ces formations vacuolaires ne sont connues que dans les grosses cellules génératrices des Monocotylédones. Elles ont été très fréquemment décrites par différents auteurs qui en ont donné des interprétations variables (WOYCICKI 1926 ; GEITLER 1937 ; SUIA 1937 a et b ; BENETSKAIA 1939 ; KOSTRIUKOVA 1939 ; PINTO-LOPEZ 1949 ; et d'autres). Dans les cellules génératrices de l'*Hippeastrum hybridum*, WULFF (1933) a réussi une double coloration des vacuoles ; leur contenu retient le rouge neutre tandis que leur paroi fixe des gouttelettes jaunes de chrysoïdine.

Le noyau offre, enfin, une structure prophasique sur laquelle nous reviendrons à propos de l'étude de la division de cette cellule. En outre, il présente souvent une forme allongée, et ce, pour des raisons encore inexpliquées. Par ailleurs, WULFF et LINDSCHAU (1936) ont émis l'idée d'une valeur spécifique du rapport nucléoplasmique de la cellule génératrice et en ont distingué trois types d'après l'abondance relative du cytoplasme.

Comportement de la cellule génératrice à l'intérieur du tube pollinique : dans nombre d'espèces, le pollen arrive à maturité et se trouve dispersé avant la division de la cellule génératrice. Lors de la germination du grain et de la transformation de la cellule végétative en tube pollinique, elle passe dans le tube où a seulement lieu la formation des deux cellules spermatiques. En général, elle est précédée dans ce mouvement par le noyau végétatif.

Les déplacements de la cellule génératrice à l'intérieur du tube pollinique ont particulièrement retenu l'attention de WULFF (1933). Cet auteur a relevé les déformations subies par la cellule génératrice au cours de ses migrations et suivi vitalement ses allées et venues. Il note que, dans le genre *Impatiens*, au moment de l'entrée dans le tube, la masse principale de cytoplasme reproducteur se trouve placée devant le noyau sous forme d'une longue pointe effilée. Ces images suggèrent une sorte d'ondulation du corps cellulaire et rappelle tout à fait celles observées par FINN (1925) chez les cellules spermatiques de l'*Asclepias cornuti* et par ISHIKAWA (1918) chez l'*Oenothera*.

Par ailleurs, il a précisé que la cellule génératrice s'engage dans le tube pollinique 10 min. environ après le début de la germination. Elle s'approche alors de l'apex, puis s'en trouve à nouveau plus éloignée. Ce retard relatif s'explique par l'entrée en mitose qui correspond à un arrêt du déplacement de la cellule génératrice.

L'hypothèse d'une adhérence de cette cellule à l'extrémité du tube pollinique, avancée par WELSFORD (1914) et par WEST (1930), n'est plus guère soutenable.

En outre, on doit noter que, dans le cas général, le noyau végétatif, quittant le grain avant la cellule génératrice, est dépassé par celle-ci au cours de la croissance du tube pollinique. Ceci a été observé par ELFVING (1879), OSTERWALDER (1898), GAGER (1902), SAWYER (1917), WYLIE (1923) TRANKOWSKY (1931), O'MARA (1933) et par WULFF (1933) chez le *Lilium Martagon*, le *Lilium candidum*, et l'*Hemerocallis flava*.

Plusieurs auteurs ont signalé la forme amoeboïde revêtue par la cellule

génératrice à l'intérieur du tube pollinique (SCHAFFNER 1901 ; SCHOCH 1920 ; WOYCICKI 1926 ; WULFF 1933). Certains remarquent que la différence de viscosité des deux cytoplasmes, végétatif et générateur, rend tout à fait plausible l'existence d'un déplacement de la cellule mâle à l'intérieur du tube. En effet, le cytoplasme mâle est formé principalement de « kinoplasma », (selon une terminologie maintenant tombée en désuétude), c'est-à-dire d'éléments provenant des fibres fusoriales de la première division pollinique (cf. HAGERUP 1938, LA COUR 1949). PIECH, en 1924 (a et b) insistait déjà sur le fait qu'il ne contenait très probablement que des protéines. Au contraire, le cytoplasme du tube, initialement très visqueux, se liquéfie progressivement jusqu'à devenir miscible à l'eau (SEIFRIZ 1921 ; HOFMEISTER 1956).

Enfin, l'observation vitale vient préciser nos connaissances sur les déplacements de la cellule génératrice dans le tube (WULFF 1933). Chez l'*Hippeastrum hybridum*, la cellule génératrice résiste à l'entraînement des courants cytoplasmiques : elle ne remonte jamais vers le grain comme le font les plastides ; par contre, elle semble progresser là où aucun courant n'est repérable. Sa portion cytoplasmique antérieure est capable de déformations qui lui permettent de résister aux courants adverses. Des déformations de plus faible amplitude s'observent aussi dans la portion cytoplasmique arrière. Chez le *Galanthus nivalis* et le *Leucojum vernum*, la cellule génératrice se dilate périodiquement de façon active et obture temporairement le tube. Ces déformations sont suivies d'une phase de contraction, qui paraît due à la pression des courants cytoplasmiques. Comme chez l'*Hippeastrum hybridum*, la cellule génératrice ne fait jamais retour vers la portion basale du tube pollinique.

La question de savoir s'il existe des courants cytoplasmiques à l'intérieur même de la cellule génératrice n'a pas été résolue. MODILEVSKIJ (1918) et O'MARA (1933) tendent à l'admettre d'après l'aspect des préparations fixées. WULFF conclut de même car il lui semble que la présence de tels courants soit nécessaire pour expliquer la division par étranglement de la cellule génératrice.

Les observations de STEFFEN (1953) sur le comportement de la cellule génératrice du *Galanthus nivalis* s'accordent, pour l'essentiel, avec celles de WULFF : le déplacement est effectué en collaboration par les courants du cytoplasme végétatif et par les mouvements propres de la cellule mâle : ceux-ci s'effectuent par l'intermédiaire de déformations amoéboides qui sont suffisantes pour assurer le rattachement de la cellule à l'un de ces courants soit dans le tube végétatif, soit dans le sac embryonnaire lorsqu'il s'agit des cellules spermatiques.

Structure nucléaire, stade préparatoire à la division : le noyau de la cellule génératrice ne traverse pour ainsi dire pas de période interphasique : du point de vue morphologique, la dés spiralisation télophasique des chromosomes est fort tardive et rejoint le début de leur spiralisation prophasique, qui se manifeste le plus souvent avant même que la cellule génératrice ne se soit détachée de la paroi pollinique. Du point de vue cytochimique, la synthèse d'acide désoxyribonucléique est aussi extrême-

ment précoce, puisque, d'après TAYLOR et McMASTER (1954), elle commence dès le début de l'« interphase » qui précède la division du noyau générateur. Il est donc normal que la plupart des auteurs aient attribué à ce noyau une structure prophasique, puisque effectivement celle-ci est acquise tout au début de l'existence de la cellule génératrice et aboutit régulièrement à la métaphase et aux stades ultérieurs de la division nucléaire.

Chez les espèces dont le pollen est dispersé au stade bicellulaire, il est probable que les phénomènes mitotiques sont ralentis, sinon totalement bloqués par les conditions imposées à la cellule génératrice du fait de la maturation de la microspore, et avant tout, par la déshydratation des cyto-

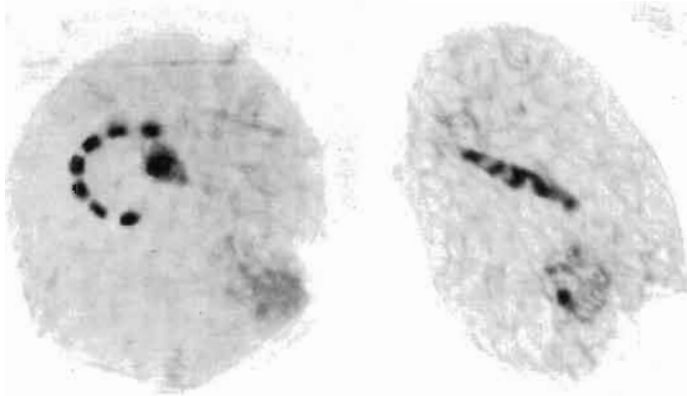


Fig. 31. Grains de pollen mûrs de *Impatiens Balfourii*. Noyau générateur bloqué à un stade prométaphasique. Nawaschin ; Feulgen ; $\times 1500$.
(J. VAZART, n. p.)

plasmes végétatif et générateur. Dans le cas inverse, on peut supposer que le noyau a déjà doublé le cap critique de la métaphase, lorsque cette déshydratation atteint un degré suffisant pour inhiber les premiers stades de la mitose. Pourtant, dans le cas général, l'évolution nucléaire s'arrête à un stade plus ou moins avancé de la prophase. Chez le *Bulbine caulescens* (GEITLER 1941), dans le pollen mûr, le noyau générateur a une structure de prophase tardive : les chromosomes sont totalement individualisés ; ils ont atteint leur degré de contraction maximum ; les chromatides ne sont plus qu'à peine entrelacés et la spirale résiduelle a presque totalement disparu ; la membrane nucléaire est encore présente. De ce stade, on passe directement à la métaphase, immédiatement après la germination du pollen. La structure du noyau reproducteur du *Bulbinopsis semi-barbata*, étudiée par le même auteur est identique. Par contre, chez l'*Ornithogalum nutans*, l'organisation chromosomique est plus semblable à celle décrite par MARQUARDT (1941) chez le *Lilium*. Les chromosomes s'individualisent sans que les chromonémas entreprennent les transformations structurales caractéristiques de la prophase. Chez ces trois espèces, l'évolution chromosomique débute lorsque la cellule génératrice se détache de la paroi pollinique et paraît se trouver bloquée après l'allongement de cette cellule. Chez l'*Allium ursinum*, le noyau reproducteur du pollen mûr a une allure franchement

différente : les chromosomes sont lâches, mais tellement serrés les uns contre les autres qu'il est difficile d'analyser leur structure fine. Leur individualité ne devient distincte qu'après la migration de la cellule génératrice. Comme chez l'*Ornithogalum*, ils conservent une spiralisation résiduelle qui ne disparaît qu'après la germination du pollen, à la fin de la prophase.

On connaît par ailleurs l'exemple du pollen d'*Impatiens* (Fig. 31) chez lequel l'évolution du noyau générateur est bloquée à un stade prométaphasique, sinon à un stade métaphasique vrai, puisque ce noyau a déjà perdu sa membrane, que les chromosomes ont déjà acquis leur structure métaphasique et sont alignés selon la disposition qu'ils conserveront quelque temps avant que ne débute l'anaphase, lorsque le pollen aura germé. Par contre, dans le noyau générateur de certains pollens mûrs, les transformations prophasiques sont à peine amorcées (*Paris quadrifolia*).

GEITLER a réussi à démontrer expérimentalement que si de tels grains bicellulaires sont placés dans une atmosphère suffisamment humide, la mitose du noyau générateur se poursuit sans que l'anthere s'ouvre, ni que les grains commencent à germer.

Toutes ces observations montrent donc que, pour se dérouler normalement, la mitose n'a besoin que d'un seuil d'humidité relativement bas, analogue aux conditions hydriques réalisées dans le grain de pollen au cours de sa maturation, à un moment où le cytoplasme végétatif, privé de tout mouvement de cyclose, est déjà presque « solide ». L'intervention, dans certaines cellules isolées, d'anomalies présentant des points communs avec les *c*-mitoses, semble indiquer que le mécanisme fusorial est plus sensible au manque d'eau que ne le sont les mécanismes purement chromosomiques.

MARQUARDT (1941) donne de l'évolution du noyau générateur du *Lilium* la description suivante : le noyau aurait au départ une structure interphasique de type réticulé, avec en outre de nombreux petits chromocentres plus ou moins agrégés entre eux. Ce réseau est formé des éléments chromosomiques probablement clivés chacun en 4 demi-chromatides. Par endroits, celles-ci se réunissent deux par deux ou quatre par quatre. Mais cette structure n'est pas stationnaire : au contraire, elle est en perpétuelle transformation, et au moment où le pollen prend contact avec l'air libre, le noyau a perdu tout aspect interphasique : sur d'importantes étendues, sa structure pseudogranuleuse est remplacée par une structure filamenteuse due à l'édification de chromosomes plus ou moins lâches. On pourrait qualifier cette nouvelle structure de prophasique, si ces chromosomes n'étaient pas si minces et leur contour tellement irrégulier. De l'avis de l'auteur, cette structure chromosomique se rapproche davantage de celle qui est habituellement réalisée en télophase, car, sur de longs segments, les chromatides s'associent deux à deux. Mais, dans le noyau générateur arrivé à ce stade, la spiralisation est beaucoup plus poussée. De plus, par endroits, il est possible de mettre en évidence quatre spirales conjuguées, ce qui correspond à une structure prophasique.

Cet auteur constate donc lui aussi une modification profonde de la structure interphasique réalisée dans le noyau générateur au terme de la première mitose pollinique. Il insiste néanmoins sur l'existence de cette

interphase et ne considère pas l'évolution structurale du noyau générateur comme une prophase vraie. D'ailleurs, au moment de la germination du pollen, le noyau, sans pourtant récupérer une structure interphasique, est le siège de phénomènes de spiralisation qui interviennent habituellement au tout début de la prophase. Pour MARQUARDT, la structure du noyau générateur ne représenterait donc pas le départ des phénomènes mitotiques, mais serait provoquée par un état physiologique particulier de la cellule, caractérisé principalement par la déshydratation du cytoplasme ambiant : cet état serait analogue à celui des noyaux des glandes salivaires des Diptères (Spiremkern).

Il paraît néanmoins plus logique de considérer l'évolution du noyau générateur comme une vraie prophase dont le déroulement est plus ou moins altéré par ces conditions de déshydratation, en remarquant avec GEITLER que nombreuses sont les espèces chez lesquelles, lors de la germination du pollen, ce noyau passe directement en métaphase, ou tout au moins à un stade plus avancé de la prophase.

Plus récemment encore, la structure du noyau de la cellule génératrice a fait l'objet d'une étude de LINDEMANN (1956) chez les deux Liliaceae *Bellevalia romana* et *Agapanthus umbellatus*. Cet auteur a noté qu'après la première division pollinique le noyau générateur ne subissait qu'une croissance très réduite. Il passe par un stade interphasique typique, puis, avant même que la cellule génératrice se soit détachée de la paroi du grain, le nucléole disparaît tandis que les chromosomes revêtent l'aspect habituel analogue à celui d'une prophase. Chez l'*Agapanthus*, dans le noyau duquel la chromatine est condensée en amas chromocentriques, ceux-ci se délient en filaments après la disparition du nucléole et ces derniers se raccourcissent peu à peu pour édifier des chromosomes prophasiques ; après quoi, les deux noyaux végétatif et générateur s'accolent. Au contraire du noyau végétatif, le noyau générateur ne se déchromatise pas.

b) Formation des cellules spermatiques

Déroulement de la caryocinèse : suivant les espèces, elle a lieu dans le grain de pollen ou dans le tube pollinique. Les phénomènes chromosomiques paraissent normaux. Ils sont seulement difficilement observables en raison de la pauvreté du noyau générateur en nucléoplasme et du petit espace dont disposent les chromosomes pour évoluer. Le fait que, dans le pollen mûr, la mitose ne soit jamais bloquée à un stade ultérieur à la prométaphase (pollen des *Impatiens*) indique suffisamment que seuls ses premiers stades sont sensibles à la déshydratation. Une fois acquis l'établissement du fuseau et le déclenchement de l'anaphase, la division nucléaire s'achève quelles que soient les conditions réalisées dans le cytoplasme ambiant. C'est ce qui se passe dans les grains disséminés à l'état « trinuécléé ».

L'analyse fine des transformations chromosomiques a été conduite chez le *Lilium* dont le noyau générateur se divise après la germination du pollen. Elles sont identiques à celles qui ont été décrites chez l'*Allium* au cours de la première division pollinique. En particulier, en fin de métaphase, on

observe des figures très claires dans lesquelles les chromatides apparaissent clivées en demi-chromatides présentant elles-mêmes un enroulement propre (MARQUARDT 1941). On trouvera aussi une description plus ou moins détaillée de ces phénomènes dans TRANKOWSKY (1931) (*Conballaria majalis*, *Galanthus nivalis* et *Hemerocallis flava*), O'MARA (1953) (*Lilium regale*), GEITLER (1941) (*Bulbine caulescens*, *Bulbinopsis*).

On doit toutefois noter que l'évolution mitotique des chromosomes n'est pas toujours aussi classique : on observe parfois une surcontraction qui fait que le chromosome métaphasique ressemble davantage à un gémmini plutôt qu'à un chromosome mitotique (*Impatiens*). Cette configuration fait

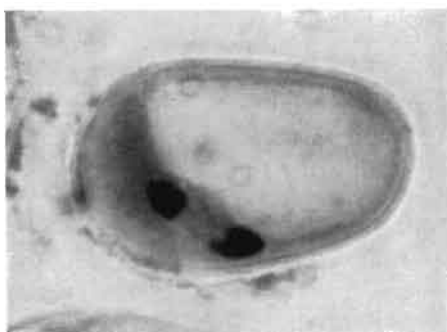


Fig. 32. Deuxième division pollinique chez le *Scilla cereale*, Nawaschin ; Feulgen ; $\times 1000$.

d'ailleurs suite à une prophase au cours de laquelle les éléments chromosomiques, formés à partir de chromocentres, demeurent toujours très condensés et ne s'allongent pas en longs cordons sinueux comme on le constate habituellement au cours de la prophase mitotique. Il est difficile de savoir si un tel état de choses doit être attribué à l'hydratation déficiente de la cellule ou à l'état propre du noyau, également pauvre en nucléoplasme et en produits nucléolaires. Chez le *Lilium*

regale, O'MARA indique que les chromosomes ont une longueur fort variable au moment de la disparition de la membrane nucléaire et que, pendant la suite de la mitose, leurs mouvements sont beaucoup moins synchronisés que pendant les divisions somatiques.

Quoi qu'il en soit, ce n'est pas tellement l'évolution des éléments chromosomiques qui a suscité l'attention des chercheurs, mais bien plutôt leur mode de disposition sur la plaque équatoriale et le fonctionnement de l'appareil fusorial, d'abord pour la distribution des chromosomes, ensuite pour la formation éventuelle d'une cloison cellulaire.

Lorsque la division se produit dans le grain de pollen, on observe régulièrement la formation de fibres fusoriales et la migration des chromosomes s'opère normalement. En outre, il est fréquent qu'une plaque cellulaire se forme dans le fuseau et participe à la séparation des deux cellules-filles (*Asclepias*, FINN 1925 ; *Portulaca*, COOPER 1935 a). Parfois, cette plaque cellulaire est éphémère et, finalement, la division du cytoplasme s'effectue par étranglement (*Vallisneria*, WITMER 1937). Enfin, ce dernier mécanisme peut être le seul impliqué dans l'individualisation des deux cellules spermatiques (*Juncus*, WULFF 1939). WITMER a décrit, chez certains échantillons du *Vallisneria*, le clivage de la plaque cellulaire qui assurerait ainsi la séparation des deux cellules.

Lorsque la division a lieu dans le tube pollinique, les avis sont beaucoup plus partagés. De nombreux auteurs n'ont pas réussi à mettre en évidence la présence de fibres fusoriales. Il semble pourtant que, dans la plupart des

cas, ce fait soit dû à l'inefficacité des techniques utilisées plutôt qu'à l'absence réelle du fuseau. (On trouvera dans WULFF 1933 et dans WULFF et MAHESWHARI 1938, une bibliographie abondante sur cette question.) Il est probable que, mis à part des cas très particuliers, tels que celui déjà cité de certains *Impatiens*, chez lesquels la métaphase est franchement aberrante, la distribution des chromosomes s'effectue comme à l'ordinaire, après l'établissement d'un fuseau sur lequel se constitue ensuite une plaque cellulaire. Par contre, dans la majorité des cas étudiés, la cytokinèse s'opère par étirement et rupture du cytoplasme générateur. Pourtant, dans un travail récent consacré à cette question, Ota (1957) conclut que la division cellulaire s'effectue normalement, avec intervention d'un fuseau et d'une plaque cellulaire (*Allium odorum*, *Crinum asiaticum*, *C. latifolium*, *Gladiolus gandavensis*, *Zephyranthes candida*, *Camellia sasanqua* et *Thea sinensis*).

Quant à la disposition souvent anormale des chromosomes métaphasiques, il est probable qu'il s'agit d'un phénomène purement mécanique, et qu'elle est due simplement, non pas à l'étroitesse du tube pollinique, mais à celle de la cellule génératrice. Il est possible qu'interviennent aussi d'autres déviations mitotiques ayant trait au mécanisme fusorial, les transformations du nucléoplasme n'aboutissant plus à la formation de l'appareil habituel, mais simplement à une elongation de l'espace intranucléaire (telle que l'a observée WULFF 1933), accompagnée de modifications qui permettraient néanmoins le déplacement des chromosomes anaphasiques.

Le temps qui sépare la division nucléaire de l'isolement des deux cellules spermatiques est fort variable. Il n'est pas rare de constater l'existence prolongée d'une cellule binucléée contenant les deux noyaux gamétiques. Cet état persiste exceptionnellement jusqu'à l'entrée du tube pollinique dans le sac embryonnaire : mais il s'agit alors d'une anomalie (NAWASCHIN et FINN 1913 ; TSCHERNOJAROW 1915 et 1926). Enfin, une autre anomalie signalée par WEFELSCHIED (1911) consiste en la formation d'une membrane épaisse succédant à une plaque cellulaire formée sur le phragmoplaste et séparant les deux cellules mâles (*Asclepias cornuti*).

Répartition des éléments cytoplasmiques : ANDERSON (1939) précise que chez le *Lilium regale*, le *L. tigrinum* et le *L. Philippinense*, la cellule génératrice contient des mitochondries qui se groupent autour du noyau pendant la prophase ; après la métaphase, elles se réunissent dans la région de l'ancienne plaque équatoriale, puis elles se répartissent en anaphase entre les deux cellules-filles dans lesquelles elles s'agglomèrent en une masse impossible à différencier.

Les cellules spermatiques : si la question de l'existence d'une cellule génératrice constituée en tant que telle, c'est-à-dire formée d'une masse de cytoplasme entourée d'une membrane propre et contenant en suspension les éléments habituels, noyau, plastes, mitochondries et vacuoles, paraît désormais résolue dans le sens de l'affirmative, il n'en est pas de même dans le cas des cellules spermatiques dont l'existence est encore mise en doute, sinon ignorée, par nombre de botanistes.

En fait, les travaux rapportés au long des pages précédentes ont permis de suivre les transformations de la cellule génératrice jusqu'au moment de sa division et apportent au moins une réponse positive à un premier point : les deux cellules spermatiques proviennent de la division d'une cellule-mère dont la structure est déjà fort spécialisée, mais qui possède une organisation absolument typique de tout élément cellulaire. Les cellules-filles conservent-elles cette organisation, ou bien les gamètes ne sont-ils que des noyaux « nus », ou bien encore possèdent-ils quelque structure intermédiaire ? Pour résoudre cette question théoriquement très importante, on ne dispose encore que d'observations cytologiques insuffisantes. Pourtant, alors que les auteurs anciens avaient à ce sujet des opinions diverses, les travaux modernes tendent de plus en plus à révéler l'existence générale de véritables cellules spermatiques.

SCHNARF (1937) constate que dans les grains de pollen « trinoclés » les noyaux sont entourés d'une zone cytoplasmique bien délimitée. Ces observations concernent quelque 41 espèces de position systématique fort variée.

PODDUBNAJA-ARNOLDI, dont les travaux s'échelonnent de 1927 à 1936, signale tantôt des cellules spermatiques très visibles (Composeae), tantôt des noyaux nus : *Chondrilla*, *Scorzonera* qui font exception à la règle générale. Chez le *Scabiosa purpurea*, la cellule génératrice se divise à l'intérieur du grain de pollen en deux cellules spermatiques munies d'un cytoplasme propre, mais par la suite celui-ci devient impossible à mettre en évidence. Des cellules mâles ont été également vues par cet auteur chez le *Pisum sativum*, le *Nicotiana rustica*, le *N. tabacum* et le *Solanum tuberosum*. Par contre, elles demeurent invisibles chez d'autres espèces : *Cannabis sativa*, *Aconitum lycoctonum*, *Papaver somniferum*, *Secale cereale*, etc. Mais il est bien évident que les difficultés d'observation ne doivent pas pour autant amener à conclure que dans ces espèces de telles cellules n'existent pas.

Dès 1902, GAGER, par ailleurs, décrit la division de la cellule génératrice chez l'*Asclepias cornuti*, au cours de laquelle intervient l'établissement d'un fuseau asymétrique, qui donne naissance à deux cellules spermatiques inégales, mais chacune munie d'un cytoplasme particulier. La membrane de ces cellules disparaîtrait peu de temps après leur entrée dans le tube pollinique. O'MARA (1933) précise qu'après la mitose, la cellule génératrice du *Lilium* se partage par étirement en deux cellules spermatiques. Mais à un stade plus ou moins précoce qui peut même précéder la cytokinèse, le cytoplasme mâle se mélangerait lentement à celui du tube, sans qu'il soit d'ailleurs possible d'observer les phases intermédiaires du phénomène. Au moment de la fécondation, avant leur éjection, les noyaux spermatiques se trouveraient ou bien inclus au sein d'un cytoplasme générateur unique, ou bien enfermés chacun dans une cellule spermatique, ou bien encore immergés à l'état nu dans le cytoplasme végétatif. Ces noyaux ne récupèrent pas une structure interphasique vraie : au-dedans, les chromosomes restent individualisés, avec une structure qui rappelle plutôt l'interphase séparant les deux divisions méiotiques.

Parmi les données les plus récentes, citons celles de STEFFEN (1953) sur le *Galanthus nivalis*. Tandis que, chez cette espèce, TRANKOWSKY (1931) avait

décrit la disparition du cytoplasme mâle au moment de la division de la cellule génératrice, STEFFEN observe vitalement des cellules spermatiques parfaitement individualisées dont la forme est constamment modifiée par la poussée des courants cytoplasmiques circulant dans le tube pollinique. Les deux cellules spermatiques sont de même taille, et, dans leur noyau, les éléments chromosomiques sont spiralés comme en prophase. On n'y distingue pas de nucléole.

GOODSPEED (1947) n'a pas pu déceler la structure cellulaire des gamètes mâles formés dans le tube pollinique de plusieurs espèces de *Nicotiana*. Par contre, il décrit des cellules spermatiques rondes au contact de l'oosphère et du noyau secondaire ; il figure des cellules pourvues d'un noyau également sphérique renfermant un nucléole de taille appréciable.

ANDERSON (1939) indique que, chez les espèces de *Lilium* qu'il a étudiées, les gamètes mâles sont des cellules complètes et totalement séparées l'une de l'autre ; certains d'entre eux sont vacuolisés, surtout à leur extrémité antérieure. Leur équipement mitochondrial est le même que celui de la cellule génératrice et leur structure persiste telle quelle jusqu'à la pénétration du tube dans la cavité ovarienne.

KAIENBURG (1950) note que chez les *Oenotheraceae*, la cellule génératrice se divise en deux cellules spermatiques qui restent longtemps indivises parfois même jusqu'à la fécondation (cf. ISHIKAWA 1918). Au moment de cette division, les plastides, mis en évidence par le nitrate d'argent, se multiplient à nouveau, multiplication qui est suivie d'une nouvelle réduction de taille. Les noyaux mâles conserveraient leur gaine de cytoplasme jusqu'à leur entrée dans le sac embryonnaire. Le cytoplasme mâle participerait à la fécondation ; au contraire, les chloroplastes d'origine mâle seraient destinés à dégénérer.

Quant au déplacement des cellules spermatiques à l'intérieur du tube pollinique, on peut répéter à ce sujet ce qui a été dit à propos de la cellule génératrice. L'idée de WULFF selon laquelle cette dernière serait immobilisée pendant sa division (d'après cet auteur ce serait là un des rôles principaux du cytoplasme mâle qui jouerait en quelque sorte le rôle d'amarre pendant la mitose du noyau générateur), a été mise en doute par STEFFEN (1953). Cet auteur a observé des déplacements passifs de la cellule en division, mais il a également mis en évidence, grâce à des relevés faits d'après des observations vitales, un mouvement amoéboïde des cellules génératrice et spermatiques, mouvement qui, le cas échéant, peut même se poursuivre si les cellules mâles s'échappent accidentellement d'un tube endommagé.

En conclusion, il semble donc raisonnable d'admettre que les gamètes mâles des Angiospermes sont doués d'une structure cellulaire complète, quoique profondément modifiée. Cette hypothèse est pleinement confirmée par les travaux relativement nombreux effectués récemment sur les Monocotylédones. Malheureusement, les Dicotylédones, dont les noyaux et les cellules ont habituellement une taille beaucoup plus réduite sont loin d'être suffisamment prospectées et connues avec autant de détails. On peut espérer néanmoins que l'amélioration des techniques cytologiques et la multiplication des travaux qui leur seront consacrés permettront de leur étendre,

avec peut-être certaines modifications nécessaires, les résultats déjà obtenus sur les Monocotylédones. Des observations telles que celles de KAIENBURG montrent que la chose n'est pas impossible et que, dans un avenir plus ou moins lointain, la structure intime des gamètes mâles doit pouvoir être précisée dans tout le règne végétal, et non pas seulement chez les groupes se prêtant le mieux à ce genre d'études.

Phénomènes annexes : transformation de la cellule végétative, germination du pollen, structure cytologique du tube pollinique

La division de la cellule mâle haploïde directement issue de la méiose (gonocyte) se produit avant que cette cellule ait acquis les caractères d'une spore. Après cette division, tandis que la cellule spermatogène (cellule génératrice) se différencie dans le sens habituel aux cellules-mères des gamètes mâles (dédiérenciation des éléments figurés du cytoplasme, prédominance des éléments nucléaires et plus spécialement des éléments chromosomiques sur les constituants cytoplasmiques), la cellule végétative poursuit son évolution vers l'acquisition d'une structure « sporale », adaptée au passage à une vie ralentie et qui permette la survie du grain de pollen mûr, privé de tout échange avec d'autres cellules et libéré pour un temps plus ou moins long dans un milieu aérien relativement très pauvre en eau.

Dans le cas général, la première division pollinique intervient au stade où la microspore est caractérisée par la structure suivante : le noyau, dont la constitution ne présente aucune anomalie, est localisé dans une région privilégiée de la cellule. Celle-ci est occupée en grande partie par un système vacuolaire très développé, souvent confondu en une poche unique. Le cytoplasme est peu abondant, représenté par une simple lame pariétale ; il est riche en acide ribonucléique et contient les éléments habituels : plastes qui atteignent à ce stade leur taille maxima pendant la vie du pollen, (KAIENBURG 1950) 0,4 à 0,6 μ chez les Oenotheraceae, auxquels s'ajoutent quelques mitochondries de plus petite taille. D'après KAIENBURG, la première division pollinique est précédée d'une phase de multiplication active des plastes dont la taille s'abaisse au point de tomber dans le domaine sub-microscopique pendant la mitose.

Après cette première division, la cellule végétative qui, quantitativement, hérite de la plus grande partie de la microspore, subit un certain nombre de remaniements nucléaires et cytoplasmiques.

Le noyau végétatif est caractérisé par une évolution postmitotique extrêmement précoce. En effet, les chromosomes mitotiques attribués à cette cellule se dés spiralisent rapidement, dès la fin de l'anaphase, pour donner naissance à des filaments grêles qui s'entourent d'un nucléoplasme abondant. Corrélativement, au contact des portions spécialisées de ces chromosomes, prennent naissance des nucléoles qui grossissent très vite et, par conséquent, se fusionnent assez tôt. Autour de cet ensemble, une membrane nucléaire se condense, comme on le remarque d'ordinaire. Cependant, l'évolution du noyau végétatif ne s'arrête pas là. Dans le matériel qu'ils ont étudié, la plupart des auteurs s'accordent à noter que le noyau s'appauvrit en



acide désoxyribonucléique, c'est-à-dire que sa chromatocité baisse vis-à-vis des colorants nucléaires et principalement après coloration selon la technique de Feulgen. Cependant, s'appuyant sur des mesures photométriques effectuées sur le *Tradescantia*, BRYAN (1951) affirme, au contraire, qu'après la première mitose pollinique, le noyau végétatif qui, comme le noyau générateur, aurait reçu la quantité $2c$ d'acide désoxyribonucléique continue à s'enrichir légèrement en cette substance. Il est juste cependant de rappeler que les mesures de cet auteur sont en désaccord avec la plupart des données obtenues par d'autres chercheurs. Malheureusement, ces derniers ne se sont pas préoccupés de suivre le destin du noyau végétatif au-delà des tout premiers stades qui suivent sa formation. SWIFT (1950) indique simplement que le noyau ne s'enrichit pas en DNA comme le fait le noyau générateur.

On peut également noter que, parmi ceux qui signalent une baisse de la chromatocité du noyau végétatif, beaucoup n'ont pas utilisé la réaction nucléale et ont simplement constaté une baisse de l'affinité envers des colorants basiques ou autres, baisse qui peut être due à la disparition d'un tout autre composant que l'acide désoxyribonucléique. Quoi qu'il en soit, on doit constater d'une manière plus précise que les transformations télophasiques des chromosomes sont extrêmement poussées, qu'elles se poursuivent en quelque sorte pendant une partie de l'interphase et qu'elles mettent en œuvre une disparition progressive de l'hétérochromatine.

Immédiatement après la première division pollinique, le noyau végétatif est repoussé contre la paroi comme l'était celui de la microspore. Puis intervient une période de synthèse cytoplasmique rapide, au cours de laquelle la grande vacuole est progressivement oblitérée. Pendant cette période, le cytoplasme végétatif s'enrichit considérablement en acide ribonucléique. Sa basophilie devient maxima au moment de la maturation du pollen. D'après PAINTER (1943), chez le *Rhoeo discolor*, cet acide proviendrait des débris cellulaires (tapis et microspores avortées) présents à ce moment dans la cavité de l'anthère. D'après LA COUR (1949), il s'agirait plutôt d'un produit de transformation de l'acide désoxyribonucléique du noyau végétatif. Corrélativement, le cytoplasme de la cellule génératrice s'enrichit également en protéines (LA COUR 1949 ; BRYAN 1951). Pendant cette phase, le noyau végétatif demeure pourvu d'un gros nucléole puissamment acidophile.

Cependant, un tel état ne dure guère. Tôt ou tard le noyau végétatif s'appauvrit, tant en nucléoplasme qu'en substances nucléolaires. Chez le *Bellevalia romana*, LINDEMANN (1956) décrit l'émission, par le nucléole du noyau végétatif, de petites sphérules plus ou moins nombreuses qui viennent se fondre dans le nucléoplasme ; ces sphérules sont analogues aux « vacuoles » intranucléolaires qui ont souvent été vues par les auteurs. Finalement, le nucléole disparaît complètement, tandis qu'autour des éléments chromosomiques se condense une sorte de nuage de substance chromatique qui se disperse à son tour. Chez l'*Agapanthus umbellatus*, le même observateur remarque que, dans le noyau végétatif, les chromocentres restent plus petits et plus isolés que dans les autres tissus ; ils continuent

d'ailleurs à s'amenuiser pendant la période de maturation du pollen, avant de disparaître totalement ; le nucléole bourgeonne et se désagrège comme chez le *Bellevalia*. De façon générale, on observe un changement de comportement du noyau végétatif au cours de la maturation du pollen. Ce noyau qui, primitivement, était caractérisé par l'intensité des synthèses nucléoplasmiques et nucléolaires, s'appauvrit ensuite assez rapidement pour ce qui est des substances renfermées dans ces deux constituants : le nucléole régresse et dégénère plus ou moins, tandis que le nucléoplasme devenant de plus en plus rare ne gonfle plus l'enveloppe nucléaire qui se plisse, conduisant ainsi à la réalisation de formes amoeboïdes qui ont souvent été décrites. D'après BRYAN, il s'agirait d'une perte de substances protéiques aux dépens du cytoplasme dont l'acidophilie se trouve corrélativement renforcée.

Tous ces faits, quelle qu'en soit l'interprétation exacte, indiquent combien le noyau participe à la différenciation de la cellule végétative. Que l'aspect des chromosomes semble au caryologiste inintéressant, parce que statique, sinon précurseur de phénomènes pathologiques, il n'y a rien là que de très normal, puisque, dans la cellule végétative, le noyau n'a plus à se diviser, ni à jouer de rôle relevant de sa fonction génétique. Mais ses transformations ne peuvent être envisagées simplement sous l'aspect d'un début de dégénérescence. Dans le grain de pollen, l'activité du noyau végétatif peut être décomposée en deux phases bien distinctes : au cours de la première, il semble jouir d'un pouvoir synthétique particulièrement élevé et il accumule des réserves nucléoprotéiques ; au cours de la seconde, l'activité synthétique se ralentit considérablement — peut-être même cesse-t-elle? — les réserves sont épuisées et transformées au profit des autres éléments de la cellule. Au moment de l'anthèse, celle-ci ne manque plus que d'eau pour croître rapidement et se transformer en « tube » pollinique. Cette eau lui sera fournie par le milieu externe. Il semble bien, par ailleurs, que cette seconde partie de l'existence de la cellule végétative ne nécessite que dans de faibles proportions l'intervention d'un noyau dont la structure est déjà fortement altérée par l'achèvement des phénomènes de maturation de la microspore.

Pendant cette maturation, les phénomènes nucléaires sont évidemment escortés de modifications cytoplasmiques. Celles-ci consistent principalement en l'élaboration de substances de réserves, jointe à une déshydratation progressive et très poussée. Du point de vue structural, on observe donc un développement rapide des éléments cytoplasmiques et paraplasmiques aux dépens des constituants vacuolaires.

En effet, les mitochondries, support de la majorité des systèmes enzymatiques mis en œuvre dans le métabolisme cellulaire, se multiplient activement. Dans le pollen mûr, elles sont exclusivement granuleuses, très chromatiques, fort abondantes, et souvent agrégées en amas.

Les chloroplastes demeurent semi-différenciés. Chez de nombreuses espèces, certains élaborent de l'amidon sous forme de grains plus ou moins volumineux. D'après KAIENBURG (1950), chez les *Oenotheraceae*, cette élaboration serait précédée d'une nouvelle période de multiplication des

plastest, qui d'ailleurs ne cesseraient définitivement qu'à la maturité complète du grain ; l'amidon s'accumulerait sous forme de petits fuseaux au contraire de ce qui a lieu précédemment dans la microspore où les amyloplastest sont sphériques ; par ailleurs, les leucoplastest sont surtout localisés autour du noyau. Chez un certain nombre de plantes, on a démontré que les chloroplastest étaient encore porteurs d'une certaine quantité de chlorophylle (*Lupinus luteus*, etc.)

Quant aux vacuolest, on ne sait si elles proviennent de la fragmentation de la grande vacuole centrale formée avant la première division pollinique, ou si elles se développent directement dans le cytoplasme qui gagne peu à peu les régions les plus internes de la microspore. Prises individuellement, elles deviennent de plus en plus petites au cours de la maturation ; mais elles se multiplient d'autant, si bien que le cytoplasme du grain mûr apparaît doué d'une véritable structure alvéolaire, les trabécules cytoplasmiques extrêmement fins séparant une multitude de petites vacuolest arrondies. D'après HUREL-PY (1933), il y aurait fragmentation de la grande vacuole due à la désimbibition de ses colloïdes.

L'affirmation de SCHNARF (1941) selon laquelle le pollen vraiment mûr ne contient plus aucune vacuole, ne doit pas être acceptée *sensu stricto*. Tous les grains de pollen qui ont été examinés de ce point de vue contiennent au moins des éléments vacuolaires arrondis et de petite taille. Bien plus, il semble que ces éléments n'aient pas atteint le degré maximum de déshydratation, puisque, sans nuire pour autant à la vitalité du pollen, HUREL-PY a pu obtenir, par un traitement prolongé du pollen du *Nicotiana glauca*, par l'anhydride phosphorique, la transformation de ces sphérules vacuolaires en éléments ponctiformes colorables par le rouge neutre et en tous points semblables aux grains d'aleurone des graines. D'ailleurs la coloration vitale du vacuome pollinique a été obtenue par P. DANGEARD (1956) sur un très abondant matériel. Selon l'aspect des vacuolest au moment de l'anthèse, cet auteur a distingué plusieurs types de grains de pollen :

Chez les espèces à vacuome très dispersé, les gouttelettes vacuolaires ne dépassent pas $0,5\ \mu$ de diamètre ; elles peuvent demeurer telles quelles pendant le cours de la coloration (*Ranunculus repens*, *Chelidonium majus*, *Symphytum officinale*, *Ulex europeus*), ou bien gonfler progressivement (divers *Ranunculus*, *Nicotiana tabacum*, *Helleborus viridis*, *Corylus avellana*). Ces vacuolest ponctiformes sont parfois tellement nombreuses qu'elles donnent l'impression d'une coloration cytoplasmique diffuse (*Salix alba*) ; elles peuvent alors se transformer en éléments hydratés filamenteux (*Endymion nutans*). Elles peuvent être localisées autour du noyau végétatif, ou réparties uniformément dans tout le cytoplasme. A ce type se rattachent un grand nombre d'espèces appartenant aux genres *Ficaria*, *Caltha*, *Ranunculus*, *Aconitum*, *Clematis*, *Chelidonium*, *Eschscholtzia*, *Genista*, *Lotus*, *Anagallis*, *Cyclamen*, *Primula*, *Lobelia*, *Amaryllis*, *Colchicum*, *Lilium*, *Narcissus*, *Tradescantia*, etc. Chez d'autres plantes, le pollen mûr contient encore d'assez grandes vacuolest de taille inégale : telles *Agrimonia eupatoria*, *Erica cinerea*, *Plantago lanceolata*, *Iris pseudacorus*, *Mentha arvensis*, *Alnus glutinosa* ou même des éléments uniformément grands

et colorables par le rouge neutre (*Dactylis glomerata*, *Mirabilis jalapa*, *Calistegia sepium*).

Ces pollens de différents types peuvent être colorés naturellement par des pigments vacuolaires : vacuoles arrondies et violettes du pollen du *Clerodendron*, minuscules vacuoles bleuâtres du *Papaver rhoeas*. Chez le *Raphanus sativus*, le *Lycium barbarum* et le *Petunia violacea*, le cytoplasme végétatif contient à la fois en suspension des gouttelettes colorées qui ne fixent pas le rouge neutre et de petites vacuoles qui le retiennent. Peut-être ces deux catégories d'éléments appartiennent-elles l'une et l'autre au vacuome?

Enfin, certains grains ne peuvent être colorés vitalement (*Lathraea clandestina*), mais ce cas est tout à fait exceptionnel.

La rupture de la paroi pollinique et la germination du pollen sont précédées d'un stade de réhydratation au cours duquel le grain absorbe une grande quantité d'eau. Le volume des vacuoles augmente (HUREL-PY 1934), et parfois celles-ci se regroupent à l'endroit où va naître le tube pollinique. A peine celui-ci émerge-t-il de l'exine que les vacuoles se rassemblent à l'intérieur du grain en une grande poche centrale qui subsiste pendant toute la durée de la vie du tube pollinique.

Une fois formée l'expansion cytoplasmique qui constitue l'ébauche du tube pollinique, le noyau végétatif et la cellule génératrice (ou les cellules spermatiques) y pénètrent. Dans le cas le plus fréquent, le noyau végétatif s'engage le premier dans le tube ; mais cette règle est loin d'être générale. Toutefois, il semble que lorsque les cellules mâles passent les premières, elles sont rapidement rejointes et dépassées par le noyau du tube. Ce dernier est fréquemment entouré d'inclusions cytoplasmiques massées à sa périphérie.

A l'intérieur du tube pollinique, la cellule génératrice ou les cellules spermatiques et le noyau végétatif n'ont plus de forme propre ; leur configuration est constamment remaniée par les courants cytoplasmiques ainsi que par l'influence qu'ils exercent réciproquement les uns sur les autres ou par la proximité des parois du tube (O'MARA 1933 ; STEFFEN 1953, etc.).

II. Gamétogénèse femelle

La formation du gamétophyte femelle, puis la différenciation de la cellule reproductrice ou oosphère sont plus complexes chez les Angiospermes que chez les autres groupes de Végétaux. Cette complexité provient du fait que la réduction du gamétophyte est plus prononcée que dans les autres embranchements ; en outre, l'accélération des processus de somatogénèse et de gamétogénèse fait qu'ils se superposent et rend plus difficile leur identification. A ce propos, diverses hypothèses ont été envisagées (cf. BATTAGLIA 1951).

En effet, malgré certaines similitudes morphologiques marquant le développement du gamétophyte chez les Gymnospermes et chez les Angiospermes, on peut difficilement parler, chez ces dernières, de phase « somatogène » (terme par lequel BATTAGLIA désigne l'ensemble de l'édification de

la portion somatique du gamétophyte). Dans le cas le plus habituel, la mégaspore issue des divisions méiotiques peut être considérée comme l'équivalent d'une initiale archégoniale. Le gamétophyte femelle ou sac embryonnaire serait alors réduit à sa portion fertile ou « germinale ». Il représenterait un gamétange dont les diverses cellules, individualisées à la suite des divisions de la mégaspore, auraient les mêmes potentialités reproductrices (hypothèse que semblent confirmer les travaux de JOHNS 1939 sur le *Tinospora cordiflora*). Toutefois, au cours de son développement, surviennent deux sortes de processus qui s'opposent au fonctionnement de ces cellules en tant qu'éléments reproducteurs. Ce sont, d'une part, la croissance rapide de la mégaspore, croissance qui s'effectue aux dépens du tissu nucellaire et qui est d'ailleurs sollicitée par celle de l'ovule, et, d'autre part, la formation précoce de parois cellulaires compartimentant le « coenoprothalle » et coïncidant avec l'arrêt des mitoses gamétogènes dont le nombre n'excède pas 3 séries.

Ces phénomènes sont en effet accompagnés d'une polarisation accusée de l'ensemble du sac, qui, jointe à sa segmentation, provoque la différenciation de ses éléments, dont le destin est déterminé très tôt, avant ou pendant la troisième série de divisions. Dès ce stade, par exemple, il devient possible d'identifier les futurs noyaux polaires.

Il en est de même des noyaux-fils formés aux extrémités apicale et proximale de la spore, à la suite de divisions dont les axes sont perpendiculaires à la direction d'élongation du sac. Deux de ces noyaux, à l'extrémité micropylaire, deviendront ceux des synergides, tandis que les deux autres, à l'opposé, seront ceux de deux antipodes. A ce propos, il est remarquable de constater, lorsqu'on peut suivre ce développement et, en particulier, le début de la formation des parois qui isoleront ultérieurement les divers éléments du sac, que le dépôt des membranes s'effectue d'abord entre les deux synergides en même temps qu'entre les deux antipodes correspondantes.

Ces phénomènes peuvent encore montrer une accélération plus grande. Chez certaines Angiospermes plus évoluées, les divisions méiotiques (mitose homéotypique ou même déjà mitose hétérotypique) ne s'achèvent pas par la formation de membranes cellulaires. Il en résulte que ce sont deux ou même quatre mégaspoires qui participent à la constitution du gamétophyte et que, dans le cas où la réduction de la génération haploïde atteint son actuel point maximum, le gamète femelle provient directement de la première et unique division gamétogène.

Principales étapes de la gamétogénèse femelle. Edification du sac embryonnaire et individualisation de l'oosphère

Le développement de la mégaspore fonctionnelle marque le début de la gamétogénèse. Ensuite interviennent trois séries de divisions nucléaires successives qui conduisent à la formation d'un syncytium. Puis, les éléments de l'appareil sexuel s'individualisent et se différencient. Au cours de la phase d'activité mitotique, le sac embryonnaire est net-

tement polarisé, ce qui provoque certains déplacements des noyaux et l'orientation des fuseaux de division. Ces phénomènes sont aussi en étroite relation avec la vacuolisation du cytoplasme, elle-même liée au rapide accroissement de taille de la mégaspore.

a) Structure et évolution de la mégaspore

Dans le cas le plus habituel (environ 70% des végétaux étudiés, d'après MAHESHWARI 1950), une seule des 4 mégaspores est appelée à se diviser, tandis que les trois autres dégénèrent.

Cette cellule privilégiée, généralement la plus interne d'une rangée axiale, commence par se dilater considérablement et cet accroissement de taille n'est pas uniforme : il est plus marqué dans le sens de l'allongement de l'ovule. Le noyau augmente également de volume et conserve une position centrale tandis que des vacuoles prennent naissance dans le cytoplasme environnant. Parfois, la vacuolisation est très prononcée dès ce stade, et le jeune sac renferme alors deux grandes vacuoles, une à chaque bout (*Chenopodium murale*, MAHABALE et SOLANKY 1954). Parfois encore la vacuolisation procède en deux temps (*Chrysanthemum leucanthemum*, MARTIN et SMITH 1955) ; une première vacuole apparaît dans la région chalazienne prole du noyau ; puis la spore s'allonge et s'étire dans la chambre micropylaire, hors des limites normales du nucelle ; plusieurs vacuoles se développent ensuite dans cette partie micropylaire et fusionnent en une seule. Chez l'*Impatiens glanduligera*, ces phénomènes sont plus tardifs (STEFFEN 1951). On trouve dans le jeune sac une seule grande vacuole chalazienne qui ne se forme qu'après l'individualisation des cellules du gamétophyte.

Chez l'*Antirrhinum majus* et le *Hyacinthus orientalis* (ANDERSON 1936), la spore ne renferme qu'une quantité infime de cytoplasme. Celui-ci est limité, en effet, à une fine couche périphérique reliée par quelques trabécules à une masse centrale plus dense dans laquelle est inclus le noyau. C'est à ce niveau que se trouve localisée la presque totalité du chondriome. Les mitochondries prédominent, sous l'aspect de sphérules très chromophiles. Mais on trouve également de courts éléments en forme de baguettes, ainsi que des plastes non développés qui figurent autant de mitochondries sphériques et creuses ou de bâtonnets dont les extrémités ont commencé à se vacuoliser. Chez l'*Antirrhinum*, ces inclusions sont de plus petite taille que chez le *Hyacinthus*.

b) Divisions individualisant les éléments du sac

Sitôt après la première division, dont la direction coïncide avec celle du grand axe de la mégaspore, on observe un déplacement des noyaux-fils dont chacun émigre à l'une des extrémités du jeune sac. Ces modifications s'accompagnent d'un réarrangement de l'appareil vacuolaire. Dans le cas le plus habituel, il se constitue en effet une unique vacuole centrale dont le volume augmente au fur et à mesure de la croissance du sac. Le

cytoplasme et ses inclusions se répartissent à peu près également entre les deux extrémités tandis que subsiste, dans la région médiane, une fine couche pariétale.

La deuxième série de divisions affecte simultanément ces deux noyaux. Elle intervient parfois avant même qu'ils aient gagné les pôles (*Vitis trifolia*, ADATIA *et al.* 1953). Les axes de ces mitoses ont une orientation qui est souvent en rapport avec les modalités de développement de la mégaspore. En effet, lorsque le sac s'accroît relativement peu, ou lorsqu'il prend une forme longue et étroite, la seconde série de divisions est orientée comme la première, si bien que les quatre noyaux-fils sont disposés l'un au-dessous de l'autre. Mais la croissance du sac n'est pas toujours aussi régulière ; en particulier sa portion antérieure s'élargit parfois plus rapidement que les autres régions. Dans ce cas, le noyau apical (situé près du micropyle) dispose d'un espace relativement grand et il est possible que ce soit là une des raisons de la disposition oblique ou transverse de son axe de division. Chez le *Medicago sativa* (COOPER 1935 b), ce sont les deux divisions apicale et proximale qui sont ainsi orientées transversalement par rapport au grand axe du sac embryonnaire. Les noyaux issus de ces divisions n'entreprennent que des déplacements négligeables, et la troisième série de divisions simultanées suit immédiatement.

L'orientation de ces mitoses de troisième ordre est aussi variable, sinon davantage que celle des divisions précédentes. Toutefois, il semble que, le plus souvent, la division du noyau le plus proche du pôle micropylaire soit orientée transversalement par rapport au grand axe du sac, tandis que les fuseaux des deux mitoses centrales sont obliques et que celui développé par le noyau chalazien ne présente pas d'orientation fixe. C'est de ce stade que date la séparation des diverses cellules du gamétophyte et le début de leur différenciation. On peut dès lors vérifier que les noyaux des futures synergides proviennent de la division d'un même élément nucléaire. Il en est de même de celui de l'oosphère et de l'un des noyaux polaires. Au contraire, si l'on considère les noyaux polaires, l'un et l'autre sont issus de la division de deux noyaux-pères différents.

c) Mode d'isolement des cellules du sac

En général, la façon dont les différents éléments du sac embryonnaire se séparent les uns des autres n'a pas été précisée par les auteurs. Il semble pourtant qu'au moins dans un certain nombre de cas cette séparation se réalise successivement pour les divers groupes de cellules. Ainsi, chez l'*Impatiens glanduligera* (STEFFEN 1951), ce sont d'abord les synergides et deux antipodes qui sont isolées du cytoplasme médian tétranucléé. Au sein de ce dernier, les deux noyaux centraux, destinés à devenir les noyaux polaires, se distinguent par leur taille, plus volumineuse que celle de leurs partenaires. Bientôt, ils en sont séparés par la constitution de l'oosphère vers le pôle micropylaire et de la troisième antipode vers le pôle chalazien. Mais l'auteur n'indique pas si l'isolement des cellules est assuré par le dépôt de membranes qui se formeraient normalement après les deuxième

et troisième séries de mitoses (éventualité envisagée dans le schéma), ou bien par étranglement, ou bien encore par la croissance progressive de sortes de vacuoles qui aboutirait à la disjonction des cytoplasmes voisins.

Chez le *Secale cereale* (VAZART 1955), on observe d'abord un syncytium constitué d'une masse cytoplasmique allongée qui renferme les 8 noyaux disposés régulièrement sur deux files. Ici aussi les futurs noyaux polaires

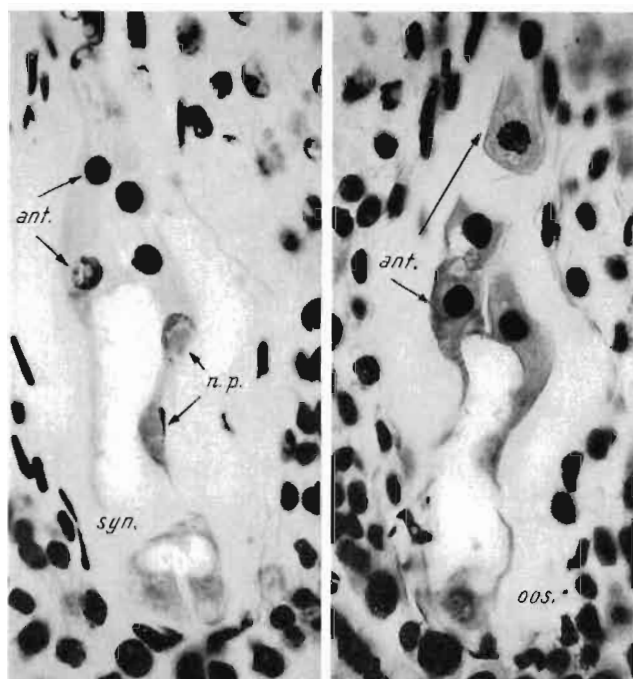


Fig. 33. Coupes longitudinales successives d'un jeune sac embryonnaire du *Secale cereale*. Multiplication des antipodes (*ant.*). Les noyaux polaires (*n. p.*) sont déjà nettement reconnaissables. Dans la région micropylaire basale (ovule anatrophe), l'oosphère (*oos.*) et les 2 synergides (*syn.*). Nawaschin ; Feulgen-vert lumière ; $\times 600$.

se reconnaissent par leur forme ovoïde et leurs dimensions plus élevées que celles des autres noyaux du gamétophyte (Fig. 35). Ce sont les trois antipodes qui s'individualisent les premières au pôle chalazien ; presque aussitôt elles entreprennent des divisions secondaires à peu près simultanées qui conduisent à la formation du massif antipodial caractéristique de certaines Gramineae. Après quoi, trois autres cellules s'isolent à leur tour au pôle opposé : deux d'entre elles, les plus antérieures, sont les synergides qui, après s'être séparées l'une de l'autre, s'allongent et ménagent entre elles, à leur base, une dépression où vient se loger la troisième cellule de forme oblongue qui n'est autre que l'oosphère. Dans le cytoplasme médian les deux noyaux restants se rejoignent et s'accolent dans la région voisine de l'oosphère : ce sont les noyaux polaires. Les trois antipodes du *Coldenia procumbens* (VENKATESWARLU *et al.* 1955) s'isolent aussi plus précocement que les cellules du pôle micropylaire.

Chez le *Chrysanthemum leucanthemum* (MARTIN *et* SMITH 1955), ces

phénomènes se présentent sous un aspect un peu différent. Après la deuxième division, les quatre noyaux-fils sont disposés l'un au-dessous de l'autre en deux dyades séparées l'une de l'autre par une grande vacuole centrale. En outre, une autre vacuole chalazienne isole la dyade proximale de l'extrémité postérieure du sac. Les fuseaux de troisième division sont différemment orientés. La formation de membranes délimite alors 6 cellules : à l'extrémité micropylaire, 2 synergides et une oosphère, à l'opposé, une antipode binucléée et une autre uninucléée ; au centre, enfin, l'initiale de l'albumen renfermant les deux noyaux polaires.

Ainsi, la question du mode de cloisonnement du sac embryonnaire est loin d'être résolue et nécessiterait une étude approfondie spécialement entreprise à ce sujet. Cette étude devrait résoudre un double problème : quelle est la nature des limites cellulaires : membranes, vacuoles ou simples discontinuités cytoplasmiques et quelle est leur origine ?

En ce qui concerne le premier point, il est couramment indiqué que les différentes cellules du sac, bien que restant intimement au contact les unes des autres, sont entourées chacune par une membrane propre (ANDERSON 1936). Mais on n'a que peu de renseignements sur la constitution chimique de cette dernière. Chez le *Linum usitatissimum* (VAZART 1955), elle est colorable par le rouge de ruthénium, ce qui laisse supposer une nature pectique. Chez l'*Impatiens glanduligera*, STEFFEN (1951) conclut à la présence de cellulose dans la paroi des synergides, tandis que celle de l'oosphère réagit négativement envers les techniques destinées à mettre en évidence ce composé (iodure de zinc, cuivre ammoniacal, rouge Congo). Étant donnée la minceur des parois étudiées, il convient néanmoins de ne pas tirer de conclusions trop hâtives des essais négatifs.

Quant à l'origine des limites cellulaires, qui n'a jamais été éclaircie, le bon sens voudrait qu'elle se trouve dans un phragmoplaste établi normalement sur les fuseaux de division. De nombreux auteurs ont figuré ces fuseaux et quelques-uns ont même dessiné une ébauche de membrane à des stades correspondant approximativement à la télophase.

Chez le *Camassia* (SMITH 1942), à la fin de la seconde division, quelques fibres fusoriales persistent entre les noyaux-fils sous l'aspect de fins trabécules. Il en est de même après la deuxième division. Ces ébauches de plaques cellulaires ont déjà été signalées par COOPER (1935 c) chez le *Lilium*. Ceci semble indiquer l'existence au moins temporaire de parois intercellulaires régulièrement constituées. Néanmoins, on doit noter que dans le cas de la première mitose la présence de cette membrane, si tant est qu'elle se forme, doit être extrêmement fugace. En effet, tous les schémas s'accordent à montrer les noyaux-fils immergés dans un cytoplasme indivis, ou, tout au plus, séparés l'un de l'autre par une grande vacuole qui occupe l'ancien emplacement de l'appareil fusorial, lequel semble dégénérer sans avoir auparavant servi de support et d'organisateur à l'établissement d'une paroi de séparation. Si celle-ci se formait et persistait, elle séparerait d'ailleurs les deux noyaux polaires au cours du développement ultérieur du sac, disposition qui n'a jamais été observée. Enfin la simultanéité de la division

des deux noyaux-fils est une preuve qu'il n'existe entre eux aucune barrière physiologique telle que la représenterait une membrane cellulaire normalement différenciée. Ce dernier argument est d'ailleurs tout aussi valable en ce qui concerne une éventuelle cytokinèse intervenant après la seconde série de divisions, puisque au stade suivant les quatre noyaux-fils se divisent à nouveau simultanément. Cet état de choses pourrait être imputé à une différenciation imparfaite des ébauches membranaires plutôt qu'à leur totale absence. Néanmoins, ce ne sont là que des remarques fondées sur des arguments indirects et dont le caractère hypothétique nécessite une vérification fondée sur des observations valables.

Par conséquent, les relations existant entre les différentes cellules qui constituent le sac embryonnaire fonctionnel sont loin d'être connues de façon satisfaisante. Il semble cependant que l'individualité de ces divers éléments ne puisse être mise en doute, bien qu'elle ne soit pas pour autant aussi évidente selon les espèces. Chez le *Triticum*, l'*Hordeum* et le *Primula* (VAZART 1955), les synergides apparaissent nettement isolées. Par contre, chez l'*Impatiens glanduligera* (STEFFEN 1951) on ne peut indiquer si elles adhèrent ou non à la paroi du sac, tandis que chez le *Linum usitatissimum* (VAZART 1955), espèce chez laquelle le sac embryonnaire se présente de façon comparable, ces cellules sont totalement indépendantes l'une de l'autre et ne sont pas non plus solidaires de la paroi de la cavité embryonnaire.

Il en est de même pour d'autres catégories cellulaires. Les antipodes de certaines espèces de la tribu des Hordeae (*Hordeum*, *Secale*, *Triticum*) sont accolées en un massif unique dont la position dans le sac varie selon les espèces, mais qui ne se trouve jamais en continuité cytoplasmique avec les parois des cellules nucellaires constituant la limite du sac embryonnaire. Par ailleurs, la cellule initiale de l'albumen, malgré son polymorphisme, est toujours isolée, tant des autres éléments du gamétophyte que des cellules avoisinantes. Quant à l'ootrophée, sa totale indépendance est le plus souvent parfaitement évidente.

d) Variations dans le schéma de développement du sac embryonnaire

Déjà dans le cas où le sac embryonnaire provient de la segmentation d'une seule mégaspore fonctionnelle (type *Polygonum*), il ne contient pas nécessairement à maturité le même nombre d'éléments cellulaires. Citons, comme exemple, la structure déjà mentionnée du sac du *Chrysanthemum leucanthemum* ne renfermant que deux antipodes, dont l'une binucléée, probablement par suite de la suppression d'une cytokinèse, ou celle du sac des Gramineae, chez lesquelles des mitoses supplémentaires viennent multiplier secondairement le nombre des antipodes. Le nombre des séries de mitoses peut également être modifié : s'il est réduit à 2, le sac mûr n'est plus formé que de 4 cellules (type *Oenothera*). Des modifications analogues peuvent intervenir au cours du développement des sacs d'origine tétrasporique. Elles aboutissent à la formation de gamétophytes constitués d'un nombre varié de cellules renfermant chacune un ou plusieurs noyaux

(3 dans les antipodes de *Fritillaria*, 8 dans l'initiale de l'albumen de *Peperomia*, etc.). Ces variations ont donné lieu à de nombreuses mises au point dont les plus récentes sont celles de MAHESHWARI (1948 et 1950) et de BATTAGLIA (1951). Enfin, le nombre de cellules composant le sac embryonnaire peut être réduit par la disparition précoce de certaines d'entre elles, ce qui se produit assez fréquemment dans le cas des antipodes et des synergides.

Néanmoins, quelle que soit l'importance de ces variations, les constituants du sac subissent, après leur individualisation, des transformations profondes affectant à la fois leur cytoplasme et leur noyau. La nature de ces transformations les spécialisent en vue de leur rôle ultérieur, et paraît uniquement conditionnée par l'emplacement initial des différentes cellules à l'intérieur du sac.

Différenciation des cellules du sac

Dans le cas le plus habituel, on distingue à l'intérieur du sac embryonnaire quatre catégories différentes d'éléments cellulaires. Au pôle chalazien, un nombre variable d'antipodes (primitivement fixé à 3) dont le rôle est encore mal élucidé, ne présentent pas d'arrangement particulier. Suivant l'espace disponible, ces cellules sont placées l'une en-dessous de l'autre ou rassemblées en amas irrégulier. Cette raison est une de celles qui les fait considérer comme étant toutes équivalentes les unes des autres. Lorsqu'elles se multiplient secondairement, les divisions se font d'ailleurs en tous sens, d'une manière apparemment désordonnée, ce qui exclut l'intervention d'un processus différenciel.

Au pôle micropylaire, par contre, les deux synergides et l'oosphère sont disposées suivant un arrangement deux-un, la cellule reproductrice fonctionnelle se trouvant légèrement en retrait par rapport aux synergides. Occasionnellement, ces deux dernières peuvent d'ailleurs évoluer d'une manière comparable à celle de l'oosphère, et il est vraisemblable que ce type d'anomalie est responsable de leur fécondation accidentelle.

Entre ces deux massifs pluricellulaires s'étend la cellule initiale de l'albumen, renfermant les deux noyaux polaires qui fusionnent plus ou moins précocement en un noyau secondaire. Cette cellule correspond en fait au reliquat du matériel gamétophytique, laissé en place après l'isolement des autres cellules. Elle occupe tout l'espace resté disponible et même enveloppe souvent assez profondément chacun des deux groupes chalazien et micropylaire.

Du point de vue fonctionnel, ces divers éléments peuvent d'ailleurs être classés en deux catégories : d'une part les cellules « reproductrices », oosphère et cellule secondaire du sac, dont la présence est constante, et qui jouent un rôle primordial dans la fécondation, d'autre part, les cellules annexes, synergides et antipodes. Ces dernières sont vouées à une disparition plus ou moins précoce ; il arrive qu'elles ne soient même pas constituées (*Epipogium*, AFZELIUS 1954). Habituellement les antipodes dégénèrent durant les premières divisions de l'œuf ou de l'albumen. Parfois, elles ne

sont plus présentes au moment de la fécondation (*Linum*, *Phaseolus*, *Primula*, *Cymbalaria*, *Pisum*, VAZART 1955 ; *Arachis*, SMITH 1956, etc.).

Quoi qu'il en soit, l'arrêt des divisions mitotiques et la constitution des différentes cellules du sac embryonnaire sont suivies d'une phase de différenciation qui peut être subdivisée en plusieurs étapes. La première est une période de croissance, au cours de laquelle l'ensemble du sac augmente considérablement de volume. Cette dilatation est assurée par l'ex-

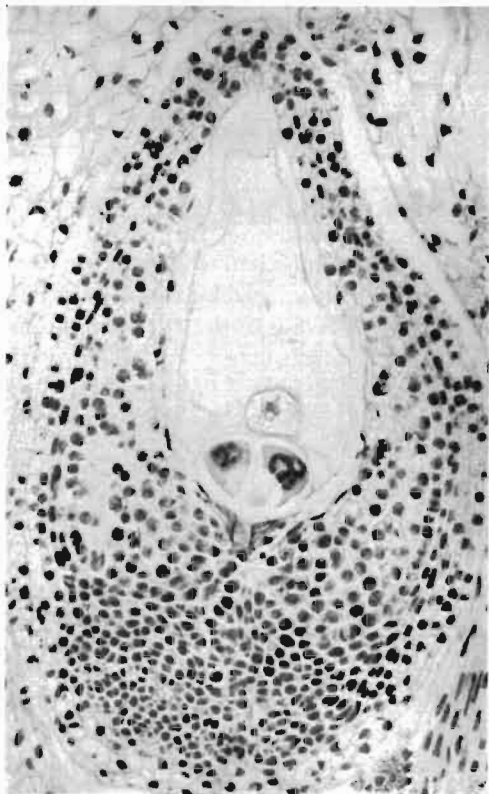


Fig. 34. Sac embryonnaire du *Scilla autumnalis* (coupe longitudinale). La presque totalité du sac est occupée par l'initiale de l'albumen, le noyau secondaire étant situé au voisinage des antipodes. Dans la région basale, 2 antipodes géantes. Les éléments du massif micropylaire ne figurent pas sur cette coupe. Nawaschin : Feulgen ; $\times 150$.

tension plus ou moins prononcée de ses divers éléments constitutifs. Elle n'est accompagnée que d'une synthèse modérée de matériaux cytoplasmiques et correspond surtout à une absorption d'eau et à une vacuolisation très poussée du cytoplasme. La seconde étape, qui d'ailleurs interfère dans le temps avec la première, consiste en une modification structurale des constituants nucléaire et cytoplasmique. En particulier, les noyaux augmentent eux-aussi de volume et sont en outre le siège de profonds remaniements dans la répartition de deux de leurs constituants essentiels : les acides ribo- et désoxyribonucléiques. Ces transformations, qui ne sont interrompues que par l'irruption dans le sac du matériel spermatique, aboutissent à conférer aux éléments reproducteurs la structure morphologique et physiologique qui leur permettra de fonctionner en tant que tels.

a) Phase de croissance

C'est au cours de cette période que les diverses cellules du sac embryonnaire acquièrent leur forme définitive. Sans que cette forme soit rigoureusement la même chez les différentes espèces, on peut cependant affirmer que chaque catégorie de cellules est caractérisée par un faciès donné qui se manifeste de façon à peu près générale.

Ainsi les *synergides* ont tendance à s'allonger et deviennent généralement piriformes, avec une pointe effilée engagée dans le canal micropylaire.

L'*oosphère* croît beaucoup plus régulièrement et devient habituellement ovoïde ou sphérique. Elle peut demeurer en retrait des synergides qu'elle déforme, ménageant à leur base une concavité dans laquelle elle vient se

loger. Dans d'autres cas, soit parce que la cavité embryonnaire s'élargit davantage au niveau du pôle micropylaire, soit en raison d'une dégénérescence précoce des synergides, elle est repoussée vers la partie antérieure du sac, vraisemblablement par suite de la pression qu'exerce, sur les autres constituants, l'initiale de l'albumen.

Le destin des *antipodes* est beaucoup plus variable. Ou bien elles disparaissent plus ou moins précocement, ou bien elles passent elles aussi par une phase de croissance, mais qui, chez elles, s'accompagne souvent d'une activité nucléaire intense. Cette activité se traduit par des caryocinèses suivies ou non de la formation de membranes cellulaires (polyantipodialité et cellules plurinucléées), ou simplement par la multiplication endomitotique des éléments chromosomiques et la formation de noyaux géants.

L'*initiale de l'albumen* est certainement la cellule du sac dont la phase de croissance est la plus accusée. Elle n'acquiert pas pour autant une forme particulière, mais au contraire se modèle sur les parois de la cavité embryonnaire et des cellules voisines, se contentant d'occuper au maximum tout l'espace laissé disponible. Il existe pourtant des exceptions à cette règle. Chez quelques Gramineae de la tribu des Hordées (*Triticum*, *Secale*, *Hordeum*), l'initiale de l'albumen est réduite à un cône cytoplasmique étroit condensé autour des noyaux polaires et dont la base coiffe le massif reproducteur (oosphère et synergides). L'extrémité opposée de la cellule est effilée et rejoint le massif antipodial. Il est possible que cette structure ne traduise que partiellement la constitution de l'initiale, qui serait alors analogue à celle observée de façon très générale chez les autres espèces et dont, dans le cas présent, le cytoplasme pariétal, très délicat, aurait été détruit au cours de la fixation et des autres manipulations précédant la coloration. Cette hypothèse paraît toutefois peu vraisemblable, car chez ces espèces les nombreuses antipodes occupent dans le sac une position centrale ou latérale. Il demeure ainsi un espace vide entre ce massif et la partie chalazienne et, dans cet espace, on n'observe jamais de débris cytoplasmique quelconque indiquant que l'initiale se soit développée jusque dans cette région.

La croissance des cellules du gamétophyte femelle est accompagnée



Fig. 35. Sac embryonnaire du *Zea Mays* (coupe longitudinale). De haut en bas, antipodes binucléées, initiale de l'albumen renfermant les 2 noyaux polaires, oosphère. Nawaschin : Feulgen ; $\times 375$.

d'importants phénomènes de vacuolisation, d'autant plus prononcés que l'accroissement de taille est plus manifeste et la synthèse de matériaux cytoplasmiques moins importante. C'est pourquoi cette vacuolisation intéresse au premier chef l'initiale de l'albumen.

Cette cellule ne contient, en effet, qu'une très petite quantité de cytoplasme, massé au voisinage des noyaux polaires ou du noyau secondaire et constituant ailleurs une mince pellicule pariétale. Habituellement ce cytoplasme enferme une unique et volumineuse vacuole qui s'étend jusqu'à

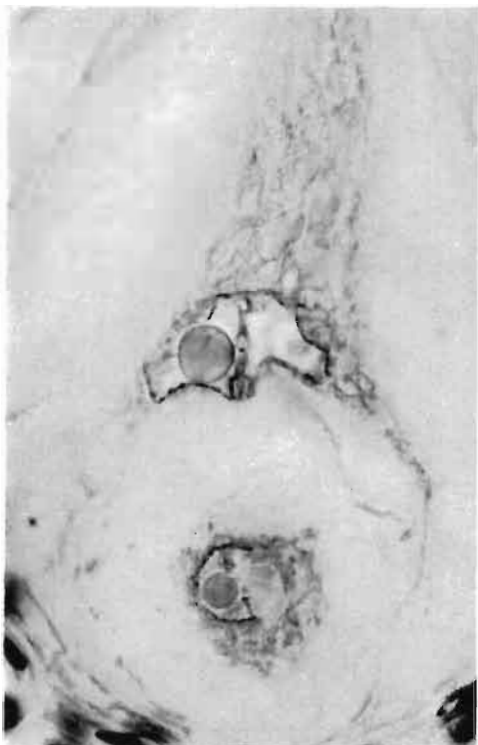


Fig. 36. Oosphère et portion de l'initiale de l'albumen contenant les 2 noyaux polaires (cf. Fig. 35). Noter la présence d'un cytoplasme plus dense, synthétisé au voisinage du noyau reproducteur. L'un des noyaux polaires renferme un volumineux nucléole. Celui de l'autre ne figure pas sur la préparation. Nawaschin ; Feulgen ; $\times 940$. (VAZART 1955.)

la portion chalazienne du sac. Mais parfois la vacuolisation est moins accentuée (*Zea Mays*). Il demeure dans la cellule une sorte de grand pilier de cytoplasme entouré de vacuoles isolées les unes des autres par des trabécules cytoplasmiques moins denses (Fig. 35 et 36). Parfois encore (*Phaseolus vulgaris*), en plus de la grande vacuole chalazienne, on observe de petites vacuoles qui prennent naissance tout autour des noyaux dans le cytoplasme périnucléaire, qui revêt ainsi un aspect alvéolaire ou réticulé.

La première phase de la vacuolisation n'est pas toujours facile à étudier. Chez le *Triticum*, l'*Hordeum*, et le *Secale*, il n'est pas douteux qu'elle intervienne à un stade très jeune, sitôt après l'individualisation des deux groupes tricellulaires chalazien et micropylaire. Chez ces espèces, l'augmentation de taille de la cavité embryonnaire est particulièrement rapide et considérable. Aussi ces conditions peuvent-elles être considérées

comme responsables de la structure si particulière de l'initiale de l'albumen : la grande vacuole centrale s'ouvrirait directement dans le sac, et seule subsisterait la portion cytoplasmique centrale qui contient les noyaux polaires. Des vacuoles se reconstituent d'ailleurs ultérieurement dans ce cytoplasme, mais demeurent alors isolées les unes des autres.

Dans les trois cellules du pôle micropylaire, la vacuolisation n'a pas un caractère aussi général : les synergides de certaines espèces ne renferment pas de vacuome apparent. Chez les autres, ces éléments se constituent toujours à un même pôle de la cellule, habituellement à sa base, plus large

et enfoncée plus profondément dans l'intérieur du sac. A cet emplacement prennent naissance plusieurs vacuoles qui peuvent éventuellement confluer.

Cette disposition est inverse chez l'*oosphère*, où les vacuoles apparaissent alors dans la zone apicale plus proche du micropyle. Cette différence entre oosphère et synergides est surtout évidente lorsque l'une de ces dernières s'est affaissée, laissant sa place à l'oosphère qui se trouve alors au même niveau que la synergide restante. Mais la polarisation de l'oosphère n'est pas toujours aussi marquée. Chez le *Zea* (Fig. 36), le *Sorghum*, le *Cymbalaria*, des vacuoles se forment indifféremment dans tout le cytoplasme et le noyau conserve une position centrale. Suivant les espèces, ces vacuoles confluent en plus ou moins grand nombre, mais il en reste toujours un certain pourcentage qui demeurent isolées les unes des autres par des trabécules cytoplasmiques. Plus tardivement apparaît, dans la zone périnucléaire encore riche en cytoplasme, une seconde série de vacuoles, correspondant à celles qui existent seules dans le genre *Triticum* et chez l'hybride *Triticale*. Cette seconde période de vacuolisation se manifeste d'ailleurs parfois chez les synergides par l'apparition de petites vacuoles situées, cette fois, à leur extrémité micropylaire et c'est vraisemblablement celle que l'on peut aussi retrouver dans l'initiale de l'albumen au voisinage du noyau secondaire (*Phaseolus*, VAZART 1955).

b) Phénomènes de différenciation nucléaire et cytoplasmique

Les noyaux des divers éléments du gamétophyte participent aux transformations dont l'ensemble constitue les phénomènes de maturation du sac embryonnaire. Tous augmentent de volume, à des degrés variés, tout en subissant des modifications profondes qui affectent simultanément les éléments chromosomiques, les nucléoles, le nucléoplasme et les composés chimiques dont ils sont principalement dotés, les acides nucléiques. Elles se traduisent essentiellement par une accumulation progressive d'acide ribonucléique repérable surtout dans les cellules reproductrices, à la fois dans leur cytoplasme et dans le nucléole de leur noyau, tandis que l'acide désoxyribonucléique subit des variations différentes selon la catégorie des cellules envisagées. Il tend à disparaître dans le noyau des éléments reproducteurs et augmente parfois d'une manière notable dans celui des antipodes et des synergides.

On envisagera successivement l'évolution des cellules reproductrices, puis celle des cellules annexes.

Les cellules reproductrices

1 — L'achromaticité des noyaux reproducteurs

Depuis fort longtemps, les auteurs ont insisté sur le comportement aberrant des noyaux sexuels vis-à-vis des divers colorants utilisés en cytologie. AUERBACH (1891, cité par MILOVIDOV 1936) y voyait une différence de chimisme liée au sexe. RACIBORSKY (1893) notait que les noyaux des antipodes sont cyanophiles tandis que ceux du massif reproducteur sont éry-

throphiles. D'une manière générale, dans l'ensemble des espèces étudiées, les uns et les autres ont signalé la raréfaction progressive des éléments chromatiques : d'après WENINGER (1918), le noyau de l'oosphère du *Lilium* est peu colorable au moment de la fécondation. MILLER (1920) ne représente que 7 chromocentres ponctiformes dans l'oosphère du *Zea*, tandis que dans les noyaux polaires de la même espèce n'est figuré que le nucléole. On peut insister sur le fait qu'à cette époque les colorants utilisés, en particulier l'hématoxyline, mettaient en évidence, dans le noyau, des structures diverses quelle que soit leur teneur en DNA.

L'achromaticité des noyaux femelles, par perte de cet élément essentiel du noyau, reconnue cette fois après utilisation de la technique de Feulgen, a fait l'objet de diverses spéculations. Pour MILOVIDOV (1936) l'échec de la réaction nucléale serait dû à la présence de substances intracellulaires susceptibles de troubler le cours normal de la réaction. Pour SCHNARF (1941), la faible colorabilité devrait être imputée à la taille élevée de ces noyaux. C'est aussi la conclusion énoncée par VENDRELY (1956). D'après cet auteur, des études quantitatives effectuées au cours de l'ovogénèse chez la Souris indiquent que la quantité de DNA par oocyte primaire est constante. Au cours de la croissance du noyau, cette quantité est progressivement diluée et la concentration du DNA tombe au-dessous du seuil de sensibilité de la réaction de Feulgen. Ce serait l'unique raison de la diminution, puis de la disparition de la colorabilité. Chez les végétaux, bien que ces phénomènes soient effectivement concomitants d'une augmentation de volume, il ne semble pas qu'ils puissent en être totalement considérés comme la conséquence. Chez l'*Impatiens glanduligera* (STEFFEN 1951), il est probable que la forte hydratation des noyaux reproducteurs ainsi que la contraction des filaments chromatiniques contribuent à restreindre la chromaticité générale. Toutefois, le degré de chromaticité vraie ne dépend que de la charge des chromomères en DNA et ce n'est que plus tardivement que ces corpuscules deviennent eux-mêmes achromatiques, à un moment où le volume nucléaire ne s'accroît plus.

La diminution de la chromaticité des noyaux reproducteurs femelles serait donc corrélative d'une baisse réelle en acide désoxyribonucléique. Des constatations analogues ont été faites chez diverses espèces (chez les Viciées, PAVULANS 1940 ; SVESHNIKOVA 1941 et ROWLANDS 1954 ; chez l'*Aloe davyana*, KRUPKO et DENLEY 1955). Chez le *Pisum* (VASILEVA 1954), la teneur en DNA du noyau de l'oosphère serait peu importante sinon nulle dans un sac jeune et augmenterait au fur et à mesure du vieillissement de la cellule, tandis que les noyaux polaires demeurent achromatiques. Par ailleurs, l'étude d'une douzaine d'espèces, chez lesquelles les différentes phases de la maturation de l'oosphère et de l'initiale de l'albumen ont été suivies systématiquement à l'aide de la réaction nucléale de Feulgen, tend à indiquer que la teneur en DNA des noyaux reproducteurs s'abaisse progressivement jusqu'à la date normale de la fécondation (VAZART 1955), ces modifications étant toujours plus apparentes dans les noyaux polaires ou dans le noyau secondaire que dans celui de la future cellule-œuf. Toutefois, ce phénomène n'est pas absolument universel : il ne se produit pas

dans l'oosphère de l'une des espèces étudiées, le *Cymbalaria muralis*. Il est vraisemblable que d'autres exceptions pourront éventuellement être notées.

Cette transformation de la substance fondamentale dont est composée la chromatine s'accompagne pendant le même temps d'un enrichissement notable en acide ribonucléique. Chez le *Pisum*, VASILEVA note la présence d'une coloration intense de l'appareil reproducteur par la pyrouine, réaction qui n'apparaît pas lorsque les préparations sont traitées par la ribonucléase. Des expériences analogues, effectuées chez le *Linum* (VAZART 1955), indiquent qu'au moment de la fécondation le cytoplasme de l'oosphère et de l'initiale de l'albumen, ainsi que le volumineux nucléole des noyaux correspondants, renferme une grande quantité de RNA. Celle-ci paraît d'ailleurs plus importante dans le nucléole du noyau secondaire que dans celui du noyau de l'oosphère.

2 — Evolution des éléments figurés

Ces modifications quantitatives des acides nucléiques sont accompagnées de remaniements structuraux des éléments chromosomiques et d'une augmentation de volume de l'appareil nucléolaire. Elles sont habituellement comparables dans le noyau de l'oosphère et dans les noyaux polaires ou le noyau secondaire, exception faite du *Cymbalaria*. Toutefois, dans les noyaux de l'initiale de l'albumen, elles se déroulent d'une manière plus rapide et plus précoce et présentent également un caractère plus accentué.

Chez l'*Impatiens* (STEFFEN 1951) au cours d'une première phase, pendant laquelle les noyaux augmentent de volume, les euchromocentres ont l'aspect typique d'un début de prophase. Puis, la contraction s'accroît et les chromosomes montrent une structure chromomérique particulièrement évidente. Cette évolution n'est d'ailleurs pas simultanée pour tous les chromosomes d'un même lot, ce qui en facilite grandement l'étude. Au cours d'une seconde phase, la chromaticité, suivie à l'aide de la réaction nucléale, s'abaisse progressivement, et le noyau reprend une structure euchromocentrique. Cependant, les grains chromatiques se sont amenuisés et apparaissent beaucoup plus petits que dans le noyau initial. Finalement, les chromomères deviennent totalement Feulgen-négatifs, à l'exception de deux d'entre eux situés au voisinage du nucléole.

Chez le *Linum* et le *Phaseolus*, dont les structures nucléaires sont voisines de celles de l'*Impatiens*, on constate des phénomènes analogues. Le noyau de l'oosphère devient presque totalement achromatique et l'on n'y remarque occasionnellement qu'un ou deux euchromocentres ponctiformes. Corrélativement, le nucléoplasme acquiert une densité optique plus grande, la membrane nucléaire, elle-même plus épaisse, étant souvent colorable par les procédés habituels. Chez le *Cymbalaria*, tandis que le noyau de l'oosphère demeure analogue à un noyau somatique, mis à part le nombre des euchromocentres évidemment réduit de moitié, les noyaux polaires subissent une différenciation marquée : bien que leur augmentation de taille soit peu importante, leur chromaticité diminue considérablement,

puisque, au moment de la fécondation, ils ne contiennent plus que 2 ou 3 euchromocentres de taille réduite et de contour assez imprécis (Fig. 37).

Il est intéressant de remarquer que si l'évolution structurale aboutit à une disparition presque totale des éléments chromatiques, à ce point que les noyaux reproducteurs peuvent alors être comparés à une bulle homogène (chez le Pêcher, KLUJCHAREVA 1954), ce n'est là qu'une impression, car certains éléments filamenteux peuvent être mis en évidence en microscopie par contraste de phase par exemple, et ils sont souvent colorables par des agents acides ou basiques (*Linum*, VAZART 1955), ce qui permet de supposer l'existence, à ce stade, d'un lacis sans doute de nature protéique.

Chez les espèces à noyau réticulé, pourvu ou non de chromocentres, la déchromatinisation est moins poussée car il est rare que les noyaux deviennent totalement achromatiques : ce stade n'est atteint que par exception, lorsque la fécondation est anormalement différée (noyaux polaires du *Pisum*, noyau secondaire du *Scilla autumnalis*, VAZART 1956), ce qui tendrait à prouver que l'épuisement en acide désoxyribonucléique est habituellement stoppé par l'intervention de la caryogamie. Après l'affaiblissement de la teneur en DNA, les éléments fibrillaires qui ne sont plus colorables par la réaction de Feulgen peuvent encore être mis en évidence par d'autres procédés (colorants

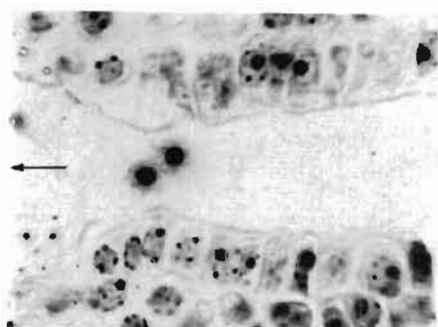


Fig. 37. Portion du sac embryonnaire du *Cymbalaria muralis*, montrant les 2 noyaux polaires. Le sens de la flèche indique la direction du micropyle. Nawaschin ; Feulgen-safranine ; $\times 1000$.

acides, tels que le vert lumière ou l'hématoxyline).

Il est difficile de juger du mode d'évolution des structures chromosomiques chez ces espèces. Chez certaines Graminées, le début de ces transformations est très précoce : il est repérable dès l'isolement des différentes cellules. A ce stade, chez le *Secale* par exemple, les noyaux du sac se distinguent nettement déjà des noyaux nucellaires voisins. Sensiblement plus volumineux, ils sont par contre moins riches en substance chromatique, localisée sur des filaments lâches disposés en réseau à la périphérie des noyaux et portant, en outre, 8 ou 9 chromocentres de taille variable. Ces éléments rappellent les chromosomes en début de prophase des noyaux somatiques ; ils en diffèrent toutefois sensiblement par l'absence de gaine matricielle qui rend beaucoup plus évidente leur hétérogénéité de structure. Celle-ci est surtout visible sur les préparations traitées par l'hématoxyline. Chaque chromosome est alors représenté par un chapelet de nodules de taille variée reliés les uns aux autres par des portions chromatiques. Ce n'est que plus tardivement que les filaments chromosomiques perdent leur chromaticité jusqu'à se trouver réduits, dans l'oosphère, à un fin lacis périphérique souvent plus fourni à l'un des pôles du noyau. Quelques chromocentres demeurent également présents, mais leur taille a elle-même nettement diminué.

A ce stade, qui précède immédiatement la fécondation, la chromatine peut présenter une organisation caractéristique chez certaines espèces : Chez l'*Hordeum* par exemple, un premier réseau entoure le nucléole : il s'en détache des filaments rayonnants qui le relient à un second réticulum plaqué contre la membrane nucléaire. Chez le *Triticum vulgare*, il existe également un lacis périphérique, tandis que quelques filaments, disposés parallèlement les uns aux autres, traversent le noyau de part en part. De façon générale, les noyaux femelles sont peu chromatiques : ils ne ren-

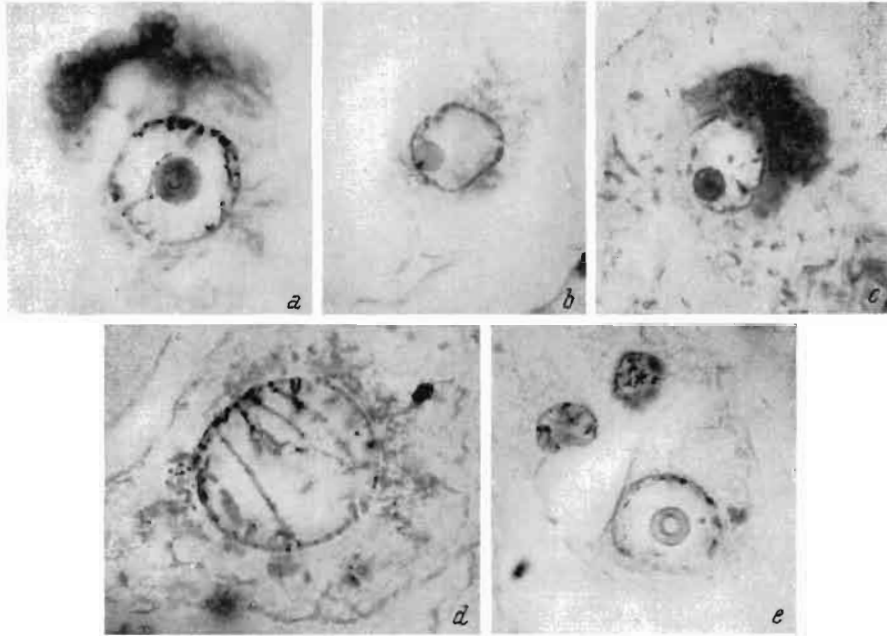


Fig. 38. Noyaux de l'oosphère peu de temps avant la fécondation. *a* : *Triticum durum* ; *b* : *Zea Mays* ; *c* : *Sorghum vulgare* ; *d* : *Triticale* ; *e* : *Pisum sativum*. Noter en *a* et *e* la présence d'une masse de cytoplasme dense et chromophile au voisinage du noyau. En *e* les noyaux des 2 synergides sont également présents. Nawaschin ; Feulgen ; $\times 1000$.

c, *d* et *e* (VAZART 1955).

c, *d* et *e* se rapportent à des figures, déjà publiées, en l'occurrence : VAZART 1955 ; *a* et *b* sont des clichés originaux. Cf. p. 142, fig. 51.

ferment que de rares éléments chromosomiques qui demeurent surtout localisés sous une faible épaisseur au voisinage de la membrane nucléaire.

3 — L'appareil nucléolaire

Les nucléoles de ces noyaux présentent plusieurs points communs. Au moment de l'individualisation des cellules du sac, chaque noyau haploïde n'en renferme habituellement qu'un seul. Celui-ci augmente de volume et, dans la plupart des cas, se creuse de cavités dont l'affinité pour les colorants est toujours moindre que celle de la substance fondamentale. La présence de ces inclusions souvent appelées « vacuoles » n'est liée ni à la taille, ni à l'âge du nucléole. Elles ont toutefois une importance plus grande dans les stades précédant la fécondation. Elles peuvent confluer et, dans les noyaux anormalement âgés, en particulier dans le noyau secondaire, elles

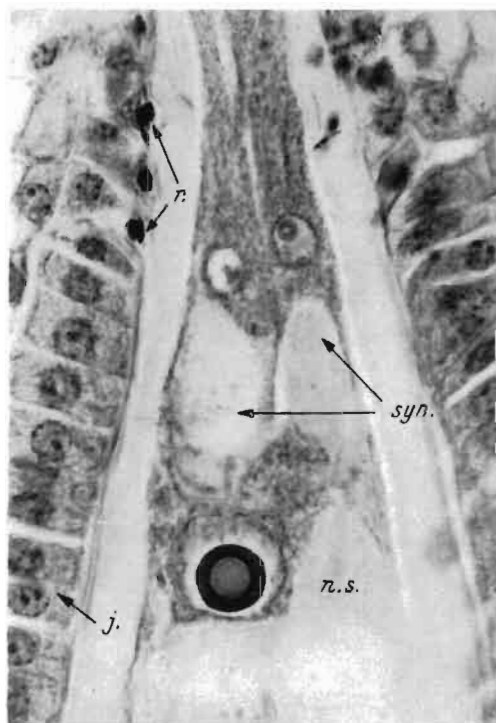


Fig. 39. *Linum usitatissimum*, sac embryonnaire non fécondé, limité par la jaquette nourricière (*j.*) ; *syn.* : synergides (noter la présence de la grande vacuole basale) ; *n. s.* : noyau secondaire ; *n.* : reliquats nucellaires. Nawaschin ; Feulgen : $\times 940$.

emplissent alors la presque totalité de l'espace intranucléolaire. Habituellement elles ne renferment aucune inclusion solide (STEFFEN 1951), bien que chez le *Pisum* (VAZART 1955) on y ait observé parfois des précipités en forme de bâtonnets. Enfin il arrive que le contenu de ces formations soit partiellement déchargé dans l'espace intranucléolaire (*Pisum* et *Linum*, VAZART 1955), ce processus se réalisant à la suite d'une invagination assez prononcée du corps nucléolaire. Chez l'*Impatiens* (STEFFEN 1951), lors de l'ouverture, un peu de substance chromatique peut se trouver absorbé par le nucléole qui se referme.

Dans les noyaux polaires et dans le noyau secondaire, le nucléole devient véritablement géant. STEFFEN (1951) indique chez l'*Impatiens* des diamètres de l'ordre de 24 à 26 μ comme étant

parmi les plus élevés de ceux qui sont connus dans le règne végétal. Chez le *Scilla*, dans un cas pathologique, il est vrai (VAZART 1956), certains nucléoles mesuraient plus de 30 μ de diamètre. Ces éléments sont le siège d'une synthèse importante d'acide ribonucléique, particulièrement active chez les espèces à noyau euchromocentrique. Chez le *Linum*, ce composé a été mis en évidence de façon précise.

Il est intéressant de noter à ce sujet la correspondance qui paraît s'établir entre l'augmentation de substance nucléolaire et, par suite, de composés de

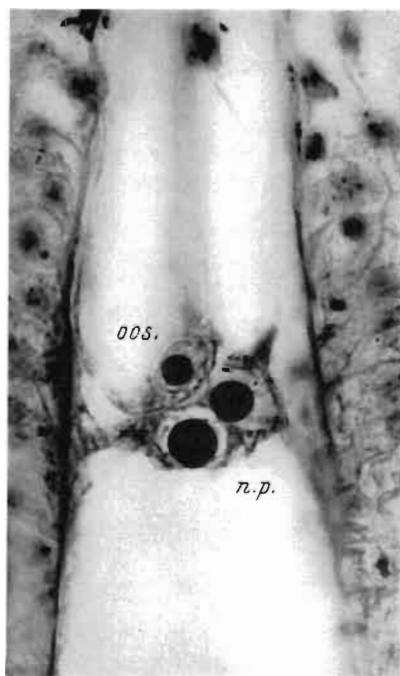


Fig. 40. *Linum usitatissimum*, sac embryonnaire non fécondé dans lequel les noyaux polaires (*n. p.*) ne sont pas fusionnés ; *oos.* : oosphère et son noyau. Matériel prélevé (comme celui de la Fig. 39) le matin du jour de la floraison, qui est aussi celui de la pollinisation et de la fécondation, dans les conditions normales. Nawaschin ; hématoxyline : $\times 940$.

nature ribonucléique, et la disparition progressive de l'hétérochromatine. Ces différences se remarquent surtout chez les espèces dont les noyaux sont de structure euchromocentrique où les phénomènes d'altération nucléaire sont plus accusés (*Impatiens*, *Linum*, *Phaseolus*). Chez le *Cymbalaria*, où le comportement des noyaux reproducteurs est nettement différent, le noyau de l'oosphère ne subissant pas cette phase de maturation, on note uniquement une dilatation de l'appareil nucléolaire dans les noyaux polaires. Comparativement, le nucléole de l'oosphère est plus facilement colorable par les agents acides tandis que ceux des noyaux polaires réagissent plus profondément aux colorants basiques.

Habituellement un seul de ces volumineux organites est présent par noyau et se développe apparemment aux dépens de tous les autres. Des exceptions à cette règle ont été notées toutefois chez le *Lilium Henryi* (COOPER 1935 c et VAZART, n. p.). Lorsque fusionnent les noyaux polaires, les deux nucléoles, dont la taille est sensiblement identique à 1μ près, se fondent pour donner un nucléole unique : ou bien, l'un d'eux subsiste au détriment du second qui se désintègre et disparaît dans le nucléoplasme. Cette particularité d'un unique corps nucléolaire, aussi bien dans le noyau secondaire que dans celui de l'oosphère, a souvent été considérée comme un critère infaillible de l'absence de fécondation. En fait, il est fréquent que d'autres nucléoles se constituent secondairement (*Impatiens*, STEFFEN 1951 : *Triticum* et *Zea*, VAZART 1955). Chez l'*Impatiens*, on peut en compter 7 dans le noyau secondaire. Cette multiplication se produit par néoformation et s'étend sur un laps de temps relativement long, ce qui explique leur taille souvent différente. Chez le Pêcher (KLJCHAREVA 1954), dans le noyau de l'oosphère fécondée, ces éléments peuvent se constituer comme chez l'*Impatiens*, ou par bourgeonnement du nucléole maternel initial.

Il semble néanmoins que ces formations secondaires ne prennent jamais un développement considérable et on n'a jamais noté leur fusion avec le nucléole prédominant. Chez l'*Hordeum*, après la fécondation, plusieurs nucléoles supplémentaires sont présents dans chacun des deux noyaux polaires. Toutefois, dans celui qui est fécondé, deux nucléoles sont plus volumineux dont l'un est évidemment d'origine mâle tandis que l'on ne saurait indiquer l'origine mâle ou femelle des autres, de taille nettement plus *patiens*, ou par bourgeonnement du nucléole maternel initial.

4 — Formation du noyau secondaire

Tout en provenant de la division de deux noyaux différents les noyaux polaires manifestent souvent, dès leur formation, une tendance à s'apparier. Ainsi, chez le *Secale*, dès le début de la croissance du sac, les noyaux polaires se groupent l'un au-dessous de l'autre d'un même côté de la cellule collective qui les renferme et demeurent ainsi rapprochés pendant toute la phase de croissance. Mais plus souvent, chez les autres espèces, ils sont relativement éloignés en raison de la dilatation rapide de la mégaspore et méritent pleinement leur qualification de noyaux polaires, puisqu'ils se trouvent situés l'un et l'autre à chaque pôle de la cavité embryonnaire et

séparés par une grande vacuole. Cependant, ils se rejoignent tôt ou tard et, selon les espèces, c'est l'un ou l'autre des partenaires qui effectue le trajet le plus important. Il en résulte qu'au moment de la fusion la position du couple nucléaire est assez variable.

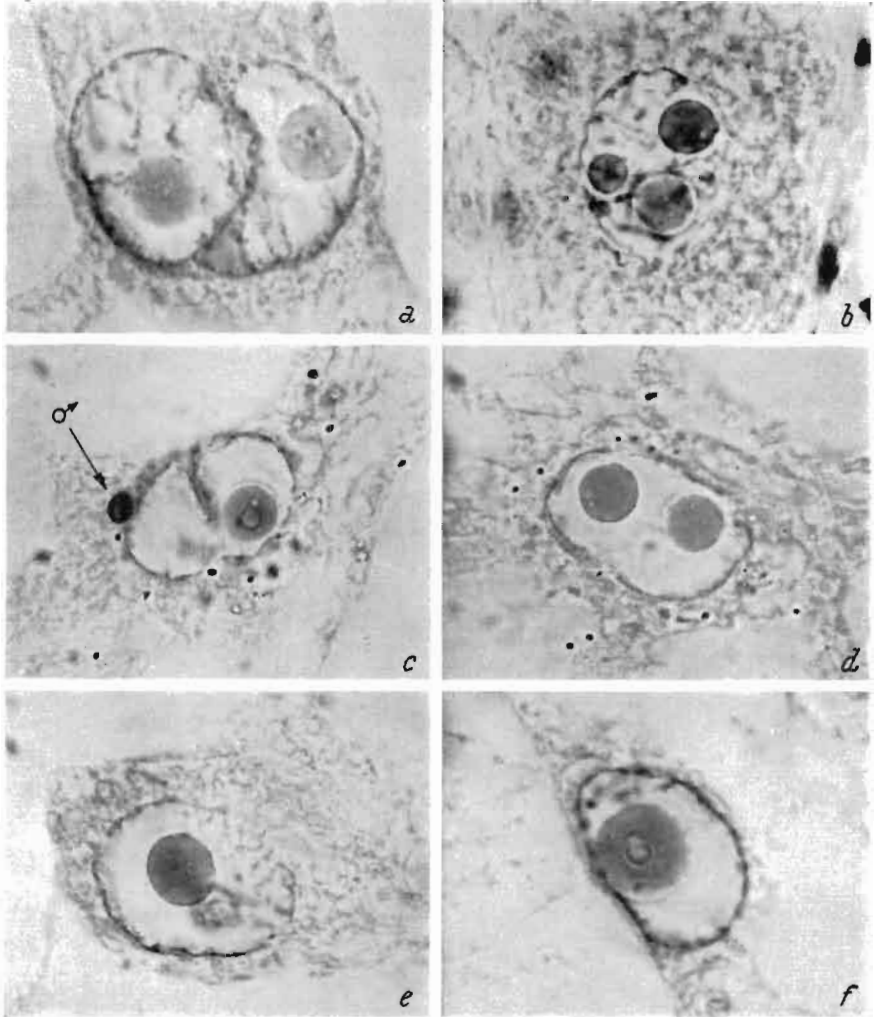


Fig. 41. Noyaux polaires. Nawaschin : Feulgen ; a, c—f : $\times 940$; b : $\times 1200$; e (VAZART 1955). a : *Triticum durum*, noyaux polaires non fécondés, peu de temps avant la fécondation. b : *Sorghum vulgare*, début de prophase de la 1^{re} division du noyau triploïde. Les membranes séparant les deux noyaux polaires, dont l'un est fécondé (présence d'un nucléole moins volumineux d'origine mâle), ont disparu dans la zone de contact des 2 noyaux. c—f : *Zea Mays*, stades successifs montrant le déroulement de la fusion des noyaux polaires. En e la fusion survient au moment de la fécondation de l'un d'eux (σ : noyau mâle) ; f : noyau secondaire.

Dans la plupart des cas, on les observe dans la région proche du micropyle, au voisinage de l'oosphère. Mais il arrive aussi que ce soit le noyau apical qui effectue seul le trajet nécessaire à la réunion et qui émigre dans la région chalazienne du sac (*Tridopus zeilanicus*, NAGARAJA 1955 ; *Argemone mexi-*

cana, SACHAR 1955 : *Scilla autumnalis*, VAZART 1956). Parfois encore, les deux noyaux polaires se déplacent et se rencontrent au centre du sac (*Butomus umbellatus*, ROPER 1952 ; *Citrus*, BACCHI 1943 ; *Pisum sativum*, VAZART 1955 ; *Arachis hypogea*, SMITH 1956). Ou bien, une fois accolés, ils se déplacent de concert au cours de la phase de maturation du sac (*Secale*, HAKANSSON et ELLERSTROM 1950 ; VAZART 1955 ; *Hordeum*, MODILEVSKIJ 1953). Pourtant quelles que soient les modalités de ces déplacements, les noyaux polaires se rejoignent dès le début de la différenciation du gamétophyte. Ils s'accolent de façon définitive et restent mutuellement au contact par l'intermédiaire d'une large face plane. Seule, la date de la fusion varie selon les espèces.

On peut indiquer sommairement que ce dernier phénomène se réalise avant, pendant ou après la fécondation. Mais en réalité, les modalités du processus sont beaucoup plus nuancées et variées. En effet, si la fusion a lieu avant la fécondation par exemple, elle peut survenir très tôt, lorsque le sac est encore immature, ou bien plus tardivement, au cours de la phase de maturation (*Impatiens*, *Phaseolus*). Par ailleurs, le moment où se réalise la fusion n'est pas toujours déterminé de façon aussi stricte : ainsi, chez le *Zea*, habituellement, les noyaux polaires ne fusionnent pas avant la fécondation de l'un d'eux (MILLER 1920 et VAZART 1955). Toutefois, quelques sacs embryonnaires montrent parfois un unique noyau secondaire à ce stade tandis que la réunion des deux noyaux femelles peut aussi se réaliser précisément au moment de la fécondation (Fig. 41). L'origine de ces variations n'a pas été déterminée. Par contre, chez le *Linum*, où l'on observe exceptionnellement pour toute une population de plantes d'une même culture des sacs embryonnaires à deux noyaux polaires, elle peut être sous la dépendance de conditions physiologiques particulières à la saison.

Chez d'autres espèces, la fusion des noyaux polaires est nettement en relation avec les conditions de la pollinisation et celle-ci la détermine tôt ou tard. Chez le *Coffea arabica* (MENDES 1941), la fusion des noyaux polaires précède la fécondation. Toutefois, dans des fleurs non pollinisées, les noyaux polaires sont encore séparés 15 jours après l'ouverture de la fleur et ils ne s'unissent pas si la pollinisation fait défaut. Des fleurs de *Pisum* peuvent être maintenues artificiellement en état de survie pendant une dizaine de jours, en castrant prématurément les jeunes boutons et en les préservant de toute pollinisation étrangère (VASILEVA 1954 et VAZART 1955). Les noyaux polaires deviennent totalement achromatiques mais ne fusionnent pas tandis que la fusion est normalement observée au cours de la prophase de la première division qui suit l'arrivée des gamètes mâles.

Le déterminisme de la fusion des noyaux polaires est peut-être avant tout d'ordre spécifique tandis que des conditions physiologiques montrent quelque influence chez certaines espèces. CHIARUGI (1953) interprète ce mécanisme comme une réaction envers la déshydratation qui survient dans la zone médiane du sac. Néanmoins, la nature des portions de membranes contiguës, qui isolent les noyaux, joue vraisemblablement un rôle. Généralement, chez les espèces dont les noyaux sont de type euchromocentrique et chez lesquelles les phénomènes d'altération nucléaire sont relativement précoces, les membranes sont de nature telle qu'elles facilitent l'union des

masses nucléaires (*Linum*, *Phaseolus*, *Primula*, *Brassica*, *Cerasus*, *Malus*, *Vitis*, *Impatiens*). Chez les autres, elles tendent au contraire à la retarder et cette inhibition n'est cette fois levée que par l'arrivée des gamètes mâles. En effet, la fusion se réalise alors au cours de la prophase de la première division et les trois stocks chromosomiques demeurent auparavant distincts, bien qu'englobés dans une membrane unique. De telles conditions sont observées chez l'*Hordeum*, le *Secale*, les *Triticum*, le *Pisum*, espèces à noyau réticulé. Des exceptions à ce mode de comportement sont cependant ren-

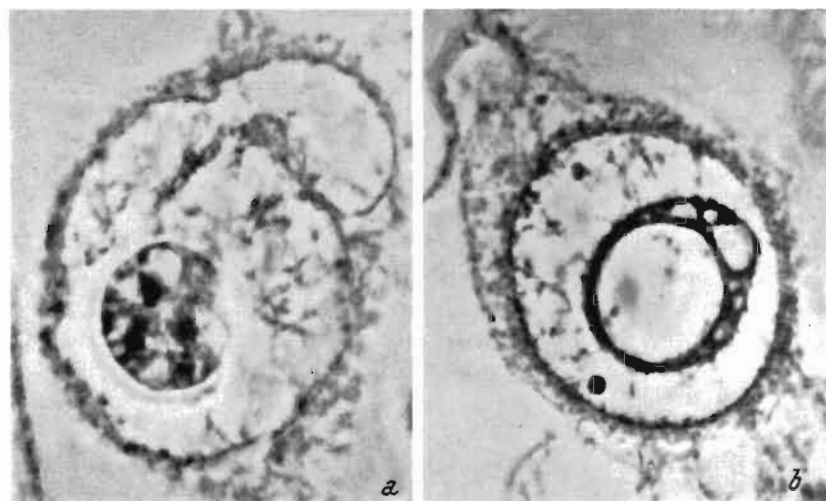


Fig. 42. *Scilla autumnalis*, *a* : fusion des noyaux polaires ; *b* : noyau secondaire au moment de la fécondation (noter la structure particulière du volumineux nucléole). Nawaschin ; Feulgen ; contraste de phase ; $\times 1000$. (VAZART 1956).

contrées dans l'un et l'autre groupe d'espèces, chez le *Sorghum* et le *Cymbalaria*, d'une part, chez le *Crepis*, l'*Asparagus* et le *Scilla* (Fig. 42), d'autre part.

Au moment de la fusion, les noyaux polaires sont sensiblement aplatis l'un contre l'autre. Cette déformation n'est cependant pas révélatrice de l'imminence de ce phénomène. Il semble que la disparition des portions de membrane soit relativement rapide, leur dissolution s'opérant progressivement d'un côté vers l'autre (Fig. 41 *c* et *d*). Cependant d'après ADATIA *et al.* (1953) chez le *Vitis trifolia*, la fusion des noyaux polaires demeurerait incomplète assez longtemps. En outre, la fusion des nucléoles qui, lorsqu'elle se réalise, survient précocement, serait différée. Le noyau de fusion reprend ultérieurement une forme régulière, presque sphérique, bien que des déformations secondaires puissent parfois se réaliser (*Zea*, *Linum*, *Impatiens*). Chez l'*Impatiens* (STEFFEN 1951), le noyau secondaire conserverait assez longtemps la forme initiale des deux noyaux accolés, une constriction annulaire pouvant occasionnellement être présente au moment de la fécondation. Habituellement, pendant la croissance du noyau secondaire sa grande viscosité diminue par absorption d'eau et le noyau retrouve une forme ovoïde.

Du cytoplasme peut se trouver inclus dans le noyau secondaire lors de la fusion (*Erigeron annuus*, TAHARA 1921 : *Impatiens glanduligera*, STEFFEN 1951). Il présente d'abord les mêmes caractéristiques de colorabilité que le cytoplasme périnucléaire, puis devient plus fluide et se rassemble en gouttelettes pour prendre finalement l'aspect d'une grosse vacuole. Ces inclusions cytoplasmiques disparaîtraient par une sorte de plasmolyse et se fondraient dans le nucléoplasme (SOUÈGES 1955).

Les noyaux polaires, comme le noyau secondaire, peuvent manifester une certaine polarité. Chez l'*Impatiens*, STEFFEN (1951) indique que celle-ci n'est présente que dans le noyau secondaire, le fuseau de la première division du noyau initial de l'albumen étant toujours parallèle à l'axe longitudinal du sac. Chez le *Pisum*, les noyaux polaires sont disposés l'un au-dessus de l'autre dans le sens longitudinal du sac, et cet arrangement correspond également à l'axe de la première division. Chez l'*Hordeum*, le *Secale*, les *Triticum*, le *Sorghum*, par contre, l'orientation est transverse, les deux noyaux se trouvant placés à un même niveau du sac. L'axe de la division qui se déroule à la base du massif antipodial (Fig. 43) est alors perpendiculaire au grand axe longitudinal du sac.



Fig. 43. Métaphase de la 1ère division du noyau triploïde, à la base du massif antipodial, chez l'*Hordeum vulgare* Nawaschin ; Feulgen : $\times 600$.

5 — Le cytoplasme des cellules reproductrices

Au cours des transformations qui caractérisent la phase de maturation des cellules reproductrices, le cytoplasme ne paraît jouer qu'un rôle secondaire. En raison de la croissance rapide de ces cellules et de la vacuolisation qui en résulte, il est en effet réduit habituellement à une quantité minime, massé au voisinage des noyaux et sous forme d'une faible pellicule pariétale. En dehors de variations dans sa consistance, en rapport avec le développement et la disposition des vacuoles, il n'éprouverait que des modifications peu profondes. Chez l'*Impatiens*, la viscosité et l'état d'hydratation varient visiblement pendant la croissance du sac (STEFFEN 1951). Peu de temps avant la fécondation, le cytoplasme a tendance à s'ar-

rondir en boules qui se détachent et sont libérées dans la vacuole centrale. Ce phénomène est d'ailleurs retrouvé ultérieurement au cours du développement de l'albumen.

Chez certaines espèces, à des stades proches de la fécondation, une synthèse importante de cytoplasme s'effectue à proximité du corps nucléaire. Elle est habituellement polarisée et se réalise plus abondamment à l'un des pôles du noyau. Elle est nettement apparente dans l'oosphère de certains *Triticum*, (*T. durum*) et du *Sorghum* (Fig. 38 a et c) et dans l'initiale de l'albumen du *Phaseolus* (VAZART 1955). Ce cytoplasme d'aspect dense présente des caractéristiques particulières de colorabilité. Il réagit positivement à la réaction de Schiff et son affinité pour les colorants basiques permet de soupçonner la présence de composés de nature ribonucléique. Ces derniers ont été mis en évidence de façon sûre chez le *Pisum* (VASILEVA 1954) et le *Linum* (VAZART 1955).

Quelle que soit son importance, ce cytoplasme semble très riche en chondriome, présent à la fois sous forme de leucoplastes et de chondriosomes. Chez le *Lilium candidum* (GUILLIERMOND 1924), on peut identifier deux sortes de plastes : les uns, ronds et relativement petits, sont observés dans l'oosphère et autour des noyaux polaires. Ils sont entremêlés à de nombreux chondriosomes formés de grains, de bâtonnets et de chondriocotes. Dans les autres régions de la cellule secondaire, d'autres sont au contraire plus volumineux et entourés d'une couche éosinophile. Cette particularité, ainsi que l'existence de nombreux stades intermédiaires, correspondraient à un début de digestion suivie de dissolution. Chez de nombreuses espèces appartenant à des familles très diverses, les plastes élaborent de l'amidon (DAHLGREN 1927 et 1939). Ces amyloplastes peuvent parfois être observés à un stade très jeune. Ils augmentent ensuite de taille et présentent une forme définie (chez le *Medicago*, COOPER 1935 b). Cet accroissement est maximum juste avant la fécondation (chez le *Mimosa rubicaulis*, MULAY et SHAMI 1955). Ces grains d'amidon peuvent être extrêmement nombreux (chez le *Triticum*, OKSIJUK et KHUDJAK 1955) et leur abondance nuit alors à l'observation (chez le *Verbena*, KANDA 1920). Mais habituellement, l'élaboration de l'amidon et la multiplication rapide des plastes ne surviennent que plus tardivement, lorsque le sac est à maturité (*Elaeis Guineensis*, KAJALE et RANADE 1955 : *Caragana arborescens*, PROKOFIEVA 1954). Chez l'*Opuntia*, TIAGI (1954) y voit un signe de dégénérescence, particularité déjà signalée chez quelques plantes grasses par d'HUBERT (1896). Chez l'*Impatiens* (STEFFEN 1951), la mise en évidence des plastes dans l'oosphère est souvent difficile. De façon normale, ces éléments n'élaborent pas d'amidon, mais ce phénomène se réalise exceptionnellement, lorsque la fécondation est retardée. L'accumulation de ce corps correspondrait à une inactivité relative du sac (SOUÈGES 1935).

Les cellules annexes

Les synergides et les antipodes peuvent être qualifiées de cellules annexes étant donné qu'elles ne prennent apparemment aucune part active aux phénomènes de la fécondation. Elles évoluent quelque peu différemment au cours des stades de maturation des cellules reproductrices. En parti-

culier, les synergides présentent souvent certaines caractéristiques morphologiques qui leur sont propres. Cependant, les unes et les autres sont appelées à dégénérer, habituellement pendant le développement de l'albumen, parfois même avant que la fécondation ne soit accomplie. Dans certains cas, elles persistent plus longtemps et, chez quelques espèces, elles augmentent considérablement de volume, tandis que leur noyau devient hautement polyploïde. Ce gigantisme, d'ailleurs plus fréquemment observé chez les antipodes, leur ont fait attribuer une fonction nourricière complémentaire de celle des assises cellulaires spécialisées, différenciées par le nucelle ou par les téguments de l'ovule (jaquette).

Caractères distinctifs des synergides

Les synergides sont souvent plus nettement reconnaissables que les antipodes, sans doute en raison de leur position privilégiée au voisinage de l'oosphère. On constate que ces cellules qui, lorsqu'elles viennent de se constituer, sont semblables à l'oosphère à ce point que, chez certaines espèces (*Pisum*, *Phaseolus*), leur position plus antérieure permet seule de les distinguer, se comportent ultérieurement d'une tout autre façon.

Le plus souvent, elles conservent cet emplacement. L'affaissement et la destruction précoce de l'une d'elles (*Secale*, *Scilla*, VAZART 1955 et 1956) ou des deux (*Sorghum*, *Zea*, VAZART 1955 ; *Arachis*, SMITH 1956), les font parfois remplacer dans cette région par l'oosphère. Leur forme est assez nettement définie. Ce sont habituellement des cellules plus longues que larges et l'une de leurs extrémités, dirigée vers le micropyle, est plus étroite. Tantôt elles affectent, en coupe, l'aspect de trapèzes dont la grande base est tournée vers l'intérieur du sac, tantôt, au contraire, elles se présentent sous la forme de languettes démesurément allongées. Accolées, elles montrent parfois sur leur portion externe latérale une sorte de retrait qui détermine la formation d'un crochet plus ou moins proéminent (*Scilla bifolia*, VAZART 1956). Ces formations sont assez communes et se développeraient secondairement au cours de la phase de croissance de la synergide (*Suaeda fruticosa*, *Chenopodium murale*, MAHABALE et SOLANKY 1953 et 1954). Chez l'*Elaeis Guineensis* (KAJALE et RANADE 1953), on remarque plusieurs de ces projections, de 2 à 4, parfois plus, sur une même cellule. Ces structures continuent à se développer après la fécondation en direction du micropyle et fonctionnent comme haustoria. De tels suçoirs ont déjà été signalés antérieurement, mais à l'apex de la cellule (*Ursinea* et *Calendula*, DAHLGREN 1924). Ces développements ne sont pas sans rapport avec ceux que l'on observe normalement chez certaines synergides qui croissent dans le canal micropylaire avant la fécondation (*Medicago*, COOPER 1935 b ; *Impatiens*, STEFFEN 1951 ; *Linum* et *Cymbalaria*, VAZART 1955).

Comme l'oosphère, les synergides présentent une polarité qui se manifeste pendant leur phase de croissance, mais qui, chez ces cellules, est inverse de celle de l'oosphère. Dans la portion basale, plus profondément incluse à l'intérieur du sac, se constituent une ou plusieurs vacuoles qui prennent peu à peu de l'importance et souvent confluent. Chez le *Linum*

et le *Pisum*, cette vacuole unique remplit toute la région basale de la synergide, réduisant le cytoplasme à une fine pellicule membranaire (Fig. 39). Une seconde formation de vacuoles, moins fréquemment signalée, se réalise parfois à l'autre extrémité. Celles-ci sont représentées dans les synergides du *Medicago* (COOPER 1935 b) et peuvent être considérées comme régulières chez celles de l'*Impatiens* (STEFFEN 1951).

Le développement du vacuome n'a pas un caractère absolument général. Chez certaines espèces, les synergides demeurent constamment constituées d'un cytoplasme dense, ne présentant pas de telles formations (*Iphigenia indica*, SULBHA 1954, *Hordeum*, *Secale*, *Triticum* et *Scilla*, VAZART 1955 et 1956 : *Panicum miliare*, NARAYANASWAMI 1955). Chez le *Vitis trifolia* (ADATIA *et al.* 1953), le système vacuolaire se développe indifféremment à l'une ou l'autre des extrémités de la cellule, parfois il est absent. Enfin, chez le *Tinospora cordiflora* (JOSHI 1939), la polarité des synergides serait occasionnellement inversée et cette éventualité, d'après l'auteur, serait responsable de la fécondation éventuelle de ces cellules.

Les synergides de certaines espèces développent une autre formation de nature cytoplasmique, et probablement membranaire, qui apparaît dans leur région micropylaire. Il s'agit de fins canalicules convergents qui confèrent un aspect strié à la portion antérieure de la cellule et auxquels, pour cette raison, on a donné le nom d'appareil filamenteux. SCHNARF (1933) cite plus de 80 espèces chez lesquelles cette formation a été signalée. Sa présence a été indiquée depuis chez d'autres espèces dont le *Gossypium* (GORE 1932), le *Medicago sativa* (COOPER 1935 b), l'*Impatiens glanduligera* (STEFFEN 1951), l'*Aloe ciliaris* (GOVINDAPPA 1955) et l'*Elaeis Guineensis* (KAJALE et RANADE 1953). Chez le *Passiflora calcarata* (RAJU 1956), l'appareil filamenteux est particulièrement bien développé ; chez le *Carica papaya* (FOSTER 1943), il ne se développe que tardivement, tandis que sa présence est occasionnelle dans les synergides du *Scilla autumnalis* (VAZART 1956).

STEFFEN considère qu'il n'existe aucune différence entre cette formation et la « coiffe » des synergides, terme par lequel STRASBURGER (1878) désignait une accumulation de cellulose non striée située à l'extrémité antérieure de la synergide. Cette seconde appellation serait d'ailleurs préférable. Chez l'*Impatiens*, la coiffe correspond à un épaissement cellulosique et plissé de la surface externe du cytoplasme. Elle apparaît pendant la croissance de la synergide, à un moment où le noyau n'a pas encore commencé à dégénérer. Lorsqu'on emploie une optique et une coloration appropriées (violet de gentiane), la coiffe est alors plus ou moins homogène : elle est limitée à la partie antérieure de la cellule. On ignore tout de son rôle éventuel, qui n'a pu donner lieu qu'à des suppositions.

Le cytoplasme des synergides est remarquable par ses caractères de colorabilité. Il réagit généralement peu aux agents acides (vert lumière), mais se teinte intensément par certains colorants basiques, tels que la safranine. Il montre également une vive affinité pour l'hématoxyline tout en étant souvent colorable par le réactif de Schiff, coloration qui ne peut être imputée à la présence d'acide désoxyribonucléique puisqu'elle se manifeste tout aussi bien en l'absence d'hydrolyse préalable.

Aux tout premiers stades de son développement, le noyau des synergides est peu différent de celui de l'oosphère ou des noyaux polaires. Consécutivement à une augmentation sensible du volume nucléaire, chez les espèces dont les noyaux sont de type réticulé, le réseau devient peu à peu moins dense. En outre, les filaments chromatiques, primitivement répartis dans la totalité de l'espace intranucléaire, se regroupent dans les régions périphériques, délaissant la partie centrale où l'enchylème, à peine teinté par les colorants usuels, apparaît transparent. On assiste ensuite généralement à une agglutination par places des éléments chromatiques qui forment des amas compacts (*Hordeum*, *Secale*, *Triticum*), tandis que le noyau se déforme et s'aplatit. Chez le *Pisum*, aucune portion du réticulum ne demeure visible, mais celui-ci fait place à de nombreux nodules colorables, de tailles diverses, qui masquent progressivement toute la cavité nucléaire. Chez le *Zea*, par contre, les noyaux deviennent rapidement achromatiques. Il semble en être de même pour les synergides du groupe des *Vicieae* (SVESHNIKOVA 1941).

Chez les espèces dont les noyaux ne contiennent que des euchromocentres, la chromaticité et la taille de ces derniers diminuent tandis qu'ils se localisent au contact de la membrane nucléaire. Chez l'*Impatiens* (STEFFEN 1951), parallèlement à la déformation du noyau qui prend une forme plus ou moins ellipsoïdale, on observe une transformation de la chromatine. Les euchromocentres revêtent un aspect prophasique et les filaments s'allongent, donnant l'impression de former un système réticulé. Des éléments fibrillaires sont souvent présents dans le noyau des synergides du *Linum*, mais ils ne sont pas colorables. Chez cette espèce, ainsi que chez le *Cymbalaria* et le *Primula*, les euchromocentres, en nombre haploïde, s'amenuisent sensiblement, mais ils persistent en dépit de leur exiguïté et de leur faible colorabilité. Par contre, la membrane nucléaire se teinte vivement quels que soient les réactifs employés et, pour le moins, présente toujours un contraste marqué. Chez le *Sorghum*, les éléments chromatiques ne sont plus repérables après la réaction nucléaire et, au moment où se réalise la fécondation, les noyaux sont totalement achromatiques.

L'appareil nucléolaire semble manifestement demeurer indifférent. Le nombre ainsi que le volume des nucléoles ne varient pas. D'une manière générale, lorsque les noyaux commencent à se désorganiser, ces organites peu visibles sont bientôt masqués par les éléments chromatiques, voire par les déformations nucléaires.

Un autre type d'évolution nucléaire, caractéristique des synergides, correspond au déclenchement de phénomènes endomitotiques d'envergure limitée, tels que ceux décrits par HASITSCHKA-JENSCHKE (1957) chez l'*Allium ursinum*. Des processus de polyploïdisation endomitotique interviennent dès la maturation du sac embryonnaire. L'une des synergides atteint un degré d'endopolyploïdie égal à 16 avant la fécondation, l'autre étant tout au plus tétraploïde. A ce stade, les chromosomes sont spiralés comme en milieu de prophase et sont composés de faisceaux de filaments dont le nombre est en rapport avec le degré de polyploïdisation.

Les synergides du *Phaseolus* (VAZART 1955) sont vraisemblablement le

siège de phénomènes analogues. Leur noyau, plus volumineux que celui de l'oosphère, devient en effet très chromophile. Peu de temps après la fécondation, les volumineux euchromocentres s'agglomèrent les uns aux autres en amas compacts et le noyau dégénère. Chez l'*Allium ursinum*, la dégénérescence nucléaire ne survient que plus tardivement chez l'une des deux synergides qui persiste après fécondation. De tels comportements, déjà rapportés chez plusieurs espèces de la famille des Liliaceae (*Allium*, WEBER 1929 ; *Nothoscordum*, STENAR 1932 ; *Muscari*, WUNDERLICH 1937 ; *Albuca*, EUNUS 1950 ; *Iphigenia*, SULBHA 1954), ont été signalés chez les Limnanthaceae (MAHESHWARI et JOHRI 1956) où l'une des synergides demeure présente jusqu'à la formation d'un proembryon globulaire. Ces cellules auraient une fonction haustoriale.

Les antipodes

A l'autre extrémité du sac embryonnaire, les antipodes connaissent un genre d'évolution différent. Elles se rapprochent davantage d'un type structural comparable à celui des cellules du tissu végétatif et, pour cette raison, contrairement à certaines hypothèses énoncées au sujet de leur rôle énigmatique (KUHNHOLTZ-LORDAT 1951), on peut difficilement les considérer comme des gamètes potentiels. La production d'embryons surnuméraires à partir de cellules antipodiales est assez rare (LEBÈGUE 1952) et les quelques exemples qui en ont été rapportés doivent être considérés comme douteux (JOHANSEN 1950). S'il est avéré que ces cellules doivent assumer quelque fonction, il est vraisemblable qu'elle est d'ordre nutritif, explication qui n'est d'ailleurs pas universellement admise (MORRISON 1955).

En outre, elles sont assez souvent caractérisées par une tendance très nette à la multiplication, qui aboutit normalement à la constitution d'un nombre variable de cellules, mais qui peut aussi se limiter à la répétition de caryocinèses au sein d'un cytoplasme indivis, ou même, plus simplement, à la duplication des éléments chromosomiques à l'intérieur du noyau (endomitose). Ces modalités interfèrent souvent de sorte que des anomalies diverses peuvent survenir au cours de cette activité nucléaire intense.

La multiplication du nombre des antipodes est assez commune. Ou bien ce phénomène survient accidentellement, le plus souvent de façon anormale, ou bien il se réalise régulièrement. Désigné alors par le terme de polyantipodialité, il a été repéré chez les familles suivantes : Sparganiaceae, Composeae, Rubiaceae, Renonculaceae, Araceae, Typhaceae, Pandanaceae, Gentianaceae, Joncaginaceae, Asclepiadaceae, citées par SHADOWSKY (1926) qui, personnellement, a particulièrement étudié la famille des Gramineae. Ce même auteur indique comme nombre d'antipodes le plus élevé le chiffre de 150, trouvé par CAMPBELL (1899) chez le *Sparganium*.

De façon générale, les divisions cellulaires se réalisent précocement au début de la phase de croissance du sac embryonnaire. Au moment de la fécondation, ou après la syngamie, le nombre des antipodes ne s'accroît plus. Chez quelques Gramineae (*Hordeum*, *Secale*, *Triticum*, VAZART 1955), ces cellules accolées forment un massif globuleux, situé soit latéralement, soit dans la région chalazienne du sac.

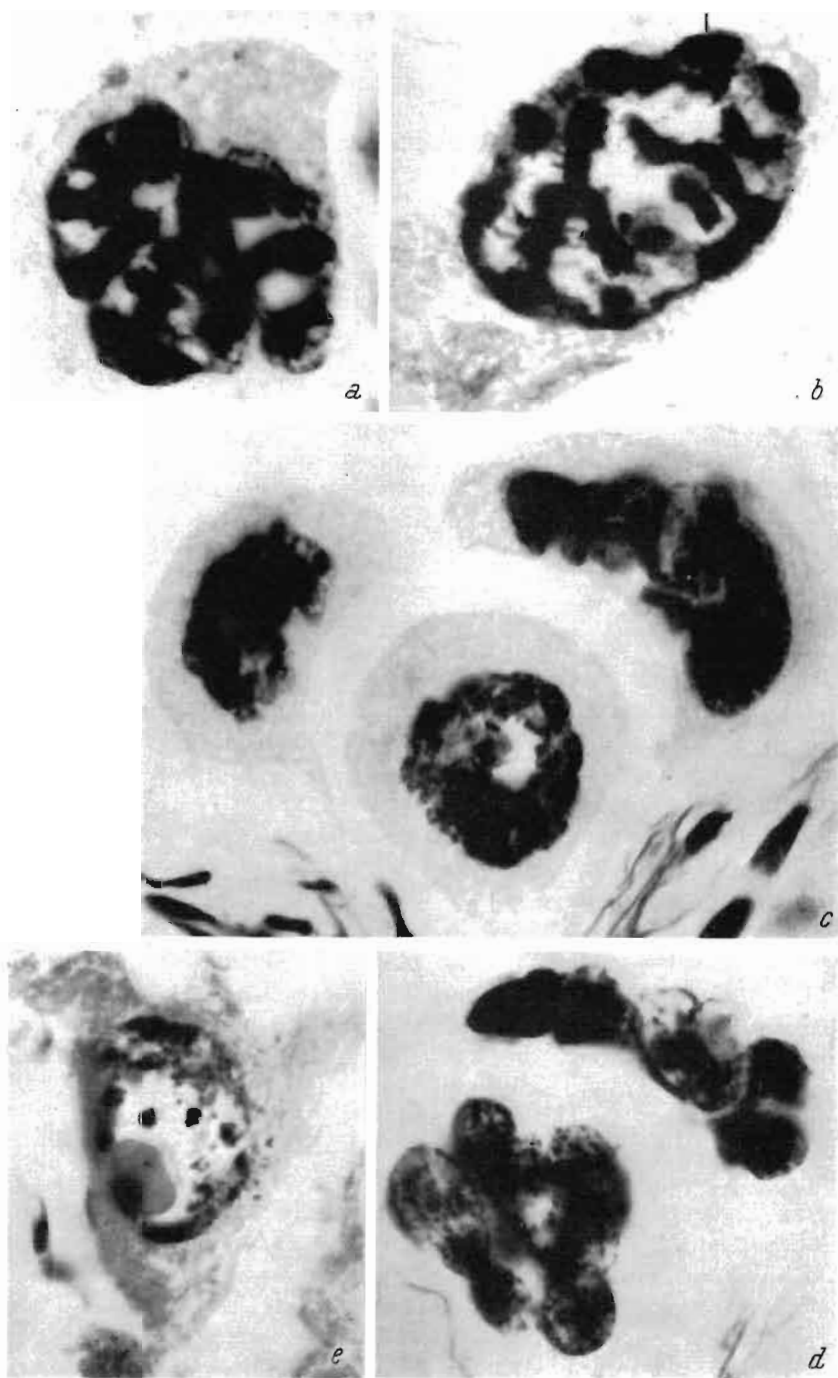


Fig. 44. Antipodes, *a—d* : *Scilla autumnalis*, $\times 1000$; *e* : *Secale cereale*, $\times 940$. Nawaschin : Feulgen ; *b, c, d* (VAZART 1956.)

Chez ces espèces, l'arrêt des divisions cellulaires est suivi d'une phase de croissance qui se poursuit au-delà de la pollinisation et de la fécondation, le noyau des antipodes pouvant encore doubler de volume après l'arrivée des gamètes mâles dans le sac embryonnaire. Cette dilatation nucléaire est accompagnée d'une synthèse importante de substance chromatique et correspond vraisemblablement à une multiplication des éléments chromosomiques. Chez l'*Hordeum*, la chromatine dessine un réseau dense composé de filaments surtout massés à l'un des pôles de la cavité nucléaire. Il s'en détache des écheveaux d'abord fournis, puis qui s'amenuisent progressivement en gagnant le pôle opposé. Chez le *Secale*, on remarque en plus un certain nombre de volumineux chromocentres (Fig. 44 e).

Chez le *Zea* et le *Sorghum*, la multiplication cellulaire s'effectue à un rythme moins rapide. Par ailleurs, au moment de la fécondation, les antipodes sont enfoncées dans la région chalaziennne entre les cellules nucellaires et ne se divisent plus. Des caryocinèses n'en continuent pas moins à se dérouler et certaines cellules sont plurinucléées. Quelques mitoses ne sont qu'ébauchées et paraissent bloquées en fin de prophase, en particulier chez le *Sorghum*. Des mitoses incomplètes sont aussi notées chez le *Tinospora cordiflora* (JOSHI 1939) où l'on rencontre également des antipodes à deux noyaux.

L'activité nucléaire des antipodes conduit donc presque nécessairement à des phénomènes de polyploïdie ou d'endopolyploïdie. Ceux-ci sont évidents chez quelques espèces. Chez le *Caltha palustris* (GRAFL 1941), une première vague de mitoses donne naissance à des antipodes binucléées, bien avant la constitution du noyau secondaire. Les deux noyaux d'une même cellule entrent bientôt simultanément en prophase et, à la suite de la formation de plaques communes en métaphase et en anaphase, deux noyaux diploïdes sont constitués. Ce mécanisme se répète 3 fois, les noyaux étant finalement octoploïdes. Des irrégularités de mitoses et des fusions nucléaires peuvent intervenir ultérieurement. Chez l'*Iphigenia* (SULBHA 1954), les antipodes montrent tardivement une activité comparable et des fusions nucléaires surviennent au stade 3—4 noyaux.

Plus fréquemment, le nombre des cellules antipodiales reste fixe, leur gigantisme étant alors corrélatif de processus endomitotiques. Ces mécanismes de duplications chromosomiques ont été récemment précisés par TSCHERMAK-WOESS chez l'*Aconitum* (1956) et par HASITSCHKA chez le *Papaver rhoeas* (1956) et chez l'*Allium ursinum* (1957). Les noyaux, dont le degré de polyploïdie peut atteindre 64, 128, parfois même une valeur supérieure, montrent alors des structures très curieuses qui rappellent celles des chromosomes géants des Diptères. Elles en diffèrent cependant par le fait que les chromomères homologues ne sont pas exactement appariés, la formation de bandes étant moins nettement observée. En outre, les chromosomes sont moins longs, le rapport de taille vis-à-vis du chromosome métaphasique étant seulement de 10 à 1. Ces formations sont également observées dans les noyaux antipodiaux du *Scilla autumnalis* (VAZART 1956) où l'augmentation de volume peut atteindre 60 : 1 (Fig. 44 a—d), et doivent se réaliser chez ceux de l'*Argemone mexicana* (SACHAR 1955).

On ignore quel peut être le facteur déterminant ces transformations qui ne se réalisent pas nécessairement avec une même intensité dans les trois antipodes d'un même ovule. Quoi qu'il en soit, la dégénérescence est le sort normal de ces noyaux et survient à des stades variés de développement suivant les espèces. Elle se manifeste par des phénomènes d'agglutination des substances chromatiques. Les noyaux se coagulent et deviennent définitivement pycnotiques.

III. Fécondation

Le déroulement de la fécondation comprend la succession de toute une série d'évènements qui se prêtent difficilement à une étude d'ensemble. Par ailleurs, cette étude ne peut être effectuée *in vivo*, si bien que l'interprétation de certains stades demeure nécessairement hypothétique. Pour la clarté de l'exposé, nous distinguerons plusieurs phases dans cet enchaînement de phénomènes qui, en réalité, progressent de façon continue. Une première étape, préparatoire, correspond essentiellement à la libération des gamètes mâles et à leur jonction avec les gamètes femelles, tandis qu'une seconde fait intervenir les phénomènes de plasmogamie et de caryogamie.

Phénomènes préparatoires à la fécondation

Ceux-ci comprennent les divers stades au cours desquels les gamètes mâles, transportés à l'intérieur de la cavité embryonnaire par l'intermédiaire du tube pollinique, s'en libèrent, et rejoignent, l'un la cellule reproductrice femelle proprement dite ou oosphère, l'autre la cellule initiale de l'albumen. Ils peuvent être scindés en trois groupes de faits : a) l'entrée du tube dans le sac embryonnaire, habituellement accompagnée de la destruction d'une synergide ou des deux ; b) la brusque dilatation de l'extrémité antérieure du tube suivie, à brève échéance, de son éclatement et de l'expansion dans le sac d'une partie du cytoplasme pollinique (ces deux premiers stades sont généralement considérés comme simultanés) ; c) l'éjection des cellules spermatiques et leur déplacement éventuel vers les cellules femelles correspondantes.

a) Entrée du tube pollinique dans le sac embryonnaire

Les modalités de cette pénétration sont différentes selon les espèces et paraissent influencées par la structure anatomique de la portion antérieure de l'ovule.

Chez certaines plantes, en effet, le micropyle prend, vers le sac embryonnaire, la forme d'un long canal dans lequel sont profondément engagées les deux synergides. Chez d'autres, la cavité embryonnaire, apparemment close, est plus au moins enfoncée dans le tissu nucellaire. Elle est alors séparée du micropyle par un nombre variable d'assises cellulaires dont la structure offre une assez grande variété. Tantôt, en effet, les cellules sont disposées irrégulièrement et constituent un tissu plus ou moins lâche, par-

fois en voie de désorganisation. Tantôt elles sont rangées en ordre et montrent un faciès uniforme. Ainsi, chez le *Rivina humila* et le *Phytolacca dioica*, KAJALE (1954) attribue un double rôle à ces cellules : par leur disposition radiale, elles facilitent la pénétration du tube et par la richesse de leur contenu cytoplasmique elles lui apportent un complément nutritif. Chez une même espèce, cette portion de tissu nucellaire peut avoir une épaisseur variable ; en particulier, elle diminue d'importance lorsque la pollinisation est différée. A la limite, il ne reste plus qu'une couche de cellules dégénérées, voire même simplement des débris cytoplasmiques et des amas de chromatine informes.

Chez le *Sorghum* (VAZART 1955), la cavité embryonnaire ménage, dans le tissu nucellaire sous-micropylaire, une sorte de dépression en forme d'entonnoir plus ou moins arqué, dont les parois ont un aspect fibrillaire assez voisin de celui que l'on observe parfois à l'apex des synergides. Elle n'en provient pourtant pas, car, à ce stade, celles-ci sont déjà dégénérées et placées en retrait par rapport à l'oosphère très volumineuse, située immédiatement au-dessus de cette ouverture, dont elle ferme l'accès.

Pourtant l'influence de ces diverses dispositions sur le mode de pénétration du tube est relativement réduite. Après s'être engagé dans le micropyle, qui n'est pas nécessairement un chenal rectiligne, il continue éventuellement sa croissance entre les cellules du nucelle, en désorganisant plus ou moins ce tissu. Le chemin poursuivi peut présenter des méandres, provoqués, semble-t-il, par le fait que le tube s'insinue dans les zones de moindre résistance. Lorsqu'il existe un canal micropylaire, c'est lui qui sert de lieu de passage et le tube s'élargit progressivement au fur et à mesure de sa pénétration : il prend alors une forme évasée.

On ignore généralement si, au moment de la pénétration du tube, le sac est encore entouré d'une membrane propre. SCHNARF (1933) indique que le tube traverse une telle membrane, pour autant qu'elle existe. Chez l'*Impatiens*, STEFFEN précise que la paroi de la macropore se dissout à un niveau un peu inférieur à celui de l'appareil filiforme des synergides lorsque se développent ces cellules. Chez le *Cistanche tinctoria* (KADRY 1953), l'extrémité du tube s'enfle au contact du sac et « pénètre à travers sa paroi ».

Le rôle des synergides dans la pénétration du tube pollinique à l'intérieur du sac embryonnaire a donné lieu à un nombre considérable d'observations et de remarques, bien qu'il n'ait jamais pu être totalement élucidé.

Lorsque le tube est guidé dans sa progression par l'existence d'un canal micropylaire, il débouche nécessairement au contact de l'une des synergides. Chez le *Linum* et le *Cymbalaria* (VAZART 1955), celle-ci est traversée de part en part, ou, du moins, entraînée et désorganisée, car il n'en demeure que des traces à peine reconnaissables. (Plus rarement, chez la *Cymbalaria*, l'une des synergides est refonlée contre la paroi tandis que la seconde réagit au passage du tube en devenant plus colorable.) Corrélativement, le tube s'élargit pour atteindre un volume légèrement supérieur à celui de la synergide disparue. Son extrémité renflée poursuit un moment son chemin en repoussant l'oosphère et vient se loger dans la sorte d'entonnoir ménagé

par l'initiale de l'albumen. La dilatation du tube atteint son point maximum, juste avant qu'il n'éclate (Fig. 45). Sa membrane demeure bien visible, sauf au niveau de l'œuf où elle est masquée par des substances colorables qui s'échappent de l'intérieur du tube.

Chez l'*Impatiens glanduligera* (STEFFEN 1951), où le sac embryonnaire possède une organisation analogue, le tube attaque l'une des synergides à proximité de l'appareil filiforme, de front ou sur le côté, et y déverse

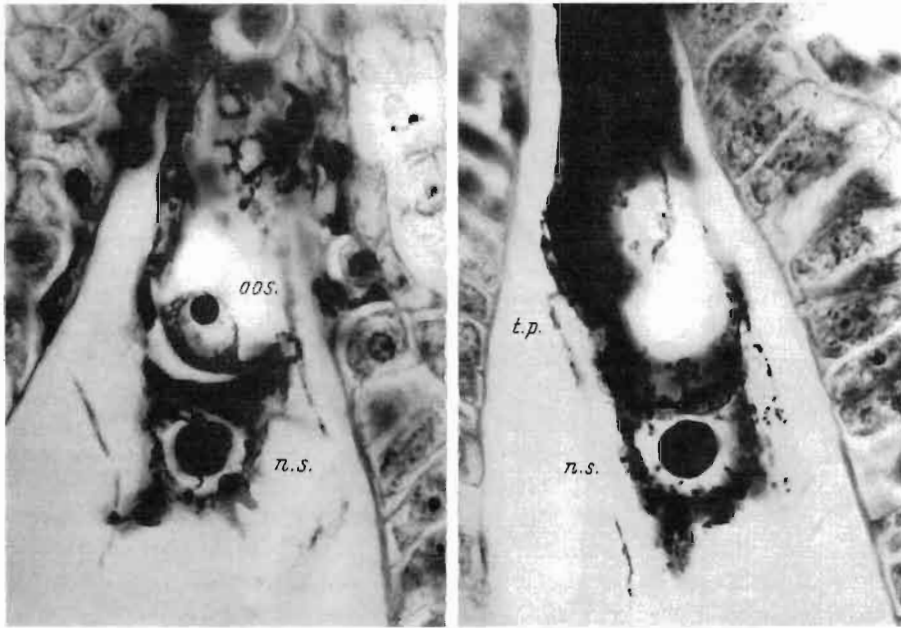


Fig. 45. Coupes successives de la région antérieure d'un sac embryonnaire du *Linum usitatissimum* fécondé, montrant l'expansion pollinique (*t. p.*) au voisinage de l'oosphère (*oos.*) et de l'initiale de l'albumen (*n. s.*). Les noyaux femelles chez lesquels la caryogamie est accomplie sont à un stade préparatoire à leur 1ère division. Nawa-schin ; hématoxyline ; $\times 940$.

son contenu sans pratiquer d'ouverture visible. Dès que le noyau végétatif arrive au contact du cytoplasme de la synergide, il se coagule et se transforme en une masse chromatique dense plus ou moins étirée. Puis, la synergide éclate à son tour dans sa portion vacuolisée et projette les gamètes mâles dans le sac avec plus ou moins de force, comme le prouve leur position immédiatement ultérieure : on les voit alors tantôt dans une masse de cytoplasme située entre l'oosphère et le noyau secondaire, tantôt à la surface de la synergide éclatée.

Des cas analogues ont été rapportés par LAND (1900) chez l'*Erigeron* et le *Silphium*, par GUIGNARD (1902), chez le *Nicotiana Tabacum* et le *Datura laevis*, par HOARE (1932), chez le *Scilla non-scripta*, par KHABIRI (1936), chez le *Convolvulus arvensis*, par WYLIE (1941), chez le *Vallisneria*, par SMITH (1942), chez le *Camassia*, par VENKATESWARLU *et al.* (1955), chez le *Coldenia procumbens* et par AFANAS'ÉVA (1956) chez un *Triticum* amphidiploïde. Encore, chez le *Scilla*, suppose-t-on que le tube déverse son con-

tenu dans la synergide simplement parce que l'auteur indique que celle-ci se trouve désorganisée et contient finalement un cytoplasme très dense dans lequel on peut repérer trois corps plus vivement colorables représentant le noyau végétatif, celui de la synergide et les reliquats cytoplasmiques des deux gamètes (?). Dans les genres *Nicotiana* et *Petunia*, le tube fusionne avec l'une des synergides (GOODSPEED 1947). Chez toutes ces plantes, le contenu du tube pollinique, intensément colorable, masque bientôt celui de la synergide atteinte qui présente, alors, un contraste marqué avec la cellule-sœur. Puis sa membrane se rompt à l'extrémité basale, généralement vers l'oosphère, et laisse échapper les gamètes.

Il est aussi mentionné plus laconiquement que le tube pénètre dans le sac en détruisant l'une des synergides, et décharge ensuite son contenu à proximité des cellules reproductrices femelles (*Crepis capillaris*, GERASSIMOVA 1933 ; *Grevillea*, KAUSIK 1939 ; *Coffea arabica*, MENDES 1941 ; *Citrus*, BACCHI 1943 ; *Butomus*, ROPER 1952 ; *Cistanche tinctoria*, KADRY 1953 ; *Utricularia reticulata*, KAUSIK *et al.* 1955 ; *Cucumis melo*, SINGH 1955 ; *Passiflora calcarata*, RAJU 1956).

Mais le tube peut aussi s'insinuer le long de la paroi du sac embryonnaire, ou bien entre l'oosphère et les synergides. Dans ce cas, le comportement de ces dernières est fort variable, et il semble souvent exclu qu'elles interviennent dans l'ouverture du tube pollinique. Toutefois, elles ne demeurent pas insensibles à son passage. Souvent elles présentent, à ce moment, des modifications de colorabilité et une accélération de la dégénérescence nucléaire. (*Coffea*, FABER 1912 ; *Daucus carota*, BORTHWICK 1931 ; *Antirrhinum*, ANDERSON 1936 ; *Fagopyrum*, MAHONY 1935 ; *Medicago*, *Euchlaena* et *Zea*, *Phryma*, *Petunia* et *Oxybaphus*, COOPER 1935b, 1937, 1941, 1946, 1949 ; *Wahlenbergia*, SUBRAMANYAN 1948 ; *Stephegyne parviflora*, RAMAN 1954 ; *Allium ursinum*, HASITSCHKA 1957). Chez le *Rivina* et le *Phytolacca* (KAJALE 1954), le tube passe entre l'œuf et les synergides, mais l'une de ces cellules est cependant détruite. Parfois, les deux cellules sont semblablement lésées. STEFFEN remarque, à ce sujet, que leur position relative est arbitraire et qu'elles sont physiologiquement semblables.

Par ailleurs, il n'est pas rare d'observer, chez une même espèce, des types de comportement différents, tel que cela a été signalé chez le *Coffea* (FABER 1912 et MENDES 1941). Chez le *Pisum* (VAZART 1955) on observe une destruction facultative de l'une des synergides. Le plus souvent, le tube longe la paroi du sac embryonnaire avant de s'arrêter au niveau de l'oosphère ; mais il peut aussi frayer son chemin entre les deux synergides. De toute façon, celles-ci réagissent à son passage. Leur cytoplasme devient sensiblement plus chromophile, tandis que leurs noyaux se trouvent déplacés dans la région postérieure, jusqu'au contact de la membrane, comme s'ils y avaient été entraînés ; ils se contractent, tandis que les éléments chromatiques s'agglomèrent en une masse compacte.

Cette variabilité des modalités de l'entrée du tube pollinique dans le sac embryonnaire rend évidemment difficile l'interprétation du rôle éventuel des synergides. Celui-ci est en général envisagé sous deux aspects. Certains auteurs supposent qu'elles serviraient en somme de pôles

d'attraction. Ainsi, chez le *Grevillea Banksii*, KAUSIK (1939) pense que l'appareil filiforme est sécréteur de substances appropriées. Mais la plupart n'entrevoient leur intervention que sous une forme mécanique.

Chez les Gramineae, par exemple, elles contribuent à freiner la pénétration du tube (VAZART 1955), car, chez l'*Hordeum*, le *Triticum* et le *Secale*, qui, au moment de la fécondation, possèdent encore de volumineuses synergides, le tube pénètre moins profondément que chez le *Zea* ou le *Sorghum*, dont les synergides sont déjà désorganisées. Chez ces deux espèces, tout comme chez le *Triticum* lorsque la pollinisation est différée et la dégénérescence des synergides anormalement avancée, le tube ne s'arrête qu'au niveau de l'initiale de l'albumen, son éclatement est simplement l'aboutissement de la dilatation qu'il subit depuis son entrée dans le sac. SCHNARF (1933) notait, d'ailleurs, que, d'une manière générale, lorsque les synergides sont absentes, le tube pollinique pénètre plus profondément dans la cavité embryonnaire avant de s'ouvrir. Il en concluait que ces cellules jouaient un rôle dans l'ouverture du tube.

Tel est aussi l'avis de STEFFEN qui constate, chez l'*Impatiens*, les faits suivants : dans des sacs embryonnaires mal développés, où les synergides ont une constitution anormale, le tube pollinique peut décharger son contenu dans l'une d'entre elles, sans qu'elle éclate. Par ailleurs, plusieurs tubes peuvent pénétrer dans certains sacs. Les deux premiers détruisent chacun une synergide, et les suivants pénètrent bien dans le sac, mais ne s'ouvrent pas. Par contre, chez le *Cistanche tinctoria*, KADRY (1953) indique que le premier tube, après avoir désorganisé une synergide, effectue une pénétration relativement profonde, tandis que le second ne dépasse pas le niveau de la deuxième synergide.

Mais, chez nombre d'espèces, les synergides ne représentent pas un obstacle sérieux pour le boyau pollinique. Parfois, elles ont même totalement disparu au moment de son arrivée (*Nelumbo*, OHGA 1937 ; *Sorghum* et *Zea*, VAZART 1955 ; *Panicum miliare*, NARAYANASWAMI 1955 ; *Arachis hypogaea*, SMITH 1936, etc.). Ces cas, qui sont loin d'être exceptionnels, semblent exclure l'hypothèse d'un rôle indispensable des synergides, soit pour attirer le tube pollinique vers le micropyle, soit pour assurer son ouverture. Il est pourtant hors de doute qu'il existe une interaction entre ces cellules et le tube pollinique. En effet, lorsque synergides et oosphère sont disposées sur un même plan (*Phaseolus*, *Pisum*, VAZART 1955), cette dernière est toujours respectée, tandis que l'une ou l'autre des synergides est désorganisée. Chez le *Primula*, le tube fait même un crochet dont l'angle est souvent assez aigu pour éviter l'oosphère et se diriger de préférence vers l'une des synergides.

Quoi qu'il en soit, il semble actuellement impossible de préciser davantage le rôle de ces éléments et le plus sage est de considérer, avec GERASSIMOVA (1933), qu'il existe nécessairement une relation entre la destruction de l'une des synergides et l'entrée du tube dans le sac, mais qu'on ne saurait rien ajouter de plus sur les causes de ce phénomène, ou même sur le fait que le tube déverse son contenu à l'intérieur de la synergide ou tout au moins à son contact.

b) Eclatement du tube pollinique

Au moment de la fécondation, le sac embryonnaire constitue une poche close, soit enfermée dans les tissus nucellaires, soit mise en relation avec le micropyle par un canal provisoirement obturé par les synergides ou par l'oo-sphère. L'initiale de l'albumen en constitue la portion spatialement la plus importante : en raison de sa turgescence élevée, elle exerce une forte pression sur le pôle micropylaire. Cette pression est équilibrée par celle de l'oo-sphère, elle-même gonflée d'eau. Tel est le milieu particulier auquel se heurte le tube pollinique lors de son arrivée dans le sac.

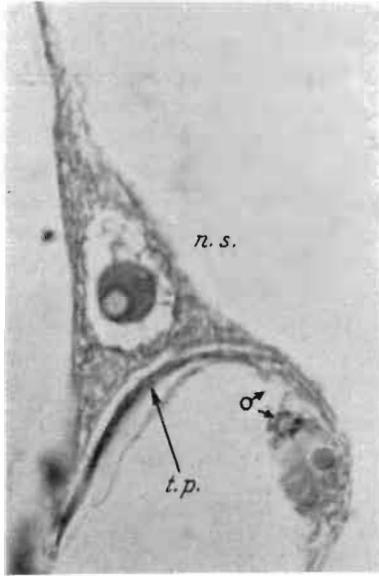


Fig. 46. *Primula officinalis*, noyau mâle (♂) au contact du noyau femelle ; noyau secondaire (n.s.) fécondé ; traînée cytoplasmique d'origine pollinique (t.p.), resserrée entre les deux cellules femelles. Nawaschin ; Feulgen ; $\times 1200$. (VAZART 1955.)

Dès la prise de contact, le tube réagit par une brusque dilatation, qui correspond probablement à une absorption d'eau. Ce phénomène doit être concomitant de la destruction éventuelle d'une synergide. L'éclatement du tube provoque évidemment une trouée qui est immédiatement colmatée par la formation d'un bouchon de callose, ou, plus simplement, par le cytoplasme de la synergide endommagée. Le sac embryonnaire se retrouve alors dans des conditions analogues à celles qui précédaient l'arrivée de ce premier tube, conditions qui peuvent être à nouveau perturbées par l'irruption d'un second. Par la suite, le développement de l'albumen modifie profondément les conditions osmotiques

à l'intérieur du sac, et empêche l'évolution normale des tubes qui parviendraient éventuellement à y pénétrer.

La durée de ces phénomènes est fort variable selon les espèces et selon les conditions atmosphériques. Plus ils sont rapides, moindre est le nombre de tubes susceptibles de parvenir dans le sac embryonnaire et d'y éclater. C'est ainsi que chez l'*Hordeum sativum* (MODILEVSKIY 1953) il s'écoulerait moins de 30 min. entre la pollinisation et l'entrée du tube dans le sac, lorsque la température extérieure varie de 24 à 27° ; on n'observe alors toujours qu'un seul tube par sac. Chez le Blé, les mesures effectuées conduisent à des résultats comparables (OKSIJUK 1955).

Le gonflement du cytoplasme pollinique provoque bientôt la rupture de la membrane, suivie de l'épanchement d'une portion du contenu du tube. Cet écoulement du cytoplasme participe, dans une certaine mesure, à acheminer les gamètes mâles vers les cellules femelles. Suivant la disposition de ces dernières, le matériel pollinique dispose d'une place variable. Il est généralement resserré entre la paroi du sac, l'oo-sphère et l'initiale de

l'albumen. Lorsque le tube se vide dans une synergide, c'est elle qui occupe cet emplacement. Puis le matériel extrus peut être répandu çà et là au voisinage du tube (*Zea*, *Sorghum*, VAZART 1955), où s'écouler entre l'oosphère et la cellule secondaire (*Impatiens*, STEFFEN 1951 et *Linum*, VAZART 1955). Chez le *Primula*, la forme arquée de la traînée cytoplasmique semble indiquer qu'elle a été projetée entre les deux cellules femelles ; l'un des gamètes mâles est ainsi amené à proximité de l'oosphère (Fig. 46). Chez d'autres espèces (*Peperomia*, FAGERLIND 1939 ; *Portulaca* et *Phryma*, COOPER 1940 et 1941), l'extrémité apicale du tube se divise en deux courtes branches dirigées, l'une vers l'oosphère, l'autre vers l'initiale de l'albumen. COOPER (1946) décrit aussi deux projections coniques à l'apex du tube pollinique du *Petunia* ; l'une s'étend à l'intérieur de la cellule secondaire du sac, tandis que l'autre est appuyée étroitement contre l'oosphère. Ayant observé dans le tube chaque noyau mâle à proximité de chacune de ces expansions, l'auteur en conclut qu'elles servent à mener les gamètes mâles vers les cellules femelles. Chez le *Coffea* (MENDES 1941), les gamètes mâles seraient déversés dans le sac par deux ouvertures pratiquées dans la portion subterminale du tube pollinique, tandis que, chez le *Launaea pinnatifida* (VENKATESWARLU *et al.* 1955), ils passeraient par un unique pore apical.

c) Déplacement des gamètes dans le sac embryonnaire, structure des cellules spermatiques

Le premier tube pollinique pénètre de façon suffisamment profonde dans le sac pour amener les gamètes au voisinage immédiat des cellules femelles qu'ils doivent féconder (*Vallisneria*, WYLIE 1941 ; *Camassia*, SMITH 1942). Les gamètes supplémentaires, apportés éventuellement par un tube secondaire, se libèrent plus difficilement du cytoplasme pollinique ou demeurent à proximité de l'ouverture de la synergide. Ainsi peut-on supposer que le déplacement des cellules spermatiques dans le sac est minime. Chez certaines espèces, le *Primula* par exemple (VAZART 1955), la distance que peut parcourir l'un des gamètes mâles pour s'unir à l'oosphère est parfois plus importante. Même dans ce cas, cependant, on ne l'observe pas à un endroit quelconque de son cheminement. D'une manière générale, dans tous les cas observés, les stades les plus fréquemment notés sont ceux qui précèdent ou qui suivent la libération des éléments mâles, lorsqu'ils sont encore prisonniers du cytoplasme pollinique, ou ceux qui montrent leurs noyaux déjà au contact des noyaux femelles. Ceci tend à indiquer que ces processus se réalisent rapidement. Les renseignements que nous possédons sur leur déroulement n'en demeurent pas moins insuffisants.

S'il est vrai que, chez nombre d'espèces, on a reconnu l'existence d'un cytoplasme mâle autour des noyaux spermatiques, habituellement il n'est nullement fait état de son destin au moment de la fécondation (*Medicago*, COOPER 1935 b). Chez d'autres, ces cellules se débarrasseraient de leur gaine cytoplasmique au moment de leur entrée dans le sac (*Viola*, MAGDE 1929), ou sitôt après leur sortie des synergides, avant de s'unir aux cellules

femelles (*Myosurus minimus*, TCHERNOJAROV 1915 ; *Oenothera*, ISHIKAWA 1918). On ne peut juger, cependant, de l'absence de ce cytoplasme sur le simple fait qu'il n'a pas été observé, et on admettra difficilement que la caractéristique de cellules soit le privilège d'un nombre réduit d'espèces (cf. gamétophyte mâle). Il est plus vraisemblable que certaines observations contribuent à étayer l'hypothèse de l'absence d'un cytoplasme générateur, sans toutefois en vérifier en quoi que ce soit le bien-fondé.

En effet, tant que les gamètes mâles demeurent dans le cytoplasme du tube, celui-ci présente une vive affinité pour les divers colorants usuels, en particulier pour l'hématoxyline, souvent utilisée. Même après la réaction nucléale, il réagit positivement. Cette particularité gêne considérablement l'observation. Il s'y ajoute les difficultés provenant de la présence des débris cytoplasmiques et nucléaires des synergides désorganisées et la quasi impossibilité d'obtenir des coupes convenablement orientées.

Ensuite, la rapidité de la jonction des éléments spermatiques avec les cellules femelles est un facteur défavorable pour leur observation. Il est même probable que nombre d'observations se rapportant à ces stades soient erronées, les gamètes se trouvant déjà dans le cytoplasme des cellules femelles. A ce moment, le cytoplasme mâle n'est certainement plus repérable, du moins quand on met en œuvre les techniques usuelles d'étude du noyau. Sa présence ne pourrait alors être décelée qu'à la faveur d'inclusions cytoplasmiques mitochondriales et les procédés nécessaires à la mise en évidence de ces structures n'ont été que rarement employés dans l'étude de ces stades particuliers. Les observations d'ANDERSON (1939), chez l'*Antirrhinum*, sont à ce sujet assez probantes. L'auteur n'affirme pas, cependant, que les mitochondries et les plastes qui entourent le noyau mâle, pendant son court trajet dans le cytoplasme de l'oosphère vers le noyau reproducteur femelle, soient celles qui étaient primitivement incluses dans la gaine cytoplasmique du gamète ; cette hypothèse est, néanmoins, vraisemblable, puisque les noyaux mâles sont pareillement entourés par ces structures lorsqu'ils se trouvent encore dans le tube pollinique.

Enfin, les diverses espèces ne se prêtent pas toutes aussi facilement à ce genre d'étude, en raison de la forme ou de la dimension réduite de nombre de cellules mâles ; l'obligation d'utiliser des coupes d'une faible épaisseur peut également avoir son importance, par suite du peu de densité du cytoplasme générateur. Ces constatations sont d'ailleurs valables pour ce même cytoplasme à l'intérieur du grain de pollen.

Malgré ces difficultés, de véritables cellules mâles ont été décrites dans le sac embryonnaire de quelques espèces. Il est exact, toutefois, que ces descriptions ont pu souvent être précisées grâce à la présence de gamètes surnuméraires, libérés par des tubes supplémentaires (*Juglans regia* et *J. nigra*, NAWASCHIN et FINN 1913 ; *Myosurus minimus*, TCHERNOJAROV 1915). Parfois, ce sont même les seules descriptions qui en ont été données (*Camassia*, SMITH 1942). De tels gamètes sont plus arrondis que dans le tube pollinique et ils sont entourés d'une très fine membrane cellulaire. Déjà, en 1923, WYLIE, chez le *Vallisneria*, puis FINN (1925), chez l'*Asclepias cornuti*,

observaient des cellules mâles provenant d'un premier tube pollinique au contact de l'ootrophée. Des constatations analogues sont faites par COOPER (1936), chez le *Lilium*. Plus récemment, WYLIE (1941), reprenant l'étude de ces phénomènes chez le *Vallisneria*, précise la structure de ces gamètes, identiques entre eux et quelle que soit leur origine (premier tube déchargé ou tubes polliniques supplémentaires). Ce sont des cellules ovoïdes, beaucoup moins allongées que lorsqu'elles se trouvent à l'intérieur des tubes polliniques. Elles sont entourées par une fine membrane périphérique limitant une masse de cytoplasme définie et vacuolisée. Le noyau, lui-même ovoïde, est situé au centre de la cellule. Chez l'*Impatiens* (STEFFEN 1951), les cellules spermatiques sont facilement reconnues sitôt qu'elles se sont dégagées de l'épanchement sombre formé par le tube pollinique. Le cytoplasme générateur, bien qu'ayant perdu sa colorabilité, est visible autour du noyau, en forme de U, sous l'aspect d'une fine auréole claire et hyaline. A ce stade, les deux cellules sont individualisées, leur séparation se réalisant peu de temps avant leur libération. Cette différenciation est moins précise autour des noyaux mâles du *Crepis*, chez lequel GERASSIMOVA (1933) indique que le cytoplasme générateur ne peut être distingué. Cependant, les gamètes sont toujours entourés par une auréole réfringente plus claire, décrite sous l'appellation de « nimbus ». STEFFEN interprète ces structures comme n'étant autres que le cytoplasme générateur, de même que celles décrites précédemment par TSCHERNOJAROV (1915), chez le *Myosurus minimus*, qu'il a pu vérifier lui-même. Chez l'*Impatiens*, un cytoplasme hyalin a été occasionnellement remarqué autour de noyaux mâles surnuméraires, dans l'ootrophée. Dans quelques cas aberrants, des structures analogues ont été observées dans les synergides de l'*Hordeum* (VAZART 1955). Dans chaque synergide, un noyau identique à celui d'un gamète mâle se trouvait un peu à l'écart du noyau femelle. Non intimement confondu au cytoplasme femelle, teinté de rose après la réaction nucléaire, il présentait, tout autour, une fine zone réfringente moins dense et incolore.

Il est possible que ces images correspondent aussi à la présence d'un cytoplasme d'origine mâle, ce dernier, par suite des conditions anormales, ne se trouvant pas incorporé au cytoplasme femelle, ce qui semble être le cas dans les conditions habituelles. Il est intéressant de signaler, toutefois, que, généralement, au cours des stades précédant la réunion des noyaux reproducteurs, les noyaux mâles, qui sont alors observés dans le cytoplasme femelle, sans doute en raison de leur forte densité, présentent souvent, sur leur limite extérieure, une réfringence notable, tandis que de telles diffractions n'affectent aucunement les noyaux femelles. Ces descriptions pourront donc toujours conserver un caractère équivoque alors que seules, dans ce cas, des fixations et colorations appropriées, mettant en évidence les éléments figurés du cytoplasme, fourniraient une information plus sûre.

Quoiqu'il en soit, une étude approfondie, ainsi que le hasard des coupes sur un matériel plus particulièrement favorable, révèlent indubitablement l'existence de cellules mâles à l'intérieur du sac embryonnaire, pendant un court moment, il est vrai. Des travaux ultérieurs permettront sans doute d'établir la généralité de ces phénomènes.

La syngamie

a) Fusion des cytoplasmes

On est beaucoup moins renseigné, semble-t-il, sur la plasmogamie, c'est-à-dire sur la fusion des cytoplasmes mâle et femelle. Par suite vraisemblablement de la rapidité du processus, la pénétration du gamète mâle à l'intérieur de l'oosphère n'a vraisemblablement jamais été observée. Seuls, deux auteurs font mention de ce stade. HEIMANS (1928) rapporte que le gamète mâle pénètre dans l'œuf par une petite ouverture de la membrane et ANDERSON (1936) indique qu'une telle ouverture reste visible un certain temps chez l'*Antirrhinum*, cas qui doivent être considérés comme douteux (STEFFEN 1951).

Chez le *Vallisneria*, WYLIE (1941), bien que n'ayant pas noté ces premiers stades, considère que la syngamie se réalise soudainement à la suite de la disparition des membranes limitantes, laissant nus les protoplasmes contigus. C'est aussi l'interprétation que donne STEFFEN pour l'*Impatiens*, estimant que cette hypothèse est la plus probable. Par suite, d'après cet auteur, il serait toujours impossible d'identifier le cytoplasme mâle à l'intérieur de l'œuf. Pourtant, chez le *Vallisneria*, sur certaines coupes favorablement orientées, WYLIE mentionne l'existence d'une zone de cytoplasme plus dense du côté où est entré le gamète. Cette région se colore plus intensément et est également plus finement vacuolisée, ce qui laisserait supposer, à ce niveau, la présence du cytoplasme mâle. Par ailleurs, cet auteur n'a jamais trouvé de cellules mâles provenant d'un premier tube pollinique en désintégration dans le sac, ni de résidus de cytoplasme mâle à la surface du zygote.

Chez le *Gagea*, NEMEC (1912) indique que le noyau mâle traîne avec lui, dans l'oosphère, des « bandes » de cytoplasme : il s'agirait de cytoplasme mâle qui se mélange à celui de la cellule femelle, comparable à celui qui entoure le gamète lorsqu'il est observé dans la synergide. Rappelons, enfin, l'observation d'ANDERSON (1936) chez l'*Antirrhinum* où cet auteur présume l'intervention d'une connexion entre le tube et l'œuf qui favoriserait, éventuellement, le passage d'éléments mitochondriaux et de plastes ; de tels éléments ont en outre été observés autour du noyau mâle, dans le cytoplasme femelle, ainsi que de fines mitochondries granuleuses autour du noyau de fusion.

Chez l'*Oenothera tetraptera*, KIYOHARA (1935) déclare avoir suivi l'amidon en forme de fuseau et, par conséquent, les plastes qui lui sont associés, jusque dans l'œuf et même jusque dans l'embryon au stade quadricellulaire, observation qui n'a pas été confirmée par KAIENBURG (1950). Il n'est pas douteux que, chez certaines espèces végétales, l'hérédité cytoplasmique d'origine mâle est évidente (*Pelargonium*, IMAI 1937). Les caractères cytoplasmiques peuvent être véhiculés par des mitochondries (CASPARI 1948). MICHAELIS (1949) a conclu, sur des bases théoriques, à la participation du cytoplasme mâle à la fécondation, en dépit d'une certaine variabilité dans la transmission des caractères. Par contre, les plastes d'origine mâle sont destinés à dégénérer, constatation déjà signalée par KURSSANOV (1911) pour

la zygospore du *Zygnema*. En tout état de cause, du point de vue cyto-logique, les travaux ne sont pas encore suffisamment avancés pour confirmer ces assertions mais n'autorisent nullement à les réfuter.

Le sort de la seconde cellule mâle, dont l'apport contribue au développement de l'albumen, n'est pas moins complexe. TSCHERNOJAROV et ISHIKAWA, qui ont figuré des cellules mâles dans les sacs embryonnaires du *Myosurus* et de l'*Oenothera*, indiquent que leur cytoplasme fusionne avec celui du sac, tandis que, chez le *Vallisneria*, le noyau spermatique serait libéré de sa gaine cytoplasmique avant de fusionner avec les noyaux polaires. Chez le *Camassia*, le second gamète est apparemment libéré de son cytoplasme lorsqu'il entre dans la cellule secondaire du sac. Ce comportement particulier n'a pas été confirmé par STEFFEN (1951), bien que cet auteur ne trouve pas étonnant que la couche cytoplasmique disparaisse autour du noyau durant le trajet beaucoup plus long qu'il effectue pour rejoindre le noyau secondaire. Chez l'*Antirrhinum*, ANDERSON pense qu'étant donné que le cytoplasme, dans lequel sont plongés les noyaux polaires, n'est pas entouré par une membrane propre, des inclusions déversées par le tube γ sont certainement incluses. Ces divers comportements n'ont pas été observés chez les espèces que nous avons personnellement étudiées, mais il est fort probable que les stades montrant les gamètes mâles étaient plus avancés que ceux décrits par les auteurs précédents et que ces gamètes, observés sous l'aspect de noyaux nus, se trouvaient déjà à l'intérieur des cellules femelles. Quoi qu'il en soit, ces seuls résultats sont encore insuffisants pour permettre de donner de ces processus une description valable.

b) Les noyaux spermatiques dans le cytoplasme des cellules femelles

Les noyaux spermatiques ont bénéficié au cours des travaux antérieurs de plus amples descriptions que leurs cellules. D'une manière générale, ils sont beaucoup plus petits que les noyaux auxquels ils vont s'unir, bien qu'ils augmentent de volume pendant le court moment où ils demeurent dans le cytoplasme des cellules femelles. Cette dilatation, phénomène souvent observé, peut être considérable. Chez l'*Impatiens*, les noyaux mâles passent de 2 à 5 μ de diamètre.

A ce stade, ils affectent, suivant les espèces, des formes variées. Dans de nombreux cas, ils sont ovoïdes ou presque sphériques. Mais chez certaines plantes (*Lilium*, GUIGNARD 1899 ; *Fritillaria*, SAX 1916 ; *Scilla*, HOARE 1933 ; *Cucumis melo*, MANN et ROBINSON 1950), ils sont plus allongés, parfois vermiculaires et, dans ce dernier cas, souvent enroulés sur eux-mêmes (*Silphium* et *Erigeron*, LAND 1900 ; *Crepis*, GERASSIMOVA 1933). D'après SCHNARF (1933), cette variabilité aurait peu de signification systématique, l'observation de ces noyaux ayant été faite souvent de façon hâtive et les réactifs utilisés au cours des techniques préparatoires pouvant en altérer la structure. A ce propos, STEFFEN (1951) insiste sur le caractère particulièrement délicat de la fixation, étant donné qu'il est toujours difficile de préciser si l'aspect des noyaux spermatiques, lors de leur entrée dans le sac embryonnaire,

est un « artefact » ou le résultat du passage de ces noyaux dans un milieu nouveau. Par ailleurs, il est exact que, par suite de l'étroitesse du boyau pollinique, les noyaux gamétiques adoptent un faciès généralement étiré, tandis que, sitôt libérés dans la cavité embryonnaire et disposant alors d'un espace plus normal, ils reprennent une forme régulière.

Par contre, il semble bien que, chez certaines espèces, le *Crepis* notamment, les noyaux spermatiques, déjà constitués dans le grain de pollen, passent par des transformations successives au terme desquelles ils se présentent sous un aspect démesurément allongé et filiforme. Ces modifications observées dans le pollen du *Crepis zacintha* (VAZART, n. p.) ont été décrites, mais dans leur progression inverse chez le *Crepis capillaris*. GERASSIMOVA (1933) indique, à ce sujet, que les noyaux subissent nécessairement ces altérations de forme et de structure. D'abord vermiculaires, et plus ou moins recourbés en divers endroits, ils offrent une structure homogène mais non très dense. Ils perdent peu à peu cette forme originelle, prenant alors un aspect non défini, tandis que leur densité devient maxima. Puis cette structure homogène se transforme, à la suite d'une « vacuolisation » du corps chromatique. Ce dernier apparaît fractionné et les portions isolées s'amenuisent et se lient les unes aux autres, donnant naissance à un filament épais qui devient peu à peu moins colorable. Au terme de cette évolution, lorsqu'il se trouve au contact du noyau femelle, le noyau mâle ressemble à un filament continu et contracté, ramassé en forme de balle.

Cette structure, réellement curieuse, est certainement le propre de cette espèce, sinon de la famille. Il est possible, malgré la justesse des observations et l'étude détaillée des transformations successives, que les éléments qui sont représentés ne correspondent en fait qu'aux portions chromatiques du noyau ou chromosomes, la membrane nucléaire n'étant pas décelable. Nous avons repris nous-même l'étude de ces phénomènes chez diverses espèces de *Crepis*. Le noyau mâle, qui est au contact du noyau de l'oosphère, et qui n'est repérable que grâce à l'existence de cette chaîne chromatique, semble bien revêtir une forme sensiblement ovoïde. Toutefois, en raison de la petitesse des structures observées, il est difficile de les préciser davantage. Chez le *Silphium* et l'*Erigeron* (LAND 1900), de même que chez le *Fritillaria* (NAWASCHIN 1898), les noyaux mâles perdent leur aspect vermiculaire et deviennent sphériques au moment de la fécondation.

Néanmoins, il est probable que les noyaux spermatiques sont appelés à se modifier pendant le laps de temps qui sépare leur libération du tube pollinique de leur jonction avec les noyaux femelles. Ces transformations sont habituelles chez le *Crepis* et peuvent facilement être suivies par suite du grand nombre d'ovules d'une même inflorescence fécondés à des moments proches. Elles sont certainement plus difficiles à préciser chez d'autres espèces présentant des structures florales différentes mais ont été décrites chez quelques-unes d'entre elles (*Fritillaria pudica*, SAX 1916 ; *Viola*, MADGE 1929, etc.).

Chez l'*Impatiens*, elles se réaliseraient en deux étapes (STEFFEN 1951). Au cours d'une première phase, les noyaux spermatiques, qui se présentent sous l'aspect d'une masse homogène de chromatine, se distendent et il devient

possible alors de retrouver quelques constituants nucléaires : membrane, caryolymphe et filaments chromatiques. Cette première étape correspondrait à une normalisation structurale des noyaux, altérés au moment de leur entrée dans le sac. Elle peut d'ailleurs être suivie, éventuellement, sur une seconde paire de noyaux spermatiques provenant d'un tube supplémentaire. La seconde phase est beaucoup plus importante. Elle n'affecte que les séries de gamètes qui se trouvent au contact des noyaux femelles et correspond à une augmentation du volume nucléaire accompagnée d'un abaissement de chromaticité et de l'apparition d'une structure chromomérique. Les filaments chromatiques s'allongent, puis la diminution progressive du DNA s'étend à la plus grande partie du chromosome. Il ne reste finalement que 9 chromomères Feulgen-positifs.

Il est vraisemblable que, suivant les espèces, cette seconde série de modifications que STEFFEN qualifie, à juste titre, de « phase de maturation » se réalise plus ou moins précocement. La fusion, ou du moins l'immersion du noyau mâle à l'intérieur du noyau femelle, n'y met certainement pas un terme. L'union des deux masses nucléaires peut être dans ce cas un phénomène purement physique, déclenché, après un certain temps de mise au contact, par la disparition des couches limitantes. L'évolution structurale du corps spermatique en serait indépendante, mais, par contre, est influencée par l'état dans lequel se trouve le partenaire femelle. L'examen de la double fécondation chez le *Cymbalaria*, sur lequel nous reviendrons, nous paraît confirmer cette hypothèse.

Ainsi, les modifications profondes qui peuvent affecter la structure interne du noyau mâle, avant sa pénétration dans le corps nucléaire femelle, ne sont qu'un stade préparatoire de la fusion, cette opération se poursuivant au cours des stades ultérieurs. Il est intéressant de noter, à ce sujet, l'observation d'HAKANSON *et al.* (1950) sur le comportement anormal de l'un des gamètes mâles vis-à-vis du noyau polaire auquel il est accolé dans les croisements de *Secale* diploïde et tétraploïde. Lorsque la fusion est retardée, le noyau, dont l'augmentation de volume est considérable, subit des modifications internes qui le font de plus en plus ressembler à un noyau polaire.

Quelques indications supplémentaires doivent être données sur les divergences de vues émises sur la structure du noyau spermatique lorsqu'il est au contact du noyau femelle. Elles concernent essentiellement l'état dans lequel se trouve la substance chromatique, l'absence ou la présence de membrane nucléaire, enfin la présence éventuelle d'un nucléole.

Dans les descriptions antérieures, en particulier chez le *Lilium*, espèce qui a été particulièrement étudiée, le noyau mâle se trouverait soit à l'état de repos (GUIGNARD 1890), soit à l'état de début de prophase (WENINGER 1918). On doit souligner qu'à cette époque l'aspect filamenteux de la substance chromatique pouvait paraître liée à un début de division, ce qui n'est pas nécessairement le cas. Ensuite, les diverses techniques utilisées sont critiquables en ce sens qu'elles ne mettent pas toujours en évidence les mêmes structures. En particulier, dans les noyaux reproducteurs, des transformations chimiques de l'un des acides nucléiques peuvent donner lieu à des

interprétations différentes selon que l'on utilise la réaction nucléale de Feulgen ou des agents mettant en évidence d'autres éléments de nature protéique.

La structure nucléaire elle-même revêt une certaine importance. Les noyaux reproducteurs femelles se comportent différemment selon qu'ils sont de nature réticulée ou euchromocentrique et ces différences se retrouvent dans les noyaux mâles. On doit d'ailleurs ajouter que, pour un type de structure donné, les comportements observés peuvent eux-mêmes être différents. L'exception que constitue à cet égard le *Cymbalaria* nous autorise à insister sur ce point particulier.

Il n'en demeure pas moins vrai que les éléments figurés montrent des modifications apparentes, qui, en raison de leur similitude, laissent supposer un début de prophase. Celles-ci, analysées en détail par STEFFEN chez l'*Impatiens*, sont une des étapes préparatoires à la fusion nucléaire. Chez cette espèce, de même que chez d'autres dont les noyaux présentent une structure de type euchromocentrique, elles ne sont pas immédiatement suivies de la formation de chromosomes, et les stades prophasiques peuvent n'être qu'apparents. Au contraire, chez les espèces dont les noyaux sont de type réticulé, il semble que l'expansion du corps nucléaire mâle soit préparatoire à la division ; mais, si ce déroulement est très significatif dans le noyau de l'œuf, parce que très nuancé et relativement lent, il l'est moins dans l'un des noyaux polaires ou le noyau secondaire où les éléments chromatiques mâles passent par un stade intermédiaire avant de se diviser. On peut donc admettre que, selon la nature de la chromatine ainsi que la rapidité des processus de fusion, l'aspect du noyau mâle peut apparaître sous un état prophasique qui correspond plus vraisemblablement à l'une des étapes de la fusion nucléaire qu'à un stade de division.

L'existence d'une membrane nucléaire, ainsi que celle de l'appareil nucléolaire, sont moins faciles à interpréter. Chez le *Crepis*, il ne semble pas que l'on puisse davantage approfondir cette question avec les moyens dont nous disposons. Chez d'autres espèces, en particulier celles chez lesquelles l'élément gamétique mâle est constitué par un peloton chromatique compact de filaments, l'observation de la membrane nucléaire peut parfois être mise en doute (certaines Gramineae, VAZART 1955). MORRISON (1955), chez le *Triticum vulgare*, indique que les gamètes au contact du noyau de l'œuf paraissent être des corps nus, la membrane nucléaire ne se détachant pas du corps du noyau. Pour des raisons analogues, l'existence d'un nucléole peut passer inaperçue, ces organites étant masqués par le peloton chromatique (Scilla, HOARE 1933). Lorsque le noyau mâle augmente suffisamment de volume, le peloton se distend et le nucléole devient visible (*Oxybaphus nyctagineus*, COOPER 1949). Des nucléoles ont été remarqués dans les noyaux mâles du *Medicago* (COOPER 1935 b), du *Butomus umbellatus* (ROPER 1952). Chez les noyaux mâles de type euchromocentrique, les nucléoles sont difficilement repérables soit en raison de la petitesse des noyaux, soit en raison de la densité du nucléoplasme. Un nucléole peut occasionnellement être observé dans les noyaux mâles du *Primula*. Il est par contre nettement visible chez ceux du *Cymbalaria* (VAZART 1955). Chez l'*Impatiens*:

(STEFFEN 1951), les noyaux mâles au contact des noyaux femelles ne contiennent pas de nucléole.

Il y aurait encore beaucoup à dire sur les noyaux spermatiques, en particulier sur les mécanismes qui favorisent leur union avec les noyaux femelles. On ne peut douter que les noyaux reproducteurs ne soient attirés l'un vers l'autre d'une manière quelconque et, comme cette attraction s'effectue en sens unique, il est normal que l'on ait estimé que les gamètes mâles aient le pouvoir de se déplacer. Les courants cytoplasmiques qui doivent exister dans le cytoplasme femelle ne sont certainement pas étrangers à ce déplacement (WYLIE 1941), mais ils ne sont sans doute pas les seuls à s'exercer, puisque, lorsque des gamètes supplémentaires sont déversés à l'intérieur du sac, ils sont en quelque sorte tenus à l'écart et non utilisés (STEFFEN 1951). Pour cette même raison, on doit supposer que si la jonction des masses nucléaires s'effectue à la faveur d'une interaction physique ou chimique, celle-ci doit cesser lorsque le noyau de fusion est constitué, peut-être même avant cette formation. Chez certaines Gymnospermes, le gamète mâle cilié abandonne sa gaine cytoplasmique dans l'œuf et son déplacement ultérieur vers le noyau femelle est tout aussi peu explicable.

En relation avec le déplacement des gamètes, on a aussi voulu voir des différences de comportement. Du point de vue morphologique, il est prouvé que les deux gamètes mâles sont comparables et les différences qui ont pu être données proviennent vraisemblablement du fait que les transformations dont ils sont le siège ne se déroulent pas de façon simultanée pour les deux corps gamétiques. Quoi qu'il en soit, on ne peut assurer que ce comportement soit identique. Si l'un des gamètes mâles en effet n'est pas originellement prédestiné à féconder l'une ou l'autre des deux cellules femelles, il n'en est pas moins vrai que l'un d'eux se joint plus rapidement que l'autre au noyau de l'oosphère, de sorte que ce dernier est fécondé le premier. Ce premier point est assez général (*Vallisneria*, WYLIE 1941 ; *Camassia*, SMITH 1942 ; *Nicotiana* et *Petunia*, GOODSPEED 1947 ; *Impatiens*, STEFFEN 1951). L'emplacement privilégié de l'oosphère favorise dans une certaine mesure cet état de choses et, comme STEFFEN chez l'*Impatiens*, nous l'avons nous-

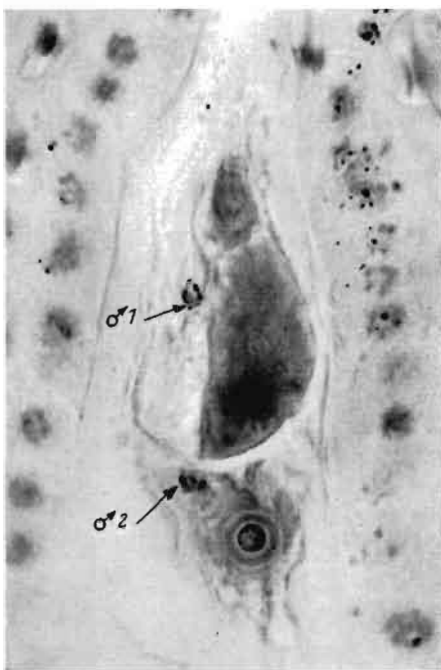


Fig. 47. *Linum usitatissimum*, stade préparatoire à la fécondation. L'un des gamètes mâles (♂ 1) se trouve à l'intérieur de l'oosphère, au voisinage du noyau femelle (ce dernier n'est pas visible sur cette coupe) : l'autre (♂ 2), dans le cytoplasme de l'initiale de l'albume, est à proximité du noyau secondaire. Nava-schin ; Feulgen ; $\times 940$.

(VAZART 1955.)

même constaté chez diverses espèces, en particulier chez les Gramineae. Il ne semble pas toutefois que cette disposition des cellules femelles en soit la cause unique. Du moins observe-t-on également un tel décalage chez le *Linum*, où l'extrémité pollinique libère ses éléments spermatiques entre les deux cellules femelles, à distance approximativement égale de leurs noyaux. Certaines préparations ont, en effet, montré l'un des noyaux mâles déjà au contact du noyau de l'oosphère tandis que le second se trouvait encore à quelque distance du noyau secondaire. Il paraît en être de même chez le *Vallisneria*, d'après les représentations qu'en donne WYLIE. Des phénomènes analogues sont retrouvés chez le *Primula*, où visiblement la distance qui sépare les gamètes mâles du noyau de l'oosphère est plus importante que celle qui les sépare du noyau secondaire.

Cet état de choses est brusquement inversé en ce qui concerne les fusions nucléaires. D'une part, l'immersion du corps gamétique mâle dans l'un des noyaux polaires ou dans le noyau secondaire, d'autre part, son expansion consécutive dans le noyau femelle, s'effectuent plus rapidement que les phénomènes correspondants observés dans le noyau de l'oosphère. Ces faits sont nécessairement jugés indirectement par les nombres moyens de stades obtenus, mais il ne semble pas qu'ils puissent être mis en doute. On pourrait y ajouter enfin le phénomène, tout aussi peu expliqué, par lequel les deux gamètes, souvent réunis en un même cytoplasme ou du moins peu individualisés l'un de l'autre dans le boyau pollinique, choisissent indifféremment, sitôt libérés, l'un l'oosphère, l'autre la cellule secondaire du sac. Il est évident que les seules observations morphologiques rendent ces interprétations peu aisées.

c) La caryogamie

La pénétration du corps spermatique s'effectue à un endroit quelconque du noyau femelle, généralement suivant le plus court chemin. C'est donc la région où les gamètes sont libérés qui fixe l'endroit de pénétration et, comme ils se trouvent amenés habituellement entre les deux cellules femelles, l'un rejoint le noyau de l'oosphère en revenant vers le micropyle tandis que l'autre se dirige directement vers le noyau secondaire ou vers le plus proche des noyaux polaires. Cette dernière éventualité se trouve réalisée lorsque ces noyaux, non encore fusionnés, sont disposés l'un au-dessus de l'autre dans le sens longitudinal du sac (*Pisum*, *Cymbalaria*, VAZART 1955). Lorsque ces noyaux sont placés à un même niveau du sac, l'un ou l'autre indistinctement peut être fécondé. Parfois le noyau mâle est observé au contact des deux noyaux polaires (*Triticum Polonicum*, VAZART 1955). Chez l'*Utricularia reticulata* (KAUSIK *et al.* 1955), suivant l'âge du gamétophyte, plusieurs modalités sont notées : ou bien le noyau mâle s'unit à l'un ou l'autre des noyaux polaires ou au noyau secondaire, ou bien il s'unit en même temps aux deux noyaux femelles qui fusionnent à ce stade.

Il est difficile d'analyser en détail les tout premiers stades de la fusion nucléaire, en raison, certainement, de son déroulement rapide. Nombre d'auteurs ont avoué leur ignorance à ce sujet et, parmi ceux qui ont essayé

d'approfondir ces questions, certains ont reconnu demeurer dans le domaine de l'hypothèse. Il semble, en effet, que nous n'ayons que peu progressé dans cette étude, et la description qu'en donnait, dès 1884, STRASBURGER, est encore très instructive : « Les deux noyaux mâle et femelle s'aplatissent d'abord au contact l'un de l'autre, tout en restant quelque temps séparés par leur membrane : puis, la double membrane disparaît et les deux cavités nucléaires se confondent en une seule. » La fusion nucléaire débiterait ainsi par la mise en contact des deux nucléoplasmes.

La disparition des portions de membrane adjacentes aux deux corps nucléaires n'est pas universellement admise. Chez l'*Impatiens*, STEFFEN (1951) n'a pu l'observer. La membrane nucléaire mâle disparaîtrait à un stade plus avancé de la fusion, le gamète mâle se trouvant déjà à l'intérieur du noyau femelle. Par contre, elle est mentionnée chez le *Gossypium* (GORE 1932) et chez le *Medicago* (COOPER 1935 b). Chez le *Scilla* (HOARE 1933), les membranes en contact se briseraient tandis que SMITH (1942), chez le *Camassia*, parle de leur dissolution. MORRISON (1955), chez le *Triticum*, indique que le processus de pénétration est probablement une digestion enzymatique des membranes nucléaires. Après pénétration, la membrane nucléaire de l'œuf se reconstitue, tandis que le gamète mâle, d'aspect granuleux et dont la coloration est moins intense, ne paraît pas entouré par une membrane propre. Chez l'*Oxybaphus nyctagineus* (COOPER 1949), le début de la fusion nucléaire revêt un caractère particulier, tant chez le noyau de l'ootophère que chez le noyau secondaire. En effet, le noyau mâle s'enfonce dans le noyau femelle et y détermine la formation d'une dépression très marquée. Lorsqu'il est presque totalement englobé, sa membrane se déchire dans sa région profonde ainsi que celle correspondante du noyau femelle : le nucléole mâle est attiré par cette ouverture vers le nucléole femelle, la fusion nucléolaire intervenant avant la disparition complète des membranes nucléaires. Sitôt après, les contenus des deux noyaux gamétiques sont incorporés dans un noyau commun avec un seul nucléole. Il est vraisemblable que, exception faite du caractère particulier de la fusion précoce des nucléoles, l'immersion du noyau mâle dans le noyau femelle s'accompagne de la disparition progressive des couches membranaires limitantes.

En effet, la pénétration du noyau mâle à l'intérieur du noyau femelle ne commence pas avant qu'il ne se soit appliqué étroitement à la surface

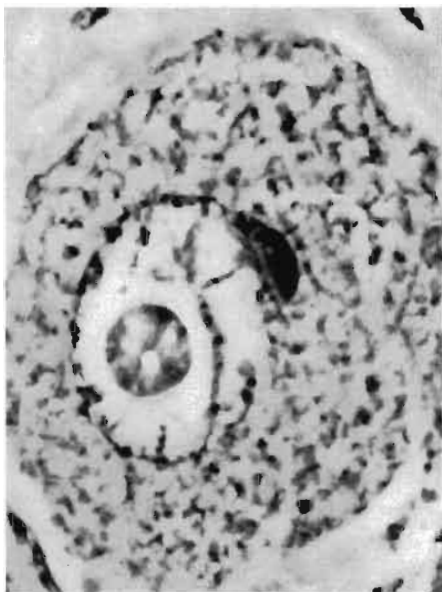


Fig. 48. Oosphère fécondée du *Triticum vulgare*. Le noyau mâle est appliqué contre la membrane nucléaire femelle qui est sensiblement déprimée. Nawaschin ; Feulgen ; contraste de phase : $\times 1500$.

de ce dernier, prenant alors une forme plutôt allongée. Puis, la région nucléaire femelle qui est au contact du noyau mâle s'enfonce sensiblement, déterminant la formation d'une dépression dans laquelle vient se loger le corps spermatique. A ce stade, les membranes nucléaires, tant mâle que femelle (Fig. 48), sont encore présentes et peuvent être différenciées l'une de

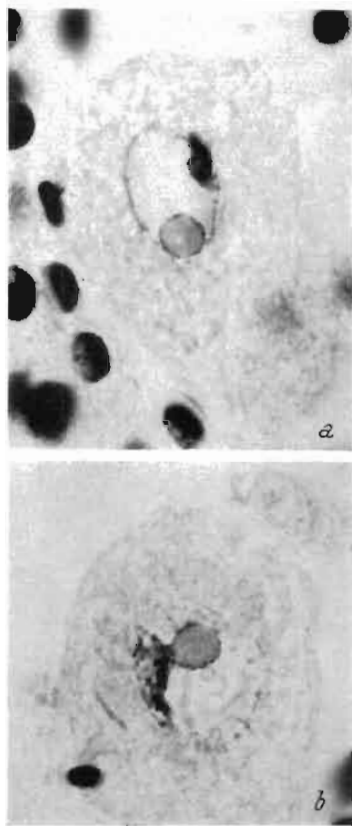


Fig. 49. *Hordeum vulgare*, caryogamie. a : le noyau mâle pénètre à l'intérieur du noyau femelle (noter la pauvreté de ce dernier en éléments chromatiques décelables par la réaction de Feulgen) ; b : dissociation et dispersion des éléments chromosomiques mâles dans l'espace intranucléaire femelle. Nawaschin ; Feulgen : $\times 1000$.

(VAZART 1955.)

l'autre. On peut supposer que pendant cette période d'affrontement se produit une transformation des surfaces membranaires en présence. Celles-ci se fondent en un point qui s'élargit quelque peu. Elles s'amenuisent, puis disparaissent et l'ouverture ainsi produite s'étend rapidement de proche en proche, mettant en contact les nucléoplasmes mâle et femelle. Lors de la fécondation, la succession de ces phénomènes est tellement précipitée qu'elle ne peut être suivie en détail. L'examen de quelques-uns d'entre eux, ainsi que ceux observés lors de la fusion des noyaux polaires, n'autorise pas toutefois à affirmer que le noyau mâle traverse purement et simplement la membrane nucléaire femelle. Ceci explique, du moins, que cette surface, en dehors de sa déformation très accusée au début de la pénétration du gamète mâle, n'apparaisse jamais détériorée. La portion dissoute serait en quelque sorte remplacée par celle externe du corps spermatique. Lorsque les deux membranes nucléaires ne sont plus apparentes, le corps gamétique mâle forme encore, pendant quelque temps, hernie à la surface du noyau femelle : puis, la bosse se résorbe progressivement au fur et à mesure que le nucléoplasme mâle se mêle à celui d'origine femelle et que les éléments chromatiques pénètrent plus profondément dans la cavité nucléaire de l'œuf.

Cette interprétation n'est pas en contradiction avec le fait que le noyau mâle peut conserver pendant quelque temps son individualité à l'intérieur du noyau femelle (STEFFEN 1951). Ce temps de latence serait en relation avec les transformations que subit le corps spermatique et qui se poursuivent d'ailleurs à l'intérieur du noyau de fusion pendant le laps de temps qui le sépare de sa division. Ces phénomènes, plus facilement analysés chez certaines espèces dont les noyaux sont de type réticulé (*Hordeum*, *Secale*, *Triticum*, VAZART 1955) parce qu'ils semblent s'y dérouler plus lentement, sont de même, pour des raisons analogues, plus nettement observés dans le

noyau de l'oosphère que dans le noyau initial de l'albumen. Chez ces espèces, néanmoins, on peut toujours admettre que la densité du corps chromatique mâle empêche de constater la présence de la membrane. Mais celle-ci n'est pas pour autant apparente aux stades ultérieurs, lorsque le peloton commence à se distendre. De plus, l'examen de stades comparables chez d'autres plantes dont les noyaux sont différemment structurés (*Linum*, *Phaseolus*, *Cymbalaria*) n'a pas révélé l'existence d'une membrane nucléaire mâle à ce moment.

A ce stade, les noyaux femelles demeurent apparemment inchangés. Tout au plus peut-on noter un déplacement sensible du volumineux nucléole femelle qui se réfugie dans la région opposée au point de pénétration du gamète mâle (Fig. 49 a). Cette migration, de caractère habituel chez nombre d'espèces (VAZART 1955), a pu laisser supposer que l'entrée du gamète était en relation avec l'emplacement du nucléole : il apparaît plutôt qu'elle est responsable de ce déplacement, de courte durée d'ailleurs, et ce serait, en somme, la seule perturbation immédiate et consécutive à l'entrée du gamète mâle.

Les étapes ultérieures de la fusion nucléaire sont plus faciles à suivre car elles s'effectuent à un rythme moins rapide, du moins celles qui concernent le noyau de l'œuf. Elles ne sont cependant pas toutes comparables et le facteur déterminant le déroulement de ces phénomènes paraît résider dans la nature ou la composition chimique de certains éléments d'origine femelle, bien que ces derniers ne prennent apparemment aucune part active à cette évolution. En effet, suivant le degré de différenciation des noyaux femelles, que traduit finalement la quantité décelable de DNA, le comportement du noyau mâle peut être assez différent et l'on peut sommairement distinguer deux modes principaux de fusion. On étudiera successivement l'évolution des éléments chromosomiques, puis celle des organites nucléolaires.

Comportement des substances chromatiques

Dans un premier cas, qui peut être observé habituellement chez les espèces dont les structures nucléaires sont de type réticulé, les noyaux femelles sont relativement peu chromatiques. Néanmoins, certains éléments, d'aspect filamenteux, demeurent. Ils peuvent être nettement mis en évidence, grâce à la réaction nucléale, dans le noyau de l'oosphère où l'évolution structurale est toujours moins accusée que dans le noyau initial de l'albumen. Le noyau mâle, à l'intérieur du noyau de l'œuf, quoique offrant une netteté moins grande, conserve un certain temps son individualité sous l'aspect d'un peloton chromatique dense. On peut alors suivre, par petites

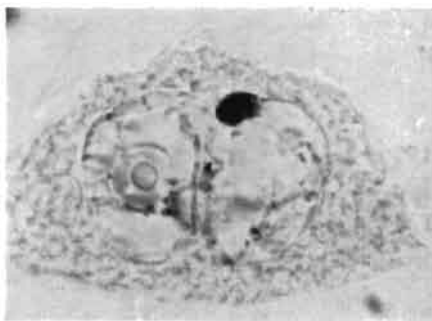


Fig. 50. *Hordeum vulgare*, pénétration du noyau mâle à l'intérieur de l'un des noyaux polaires. Nawaschin ; Feulgen ; $\times 940$.

étapes, son expansion, puis la dispersion progressive des filaments à l'intérieur de l'espace intranucléaire femelle. Au cours de cette dissociation ménagée, se reconstitue le réseau chromatique femelle et le laps de temps nécessaire à cette évolution inverse des éléments chromosomiques est apparemment suffisant pour qu'à son terme le noyau de l'œuf soit prêt à se diviser. Il n'y a pas en fait de temps de latence, ou, du moins, ce temps

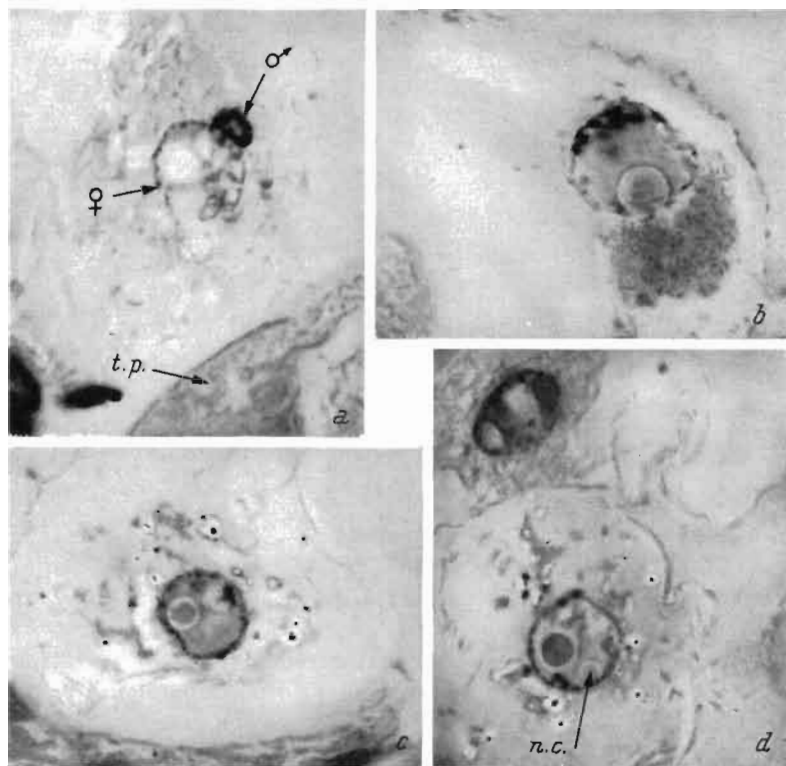


Fig. 51. Déroulement de la caryogamie chez le *Zea Mays*. a : noyau mâle (♂) au contact du noyau femelle (♀) : une portion du tube pollinique (t. p.) est visible ; b et c : expansion du noyau mâle à l'intérieur du noyau femelle : noter en b une masse de cytoplasme chromophile au voisinage du noyau de l'œuf ; d : un nucléole d'origine mâle (n. c.) est visible dans le noyau femelle ; en haut, à gauche, un noyau de l'albume. Nawaschin ; Feulgen ; $\times 1200$.

a et b (VAZART 1955.)

idem cf. page 109, figure 38

est-il d'autant plus court que le noyau mâle se répand plus lentement à l'intérieur du noyau femelle. De tels comportements sont observés chez l'*Hordeum*, le *Secale*, le *Pisum*, le *Zea* (VAZART 1955), les *Triticum* (MORRISON 1955 et VAZART 1955) et vraisemblablement chez le *Medicago* (COOPER 1955 b) et le *Camassia* (SMITH 1942).

Ces phénomènes sont confirmés par ceux que l'on observe dans les noyaux polaires fécondés, fusionnés ou non. Chez l'*Hordeum*, le *Secale* et les *Triticum*, l'expansion du gamète mâle dans l'un des noyaux polaires est plus rapide que celle qui se réalise dans le noyau de l'œuf, mais elle peut encore être suivie et la réapparition du DNA s'effectue de façon similaire dans les deux noyaux polaires. Consécutivement à ces trans-

formations les deux noyaux diploïde et haploïde entrent simultanément en division, au cours de laquelle se réalise la fusion. Chez le *Pisum*, par contre, sans doute en raison de l'évolution structurale plus accentuée des éléments nucléaires femelles, après la dissociation du corps spermatique, elle-même rapide, on note un intervalle de temps appréciable, que l'on peut interpréter comme un temps de repos, lequel n'est qu'apparent, car il correspond vraisemblablement à la synthèse des composés désoxyribonucléiques, indispensables à la formation des éléments chromosomiques (Fig. 52).

Tandis que progresse la fusion nucléaire, tant dans le noyau de l'œuf que dans le noyau initial de l'albumen, on ne peut supposer, selon une opinion jadis émise, que le noyau mâle apporte au noyau femelle la « nucléine » dont il est dépourvu et qui est nécessaire à sa division, puisque, chez certaines espèces, la reconstitution du DNA s'effectue parallèlement dans les deux noyaux polaires dont un seul a reçu un apport mâle. Il est indéniable, cependant, que cette synthèse s'opère sous l'influence du gamète mâle puisque, lorsque la fécondation ne se réalise pas, soit accidentellement, soit parce qu'elle est artificiellement différée, les noyaux reproducteurs femelles s'hypertrophient et demeurent dépourvus de DNA (*Pisum* et *Scilla*. VAZART 1955). Les mêmes constatations sont mentionnées par STEFFEN (1951) chez l'*Impatiens*, espèce de structure nucléaire euchromocentrique.

Lorsque les substances chromatiques se présentent sous l'aspect d'euchromocentres, les phénomènes intimes de la fécondation paraissent se dérouler différemment. Chez ces espèces, en effet, certaines étapes de la fusion ne sont pas révélées parce que les éléments chromosomiques mâles ne sont plus mis en évidence par les colorations usuelles.

Au moment où ils vont être fécondés, les noyaux femelles sont presque totalement achromatiques, la réaction nucléaire de l'œulgen ne mettant en évidence dans le noyau que quelques éléments ponctiformes souvent peu nombreux. Ces derniers ne sont même plus présents dans le noyau secondaire provenant de la fusion des noyaux polaires (*Impatiens*, STEFFEN 1951 ; *Linum*, *Phaseolus*, VAZART 1955). Par contre, lorsque les cellules spermatiques se libèrent du tube pollinique, les noyaux mâles, qui renferment de volumineux chromocentres vivement colorables, subissent de façon relativement rapide des transformations analogues à celles qui se sont effectuées dans les noyaux femelles au cours de leur différenciation gamétophytique. Ces modifications, qui aboutissent à un amoindrissement de leur chromatocité, commencent habituellement lorsque ces noyaux sont au contact des noyaux femelles, chez l'*Impatiens* par exemple. Chez le *Linum* et le *Phase-*

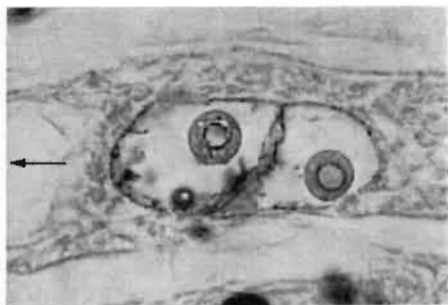


Fig. 52. *Pisum sativum*, noyaux polaires dont l'un est fécondé (présence d'un petit nucléole d'origine mâle) avant division. Le sens de la flèche indique la direction du micropyle. Nawaschin ; Œulgen ; $\times 940$. (VAZART 1955.)

olus, où les corpuscules chromophiles deviennent peu nets et s'amenuisent, elles se précipitent lorsque les nucléoplasmes mâle et femelle deviennent contigus.

Dans le noyau de l'œuf, le corps spermatique est encore différencié quelque temps du nucléoplasme femelle en raison de son enchylème dense et de la présence de deux ou trois chaînes chromatiques. Celles-ci courtes et ténues sont reliées d'un côté à la périphérie de l'œuf et, de l'autre, sont dirigées vers les régions internes de la cavité nucléaire femelle. Ces différences s'atténuent peu à peu d'abord en ce qui concerne les suc nucléaires. Puis, les euchromocentres rejoignent la membrane nucléaire femelle à laquelle ils s'accrochent en se répartissant sur une assez grande distance.



Fig. 53. Noyau secondaire fécondé du *Phaseolus vulgaris*. Dispersion des éléments chromatiques mâles (♂). Les nucléoles qui fusionnent sont certainement tous les deux d'origine femelle. Nawaschin ; Feulgen ; $\times 1200$.

(VAZART 1955.)

Quelques-uns d'entre eux continuent à s'estomper et disparaissent complètement. Les autres forment des taches minuscules à peine reconnaissables.

Des phénomènes analogues se déroulent dans le noyau secondaire (Fig. 53). Toutefois, les fines chaînes chromatiques sont à peine perceptibles lorsqu'elles arrivent au contact de la membrane nucléaire et la chromatine mâle s'éclipse totalement. Il s'écoule alors un temps assez long avant que ne soient décelés les premiers signes d'une activité mitotique.

Ces deux espèces représentent visiblement un cas limite. Chez l'*Impatiens* (STEFFEN 1951), l'épanchement du noyau mâle est moins brutale et, sitôt qu'il commence à se répandre dans l'espace intranucléaire de l'œuf, la chromaticité des chromomères femelles réapparaît. On en compte à nouveau 9 et c'est là un critère sûr de l'accomplissement de la fécondation. On peut comparer ce comportement à celui qui est observé chez le *Sorghum* ou chez le *Primula* (VAZART 1955). Chez ces espèces, le noyau mâle subit, en effet, au contact du noyau femelle, une baisse sensible de chromaticité. Mais pendant le même temps, son partenaire se charge à nouveau en chromatine. Chez le *Primula*, en particulier, un euchromocentre devient visible au contact de son nucléole, parfois deux qui sont opposés l'un à l'autre. Lorsque le gamète mâle est observé cette fois à l'intérieur du noyau femelle, il forme pendant un certain temps une zone hétérogène de densité plus grande. Mais bientôt, le suc nucléaire femelle s'opacifie, ce qui contribue à diminuer les différences de densité des nucléoplasmes qui ne peuvent plus être distingués l'un de l'autre. Dans l'espace intranucléaire réapparaissent à ce moment de courtes chaînes qui ne fixent aucun colorant et ne sont repérables que par leur réfringence. Ces éléments se chargent peu à peu de granules chromocentriques et évolueront ultérieurement en chromosomes.

Chez le *Sorghum*, les éléments chromatiques mâles sont plus visibles parce que dissociés dans le noyau de l'œuf qui ne renferme, à ce stade, que deux ou trois euchromocentres ponctiformes. Quelques-uns sont isolés au contact de la membrane ; d'autres sont accolés par petits groupes ; d'autres enfin, unis en chaînes de deux ou trois par un filament ténu et peu chromophile, sont disposés dans des régions plus profondes de la cavité nucléaire. Cette situation se maintient pendant un certain temps durant lequel les euchromocentres demeurent ainsi peu apparents. Ultérieurement se constituent de petits trabécules à peine plus colorables que le suc nucléaire, tandis que de nombreux euchromocentres sont de nouveau mis en évidence par la réaction nucléaire, d'abord autour du nucléole femelle, puis au voisinage de la membrane. Ces corpuscules chromatiques sont en connexion avec les éléments filamenteux dont le relief est bientôt accru et donnent naissance à des chromosomes fluets et irrégulièrement chromatiques.

La transformation des éléments chromosomiques mâles, qui peut se traduire, dans certains cas extrêmes, par leur disparition, semble ainsi marquer un temps d'arrêt avant qu'une nouvelle activité nucléaire puisse être décelée dans le noyau de fusion. Il est vraisemblable, cependant, que la fusion nucléaire continue de s'opérer comme chez les espèces où ces phénomènes sont plus facilement suivis, l'éclipse partielle ou totale du gamète mâle correspondant à une phase d'activité nécessaire à la synthèse des composés désoxyribonucléiques. Par ailleurs, ces derniers ne sont pas uniquement apportés par le gamète mâle mais constitués lorsqu'ils sont manquants, sous l'influence de son arrivée.

Ceci peut être confirmé par les faits suivants : tout d'abord, chez les espèces dont il a été précédemment question, si, pendant un certain temps, aucun signe particulier ne semble intervenir dans le noyau de fusion, par contre une synthèse cytoplasmique importante se réalise dans les cellules correspondantes. Les caractéristiques de colorabilité de ce cytoplasme jeune laissent supposer un enrichissement considérable en acide ribonucléique, processus déjà ébauché au cours de la phase gamétophytique.

Ensuite, le déroulement de la fusion nucléaire chez le *Cymbalaria*, espèce dont les noyaux sont de type euchromocentrique, est instructif, car la double fécondation s'effectue différemment (VAZART 1955), le comportement du gamète mâle étant en quelque sorte influencé par l'état de son partenaire femelle. Le noyau de l'oosphère de cette espèce présente à ce moment un équipement chromatique apparemment normal et n'a pas subi les altérations structurales qui affectent les noyaux reproducteurs du *Linum*, du *Phaseolus* ou de l'*Impatiens*. Or, si l'on constate, au début de la fusion, une dispersion rapide des euchromocentres d'origine mâle, ces derniers demeurent présents au voisinage de ceux d'origine femelle et les uns et les autres ne se modifient que pour donner naissance à des chromosomes lors de la première division de la cellule-œuf. Par contre, les noyaux polaires manifestent une phase de différenciation assez comparable à celle que l'on observe chez le *Sorghum*. Or, précisément, lors de la fécondation, on remarque une éclipse partielle de l'équipement chromatique apporté par le noyau mâle.

Comportement de l'appareil nucléolaire

L'évolution de l'appareil nucléolaire présente quelque intérêt, car il semble qu'il soit possible dans ce domaine d'ébaucher quelque rapprochement avec les modalités de comportement des éléments chromatiques. Rappelons tout d'abord que, chez certaines espèces, un nucléole mâle est déjà présent dans le noyau spermatique avant la fusion gamétique, tandis



Fig. 54. *Linum usitatissimum*, noyau de l'œuf avant division : présence de deux nucléoles dont l'un est vraisemblablement d'origine mâle : néosynthèse de cytoplasme au contact du noyau. Nawaschin : hématoxyline $\times 940$.

que, chez d'autres, il se reconstitue dans la cavité nucléaire femelle. Dans l'un et l'autre cas, il augmente sensiblement de taille, peut également présenter des inclusions comparables à celles que l'on observe dans les nucléoles femelles, mais demeure moins volumineux que ces derniers.

Deux éventualités peuvent habituellement se présenter : ou bien le nucléole mâle s'unit précocement au nucléole femelle avant que le noyau de fusion ne manifeste les premiers signes précurseurs de sa division, ou au cours de l'interphase qui précède la seconde division : ou bien, cette fusion est différée et se réalise que plus tardivement au cours des divisions ultérieures.

Il est intéressant de constater que la première modalité se trouve le plus souvent réalisée dans les noyaux reproducteurs qui ont montré une phase de différenciation assez prononcée et, par suite, généralement chez les espèces dont les noyaux sont de structure euchromocentrique (*Impatiens*, *Linum*, *Phaseolus*). Chez le *Crepis* (GERASSIMOVA 1933), où la fusion des nucléoles mâle et femelle clôt apparemment les phénomènes de fusion nucléaire, les noyaux femelles sont peu chromatiques au moment de la fécondation.

Chez le *Sorghum*, trois nucléoles sont présents dans le noyau initial de l'albumen, lorsque fusionnent les noyaux polaires. Ils fondent en fin de prophase et se reconstituent en télophase, leur fusion intervenant dès la deuxième division.

Par contre, chez l'*Hordeum*, le *Secale*, les *Triticum*, le *Pisum*, espèces chez lesquelles la substance chromatique se présente sous l'aspect d'un réseau, le nucléole mâle demeure à l'écart du nucléole femelle. L'un et l'autre, présents au début de la division, disparaissent en fin de prophase et sont reconstitués en télophase. Les premiers noyaux de l'albumen renferment toujours trois volumineux nucléoles et deux de ces éléments sont

observés dans les noyaux du jeune embryon. Ce n'est que lorsque l'albumen renferme un assez grand nombre de noyaux que des fusions nucléolaires peuvent être notées ; celles-ci se réalisent habituellement en interphase.

Doit-on accorder une réelle valeur à ces rapprochements ? Ce n'est peut-être là que pure coïncidence. L'exception du *Crepis* peut éventuellement être expliquée. Par contre, celle de l'*Oxybaphus* (COOPER 1949), où la réunion des masses nucléolaires s'effectue tout au début de la fusion, est beaucoup moins explicable. Chez le *Petunia* (COOPER 1946), la fusion nucléolaire dans les noyaux de l'albumen se réalise au début de l'interphase qui suit la première division. Il est probable que d'autres exceptions seront notées à la faveur de nouvelles études. Par ailleurs, il n'est pas douteux que nombre de ces stades échappent à l'observation. Dans ce cas, l'on suppose la fusion réalisée par suite de la présence d'un unique nucléole (*Rhododendron*, CREECH 1955 ; *Tamarix*, SHARMA 1959).

Indiquons enfin que, chez le *Cymbalaria*, les trois nucléoles des noyaux polaires s'unissent au cours de la prophase de la première division tandis que celle du noyau de l'œuf ne se réalise que pendant l'interphase qui précède la seconde division.

En fait, nous ne sommes encore qu'imparfaitement renseignés et nombre de points demeurent obscurs. Du point de vue morphologique, la fusion nucléaire ne paraît intéresser que deux éléments en présence, le nucléoplasme et l'appareil nucléolaire. Encore peut-on demeurer sur une prudente réserve vis-à-vis du premier de ces éléments. Ceux-ci ne sont pas colorables et ne peuvent être repérés que secondairement. Chez quelques espèces, la masse nucléaire mâle dépourvue de sa membrane se différencie quelque temps du milieu nucléaire femelle dans lequel elle baigne. Aux stades ultérieurs, ces différences s'atténuent et correspondent vraisemblablement à une diffusion de part et d'autre des sucres nucléaires. Il est possible qu'un brassage suffisant réalise ultérieurement un milieu homogène. Néanmoins, ce mélange peut être plus ou moins rapide puisque l'on note parfois une ségrégation chromosomique lors de la première division (*Liliaceae*, NOTHNAGEL 1918 ; *Medicago*, COOPER 1955 b : noyau initial de l'albumen de l'*Impatiens*, STEFFEN 1951 ; *Hordeum vulgare*, VAZART 1955). Par contre, la fusion des nucléoles revêt un caractère général mais elle s'effectue selon des modalités qui varient d'une espèce à l'autre et qui paraissent en relation avec les caractères cytologiques.

Les éléments chromatiques ne présentent apparemment qu'un rôle secondaire. Cependant, les transformations structurales et chimiques dont ils sont le siège, aussi bien avant que pendant ou après la fécondation, et qui sont en rapport avec le mode de répartition de la chromatine, laissent présumer qu'ils ne demeurent pas indifférents. Nous sommes obligé de juger de l'état d'avancement de ces phénomènes à l'aide de certains critères. Primitivement, la fusion nucléaire pouvait paraître complète à la suite de la constitution du noyau de fusion. Ensuite, l'observation d'une fusion des nucléoles semblait y mettre un terme. Actuellement, il est logique de penser que la fusion gamétique ne trouve son achèvement que beaucoup plus tard dans la génération F_1 lors de l'appariement des chromosomes.

Bibliographie

- ADATIA, R. D., B. N. MULAY, and G. R. HINGORANI, 1953: A contribution to the embryology of *Vitis trifolia* L. II. J. Univ. Bombay, Sect. B, **21**, 51—60.
- AFANAS'eva, A. S., 1956: Quelques données nouvelles sur le processus de fécondation chez le Blé (en russe). Zh. obshch. Biol., S. S. S. R. **17**, 32—39.
- AFZELIUS K., 1954: Embryo sac development in *Epipogium aphyllum*. Svensk bot. T. **48**, 513—520.
- ALLEN, G. S., 1943: The embryogeny of *Pseudotsuga taxifolia* (Lamb.) Britt. Amer. J. Bot. **30**, 655—661.
- 1946: Embryogeny and development of the apical meristems of *Pseudotsuga*. I. Fertilization and early embryogeny. Amer. J. Bot. **33**, 666—677.
- ANDERSON, L. E., 1936: Mitochondria in the life cycles of certain higher plants. Amer. J. Bot. **23**, 490—500.
- 1939: Cytoplasmic inclusions in the male gametes of *Lilium*. Amer. J. Bot. **26**, 761—766.
- ARNOLDI, W., 1900 a: Embryogenie von *Cephalotaxus fortunei* (Beiträge zur Morph. der Gymn. III). Flora **87**, 46—63.
- 1900 b: Weitere Untersuchungen der Embryogenie in der Familie der Sequoiaceen (Beiträge zur Morph. der Gymn. V). Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou 28 pp.
- BACCHI, O., 1943: Cytological observations in Citrus. III. Megasporogenesis, fertilization and polyembryony. Bot. Gaz. **105**, 221—225.
- BAIRD, A. M., 1939: A contribution to the life history of *Macrozamia reidlei*. J. Roy. Soc. West Australia **25**, 153—175.
- 1953: The life history of *Callitris*. Phytomorphology **3**, 258—284.
- BANERJI, I., and S. HALDAR, 1942: A contribution to the morphology and cytology of *Monochoria hastataefolia* Presl. Proc. Ind. Acad. Sci., Sect. B, **16**, 91—106.
- BARBER, H., 1942: The pollen-grain division in the Orchidaceae. J. Genet. **43**, 97—103.
- BATTAGLIA, E., 1951: The male and female gametophytes of Angiosperms—An interpretation. Phytomorphology **1**, 87—116.
- BEAL, J. M., 1934: Chromosome behavior in *Pinus banksiana* following fertilization. Bot. Gaz. **95**, 660—666.
- BEER, R., 1906: On the development of the pollen grain and anther of some Onagraceae. Beih. Bot. Cbl. **19**, 286—313.
- BELAJEFF, W., 1891: Zur Lehre von dem Pollenschlauche der Gymnospermen. Ber. dtsh. bot. Ges. **9**, 280—286.
- 1893: Zur Lehre von dem Pollenschlauche der Gymnospermen. Ber. dtsh. bot. Ges. **11**, 196—201.
- BENETSKAIA, G. K., 1939: Observations *in vivo* des gamètes mâles dans les tubes polliniques d'*Asclepias cornuti* Decsn., de *Vinca major* L. et de *Vinca minor* L. J. Bot. de l'U. R. S. S. **24**, 273—281.
- BERRIDGE, E. M., 1909: Fertilization in *Ephedra altissima*. Ann. Bot. **23**, 509—512.
- and E. SANDAY, 1907: Oogenesis and embryogeny in *Ephedra distachya*. New Phytol. **6**, 127—134; 167—174.
- BLACKMAN, V. H., 1898: On the cytological features of fertilization and related phenomena in *Pinus silvestris* L. Phil. Trans. Roy. Soc. London B. **190**, 395—426.
- BORTHWICK, H. A., 1931: Development of the macrogametophyte and embryo of *Daucus carota*. Bot. Gaz. **92**, 23—44.
- BRANSCHIEDT, P., 1939: Befruchtungsphysiologische Untersuchungen an *Taxus baccata* L. Ber. dtsh. bot. Ges. **57**, 495—505.
- BROUGH, P., and M. H. TAYLOR 1940: An investigation of the life cycle of *Macrozamia spiralis* Miq. Proc. Linn. Soc. N. S. Wales **65**, 494—524.
- BRUMFIELD, R. T., 1941: Asymmetrical spindles in the first microspore division of certain angiosperms. Amer. J. Bot. **28**, 713—722.
- BRYAN, G. S., and R. I. EVANS, 1957: Types of development from the central nucleus of *Zamia umbrosa*. Amer. J. Bot. **44**, 404—415.
- BRYAN, J., 1951: DNA. Protein relations during microsporogenesis of *Tradescantia*. Chromosoma **4**, 369—392.
- BUCHHOLTZ, J. T., 1939 a: The morphology and embryology of *Sequoia gigantea*. Amer. J. Bot. **26**, 93—101.
- 1939 b: The embryology of *Sequoia sempervirens* with a comparaison of the Sequoias. Amer. J. Bot. **26**, 248—257.
- BURLINGAME, L. L., 1915: The morphology of *Araucaria brasiliensis*. III. Fertilization, the embryo and the seed. Bot. Gaz. **59**, 1—39.

- CAILLON, M., 1957: Contribution à l'étude de la différenciation du pollen chez quelques Angiospermes. Diplôme d'Et. Sup. Paris et Rev. Cyt. et Biol. végét. **19**, 65—97.
- CAROTHERS, I. E., 1907: The development of the ovule and the female gametophyte of *Ginkgo biloba*. Bot. Gaz. **43**, 116—150.
- CASPARI, E., 1948: Cytoplasmic inheritance. Advances in Genetics **2**, 2—66.
- CASPERSSON, T. O., 1950: Cell growth and cell function. A cytochemical study. New York.
- CHAMBERLAIN, C. J., 1906: The ovule and female gametophyte of *Dioon*. Bot. Gaz. **42**, 321—358.
- 1909: Spermatogenesis in *Dioon edule*. Bot. Gaz. **47**, 215—256.
- 1910 a: Fertilization and embryogenesis in *Dioon edule*. Bot. Gaz. **50**, 415—429.
- 1910 b: Nuclear phenomena of sexual reproduction in gymnosperms. Amer. Nat. **44**, 595—605.
- 1912: Morphology of *Ceratozamia*. Bot. Gaz. **53**, 1—19.
- 1916: *Stangeria paradoxa*. Bot. Gaz. **61**, 355—372.
- 1935: Gymnosperms, Structure and evolution. Chicago.
- CHIARUGI, A., 1953: Polyploidy in the female gametophyte of flowering plant. Embryology of Phanerogams. Proc. 7th Internat. bot. Congr. Stockholm, 1950, 575—576.
- COKER, W. C., 1902: Notes on the gametophyte and embryo of *Podocarpus*. Bot. Gaz. **33**, 89—107.
- 1905: On the gametophytes and embryos of *Taxodium*. Bot. Gaz. **36**, 1—27, 114—140.
- 1907: Fertilization and embryogeny of *Cephalotaxus fortunei*. Bot. Gaz. **43**, 1—40.
- COOPER, D. C., 1935 a: Microsporogenesis and the development of the male gametes in *Portulaca oleracea*, Amer. J. Bot. **22**, 453—459.
- 1935 b: Macrosporogenesis and embryology of *Medicago*. J. Agr. Res. **51**, 471—477.
- 1935 c: Macrosporogenesis and development of the embryo sac of *Lilium Henryi*. Bot. Gaz. **97**, 346—354.
- 1936: Development of the male gametes of *Lilium*. Bot. Gaz. **98**, 169—177.
- 1937: Macrosporogenesis and embryo-sac development in *Euchlaena mexicana* and *Zea Mays*. J. Agricult. Res. **55**, 539—551.
- 1940: Macrosporogenesis and embryology of *Portulaca oleracea*. Amer. J. Bot. **27**, 226—250.
- 1941: Macrosporogenesis and the development of the seed of *Phryma leptostachya*. Amer. J. Bot. **28**, 755—761.
- 1946: Double fertilization in *Petunia*. Amer. J. Bot. **33**, 54—57.
- 1949: Flower and seed development in *Oxybaphus nyctagineus*. Amer. J. Bot. **36**, 348—355.
- COULTER, J. M., 1897: Notes on the fertilization and embryogeny of Conifers. Bot. Gaz. **23**, 40—45.
- and W. J. G. LAND, 1905: Gametophytes and embryo of *Torreya taxifolia*. Bot. Gaz. **39**, 161—178.
- CREECH, J. L., 1955: An embryological study in the *Rhododendron* subgenus *Anthodendron* Endl. Bot. Gaz. **116**, 234—245.
- DAHLGREN, K. V. O., 1924: Studien über die Endosperm-bildung der Kompositen. Svensk Bot. Tidskr. **18**, 177—203.
- 1927: Über das Vorkommen von Stärke in den Embryosäcken der Angiospermen. Ber. dtsh. bot. Ges. **45**, 374—384.
- 1939: Sur la présence d'amidon dans le sac embryonnaire chez les Angiospermes. (Deuxième communication.) Bot. Notiser **221**—231.
- DANGEARD, P., 1923: Le vacuome des grains de pollen des Gymnospermes. C. r. Acad. Sci. **176**, 915.
- 1936: Le vacuome des grains de pollen et sa coloration vitale. Protoplasma **46**, 152—159.
- DARLINGTON, C. D., 1936: The analysis of chromosome movements. I. *Podophyllum versipella*. Cytologia **7**, 242—247.
- et P. T. THOMAS, 1941: Morbid mitoses and the activity of inert chromosomes in *Sorghum*. Proc. roy. Soc. B. **130**, 127—150.
- DIXON, H. N., 1894: Fertilization in *Pinus silvestris*. Ann. Bot. **8**, 21—34.

- DOAK, C. C., 1932: Multiple male cells in *Cupressus arizonica*. Bot. Gaz. **94**, 168—181.
- DUPLER, A. W., 1917: The gametophytes of *Taxus canadensis* Marsh. Bot. Gaz. **64**, 115—136.
- ELFVING, F., 1879: Studien über die Pollenkörner der Angiospermen. Jena. Z. Naturw. **13**, 1—28.
- EMBERGER, L., 1949: Sur les homologues fondamentales des organes reproducteurs des végétaux vasculaires. Rec. Trav. Inst. Bot. Montpellier **4**, 23—29.
- EMIG, W. H., 1935: The megagametophyte of *Pinus*. I. Introduction. Amer. J. Bot. **22**, 500—504.
- EUNUS, A. M., 1950: Contributions to the embryology of the Liliaceae. I. Development of the embryo sac and endosperm of *Albuca transvalensis* Moss-Verdoon. J. Ind. Bot. Soc. **29**, 68—78.
- FABER, F. C., 1912: Morphologisch-physiologische Untersuchungen an Blüten von *Coffea*-Arten. Ann. Jard. Buitenzorg, 2^{ème} Sér. **10**, 59—160.
- FAGERLIND, F., 1939: Die Entwicklung des Embryosackes bei *Peperomia pellucida*. Arkiv Bot. **29 A**, 1—15.
- 1941: Bau und Entwicklung der *Gnetum*-Gametophyten. K. Svensk. Vetensk. Akad. Handl. 3^{ème} Sér. **19**, 55 p.
- FAVRE-DUCHARTRE, M., 1950: Contribution à l'étude de la fécondation et du développement syncytial du pro-embryon chez *Ginkgo biloba*. C. r. Acad. Sci. **230**, 569—570.
- 1955: Contribution à l'étude de la reproduction chez le *Ginkgo biloba*. Th. Sci. Nat. Paris, et Rev. Cyt. et Biol. végét. **17**, 1—218.
- 1956: Contribution à l'étude de la fécondation chez *Cephalotaxus*. C. r. Acad. Sci. **243**, 1349—1352.
- 1957: Contribution à l'étude de la reproduction chez *Cephalotaxus drupacea*. Rev. Cyt. et Biol. végét. **18**, 305—343.
- FERGUSON, M. C., 1901: The development of the pollen-tube and the division of the generative nucleus in certain species of *Pinus*. Ann. Bot. **15**, 193—223.
- 1904: Contributions to the life history of *Pinus* with special reference to sporogenesis, the development of the gametophyte and fertilization. Proc. Wash. Acad. Sci. **6**, 1—202.
- FINN, W. W., 1925: Male cells in Angiosperms. I. Spermatogenesis and fertilization in *Asclepias cornuti*. Bot. Gaz. **80**, 1—25.
- 1937: Vergleichende Embryologie und Karyologie einiger *Cuscuta*-Arten. J. Inst. Bot. Acad. Sci. Ukraine **12**, 83—99.
- FOSTER, L. T., 1945: Morphological and cytological studies on *Carica papaya*. Bot. Gaz. **105**, 116—126.
- FRISENDAHL, A., 1912: Cytologische und entwicklungsgeschichtliche Studien an *Myricaria germanica* Desv. K. Svensk. Vetensk. Akad. Hdl. **48**, 1—62.
- GAGER, C. S., 1902: The development of the pollinium and sperm cells in *Asclepias cornuti* Decaine. Ann. Bot. **16**, 124—148.
- GEITLER, L., 1935: Beobachtungen über die erste Teilung im Pollenkorn der Angiospermen. Planta **24**, 361—386.
- 1937: Zur Morphologie der Pollenkörner von *Clarkia elegans*. Planta **27**, 426—431.
- 1941: Über die Struktur der generativen Keime in zweikernigen Angiospermenpollen. Planta **32**, 187—195.
- GERASSIMOVA, H., 1955: Fertilization in *Crepis capillaris*. La Cellule **42**, 103—148.
- GOEBEL, K., 1935: Organographie der Pflanzen. III. Aufl. Jena.
- GOODSPEED, T. H., 1947: Maturation of the gametes and fertilization in *Nicotiana*. Madrono **9**, 110—120.
- GORE, U. R., 1932: Development of the female gametophytes and embryo in Cotton. Amer. J. Bot. **19**, 795—807.
- GOVINDAPPA, D. A., 1955: Development of the gametophytes in *Aloe ciliaris* Haw. J. Indian bot. Soc. **34**, 146—150.
- GRAFL, I., 1941: Über das Wachstum der Antipodenkerne von *Caltha palustris*. Chromosoma **2**, 1—11.
- GUIGNARD, L., 1890: Étude sur les phénomènes morphologiques de la fécondation. Bull. Soc. Bot. Fr. **36**, 100—146.
- 1899: Sur les anthérozoïdes et la double copulation sexuelle chez les végétaux angiospermes. Rev. Gén. Bot. **11**, 129—135.
- 1902: La double fécondation chez les Solanées. J. Bot. **16**, 145—167.

- GUILLIERMOND, A., 1920: Sur l'évolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen de *Lilium candidum*. C. r. Acad. Sci. **170**, 1005—1006.
- 1924: Recherches sur l'évolution du chondriome pendant le développement du sac embryonnaire et des cellules-mères du grain de pollen dans les Liliacées. Ann. Sci. Nat. Bot., Sér. 10, **6**, 1—52.
- HAGERUP, O., 1938: A peculiar asymmetrical mitosis in the microspore of *Orchis*. Hereditas **24**, 94—96.
- HAKANSSON, A., 1924: Beiträge zur Zytologie eines *Epilobium*-Bastardes. Bot. Notis. **269**—278.
- and S. ELLERSTROM, 1950: Seed development after reciprocal crosses between diploid and tetraploid rye. Hereditas **36**, 256—296.
- HASITSCHKA, G., 1956: Bildung von Chromosomenbündeln nach Art der Speicheldrüsendiromosomen, spiralisierte Ruhekernechromosomen und andere Struktureigenschaften in den endopolyploiden Riesenkernen der Antipoden von *Papaver rhoeas*. Chromosoma **8**, 87—113.
- HASITSCHKA-JENSCHKE, G., 1957: Die Entwicklung der Samenanlage von *Allium ursinum* mit besonderer Berücksichtigung der endopolyploiden Kerne in Synergiden und Antipoden. Ost. Bot. Z. **104**, 1—24.
- HAUPT, A. W., 1941: Oogenesis and fertilization in *Pinus Lambertiana* and *P. monophylla*. Bot. Gaz. **102**, 482—498.
- HEIMANS, J., 1928: Chromosomen und Befruchtung bei *Lilium Martagon*. Rec. Trav. Bot. Néerland. **25 a**, 138—167.
- HERZFELD, S., 1922: *Ephedra campylopoda* Mey. Morphologie der weiblichen Blüte und Befruchtungsvorgang. Denkschr. Akad. Wiss. Wien. math.-naturw. Kl. **98**, 245—268.
- 1927: Beiträge zur Kenntnis von *Ginkgo*. Jb. wiss. Bot. **66**, 814—862.
- HIRASE, S., 1918: Nouvelles recherches sur la fécondation et l'embryogénie du *Ginkgo biloba*. Bot. Mag. Tokyo **32**, 139—143.
- HOARE, V. G., 1932: Gamétogénèse et fécondation chez *Scilla non-scripta*. La Cellule **42**, 269—294.
- HOFMEISTER, L., 1956: Über die Plasmagrenzschichten im Pollenkorn. Protoplasma **46**, 367—379.
- HUBERT, E. D., 1896: Recherches sur le sac embryonnaire des plantes grasses. Ann. Sci. Nat. Bot., 8^{ème} Sér. **2**, 37—128.
- HUREL-PY, G., 1933: Sur la possibilité de déshydrater les vacuoles du pollen de *Nicotiana glauca*. C. r. Acad. Sci. Paris **197**, 1690—1692.
- 1934: Recherches sur les conditions du pH nécessaires pour obtenir la germination des grains de pollen et la coloration vitale de leurs vacuoles. C. r. Acad. Sci. Paris **198**, 195—197.
- HUTCHINSON, A. H., 1915 a: On the male gametophyte of *Picea canadensis*. Bot. Gaz. **59**, 287—300.
- 1915 b: Fertilization in *Abies balsamea*. Bot. Gaz. **60**, 457—472.
- IKENO, S., 1898: Untersuchungen über die Entwicklung der Geschlechtsorgane und den Vorgang der Befruchtung bei *Cycas revoluta*. Jb. wiss. Bot. **32**, 557—602.
- 1901: Contribution à l'étude de la fécondation chez le *Ginkgo biloba*. Ann. Sci. Nat. Bot., 8^{ème} Sér. **13**, 305—318.
- IMAL, 1957: The behavior of the plastid as a hereditary unit: the theory of the plastogene. Cytologia, Fujii jub. vol. **934**—947.
- ISHIKAWA, M., 1918: Studies on the embryo sac and fertilization in *Oenothera*. Ann. Bot. **32**, 279—317.
- ISLAM, A. S., 1950: The embryology of *Ottelia alismoides* Pers. J. Ind. Bot. Soc. **28**, 79—91.
- JÄGER, L., 1899: Beiträge zur Kenntnis der Endospermibildung und zur Embryologie von *Taxus baccata*. Flora **86**, 241—288.
- JOHANSEN, D. A., 1950: Plant embryology. Embryology of the spermatophyta. Waltham, Mass.
- JOHRI, B., 1936: Contribution to the life-history of *Cedrus deodora*. I. The development of the pollen grains. Proc. Indian Acad. Sci. **3**, 246—257.
- JOSHI, A. C., 1939: Morphology of *Tinospora cordiflora*, with some observations on the origin of the single integument, nature of synergidae and affinities of the Menispermaceae. Amer. J. Bot. **26**, 435—459.
- JUEL, H. O., 1904: Über den Pollenschlauch von *Cupressus*. Flora **93**, 52—62.
- KADRY, A., 1935: The development of the female gametophyte *Cistanche tinctoria* (Forssk) G. Beck. Svensk bot. T. **47**, 488—508.

- KAIENBURG, A., 1950: Zur Kenntnis der Pollenplastiden und der Pollenschlauchleitung bei einigen Oenotheraceen. *Planta* **38**, 377—430.
- KAJALE, L. B., 1954: A contribution to the embryology of the Phytolaccaceae. II. Fertilization and the development of embryo, seed and fruit in *Rivina humilis* Linn. and *Phytolacca dioica* Linn. *J. Ind. bot. Soc.* **33**, 206—225.
- and RANADE, S. G., 1953: The embryo-sac of *Elaeis guineensis* Jacq. A reinvestigation. *J. Ind. bot. Soc.* **32**, 101—107.
- KANDA, M., 1920: Field and laboratory studies of *Verbena*. *Bot. Gaz.* **69**, 54—72.
- KAUSIK, S. B., 1939: Studies in the Proteaceae. III. Embryology of *Grevillea Banksii* R. Br. *Ann. Bot. N. S.* **3**, 815—824.
- and M. V. S. RAJU, 1955: A contribution to the floral morphology and embryology of *Utricularia reticulata* Smith. *Proc. Ind. Acad. Sci., Sect. B.* **41**, 155—166.
- KHABIRI, E., 1936: Recherches sur l'anatomie et la cytologie de quelques Convolvulacées. Thèse fac. Sci., Montpellier.
- KHAN, R., 1940: A note on "double fertilization" in *Ephedra foliata*. *Current Sci.* **9**, 323—324.
- 1943: Contributions to the morphology of *Ephedra foliata* Boiss. II. Fertilization and embryogeny. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **13**, 357—375.
- KIYOHARA, K., 1935: Zur Schimper-Meyerschen Theorie der Vermehrung der Chloroplasten. *J. Fac. Sci. Imp. Univ. Tokyo, Sect. III Bot.* **4**, 399—465.
- KLUJCHAREVA, M. V., 1954: Quelques données cytologiques sur le processus de fécondation chez le Pêcher (en russe). *Agrobiologija, S. S. S. R.*, No. **4**, 102—108.
- KOLLER, P., 1943: The effects of radiation on pollen grain development, differentiation and germination. *P. R. S. Edin. B.* **51**, 398—429.
- KOSTRIUKOVA, J., 1939: Observations *in vivo* on the formation of the male sex cells in *Lilium Martagon* L. *C. r. Acad. Sci. U. R. S. S.* **22**, 444—447.
- 1941: On the pellicular layer of the cytoplasm of the generative cell of *Convallaria majalis* L. *C. r. Acad. Sci. U. R. S. S. n. s.* **30**, 463.
- KRJATCHENKO, DOUZE- M., 1925: De l'activité des chondriosomes pendant le développement des grains de pollen et des cellules nourricières du pollen dans *Lilium croceum*. *Rev. Gén. Bot.* **37**, 193—211.
- KRUPKO, S., 1926: Les plastides et le chondriome pendant la gonogénèse dans le *Gagea lutea*. *Acta Soc. Bot. Poloniae* **4**, 77—86.
- and A. DENLEY, 1955: Desoxyribonucleic acid deficiency in the mature egg nucleus of *Aloe davyana* in South Africa. *Nature* **177** (4498), 92—93.
- KUHNHOLTZ-LORDAT, G., 1951: Réflexions sur la Xénie. *Rev. Gén. Sci.* **58**, 29—35.
- KURSSANOW, L. J., 1911: Über Befruchtung, Reifung und Keimung bei *Zygnema*. *Flora* **104**, 65—84.
- LA COUR, L. F., 1949: Nuclear differentiation in the pollen grain. *Heredity* **3**, 319—337.
- LAGERBERG, T., 1909: Studien über die Entwicklungsgeschichte und systematische Stellung von *Adoxa moschatellina*. *K. Svensk. Vetensk. Akad. Hdl.* **44**, 1—86.
- LAND, W. J. C., 1900: Double fertilization in Compositae. *Bot. Gaz.* **30**, 252—260.
- 1902: A morphological study of *Thuja occidentalis*. *Bot. Gaz.* **34**, 249—259.
- 1904: Spermatogenesis and oogenesis in *Ephedra trifurca*. *Bot. Gaz.* **38**, 1—18.
- 1907: Fertilization and embryogeny in *Ephedra trifurca*. *Bot. Gaz.* **44**, 273—292.
- LANG, W. H., 1900: Studies in the development and morphology of cycadean sporangia. II. The ovule of *Stangeria paradoxa*. *Ann. Bot.* **14**, 281—306.
- LAWSON, A. A., 1904 a: The gametophytes, archegonia, fertilization, and the embryo of *Sequoia sempervirens*. *Ann. Bot.* **18**, 1—28.
- 1904 b: The gametophytes, archegonia, fertilization, and the embryo of *Cryptomeria japonica*. *Ann. Bot.* **18**, 417—444.
- 1907: The gametophytes, fertilization and embryo of *Cephalotaxus drupacea*. *Ann. Bot.* **21**, 1—23.
- 1909: The gametophyte and embryo of *Pseudotsuga Douglasii*. *Ann. Bot.* **23**, 163—180.
- 1910: The gametophytes and embryo of *Sciadopitys verticillata*. *Ann. Bot.* **24**, 403—421.
- 1926: A contribution to the life-history of *Bomenia*. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh* **54**, 357—394.
- LEBÈGUE, A., 1952: La polyembryonie chez les Angiospermes. *Bull. Soc. Bot. Fr.* **99**, 329—367.

- LEE, C. L., 1955: Fertilization in *Ginkgo biloba*. Bot. Gaz. 117, 79—100.
- LEWITSKY, G. A., 1911: Vergleichende Untersuchungen über die Chondriosomen in lebenden und fixierten Pflanzenzellen. Ber. dtsch. bot. Ges. 29, 697—703.
- LINDEMANN, R., 1956: Vergleichende cytologische Untersuchungen an den Liliaceen *Bellevalia romana*, *Agapanthus umbellatus* und *Lilium regale*. Planta 48, 2—23.
- LOOBY, W. J., and J. DOYLE, 1937: Fertilization and proembryo formation in *Sequoia*. Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. 21, 457—476.
- 1944: Fertilization and early embryogeny in *Podocarpus andinus*. Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. 23, 257—270.
- MADGE, M. A. P., 1929: Spermatogenesis and fertilization in the cleistogamous flower of *Viola odorata* var. *praecox* Gregory. Amer. J. Bot. 43, 545—577.
- MAHABALE, T. S., and I. N. SOLANKY, 1953: Studies in the Chenopodiaceae. I. Embryology of *Suaeda fruticosa* Forsk. J. Univ. Bombay, Sect. B. 21, 81—92.
- 1954: Studies in the Chenopodiaceae. V. Embryology of *Chenopodium murale* Linn. J. Univ. Bombay, Sect. B. 23, 25—37.
- MAHABALE, T. S., and I. N. SOLANKY, 1953: Studies in the Chenopodiaceae. I. Embryo— 1950: Introduction to embryology of Angiosperms. New York.
- and B. M. JOHRI, 1956: The morphology and embryology of *Floerkea proserpinacoides* Willd., with a discussion on systematic position of the family Limnanthaceae. Bot. Mag. 69, 410—423.
- MAHONY, K. L., 1935: Morphological and cytological studies on *Fagopyrum esculentum*. Amer. J. Bot. 22, 460—475.
- MANGENOT, G., 1938: Sur les oosphères, les tubes polliniques et la fécondation chez le Pin maritime. C. r. Acad. Sci. Paris 206, 364.
- MANGIN, L., 1889 a: Observations sur la membrane du grain de pollen mûr. Bull. Soc. Bot. Fr. 36, 274—284.
- 1889 b: Observations sur le développement du pollen. Bull. Soc. Bot. Fr. 36, 386—393.
- MANN, L. K., and J. ROBINSON, 1950: Fertilization, seed development, and fruit growth as related to fruit set in the cantaloupe (*Cucumis Melo* L.). Amer. J. Bot. 37, 685—697.
- MARQUARDT, H., 1940—1941: Untersuchungen über den Formwechsel der Chromosomen im generativen Kern des Pollens und Pollenschlauches von *Allium* und *Lilium*. Planta 31, 670—725.
- MARTENS, P., 1947: La graine et le tube pollinique, réflexions sur les caractères propres des Phanérogames. Bull. Acad. R. de Belgique, Cl. des Sc. 33, Sér. 5. 919—943.
- MARTIN, R. W., and F. H. SMITH, 1955: Megagametophyte development in *Chrysanthemum leucanthemum* L. Bot. Gaz. 116, 243—249.
- MATHEWS, A. C., 1939: The morphological and cytological development of the sporophylls and seed of *Juniperus virginiana*. J. Elisha Mitchell Sci. Soc. 55, 7—62.
- MEHRA, P. N., 1950 a: Occurrence of hermaphrodite flowers and the development of female gametophyte in *Ephedra intermedia* Shrenk et Mey. Ann. Bot., N. S. 14, 165—180.
- 1950 b: Inequality in size of the male nuclei in the genus *Ephedra*. Ann. Bot., N. S. 14, 331—339.
- MENDES, A. J. T., 1941: Cytological observations in *Coffea*. VI. Embryo and endosperm development in *Coffea arabica* L. Amer. J. Bot. 28, 784—789.
- MICHAELIS, P., 1949: Prinzipielles und Problematisches zur Plasmavererbung (Vortrag 1944). Biol. Zbl. 68, 173—195.
- MILLER, E. C., 1920: Development of the pistillate spikelet and fertilization in *Zea mays* L. J. Agr. Res. 18, 255—266.
- MILOVIDOV, P. F., 1936: Zur Theorie und Technik der Nuklealfärbung. Protoplasma 25, 570—597.
- MIYAKE, K., 1903: On the development of the sexual organs and fertilization in *Picea excelsa*. Ann. Bot. 17, 351—372.
- 1906: Über die Spermatozoiden von *Cycas revoluta*. Ber. dtsch. bot. Ges. 24, 78—83.
- 1910: The development of the gametophytes and embryogeny of *Cunninghamia sinensis*. Beih. Bot. Cbl. 27, 1—25.
- and K. YASUI, 1911: On the gametophytes and embryo of *Pseudolarix*. Ann. Bot. 25, 639—647.

- MODILEVSKIJ, J., 1918: Études cytologiques et embryologiques sur *Neottia Nidus avis*. Mém. Soc. Nat. Kiev **26**, 1—55.
- 1953: La fécondation chez l'Orge, *Hordeum sativum*, en rapport avec l'étude des modalités de fécondation chez les Angiospermes (en russe). Both. Zh. **10**, 13—32.
- MORRISON, J. W., 1955: Fertilization and postfertilization development in wheat. Canad. J. Bot. **33**, 168—176.
- MULAY, B. N., and B. S. SHAMI, 1955: Megasporeangium, megasporogenesis and female gametophyte of *Mimosa rubicaulis* Lamb. Proc. Indian Sci. Congr., No. 3, 241.
- MULLER-STOLL, W. R., 1948: Zytomorphologische Studien am Pollen von *Taxus baccata* L. und anderen Koniferen. Planta **35**, 601—604.
- MURRILL, W. A., 1900: The development of the archegonium and fertilization in the hemlock spruce (*Tsuga canadensis*). Ann. Bot. **14**, 583—607.
- NAGARAJA RAO, A., 1955: Embryology of *Trichopus zeilanicus* Gaertn. J. Indian Bot. Soc. **34**, 213—221.
- NARANG, N., 1955 a: Contributions to the life history of *Ephedra campylopoda*. I. Male and female gametophytes. Proc. Indian Sci. Congr., No. 3, 223—224.
- 1955 b: Contributions to the life history of *Ephedra campylopoda*. II. Fertilization and embryogeny. Proc. Indian Sci. Congr., No. 3, 224.
- NARAYANASWAMI, S., 1955: The structure and development of the carypsis in some Indian millets. III. *Panicum miliare* Lamk. and *P. miliaceum* Linn. Lloydia **18**, 61—73.
- NAWASCHIN, S., 1898: Resultate einer Revision der Befruchtungsvorgänge bei *Lilium martagon* und *Fritillaria tenella*. Bull. Acad. Imp. des Sci. St. Pétersbourg **9**, 377—382.
- und W. FINN, 1913: Zur Entwicklungsgeschichte der Chalazogamen. *Juglans regia* und *Juglans nigra*. Mém. Acad. Imp. des Sci. St. Pétersbourg VIII, **31**, 1—59.
- NEGI, V., and M. LATA, 1957: Male gametophyte and megasporogenesis in *Gnetum*. Phytomorphology **7**, 230—236.
- NEMEC, B., 1910: Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen. Berlin.
- 1912: Über die Befruchtung bei *Gagea*. Bull. internat. Acad. Sci. Bohême **17**, 1—17.
- NICHOLS, G. E., 1910: A morphological study of *Juniperus communis* var. *depressa*. Beih. Bot. Cbl. **25**, 201—241.
- NOREN, C. O., 1904: Über die Befruchtung bei *Juniperus communis*. Arkiv Bot. **3**, 1—11.
- 1907: Zur Entwicklungsgeschichte des *Juniperus communis*. Upsala Universitets Årsskrift 1907, 64 p.
- 1908: Zur Kenntnis der Entwicklung von *Saxegothaea conspicua* Lindl. Svensk Bot. T. **2**, 101—122.
- NOTHNAGEL, M., 1918: Fecundation and formation of the primary endosperm nucleus in certain Liliaceae. Bot. Gaz. **56**, 143—162.
- OEHLER, E., 1927: Entwicklungsgeschichtlich-zytologische Untersuchungen an einigen saprophytischen Gentianaceen. Planta **3**, 641—733.
- OGUR, M., G. ERICKSON, K. ROSEN, B. SAK, and G. HOLDEN, 1951: Nucleic acids in relation to cell division in *Lilium longiflorum*. Exper. Cell Res. **2**, 73—89.
- OHGA, I., 1937: On the fertilization of *Nelumbo nucifera*. Cytologia, Fujii Jub. Vol., 1033—1035.
- OKSIJUK, P. F. et M. I. KHUDJAK, 1955: Nouvelles données sur la fécondation chez le Blé (en russe). Dokl. Akad. Nauk S. S. S. R., **105**, 835—837.
- O'MARA, J., 1933: Division of the generative nucleus in the pollen tube of *Lilium*. Bot. Gaz. **94**, 567—578.
- OSTERWALDER, A., 1898: Beiträge zur Embryologie von *Aconitum Napellus* L. Flora **85**, 254—292.
- OTA, T., 1957: Division of the generative cell in the pollen tube. Cytologia **22**, 15—27.
- OTTLEY, A. M., 1909: The development of the gametophytes and fertilization in *Juniperus communis* and *Juniperus virginiana*. Bot. Gaz. **48**, 31—46.
- PAINTER, T. S., 1943: Cell growth and nucleic acids in the pollen of *Rhoeo discolor*. Bot. Gaz. **105**, 58—68.

- PAVULANS, J., 1940: Über die Nuklealreaktion in Embryosäcken und Pollenkörnern einiger Angiospermen. *Protoplasma* **34**, 22—29.
- PEARSON, H. H. W., 1909: Further observations in *Welmitschia*. *Phil. Trans. Roy. Soc., London, B.* **200**, 331—402.
- 1929: *Gnetales*. Cambridge.
- PIECH, K., 1924 a: Zur Entwicklung der Pollenkörner bei *Scirpus lacustris* L. *Bull. Acad. Polon. Sci. et Lettr. Sér. B.* **113**—123.
- 1924 b: Über die Teilung des primären Pollenkerns und die Entstehung der Spermazellen bei *Scirpus paluster* L. *Bull. Acad. Polon. Sci. et Lettr. Sér. B.* **605**—621.
- PINTO-LOPEZ, J., 1949: On the differentiation of the nuclei in pollen grains of angiosperms. *Portugaliae Acta Biologica* **2 A**, 237—247.
- PODDUBNAJA, W., 1927: Spermatogenesis bei einigen Kompositen. *Planta* **4**, 284—298.
- PODDUBNAJA-ARNOLDI, W., 1933 a: Geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung bei einigen *Chondrilla*-Arten. *Planta* **19**, 46—86.
- 1933 b: Künstliche Kultur und zytologische Untersuchung des Pollenschlauches vom *Senecio platanifolium* Benth. *Planta* **19**, 299—304.
- 1933 c: Spermazellen in der Familie der Dipsacaceae. *Planta* **19**, 381—386.
- 1936: Beobachtungen über die Keimung des Pollens einiger Pflanzen auf künstlichen Nährböden. *Planta* **25**, 502—529.
- PROKOFIEVA-KORCHAGINA, V. P., 1954: Recherches embryologiques sur *Caragana arborescens* L. (en russe). *Bjull. moskovsk. obshch. Ispijtatel Prirody, Otdel biol.* **59**, 69—78.
- PROSINA, M. N., 1928: Verhalten der Chondriosomen bei der Pollenentwicklung von *Larix Dahurica* Turcz. *Z. wiss. Biol.* **7**, 114—134.
- PY, G., 1929: Recherches cytologiques sur l'assise nourricière des grains de pollen d'*Helleborus foetidus*, *Euphorbia Sauliana* et *E. Peplus*. *C. r. Acad. Sci.* **189**, 1298—1300.
- 1930: Sur l'évolution des constituants cytoplasmiques pendant la formation des grains de pollen et de l'assise nourricière chez *Senecio vulgaris*. *C. r. Acad. Sci.* **190**, 888—890.
- RACIBORSKI, M., 1893: Über die Chromatophilie der Embryosackkerne. *Bull. Int. Acad. Sci. Cracovie, No. 7 (résumé 56)*, 247—258.
- RAJU, M. V. S., 1956: Embryology of the Passifloraceae. I. Gametogenesis and seed development of *Passiflora calcarata* Mast. *J. Indian Bot. Soc.* **35**, 126—138.
- RAMAN, S. S., 1954: Gametogenesis and fertilization of *Stephegyne parviflora* Korth. *Agta Univ. J. Res. Sci.* **3**, 343—348.
- REYNOLDS, L. G., 1924: The female gametophyte of *Microcycas*. *Bot. Gaz.* **77**, 391—403.
- ROBERTSON, A., 1904: Studies in the morphology of *Torreya californica*. II. The sexual organs and fertilization. *New Phytol.* **3**, 205—216.
- ROPER, R. B., 1952: The embryo sac of *Butomus umbellatus* L. *Phytomorphology* **2**, 61—74.
- ROWLANDS, D. G., 1954: Control of mitotic activity. *Nature* **173**, 828—829.
- RUHLAND, W., und K. WETZEL, 1924: Der Nachweis von Chloroplasten in den generativen Zellen von Pollenschläuchen. *Ber. dtsh. Bot. Ges.* **42**, 3—14.
- SACHAR, R. C., 1955: The embryology of *Argemone mexicana* L. *Phytomorphology* **5**, 200—218.
- SAWYER, M. L., 1917: Pollen tubes and spermatogenesis in *Iris*. *Bot. Gaz.* **64**, 159—164.
- SAX, K., 1916: Fertilization in *Fritillaria pudica*. *Bull. Torrey bot. Club* **43**, 505—522.
- 1935: The effects of temperature on nuclear differentiation in microspore development. *J. Arnold Arbor.* **16**, 301—310.
- 1937: Effects of variations in temperature on nuclear and cell division in *Tradescantia*. *Amer. J. Bot.* **24**, 218—225.
- 1942: Diffusion of gene products. *PNAS* **28**, 303—306.
- and L. HUSTED, 1936: Polarity and differentiation in microspore development. *Amer. J. Bot.* **23**, 606—609.
- SAXTON, W. T., 1909: Preliminary account of the ovule, gametophytes and embryo of *Widdringtonia cupressoides*. *Bot. Gaz.* **48**, 161—178.
- 1910: Contribution to the life history of *Widdringtonia cupressoides*. *Bot. Gaz.* **50**, 31—48.
- SCHAFFNER, J. H., 1901: A contribution to the life history and cytology of *Erythronium*. *Bot. Gaz.* **31**, 369—387.

- SCHNARF, K., 1933: Handbuch der Pflanzenanatomie. Embryologie der Gymnospermen. Berlin.
- 1937: Studien über den Bau der Pollenkörner der Angiospermen. *Planta* 27, 450—465.
- 1939: Variation im Bau des Pollenkornes der Angiospermen. *Tab. Biol. Periodicae* 27, 72—89.
- 1941: Vergleichende Cytologie des Geschlechtsapparates der Kormophyten. *Monogr. z. vergleich. Cytolog.*, Vol. I, Berlin.
- SCHOCH M., 1920: Entwicklungsgeschichtlich-cytologische Untersuchungen über die Pollenbildung und Bestäubung bei einigen *Burmannia*-Arten. Diss. Zürich, 94 p.
- SCHÜRHOFF, P. N., 1921: Über die Teilung des generativen Kernes vor der Keimung des Pollenkorns. *Arch. Zellforsch.* 15, 145—159.
- SEDGWICK, P. J., 1924: Life history of *Encephalartos*. *Bot. Gaz.* 77, 300—310.
- SEIFRIZ, W., 1921: Observations on some physical properties of protoplasm by aid of microdissection. *Ann. Bot.* 35, 269—296.
- SHADOWSKY, A., 1926: Der Antipodial-Apparat bei Gramineen. *Flora* 120, 344—370.
- SHARMA, Y. M. L., 1939: Gametogenesis and embryology of *Tamarix ericoides* Rottl. *Ann. Bot., N. S.* 3, 861—870.
- SHIMAMURA, T., 1928: On the formation of proembryon of *Ginkgo biloba* L. *Bot. Mag. Tokyo* 42, 71—76.
- 1934: Zur Cytologie des Befruchtungsvorganges bei *Cycas* und *Ginkgo* unter Benutzung der Feulgenschen Nuclearreaktion. *Cytologia* 6, 465—474.
- 1956: Cytochemical studies on the fertilization and proembryon of *Pinus thunbergii* (Jap. rés. angl.) *Bot. Mag. Tokyo* 69, 824—830.
- SILVA, B. L. T. DE, and M. S. TAMBIAH, 1952: A contribution to the life history of *Cycas rumphii*. *Ceylon J. Sci. (A)*, 12, 223—244.
- SINGH, Dalbir, 1955: Embryological studies in *Cucumis melo* L. var. *pubescens* Willd. *J. Indian bot. Soc.* 34, 72—78.
- SMITH, B. W., 1956: *Arachis hypogaea*. Normal megasporogenesis and syngamy with occasional single fertilization. *Amer. J. Bot.* 43, 81—89.
- SMITH, F. G., 1910: Development of the ovulate strobilus and young ovule of *Zamia floridana*. *Bot. Gaz.* 50, 128—141.
- SMITH, F. H., 1942: Development of the gametophytes and fertilization in *Camassia*. *Amer. J. Bot.* 29, 657—663.
- SOUÈGES, E. C. R., 1935: La cellule embryonnaire. *Actualités Scientifiques et Industrielles*, Paris, 208.
- SPRECHER, A., 1907: *Le Ginkgo biloba*. Genève.
- STEFFEN, K., 1951: Zur Kenntnis des Befruchtungsvorganges bei *Impatiens glandulifera* Lindl. *Cytologische Studien am Embryosack der Balsamineen*. *Planta* 39, 175—244.
- 1953: Zytologische Untersuchungen an Pollenkorn und Pollenschlauch. *Flora* 140, 140—174.
- STENAR, H., 1932: Studien über die Entwicklungsgeschichte von *Nothoscordum fragrans* Kunth. und *N. striatum* Kunth. *Svensk Bot. Tidskr.* 26, 24—44.
- STOPES, M. C., and K. FUJII, 1906: The nutritive relations of the surrounding tissues to the archegonia of Gymnosperms. *Beih. Bot. Cbl.* 20, 1—24.
- STRASBURGER, E., 1878: Über Befruchtung und Zellteilung. *Jena. Z. Naturw.* 11, 435—536.
- 1884: Neuere Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen als Grundlage für eine Theorie der Zeugung. Jena.
- 1908: Chromosomenzahlen, Plasmastrukturen, Vererbungsträger und Reduktions- teilung. *Jb. wiss. Bot.* 45, 479—568.
- SUBRAMANYAM, K., 1948: A contribution to the embryology of *Wahlenbergia gracilis* Schrad. *Proc. nat. Inst. Sci. India* 14, 359—366.
- SUGIHARA, Y., 1938: Fertilization and early embryogeny of *Chamaecyparis pisifera* S. Z. *Sci. Rep. Tohoku Uni.*, 4^{ème} Sér. 13, 9—13.
- 1956: The embryogeny of *Cupressus funebris* Endlicher. *Bot. Mag.* 69, 820—821.
- SUITA, N., 1937 a: On the mature pollen grains in Angiosperms. *Bot. Mag.* 51, 524—529.
- 1937 b: Studies on the β gametophyte in Angiosperm. II. Differentiation and behaviour of the vegetative and germinative elements in the pollen grains of *Crinum*. *Cytologia, Fujii jub. vol.*, 920—933.
- SULBHA, 1954: The embryology of *Iphigenia indica* Kunth. *Phytomorphology* 4, 180—191.

- SVESHNIKOVA, I. N., 1941: Analysis of nucleus development and changes of the thymonucleic acid in ontogenesis. C. r. Akad. Sci. U. R. S. S. **32**, 216.
- SWAMY, B. G. L., 1948: Contributions to the life history of a *Cycas* from Mysore (India). Amer. J. Bot. **35**, 77—88.
- SWIFT, H., 1950: The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. Proc. nat. Acad. Sci. **36**, 643—654.
- TAHARA, M., 1921: Cytologische Studien an einigen Kompositen. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo, Art. 7, **43**, 1—53.
- TAYLOR, J. H., and R. D. McMASTER, 1954: Autoradiographic and microphotometric studies of DNA during microgametogenesis in *Lilium longiflorum*. Chromosoma **6**, 489—521.
- THOMPSON, R. B., 1909: On the pollen of *Microcachrys tetragona*. Bot. Gaz. **47**, 26—29.
- THOMPSON, W. P., 1916: The morphology and affinities of *Gnetum*. Amer. J. Bot. **3**, 135—184.
- TIAGI, Y. D., 1954: Studies in the floral morphology of *Opuntia Dillenii* Haworth. I. Development of the ovule and gametophytes. Bot. Not., No. 4, 343—356.
- TISCHLER, G., 1951: Handbuch der Pflanzenanatomie. Allgemeine Pflanzenkaryologie. Kernteilung und Kernverschmelzung 2, Berlin.
- TRANKOWSKY, D. A., 1931: Zytologische Beobachtungen über die Entwicklung der Pollenschläuche einiger Angiospermen. Planta **21**, 1—18.
- TREUB, M., 1881: Recherches sur les Cycadées. Ann. Jard. Bot. Buitenzorg **2**, 32—53.
- TSCHERMACK-WOESS, E., 1956: Notizen über die Riesenkerne und „Riesenchromosomen“ in den Antipoden von *Aconitum*. Chromosoma **8**, 114—134.
- TSCHERNOJAROW, M. W., 1915: Les nouvelles données dans l'embryologie du *Myosurus minimus* L. Mém. Soc. Nat. Kiev **24**, 95—170.
- 1926: Befruchtungserscheinungen bei *Myosurus minimus*. Öst. bot. Z. **75**, 197—206.
- VASILEVA, O. A., 1954: Les modifications des acides nucléiques lors de la fécondation chez le Pois (en russe). Dokl. Akad. Nauk. S. S. S. R. **95**, 163—166.
- VAZART, B., 1955: Contribution à l'étude caryologique des éléments reproducteurs et de la fécondation chez les Végétaux angiospermes. Rev. Cytol. et Biol. végét. **16**, 209—390.
- 1956: A propos du gamétophyte du *Scilla autumnalis* L., Rev. Gén. Bot. **63**, 281—292.
- VAZART, J., 1957: Etude cytologique de la Balsamine. I. Généralités et différenciation du pollen. Rev. Cyt. et Biol. végét. **18**, 197—228.
- VENDRELY, R., and C. VENDRELY, 1956: The results of cytophotometry in the study of the deoxyribonucleic acid (DNA) content of the nucleus. Int. Rev. Cytol. **5**, 170—197.
- VENKATESWARLU, J., and B. ATCHUTARAMAMURTI, 1955: Embryological studies in Boraginaceae. I. *Coldenia procumbens* Linn. J. Indian bot. Soc. **34**, 235—247.
- and H. MAHESWARI DEVI SRIMATHI, 1955: Embryological studies in the Compositae. I. *Launaea pinnatifida* Cass. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B, **41**, 38—46.
- WAGNER, N., 1917: Sur le chondriome et les plastides pendant la formation du pollen chez *Veratrum album* L. var. *Lobelianum* Bernh. (en russe, résumé français). Mém. Soc. Nat. de Kiev **25**, 1—26.
- WANG, F. H., 1948: Life history of *Keteleeria*. I. Strobili, development of the gametophytes and fertilization in *Keteleeria evelyniana*. Amer. J. Bot. **35**, 21—26.
- WATERKEYN, L., 1954: Etudes sur les Gnétales. I. Le strobile ♀, l'ovule et la graine. La Cellule **56**, 105—147.
- WEBER, E., 1929: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über die Gattung *Allium*. Bot. Arch. **25**, 1—44.
- WEBER, H. J., 1897 a: Peculiar structures occurring in the pollen tube of *Zamia*. Bot. Gaz. **23**, 453—459.
- 1897 b: The development of the antherozoids of *Zamia*. Bot. Gaz. **24**, 16—22.
- 1897 c: Notes on the fecundation of *Zamia* and the pollen tube apparatus of *Ginkgo*. Bot. Gaz. **24**, 225—235.
- 1901: Spermatogenesis and fecundation of *Zamia*. U. S. Dept. Agr., Bureau Pl. Ind. Bull., No. 2, 92 p.
- WEFELSCHIED, G., 1911: Über die Entwicklung der generativen Zelle im Pollenkorn der dicotylen Angiospermen. Diss. Bonn.
- WELSFORD, E. S., 1914: The genesis of the male nuclei in *Lilium*. Ann. Bot. **28**, 265—270.
- WENINGER, W., 1918: Fertilization in *Lilium*. Bot. Gaz. **66**, 259—269.

- WEST, G., 1930: Cleistogamy in *Viola Riviniana* with special reference to its cytological aspects. Ann. Bot. **44**, 87—109.
- WITMER, S. W., 1937: Morphology and cytology of *Vallisneria spiralis* L., Amer. Midland. Nat. **18**, 309—327.
- WOYCICKI, Z., 1926: Grains de pollen, tubes polliniques et spermatogénèse chez *Haemanthus Katharinae*. Bull. Acad. Polon. Sci. et Lettr. Sér. B, 177—188: 535—557.
- WULFF, H. D., 1933: Beiträge zur Kenntnis des männlichen Gametophyten der Angiospermen. Planta **21**, 12—50.
- 1934: Lebendfärbungen mit chrysoidin. Planta **22**, 70—79.
- 1939: Die Pollenentwicklung der Juncaceen nebst einer Auswertung der embryologischen Befunde hinsichtlich einer Verwandtschaft zwischen den Juncaceen und Cyperaceen. Pringsh. Jb. wiss. Bot. **87**, 533—556.
- und M. LINDSCHAU, 1936: Über die Kernplasmarelation in den generativen Zellen der Angiospermen-Pollenkörner. Planta **25**, 151—154.
- and P. MAHESHWARI, 1938: The male gametophyte of angiosperms (a critical review). J. Indian Bot. Soc. **17**, 117—140.
- WUNDERLICH, R., 1937: Zur vergleichenden Embryologie der Liliaceae-Scilloideae. Flora **32**, 48—90.
- WYLIE, R. B., 1923: Sperms of *Vallisneria spiralis*. Bot. Gaz. **75**, 191—202.
- 1941: Some aspects of fertilization in *Vallisneria*. Amer. J. Bot. **28**, 169—174.
- YOUNG, M. S., 1910: The morphology of the Podocarpaceae. Bot. Gaz. **50**, 81—99.