

Les plastides et le chondriome pendant la gonogenèse¹⁾ dans le *Gagea lutea* L.

(Planches X—XI).

Par

STEFAN KRUPKO.

Le but de mon travail fut d'examiner la participation du plasme masculin à la fécondation dans le *Gagea lutea* L., signalée déjà en 1912 dans le travail de Němec (6). En reprenant cette question il m'a paru utile d'étudier avant tout les éléments structuraux, les plus importants du plasme, pendant le développement du pollen de cette plante.

En me rattachant aux travaux récents, ayant pour objet la question d'individualité des plastides, c'est-à-dire à ceux de Noack (7) et de l'école le contredisant, il est indispensable d'attacher une attention spéciale à la structure des constituants du plasme dans les moments initiaux d'évolution des cellules méristématiques, archesporiales, ou de celles qui en dérivent. Lewitsky (4), Wagner (10), Guilliermond (2), Krjatschenko (3) dans leurs publications sur le pollen de *Liliaceae* et Dangeard (1) dans son travail sur *Iris*, insistent aussi sur les périodes initiales. Si nous comparons leurs observations avec les faits correspondants à l'évolution du pollen de *Gagea lutea*, nous trouverons des différences très nettes dans les détails morphologiques, bien que les objets et les méthodes soient semblables.

Dans mes recherches j'ai fixé le matériel suivant deux méthodes: celle de Benda et celle de Regaud IV.

C'est l'aspect du stade le plus jeune de l'évolution du chondriome et des plastides, dans le *Gagea lutea*, que représente la figure

¹⁾ On emploie ce terme dans le propre sens de Lewitsky (5).

n. 1 (pl. X), dessinée d'après la préparation fixée par la méthode de Benda. Nous y voyons une cellule mère, dans laquelle on distingue la coupe du noyau pendant le stade du spirème présynaptique. Dans le plasme nous apercevons de nombreuses granulations (fig. 1 a) se colorant faiblement par l'hématoxyline. En outre nous pouvons distinguer des corpuscules plus grands mais moins nombreux (fig. 1 b) dont la forme diffère bien des précédents. Nous ne pouvons établir pour ces derniers (type b.) aucune coloration égale. Parmi eux se trouvent des éléments colorés à peu près aussi faiblement que les granulations du type „a“, et d'autres, colorés plus fortement — avec toutes les gradations de la teinte.

D'autre part nous remarquons de grandes différences dans les dimensions de ces (b) formations. On voit parmi elles de courts bâtonnets, dont la longueur est au moins quatre fois plus grande que le diamètre des granules du type „a“, et dont la largeur est à peu près la même que le diamètre précité. On voit en outre des corpuscules plus grands, irrégulièrement sphériques, de dimensions variées. Une partie de ces derniers contient les vésicules résultant du dénoircissement, par l'eau oxygénée, des substances grasses colorées par acide osmique. Cette opinion est confirmée par la comparaison avec les préparations traitées par le même fixateur et sans dénoircissement, colorées par la fuchsine ainsi que par l'action du Sudan III, Alcanna, et Alcanna + vert du jod + acide acétique (Raciborski 8) sur les cellules mères vivantes, extraites par pression d'une anthère dans une goutte d'eau. Ce ne sont alors que des plastides sécrétant des substances grasses. Toute une série de formes intermédiaires les rattache aux petits corpuscules du même type et aux courts bâtonnets. Ils correspondent alors à ceux de la catégorie des plastides, dans le sens du Noack (7) et, au chondriome actif dans le sens de Guilliermond (2). Cependant, les granulations du type „a“, qui diffèrent bien des plastides par leur taille, correspondent au chondriome inactif de Guilliermond. Ce qui est frappant dans ce stade, c'est l'absence des formes en biscuits et d'autres caractérisant les aspects de la division. Cependant, nous voyons parfois des filaments unissant les deux plastes (fig. 1 c) ou seulement des excroissances filiformes qui sont probablement des parties de plastes détachées. Outre les graisses, présentant au moment de leur formation des vésicules au sein des plastes, nous pouvons apercevoir sur la même figure 1 a, les graisses libres, en état de gouttelettes. Après leur décoloration par l'eau oxygénée, elles ont l'aspect de grosses lacunes qui prennent souvent une teinte grise. La péri-

phérie de quelques unes d'entre elles est foncée, après la coloration par d'hématoxyline. On trouve cependant des cas, où ces bordures sont très nettes, mais souvent interrompues et d'une structure granuleuse.

La figure 2 et 3 (pl. X) représente le chondriome et les plastes pendant les jeunes prophases dans les cellules mères fixées par la méthode Regaud IV. Le stade antérieur est représenté par la figure 2. En comparant la fig. 2 b à la fig. 1, on constate dans cette première les plastides sensiblement grossis en forme de bâtonnets et colorés différemment. Le nombre du chondriome granuleux est bien augmenté. Il est coloré beaucoup plus faiblement que les plastides. En outre on distingue aussi bien sur les figures 2 & 3 (le stade un peu ultérieur), de nombreuses vacuoles (v). A la fig. 3 nous voyons les plastides en forme de bâtonnets, en nombre encore plus élevé qu'à la fig. 2. Nous y voyons aussi (fig. 3 b₁) des formes en massues. La longueur des formations précitées est beaucoup plus grande qu'à la figure précédente (2). Dans tout le plasme se trouve un chondriome granuleux, un peu plus faiblement coloré (fig. 3 a). Il me semble que le degré de coloration, si important pour Noack et Guilliermond, ne peut servir de critérium suffisant pour la distinction de ces deux catégories de formations. J'ai rencontré dans mes préparations, parmi les corpuscules de la catégorie des plastides, tous les degrés de coloration, jusqu'à ceux qui caractérisent le chondriome inactif.

Les cellules des parois et du connectif ainsi que les cellules nourricières du pollen renferment, dans le stade correspondant à la fig. 1, un nombreux chondriome granuleux, ainsi que d'abondants plastides de différentes formes. Ces plastides ont la forme de corps immenses, irrégulièrement globuleux, des chondriocontes avec deux „têtes“ ou enfin des massues ou des bâtonnets d'un volume considérable. Les plastides des parois et du connectif produisent de l'amidon et, les plastides des cellules nourricières du pollen — les substances grasses. Les cellules mères, les tétrades et les jeunes gones presque détachés renferment des plastides, produisant les substances grasses. Ces plastides sont encore plus abondants dans les tétrades. Nous pouvons constater ce fait le plus facilement sur les préparations fixées par la méthode de Benda et colorées par la fuchsine et par le bleu de toluidine (fig. 4 pl. pl. XI). Dans la cellule mère, au stade de la prophase, on voit les grands plastides, colorés en rouge par la fuchsine et les globules de graisse d'une grandeur considérable. Dans le même matériel nous pouvons trouver toute

une série de tableaux confirmant et complétant les figures décrites auparavant.

Dans les cellules mères de la même période de développement, nous voyons différentes phases de l'activité productrice des plastides. A l'étape suivante de la sécrétion des substances grasses, on voit de pareils corps, renfermant la graisse, se grouper en plus ou moins grandes agglomérations. A l'origine on distingue nettement dans ces agglomérations les limites des stroma particuliers (fig. 5 pl. XI).

Le tableau que représente la figure 4 en comparaison avec les fig. 29—31 de la publication de Raciborski (8) et en rapport avec le texte des observations de cet auteur sur le *Gagea arvensis* et *Gagea lutea* (l. c. p. 12 et 14), permet de conclure, que dans un pareil cas, nous avons devant nous les élaïoplastes. Ces derniers sont semblables à ceux que Raciborski a observés dans l'épiderme des ovaires de ces plantes. Nous devons faire ici une restriction. L'état actuel des méthodes dont nous nous sommes servis nous permet d'établir avec certitude que les élaïoplastes de la cellule mère appartiennent à la catégorie des plastides et qu'ils ne se forment pas librement aux dépens du plasme, comme l'a affirmé Raciborski, d'accord avec l'état de la technique cytologique de son temps (l. c. p. 18—20). Ils proviennent par l'évolution, de plus petits plastides non différenciés, c'est à dire du chondriome „actif“ comme l'appelle Guilliermond. J'ai vu sur mes préparations les stades de transition depuis de petits bâtonnets ou corps arrondis renfermant des globules de graisse noire, jusqu'aux formes représentées par les figures 4 et 5.

Les plastides des cellules mères, des diades et des tétrades produisent uniquement des substances grasses. Après avoir traité les cellules mères vivantes, extraites par la pression de l'anthère par le réactif iodo-ioduré, j'ai pu trouver dans quelques-unes d'entre elles, des grains d'amidon. Ces derniers étaient très petits, à peine visibles (grossissement de 1500 f.) et se présentaient dans deux ou trois plastides. Ce phénomène relatif à la production des substances grasses, est très rare et peut être accidentel. Je n'ai jamais constaté la présence d'amidon sur le matériel fixé depuis les stades des cellules mères jusqu'aux tétrades. L'action de l'alcanna + vert d'iode + acide acétique sur les cellules-mères et tétrades vivantes a donné des tableaux (fig. 6 pl. XI) assez semblables aux tableaux précités, obtenus par le matériel fixé (fig. 1, 4, 5). Cependant il faut remarquer que la fixation par la méthode de Benda donne parfois des résultats pires que par la méthode Regaud, et que cette fixation a quel-

ques défauts, signalées déjà par Guilliermond (l. c.). Cette méthode donne, en effet, une mauvaise fixation des petits corpuscules du chondriome (fig. 4 et 5) ou parfois n'en révèle pas du tout. On doit constater que Lewitsky (l. c.), qui a étudié le développement du pollen chez Liliacées, n'a pas observé des stades plus précoces que la diakinèse. Dans les stades ultérieurs le caractère du chondriome (dans le sens de Lewitsky) correspond plus ou moins à mes observations personnelles. Lewitsky ne dit rien également sur l'activité productrice dans les stades initiaux. Wagner (10) dans sa publication (que je connais seulement par citations chez Krjatchenko et chez Guilliermond), affirme que le chondriome des cellules mères, chez *Veratrum album*, au stade du synapsis (cela correspond plus ou moins à mes fig. 1 et 2) apparaît sous formes de grains très petits, se colorant faiblement et disparaissant rapidement. Dans le même stade, Wagner constate l'existence de corpuscules vésiculeux peu nombreux. Chez le *Gagea lutea* L. dans la période indiquée et dans les suivantes, nous voyons les deux catégories de formations, comme je les ai décrites auparavant (fig. 1, 2 pl. X) Les plus grosses produisent les substances graisseuses, les plus petites (le chondriome), ne disparaissent jamais.

En ce qui concerne les détails des éléments producteurs, Krjatchenko (l. c. p. 197) nous fournit des faits tout à fait semblables. Il ne souligne pas les différences de dimensions et de coloration des mitochondries granuleuses et des plastides.

Guilliermond (l. c. p. 29) a établi dans les cellules mères chez *Lilium candidum*, dans le stade du synapsis, parmi les formes exclusivement granuleuses, les deux éléments constituant le chondriome actif et inactif. Ils ne diffèrent que dans les dimensions et dans la coloration des granules. Ce que nous voyons chez *Lilium candidum* (l. c. pl. 7 fig. 2) diffère visiblement de mes figures correspondantes (fig. 1, 2, 3). Nous n'apercevons pas chez *Lilium candidum* de différences si frappantes dans la grandeur des deux catégories des éléments granuleux. Dans le chondriome actif, nous ne voyons pas de bâtonnets (les fig. 2 et 3 de mon travail) ainsi que nous ne savons rien sur les formes à l'action sécrétoire (fig. 1, 4, 5) ainsi que de leur propre activité dans ce stade. Mes observations sur l'évolution ultérieure de ces deux catégories d'éléments du plasme dans les cellules mères de *Gagea lutea* sont plus ou moins identiques à celles de Guilliermond et de Krjatchenko. Pendant les prophases et le commencement de la métaphase, les éléments composant le type actif augmentent leurs dimensions. Les bâtonnets et les massues

deviennent de plus en plus gros; le nombre de ces deux éléments augmente également. Au stade de la plaque équatoriale, de la division réductrice, les éléments du chondriome et des plastides ne présentent dans leur distribution aucune régularité constante; cependant ils se rassemblent, le plus souvent, sur les pôles du fuseau, ou ils forment deux coiffes denses. Il arrive pourtant, qu'une pareille coiffe s'élargisse vers l'équateur, et si bas que seule une petite zone du plasme autor de celui-ci reste libre. Contrairement à ce qu'ont observé Guilliermond (l. c.) et Lewitsky (l. c.), je n'ai pas vu, au stade de la plaque équatoriale, les pôles libres du chondriome et du plastides. Dans mes préparations, le groupement des plastides et du chondriome au stade de la plaque équatoriale ressemblent d'avantage aux dessins de Dangeard (1 fig. A, pag. 3), malgré que ces derniers sont probablement schématiques.

Les jeunes tétrades renferment le chondriome granuleux et plusieurs formes en bâtonnets très allongés. Dès la métaphase, au stade des tétrades, on remarque parfois la segmentation des éléments allongés en granules. Ce procès conduit sans doute au rapetissement considérable des éléments structuraux du plasme. Nous trouvons en effet dans les gones, à peu près séparés, une prédominance sensible de petits éléments. Immédiatement après la division du noyau dans les gones et après la différenciation de la cellule génératrice, commence de nouveau l'activité des plastides. Pendant cette deuxième période d'activité, ce sont des amyloplastés qui se différencient. L'élaboration des substances grasses n'a jamais lieu dans le pollen déjà formé. Nous trouvons uniquement une quantité infinitésimale de graisses, en état de globules libres.

Pendant la deuxième période d'activité, le chondriome se compose de formations granuleuses, assez nombreuses, se colorant habituellement plus faiblement. La catégorie des plastides renferme de petits bâtonnets se colorant fortement et les grands corps irrégulièrement globuleux portant parfois des excroissances courtes et minces. Parmi ces plastides arrondis, il y a des formes nombreuses avec des „vésicules“ (bagues) à leur intérieur. Ces vésicules correspondent aux petits grains d'amidon, après leur traitement par le réactif iodo-ioduré. Il faut remarquer que dans le pollen, qui renferme encore une petite quantité de grains très fins d'amidon, ces derniers ne se colorent que très difficilement dans le matériel fixé par la méthode Regaud. Mais on peut également observer des formes initiales de grains d'amidon, sur les plastés au stade suivant, quand l'amidon paraît en grande masse et quand il se colore facilement.

La production de l'amidon en masse a lieu tout de suite après les stades initiaux de ce dernier et évolue intensivement. En peu de temps, tout le plasmе végétatif du pollen est rempli d'un très grand nombre de grains d'amidon composés. Ces derniers sont tellement nombreux qu'ils pressent le plasmе; celui-ci constitue enfin une sorte de réseau aux grandes mailles, qui entoure le noyau végétatif et la cellule génératrice. On trouve encore, dans ce réseau, des formations mitochondriales ainsi que des plastides en forme de courts bâtonnets. La membrane du pollen est tapissée par une couche plasmatique, dans laquelle le chondriome et les plastides, qui ne produisent ici jamais d'amidon, sont accumulés, en assez grand nombre.

L'aspect des plastides de ce stade, ainsi que du stade primitif de la production de l'amidon (fig. 8 pl. XI) chez le *Gagea lutea*, diffère bien de l'aspect du stade correspondant chez le *Lilium candidum* (Guilliermond, l. c.). Les éléments de ce stade diffèrent également des éléments du pollen mûr chez le *Lilium croceum* Chaix. (Krjatchenko, l. c., p. 201, pl. XI phot. 11).

Chez le *Gagea lutea*, au commencement de la production de l'amidon, les plastides sont nettement différents du chondriome. Pendant l'apparition de l'amidon en masse, il y a encore des plastides inactifs en forme de grands bâtonnets ou autres. Chez le *Lilium candidum* nous ne trouvons pas une pareille distinction.

Le plasmе de la cellule génératrice, dès le commencement de la production de l'amidon dans le pollen, présente un grand intérêt. Ses éléments structuraux y sont très nombreux et tellement compacts, que c'est avec une certaine difficulté, qu'on peut les dessiner. Ils se colorent plus faiblement, que les mêmes éléments du plasmе végétatif.

Les propriétés précitées de ces éléments ainsi que la densité du plasmе dans la cellule génératrice, augmentent le contraste de cette dernière (malgré qu'elle soit privée de membrane) sur le fond du plasmе végétatif.

Les coupes périphériques de la cellule génératrice servent mieux pour l'étude précis des éléments figurés, car ils y sont moins denses. Ces coupes nous démontrent d'une manière irréfutable, que la différenciation des éléments figurés du plasmе des cellules génératrices, est plus grande chez *Gagea lutea* que chez *Lilium candidum* (l. c., fig. 3 du texte). Nous constatons ce fait, pour le stade jeune (correspondant au commencement de la production de l'amidon dans le plasmе végétatif) aussi bien que pour le pollen définitivement différencié et plein d'amidon (fig. 9). A côté du chondriome granuleux

nous distinguons des éléments plus grands et, parfois plus fortement colorés, appartenant à la catégorie des plastides. Les formes un peu allongées et celles en courts bâtonnets n'y sont pas rares. Aux mêmes stades de la cellule génératrice, nous trouvons la segmentation de formes très allongées en granules.

W. Ruhland et K. Wetzl (9), ayant démontré la présence de la chlorophylle dans la cellule génératrice, j'ai voulu, de mon côté, examiner le caractère des plastides dans celle de *Gagea lutea*. Mais la solution 1% d'AgNO₃, dont se sont servi les auteurs cités, n'a noirci les éléments de la cellule génératrice, ni dans le pollen vivant, ni dans les tubes polliniques, cultivés en milieu nutritif. L'application du réactif iodo-ioduré ne m'a pas permis non plus de mettre en évidence de l'amidon dans la cellule génératrice ni dans le pollen ni dans le tube pollinique.

Les conclusions.

1. Les cellules mères du pollen et le plasme végétatif du pollen définitivement différencié chez le *Gagea lutea* renferment les deux catégories des éléments figurés: des petites formations inactives du chondriome, qui sont souvent faiblement colorées, et de plus gros éléments actifs, les plastides, plus fortement colorés. Il n'y a pas de preuves morphologiques suffisantes pour qu'on puisse affirmer l'indépendance absolue entre ces deux catégories d'éléments, comme il n'y en a pas non plus de suffisantes et de certaines pour affirmer l'existence de formes transitoires.

2. Les plastides ont deux périodes d'activité: la période de la sécrétion des substances grasses (cellules mères — jusqu'aux jeunes gones) et la période de la production de l'amidon. Nous pouvons constater le commencement de cette dernière période, tout de suite après le détachement de la cellule génératrice. Les elaioplastes sont actifs pendant la première période et les amyloplastides dans la deuxième.

3. Le plasme de la cellule génératrice du pollen de *Gagea lutea* renferme des éléments structuraux qui sont, malgré leur très petite dimension, différenciés en deux catégories.

J'ai exécuté le présent travail à l'Institut de Botanique de l'Université de Varsovie sous la direction du Professeur Zygmunt Wóycicki. J'adresse mes plus vifs remerciements et l'expression de ma profonde reconnaissance à M^r le Prof. Z. Wóycicki, qui m'a prodigué ses conseils et toutes les marques de sa bienveillance.

J'exprime également à M^{me} A. Luxemburg, assistante à l'Institut de Botanique, ma vive reconnaissance pour l'aide qu'elle a bien voulu me donner au cours de mes recherches.

A mon Chef, M^r le Prof. Bolesław Hryniewiecki, j'adresse mes meilleurs remerciements pour l'appui constant qu'il m'a prêté et qui a rendu possible l'exécution de ce travail.

Bibliographie.

1. Dangeard, P. A. „Sur la structure de la cellule chez les *Iris*“. Comp. R. de l'Ac. d. Sc. v. CLXXV. 1, Paris, 1922.
2. Guillaumond, A. „Recherches sur l'évolution du chondriome pendant le développement du sac embryonnaire et des cellules mères des grains du pollen dans les Liliacées etc.“. Ann. des Sc. Nat., série X., t. VI, Paris, 1924.
3. Krjatchenko Douze, D. „De l'activité des chondriosomes pendant le développement des grains du pollen et des cellules nourricières du pollen dans *Lilium croceum* Chaix“. Rev. gén. de Bot., t. XXXVII, livr. Mai, 1925.
4. Lewitsky, G. „Ueber die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen“. Ber. d. D. B. G., t. XVIII, 10, 1911.
- 5) — „Die Chondriosomen in der Gonogenese bei *Equisetum palustre* L.“. Arch. f. wiss. Bot., t. I, 2, 1925.
- 6) Němec, B. „Zúrodnění u Křivatce“. Rozpr. Ces. Ak., Ročn. XXI, třída II, Praha, 1912.
- 7) Noack, K. „Untersuchungen über die Individualität der Plastiden bei Phanerogamen“. Zeitschrift f. Bot., 1921.
- 8) Raciborski, M. „Elajoplasty Liljowatych“. Rozpr. Wydz. mat. przyr. Ak. Um., t. XXVII, Kraków, 1894.
- 9) Ruhland, W. u. Wetzels, K. „Der Nachweis von Chloroplasten in den generativen Zellen von Pollenschläuchen“. Ber. d. D. B. G., 1924.
10. Wagner, W. „Sur les chondriomes et les plastides pendant la formation du pollen chez *Veratrum album* L.“. Mém. de la Soc. des Nat. de Kiev, t. XXV, 1915.

Explication des figures.

Toutes les figures sont dessinées à l'imm. $\frac{1}{12}$ de Zeiss, oc. comp. 12 Fig. 6 — av. oc. comp. 8, fig. 7 — av. imm. apochr. de Zeiss et oc. comp. 12. Fig. 1, 4, 5 — sont dessinées des préparations fixées par la méthode Regaud et colorées par l'hématoxyline ferrique de Heidenhain. L'épaisseur des coupes: fig. 2, 3, 4, 5, 8, 9 = 3.5 μ , fig. 1, 7 = $\pm 5 \mu$.

Planche X.

Fig. 1. La préparation décolorée par l'eau oxygénée et colorée par l'hématoxyline ferrique de Heidenhain. Cellule mère du pollen. Le noyau au stade du spirème présynaptique. Dans le plasm — les grandes formations de couleur grise (d) — les globules de graisse. Les plastides (b) de la forme de bague, sécrétant les substances grasses. Nombreux et fin chondriome. Les plastides joints (c) par des filaments.

Fig. 2. Les cellules mères dans les jeunes prophases. Les plastides (b) plus grands et plus longs que dans la figure précédente. Le chondriome (a). Les vacuoles (v).

Fig. 3. La cellule mère dans une prophase un peu ultérieure que celle dans la figure 2. Les plastides sont encore grossis (b). Les plastides de la forme de masses (b'). Le chondriome (a). Les vacuoles (v).

Fig. 4. Colorée par la fuchsine et par le bleu de toluidine. La cellule mère du pollen. Les elaioplastes. Dans des elaioplastes rouges — des globules de graisse, noircis par l'acide osmique.

Fig. 5. Colorée comme la fig. 4. La cellule mère du pollen. Réunion des elaioplastes. Dans les agglomérations on voit les stroma particuliers.

Fig. 6. L'action d'alcanna + vert d'iode + acide acétique sur les cellules mères vivantes. Nucléole vert (N). Les globules de graisses, colorés en rouge par l'alcanna ont leur périphérie rose claire (d). Les vacuoles (v).

Planche XI.

Fig. 7. Le gone à peu près séparé. Les petits plastides (b) et le chondriome (a). Les vacuoles (v).

Fig. 8. Le pollen au commencement de la production de l'amidon dans le plasme végétatif. Dans le plasme de la cellule génératrice — deux catégories des éléments.

Fig. 9. Une des coupes finales (c'est pourquoi le contenu est plus distrait) de la cellule génératrice du pollen, dans laquelle le plasme végétatif est rempli d'amidon (le pollen complètement formé). Dans la cellule génératrice: les formations de la catégorie des plastides (b) et le chondriome (a).

(Wpłynęło do redakcji 24 marca 1926 r.).



