Etude biométrique des stomates et des grains de pollen comme indicateurs du degré de polyploïdie chez Anthoxanthum alpinum Löve et Löve

Autor(en): **Humbert-Droz, Corinne / Felber, François**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **115 (1992)**

PDF erstellt am: **24.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-89350

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL, INSTITUT DE BOTANIQUE
LABORATOIRE DE PHANÉROGAMIE

ÉTUDE BIOMÉTRIQUE DES STOMATES ET DES GRAINS DE POLLEN COMME INDICATEURS DU DEGRÉ DE POLYPLOÏDIE CHEZ *ANTHOXANTHUM ALPINUM* LÖVE ET LÖVE

par

CORINNE HUMBERT-DROZ et FRANÇOIS FELBER

AVEC 3 FIGURES ET 5 TABLEAUX

1. INTRODUCTION

La polyploïdisation des végétaux s'accompagne généralement d'une augmentation de la taille des cellules (STEBBINS 1971). Celle-ci est particulièrement apparente pour les stomates et les grains de pollen, dont les dimensions varient peu pour chaque individu. Ainsi, la longueur des cellules de garde des stomates a permis de reconnaître les diploïdes et les tétraploïdes de nombreux groupes (cf. par exemple, BORRIL et LINDNER 1971, PRZYWARA et *al.* 1988, VAN SANTEN et CASLER 1986, VUILLE 1983). Le diamètre pollinique rendit également possible la distinction des valences chromosomiques de certains complexes polyploïdes (cf. par exemple, BRONCKERS 1963, DAVIS et *al.* 1990). En outre, les grains de pollen réduits (à n chromosomes) et les diplogamètes (à $2n$ chromosomes) d'un taxon diploïde d'*Ipomoea* furent également différenciés par leur taille (ORJEDA et *al.* 1990). Enfin, la densité stomatique peut être également utilisée comme indicateur du degré de polyploïdie. Ainsi, SAX et SAX (1937) ont noté une étroite corrélation entre la densité des stomates et le nombre chromosomique de diverses espèces.

Le complexe polyploïde *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. (Poaceae) comprend 4 taxons: *A. alpinum* diploïde et tétraploïde ainsi qu'*A. odoratum* diploïde et tétraploïde. Les diploïdes se caractérisent par $2n$ = 10 chromosomes et les tétraploïdes par $2n$ = 20 chromosomes. Chaque espèce offre des chromosomes à constriction secondaire spécifiques. *A. alpinum* et *A. odoratum* se reconnaissent aussi morphologiquement par la présence d'une lemme fertile scabre chez *A. alpinum*, alors que celle d'*A. odoratum* est lisse (FELBER 1987*a*). En outre, la rouille, *Puccinia*

sardonensis Gäumann, n'infecte qu'*A. alpinum* (FELBER 1987*b*). La floraison d'*A. alpinum* est plus précoce que celle d'*A. odoratum* et l'intervalle entre l'apparition des stigmates et celle des étamines est plus réduit (FELBER 1988). Le taxon diploïde et le tétraploïde de chaque espèce sont à ce jour indiscernables par un autre critère que le nombre chromosomique. FELBER (1987*a*) admet que chaque tétraploïde est issu, par autopolyploïdie, du taxon diploïde de la même espèce. Si cette hypothèse est encore controversée pour *A. odoratum*, elle est cependant admise chez *A. alpinum* (HEDBERG 1970, TEPPNER 1970).

Les dimensions des stomates et celle des grains de pollen ont déjà été étudiées dans ce groupe par ROZMUS (1960), POLATSCHEK (1966), HEDBERG (1967, 1969) et GROSSETÊTE (1982). Ces auteurs ont basé leur recherche sur *A. alpinum* diploïde et *A. odoratum* tétraploïde, à l'exception de GROSSETÊTE qui a également étudié *A. odoratum* diploïde. ROZMUS (1960) et POLATCHEK (1966), qui n'a examiné que le pollen, admettent qu'*A. alpinum* diploïde et *A. odoratum* tétraploïde peuvent être différenciés, contrairement à HEDBERG (1967, 1969) et GROSSETÊTE (1982) qui considèrent ces critères comme pas assez fiables.

Les deux taxons les plus étudiés, *A. alpinum* diploïde et *A. odoratum* tétraploïde n'offrent pas de relations phylogénétiques directes. La comparaison d'un diploïde et de son autotétraploïde permettrait en revanche, de tester la relation entre l'augmentation de la taille cellulaire et le degré de polyploïdie. C'est dans ce but que nous présentons ici les résultats de l'étude des dimensions stomatiques et polliniques, ainsi que celle de la densité des stomates chez *A. alpinum* diploïde et *A. alpinum* tétraploïde. Ce dernier n'a, en outre, jamais été considéré nommément pour ces caractères.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les plantes étudiées comprennent:

- 69 plantes d'*A. alpinum* diploïde et tétraploïde provenant d'une zone de contact localisée dans le massif du Vanil-Noir (Fribourg et Vaud). Elles ont été échantillonnées sur quatre transects linéaires. Sur deux d'entre eux (transects r et x), les diploïdes se trouvaient sur le versant sud-est et les tétraploïdes sur le versant nord-ouest. Les deux autres (transects y et z) offraient les taxons sur le même versant, le tétraploïde croissant à une altitude supérieure à celle du diploïde. Un épillet (renfermant deux étamines) a été prélevé directement dans la zone de contact, lorsque la phénologie le permettait. Les individus des quatre transects ont été récoltés, puis cultivés en jardin expérimental à Neuchâtel.
- 36 plantes d'*A. alpinum* diploïde et tétraploïde obtenues après germination de caryopses récoltés dans cette zone de contact, sur les transects s, y et z. Sur le transect s, les taxons étaient distribués, comme pour les transects r et x, sur des versants différents.
- 14 spécimens d'herbier d'*A. alpinum* diploïde et tétraploïde provenant de diverses régions de Suisse et de France (tabl. I).

TABLEAU I

Liste des plantes d'herbier utilisées pour les mesures de stomates

Les deux premiers chiffres correspondent à l'année de mise en culture, les quatre suivants au numéro de la station et le/les derniers au numéro de l'individu de la station. Secteurs selon Welten et Sutter 1982. Collecteurs: BDJ = Th. Biner, M.-M. Duckert-Henriod et M. Jacot. D = M.-M. Duckert-Henriod. F = F. Felber. FG = F. Felber et M. Girard. FGI = F. Felber, C. et S. Giroud. Dnp = M.-M. Duckert-Henriod non publié.

A. alpinum diploïde:

SUISSE

78-1559-1 Valais, Saint-Luc, W de l'Hôtel Weisshorn, 2200 m, sect. 755. D.

84-1550-1 Vaud, Tour de Famelon, calcaire, 2019 m, sect. 513. BDJ.

84-1605-1 Tessin, Massif du Saint-Gothard, au N de Mottolone, 2000 m, sect. 645. D.

85-1197-1 Valais, Zermatt, Gakihaupt, 2564 m, sect 766. D.

86- 869-1 Fribourg, Les Morteys de Folliéran, versant S, pelouse à *Carex sempervirens* et *Sesleria cœrulea,* calcaire, 1960 m, sect. 533. FG.

86-1042-1 Valais, Grand-Saint-Bernard, rochers au N du col, sect. 735. D.

86-1044-1 Grisons, Müstair, rochers à l'est du stand de tir, sect. 996. D.

A. alpinum tétraploïde:

FRANCE

85-1171-4 Cantal, Puy de Bataillouze, versant SW, lande à *Vaccinium myrtillus, Calluna vulgaris* et *Nardus stricta.* FGI.

85-1348-1 Haute-Savoie, Pointe de la Sambuy, crête, versant NW, pelouse à *Sesleria cœrulea,* calcaire, pH = 6, 2100 m. FG.

85-1349-1 Haute-Savoie, col des Aravis, versant S, pelouse à *Carex sempervirens* et *Laserpitium siler,* calcaire, pH = 7, 1730 m. FG.

85.1459-2 Isère, pas de l'Oeille, pâturage calcaire, pH = 5, 1750 m. FGI.

SUISSE

84-1553-1 Valais, Morgins, hauteur du lac de Chésery, 1990 m, sect. 506. BDJ.

84-1554-1 Valais, Morgins, sur Sassex, 1780 m, sect. 503. BDJ.

85-1165-1 Valais, Cornettes de Bise, Montagne de l'Au, versant S, pâturage à *Nardus stricta,* calcaire, pH = 5, 2100 m, FG.

La détermination cytologique (nombre de chromosomes et type de chromosomes à constriction secondaire) a été réalisée selon FELBER (1986).

L'étude de la surface épidermique foliaire s'effectua sur des empreintes, selon la méthode proposée par HILU et RANDALL (1984). Du vernis à ongle incolore était appliqué directement sur la feuille. Une fois séché, le film obtenu était prélevé, puis examiné au microscope à un grossissement de 1250 fois.

Pour l'observation du pollen, deux étamines par plantes furent prélevées. Chacune d'elles fut fragmentée et colorée séparément dans le réactif de HRISHI et MÜNTZING (1960). Les mesures ont été effectuées uniquement sur les grains de pollen dont le cytoplasme était bien coloré, donc supposés fertiles.

Afin de déterminer l'influence de la position sur la taille des stomates, les premières mesures ont été réalisées sur 4 secteurs foliaires distincts; soit, les parties proximales et distales des faces inférieures et supérieures. Un échantillon de 4 plantes diploïdes et 4 plantes tétraploïdes provenant du Vanil-Noir, dont les feuilles avaient été fraîchement récoltées, fut examiné. Sur chaque individu, nous avons déterminé la taille de 50 stomates par secteur. Afin d'étudier la variation entre taxons, les mesures ont été effectuées sur le secteur médian de la face inférieure à partir de feuilles sèches provenant de 39 plantes du Vanil-Noir et de 14 individus d'herbier. Généralement, 33 stomates furent mesurés sur 3 feuilles appartenant au même spécimen.

Les mesures de taille pollinique ont été effectuées sur 34 plantes provenant du Vanil-Noir: deux étamines issues d'un même épillet furent examinées par individu. Pour chaque étamine, le diamètre d'environ 40 grains de pollen bien formés a été mesuré.

Pour la détermination de la densité stomatique, les empreintes ont été effectuées sur des feuilles sèches d'un échantillon comprenant 39 individus du Vanil-Noir, 14 d'herbier et 14 plantes obtenues après la germination de caryopses provenant du Vanil-Noir. L'étude a également été réalisée sur la partie médiane du côté inférieur en dénombrant le nombre de stomates compris dans 11 à 52 champs d'objectif, par individu, à un grossissement de 312,5 fois.

L'étude conjointe de la longueur des stomates et du diamètre pollinique a été réalisée sur un échantillon indépendant du précédent. Pour chaque taxon, 11 plantes, obtenues après germination de caryopses provenant du Vanil-Noir, ont été utilisées. Sur chaque individu, nous avons mesuré 51 cellules de garde stomatiques et 50 grains de pollen, répartis respectivement sur 3 feuilles et, contrairement à l'étude biométrique précédente, sur 2 étamines d'épillets différents.

Les résultats furent traités par une analyse de variance avec plan à facteurs emboîtés (NESTED ANOVA). Les moyennes furent comparées par le test de Duncan ou le test t de Student.

Les mesures de chaque individu ont été comparées à l'ensemble des valeurs des diploïdes et à celui des tétraploïdes par les tests de Kolmogorov-Smirnov et de Mann-Whitney. Beaucoup d'individus se révélèrent significativement différents des deux taxons. Ceci résulte probablement des variations interindividuelles et du déséquilibre important du nombre de données entre l'individu testé et l'ensemble des valeurs correspondant à chaque degré de polyploïdie. Les indices obtenus pour chaque test ont été alors confrontés et chaque individu a été classé en diploïde ou tétraploïde selon la différence la plus faible avec la courbe de référence. L'étude conjointe de la dimension des stomates et de celle du pollen fut testée par une analyse discriminante.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. *Variations des dimensions stomatiques en fonction du degré de polyploïdie*

Les premières mesures consacrées à la détermination des tailles stomatiques avaient pour but de standardiser au mieux la prise de données, éliminant ainsi une source d'erreur. Les dimensions stomatiques moyennes varient selon l'individu considéré (analyse de variance $p < 0.001$, R-square = carré du coefficient de corrélation multiple = 0.78) et croissent avec le degré de polyploïdie (test de Duncan, $p < 0.05$). Une interaction entre le côté et la partie foliaire a été constatée (analyse de variance

$p < 0.001$), les moyennes stomatiques sectorielles variant différemment sur les parties proximales ou distale selon la face considérée.

Ces résultats nous conduisirent à mesurer les stomates du secteur médian inférieur pour l'évaluation de la variabilité des taxons. Les dimensions stomatiques varient avec la feuille (analyse de variance avec plan à facteurs emboîtés, $p < 0.001$, R-square = 0.62), l'individu ($p < 0.001$), la provenance ($0.025 < p < 0.01$) et le taxon considéré ($p < 0.001$). Les dimensions stomatiques moyennes équivalent à 29.40 μm pour les diploïdes et 33.91 μm pour les tétraploïdes (cf. tabl. II). Ces moyennes sont significativement différentes (test de Duncan, $p < 0.05$), bien que les deux distributions se chevauchent (fig. 1). Le classement des plantes par le seul critère stomatique fournit une détermination correcte pour environ 75 % des individus.

TABLEAU II

Valeurs des longueurs stomatiques selon le taxon

m = moyenne (μm) calculée selon N. σ = écart type de la moyenne. min-max = valeur minimale et maximale (μm). N = nombre total de mesures. *n* = nombre de plantes.

TAXON	m	σ	min-max	N	n
Diploïde	29.40	4.52	15.60-51.95	2692	24
Tétraploïde	33.91	5.37	18.70-54.03	2420	27

Nos mesures de stomates d'*A. alpinum* diploïde sont significativement inférieures à celles de HEDBERG (1967), (tabl. III). En outre, elles sont également plus faibles que celles de ROZMUS (1960) qui décrit des valeurs extrêmes de 30 μm et 48 μm, avec une moyenne de 40.2 μm. Dans ce cas, les valeurs fournies par cet auteur ne permettaient pas de réaliser un test statistique. Nous avons renoncé par ailleurs, à comparer nos valeurs à celles de GROSSETÊTE (1982), dont le nombre de données se révélait insuffisant.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la variabilité démontrée à chaque niveau, depuis la feuille jusqu'au taxon, ainsi que les différences entre nos résultats, ceux de HEDBERG (1967) et ceux de ROZMUS (1960). SCHWANITZ (1952) et HEDBERG (1967) ont observés une réduction intra-individuelle des longueurs stomatiques en fin de saison, par rapport à celles du début de saison. La différence que nous avons notée ne peut être imputée à un décalage phénologique, car nous avons comparé les moyennes données par HEDBERG (1967) pour les feuilles automnales, avec les nôtres déterminées sur du matériel également récolté à cette époque. Cependant, nous ignorons la période de récolte des échantillons de ROZMUS (1960). BIDAUD (1964) a également observé une variation

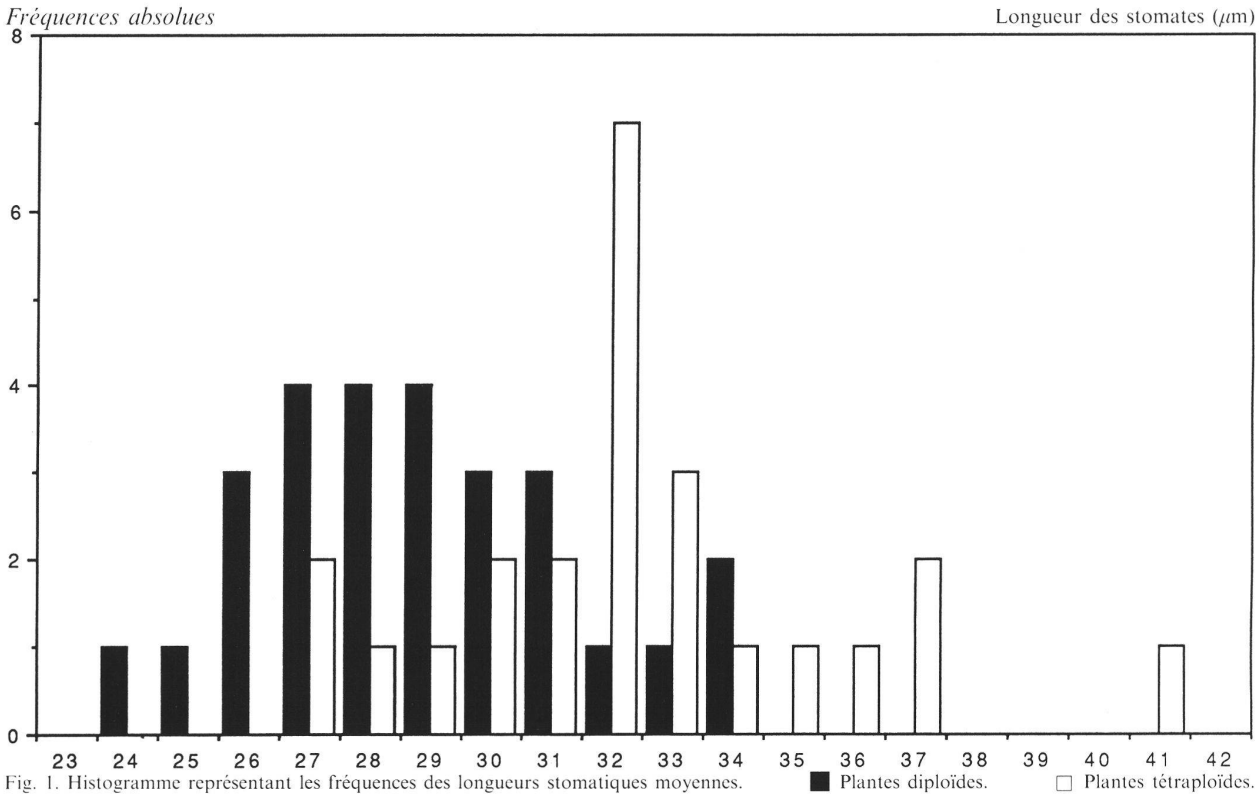

Fig. 1. Histogramme représentant les fréquences des longueurs stomatiques moyennes. ■ Plantes diploïdes. □ Plantes tétraploïdes.

TABLEAU III

Test de Mann-Whitney comparant les rangs des grandeurs stomatiques moyennes (µm) d'individus étudiés par HEDBERG *(1967) (H) et l'auteur (A)*

TAXONS		N		MOYENNES		U	P
H	H	H	H	H	H		
A. alpinum 2x	A. odoratum 4x	12	10	38.50	42.67	16.00	0.0037
A	A	A	A	A	A		
A. alpinum 2x	A. alpinum 4x	27	24	29.40	33.91	86.00	<0.0001
H	A	H	A	H	A		
A.alpinum 2x	A. alpinum 2x	12	27	38.50	29.40	5.00	<0.0001
A. alpinum 2x	A. alpinum 4x	12	24	38.50	33.91	44.00	0.0008
A. odoratum 4x	A. alpinum 4x	10	24	42.67	33.91	6.00	<0.0001

intra-individuelle intra- et interpopulation. Une variabilité additionnelle a pu être causée par les périodes de séchage variant de deux à trois semaines, dans le cas des plantes du Vanil-Noir, à plusieurs années pour les individus provenant d'herbier. Enfin, le matériel examiné par HEDBERG (1967) était exclusivement suédois, celui de ROZMUS (1960) polonais, alors que nos individus provenaient de Suisse et de France. La différence entre les résultats pourraient donc également refléter un polymorphisme géographique.

Nos valeurs concernant *A. alpinum* tétraploïde sont inférieures à celles observées sur *A. odoratum* tétraploïde par HEDBERG (1967). De même, elles sont plus faibles que celles publiées par ROZMUS (1960), dont les valeurs limites équivalent à 50 µm et 78 µm avec une moyenne de 57.05 µm. Cette variabilité pourrait résulter, outre les facteurs évoqués ci-dessus, d'une différence entre les espèces. Cependant, une étude détaillée du polymorphisme de ces taxons est nécessaire avant de tirer une quelconque conclusion.

HEDBERG (1967) considère que ce critère n'est pas utilisable pour la différenciation d'*A. alpinum* diploïde et d'*A. odoratum* tétraploïde. Bien que notre travail n'inclut pas l'étude d'*A. odoratum* tétraploïde, nous avons pu effectuer un test de Mann-Whitney sur les moyennes obtenues par HEDBERG qui a révélé des différences significatives entre les taxons. La conclusion de cet auteur était basée probablement sur le recouvrement de ses valeurs et non pas sur un test statistique.

3.2. *Variation du diamètre des grains de pollen en fonction du degré de polyploïdie*

Les dimensions varient selon l'étamine considérée (analyse de variance avec plan à facteurs emboîtés, $p < 0.001$, R-square = 0.62), l'individu ($p < 0.001$) et le degré de polyploïdie ($p < 0.001$). Les plantes étudiées étant toutes issues du Vanil-Noir, aucune relation avec la provenance n'a pu être déduite. Le diamètre pollinique moyen est significativement plus élevé chez les tétraploïdes que chez les diploïdes, puisqu'il équivaut respectivement, à 40.06 μm et 34.58 μm (test de Duncan, $p < 0.05$), (tabl. IV). Les distributions des deux taxons sont mieux séparées que pour les dimensions

TABLEAU IV

Valeurs des diamètres polliniques selon le taxon

m = moyenne (μm) calculée selon N. σ = écart type de la moyenne. min-max = valeur minimale et maximale (μm). N = nombre total de mesures. *n* = nombre de plantes.

TAXON	m	σ	min-max	N	n
Diploïde	34.58	2.68	26.00-42.90	1358	17
Tétraploïde	40.06	4.02	28.60-54.60	1361	17

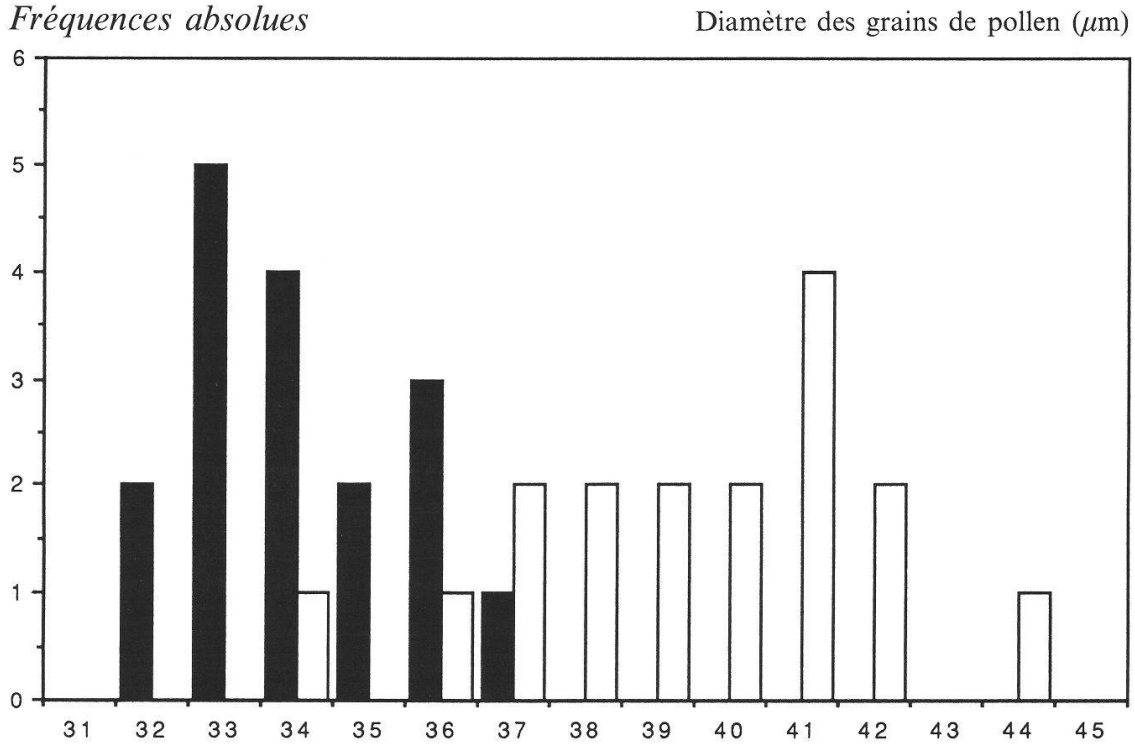

Fig. 2. Histogramme représentant les fréquences des diamètres polliniques moyens.
■ Plantes diploïdes.
□ Plantes tétraploïdes.

stomatiques (fig. 2). La détermination basée sur la biométrie pollinique permit de classer correctement 91 % des plantes.

SCHWANITZ (1952) et HEDBERG (1967) notent des tailles polliniques plus élevées chez les plantes en début de floraison, par comparaison à celles des grains de pollen du même individu achevant de fleurir. Si les tétraploïdes étaient plus tardifs que les diploïdes, la différence de taille observée pourrait en partie résulter du décalage phénologique. Or FELBER (à l'impression) mentionne une floraison significativement plus précoce chez les tétraploïdes que chez les diploïdes. Notre récolte qui se répartissait sur deux jours, ne devait pas compenser l'avance phénologique des plantes tétraploïdes sur les diploïdes. Par conséquent, si la variation des tailles polliniques en fonction de l'avancement de la floraison se vérifiait pour notre matériel, elle n'impliquerait qu'une diminution de l'écart des deux distributions.

Pour *A. alpinum* diploïde, le diamètre pollinique moyen ne diffère pas significativement des mesures relevées par HEDBERG (1967, 1969), (tabl. V). En revanche, notre valeur moyenne est supérieure à l'intervalle décrit par ROZMUS (1960) pour ce taxon (entre 20 μm et 26 μm, avec une moyenne de 24.2 μm et à celui trouvé par POLATSCHEK (1965) (entre 30.48 μm et 33.8 μm). Comme pour les stomates, ces différences peuvent être dues en partie à une différenciation géographique.

TABLEAU V

Test de Mann-Whitney comparant les rangs des diamètres polliniques moyens (μm) d'individus étudiés par HEDBERG (1967, 1969) (H) et l'auteur (A)

TAXONS		N		MOYENNES		U	P
H	H	H	H	H	H		
A. alpinum 2x	A. odoratum 4x	63	63	34.74	37.33	1072.0	<0.0001
A	A	A	A	A	A		
A. alpinum 2x	A. alpinum 4x	17	17	34.58	40.06	9.5	<0.0001
H	A	H	A	H	A		
A. alpinum 2x	A. alpinum 2x	63	16	34.74	34.58	110.0	0.6428
A. odoratum 4x	A. alpinum 4x	63	17	37.33	40.06	106.5	0.0007

La comparaison entre nos individus d'*A. alpinum* tétraploïde et ceux d'*A. odoratum* tétraploïde examinés par HEDBERG (1967, 1969) montre

une variation significative. Ce résultat signifie qu'une différenciation des deux espèces pourrait se révéler possible grâce au caractère pollinique, mais cela nécessite confirmation.

Le calcul du volume pollinique moyen indique que les grains de pollen tétraploïdes sont plus volumineux que les diploïdes d'environ 55 %. Cette différence est plus importante que celle déterminée par VAN DJIK et VAN DELDEN (1990) sur *Plantago media*. Leur étude mit en évidence des grains de pollen 40 % plus gros chez les tétraploïdes naturels par rapport aux diploïdes. Cette proportion s'élevait à environ 50 %, lorsqu'ils considèrent les tétraploïdes obtenus après un traitement à la colchicine.

HEDBERG (1967, 1969) et GROSSETÊTE (1982) concluent qu'*A. alpinum* diploïde et *A. odoratum* tétraploïde ne sont pas discernables par le critère du diamètre pollinique. Cependant un test de Mann-Whitney a pu être réalisé sur les données de HEDBERG (1967 et 1969) qui a révélé des différences significatives. Par conséquent, le diamètre pollinique semble également utilisable pour différencier ces taxons.

3.3. *Variations de la densité des stomates en fonction du degré de polyploïdie*

Lorsqu'on considère la totalité des individus, une densité stomatique plus faible a été notée chez les tétraploïdes comparativement aux diploïdes (test de Mann-Whitney, $p < 0.0001$). Ce phénomène traduit l'agrandissement des tailles cellulaires consécutif à la polyploïdisation. Cependant, cette constatation générale ne se vérifie pas pour les échantillons provenant d'herbier (test de Mann-Whitney, $p = 0.70$). Ce résultat, différent de ceux concernant les plantes provenant du Vanil-Noir et de ceux des plantes obtenues après la germination de caryopses (test de Mann-Whitney, $p < 0.0001$), pourrait résulter de l'hétérogénéité des échantillons foliaires. En effet, SAX et SAX (1937) constatent une variation de densité avec la taille et la maturité des feuilles. Les conditions environnementales, ainsi que le degré de maturité foliaire, ne purent être contrôlés chez les spécimens d'herbier, puisqu'ils furent récoltés dans la nature ou en jardin expérimental, à plusieurs périodes. Les plantes du Vanil-Noir et celles de descendances naturelles, toutes cultivées en jardin expérimental, croissaient en revanche dans des conditions environnementales plus uniformes.

Le critère de densité nous semble fiable pour différencier *A. alpinum* diploïde et tétraploïde, à condition que les plantes se soient développées dans des conditions uniformes. Par conséquent, son utilisation est plus restreinte que celle des longueurs stomatiques ou de la taille des grains de pollen. Cependant, lorsque les conditions d'échantillonnage le permettent, son emploi se révèle intéressant par la facilité et la rapidité de la prise de données.

3.4. *Etude conjointe de la longueur des stomates et du diamètre pollinique*

La fiabilité taxonomique résultant de la conjugaison de la longueur des stomates et du diamètre des grains de pollen a été testée par une analyse discriminante. Celle-ci utilise les deux critères déterminés indépendam-

ment pour examiner la validité des groupes formés. Nous avons alors obtenu un taux de spécimens correctement classés égal à 100 % pour 51 mesures de cellules de garde et 50 diamètres de grains de pollen par individu (analyse discriminante, $F(x) = -1.175x + 75.02$). Ce pourcentage est conservé, lorsqu'on réduit le nombre de données à 30 par individu (analyse discriminante, $F(x) = -0.9649\,x + 68.0901$), (cf. fig. 3). En revanche, en ne réalisant que 18 mesures par plante, la proportion d'individus assignés au bon taxon chute à 95,5 % (analyse discriminante, $F(x) = -0.8369\,x + 63.728$).

Ce type d'étude peut donc être effectué avec un nombre de données plus restreint que celui utilisé lors de l'étude précédente: 10 mesures par feuille, sur trois feuilles et 15 par étamine, sur deux étamines assurent déjà une classification correcte de tous les spécimens.

Notons cependant, qu'une récolte simultanée du matériel et des conditions standards de croissance contribuent probablement à l'obtention de ces résultats.

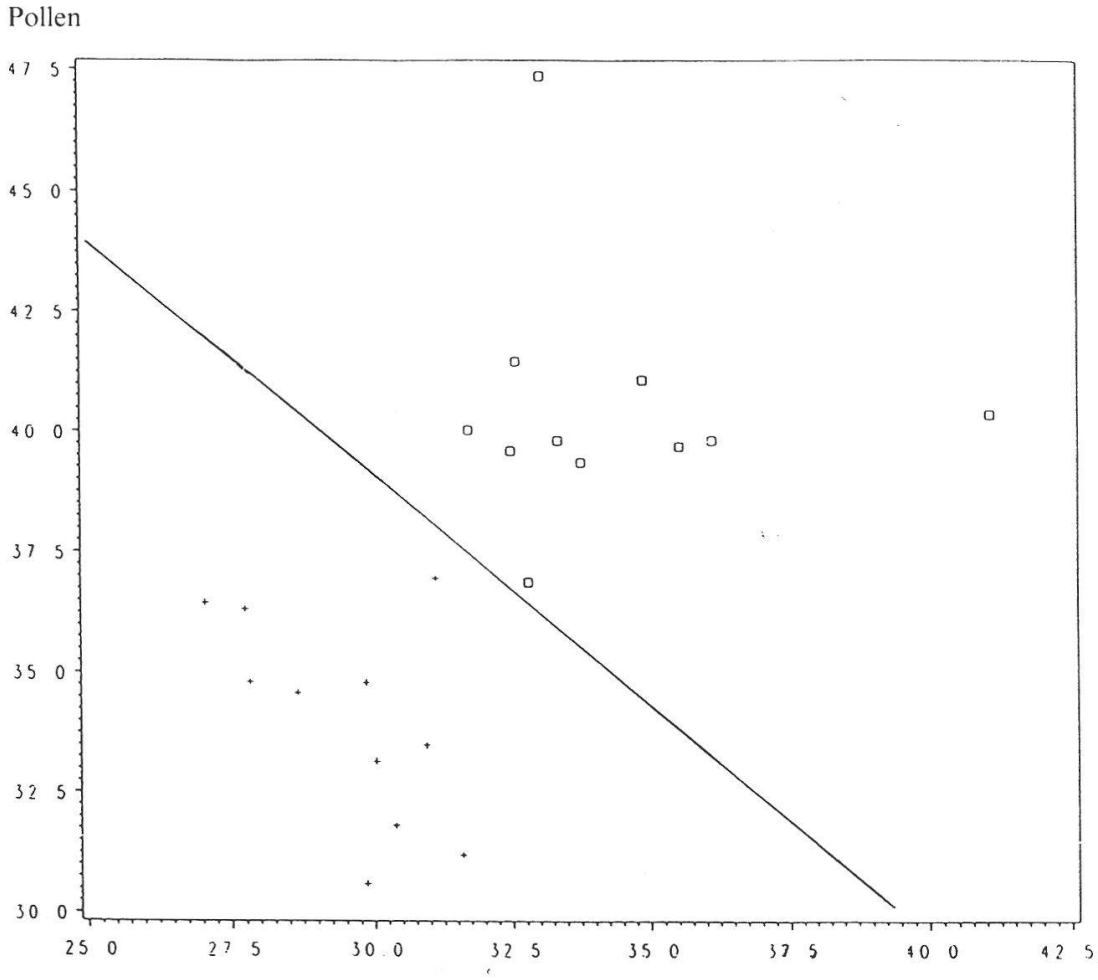

Fig. 3. Représentation graphique de la fonction discriminante ($F(x) = -0.9649\,x + 68.09$) donnée par les diamètres polliniques moyens et les longueurs stomatiques moyennes. Ces valeurs sont déterminées sur la base de 30 mesures par individu.
+ Plantes diploïdes.
□ Plantes tétraploïdes.

4. CONCLUSION

L'étude biométrique des stomates et des grains de pollen chez *A. alpinum* diploïde et *A. alpinum* tétraploïde a démontré une variabilité de ces caractères à chaque niveau d'investigation, que ce soit à l'échelle de l'individu, de la population quand elle a été testée, ou du taxon. Les distributions des deux cytotypes se recouvrent partiellement, celles des diamètres polliniques étant mieux séparées que celles des longueurs stomatiques.

Des variations significatives ont été trouvées entre les individus de valences chromosomiques différentes, les polyploïdes offrant des cellules plus grandes que les diploïdes. Ces observations sont en accord avec la constatation générale d'une augmentation de la taille en relation avec le degré de polyploïdie (STEBBINS 1971).

Les données concernant la densité stomatique y apportent également une confirmation supplémentaire, bien que son application reste plus délicate.

Les meilleurs résultats ont été obtenus lors de l'étude conjuguée des dimensions stomatiques et des grains de pollen, qui fournit un classement correct pour 30 mesures de chaque caractère par individu. Cette approche, menée sur un échantillonnage restreint, méritera une investigation à plus large échelle.

Même si l'étude de la biométrie des stomates et des grains de pollen ne remplacera jamais l'analyse cytologique, elle peut apporter de précieuses informations dans la détermination de planches d'herbier, pour lesquelles aucun matériel vivant n'est disponible. En outre, lors d'études *in situ*, ces caractères offrent la possibilité de déterminer avec une bonne sécurité le degré de polyploïdie des plantes sans les prélever. Une telle approche pourrait se révéler utile, par exemple, pour l'étude de la dynamique d'une population mixte.

Remerciements

Nous tenons à remercier vivement les personnes suivantes, sans l'aide desquelles nous n'aurions pu élaborer ce travail:

- le professeur Philippe Küpfer qui démontra beaucoup d'intérêt pour notre recherche;
- l'équipe de jardiniers (MM. Jeanloz, Martin, Favre et Mlles Chollet et Tabord) qui prit grand soin de la collection d'*A. alpinum*;
- Mme Jacqueline Moret, conseillère en statistiques de la Faculté des sciences, pour ses conseils lors de l'analyse des données.

F. Felber a bénéficié d'un subside (N° 31-25736.88) du Fonds national pour la recherche scientifique suisse, que nous remercions.

Résumé

Les valeurs taxonomiques de la longueur des stomates, du diamètre des grains de pollen et de la densité stomatique ont été testées chez *Anthoxanthum alpinum* Löve et Löve, diploïde et tétraploïde. Les individus étudiés provenaient d'une zone de contact des deux taxons, où ils y avaient été récoltés sous forme de plantes ou de caryopses et cultivés en jardin expérimental. Des spécimens d'herbier ont été également inclus dans l'étude des stomates.

La taille des stomates et celle des grains de pollen varie à l'échelle de l'individu, de la population et du taxon. L'étude des stomates a, en outre, révélé une variabilité entre les populations.

La longueur des stomates varie différemment pour chaque côté, suivant que la partie proximale ou distale de la feuille est considérée. La variabilité des taxons a été évaluée par des mesures effectuées sur le secteur médian inférieur. Les moyennes des dimensions des stomates valent 29.40 μm pour les diploïdes, 33.91 μm pour les tétraploïdes et sont significativement différentes, bien que les deux distributions se chevauchent.

Les diamètres polliniques moyens équivalent à 34.58 μm pour les diploïdes, 40.06 μm pour les tétraploïdes et sont également significativement différents. Ces valeurs correspondent à une augmentation du volume cellulaire de 55 % chez les tétraploïdes, par rapport aux diploïdes. Les distributions des diamètres polliniques sont mieux séparées que celles des stomates.

La densité des stomates offre une grande variabilité. Néanmoins, ce critère semble utilisable sur des plantes cultivées en conditions standards.

La valeur taxonomique de la taille des stomates et celle des grains de pollen, lorsque les deux caractères sont considérés conjointement, a été testée par une analyse discriminante. Des plantes obtenues à partir de caryopses provenant de la zone de contact, et cultivées dans des conditions uniformes ont été utilisées. Un classement correct a été obtenu pour 30 mesures par individu, soit 10 mensurations de stomates réalisées sur trois feuilles et 15 diamètres polliniques mesurés sur deux étamines.

Summary

The taxonomic values of stomata length, of pollen diameter and of stomata density were tested for diploid and tetraploid *Anthoxanthum alpinum* Löve and Löve. The plants were collected in a contact zone between both taxa or caryopsises were sampled there and grown in an experimental garden. Herbarium specimens were also included in the stomata study.

The size of stomata and that of pollen grains varied within individuals and within populations. Between populations variability was also found for stomata.

Mean stomata length valied differently with side if the proximal or distal part of the leaf were considered. The variability of taxa was evaluated by measures performed on the median part of the lower side of the leaf. Mean sizes of stomata were 29.40 μm for diploids and 33.91 μm for tetraploids. They were significantly different, although distributions overlapped.

Pollen diameter had a mean of 34.58 μm for diploids and of 40.06 μm for tetraploids and were also significantly different. These values correspond to a 55 % increase for tetraploids, in comparison to diploids. The distributions of pollen diameters were more distinct then those of stomata lengths.

Stomata density showed a large variability. Nevertheless, this criterion seemed useable when measured on plants cultivated in standard conditions.

The taxonomic value of stomata and that of pollen size, when both characters are considered together was tested by a discriminant analysis. Plants grown from caryopsises collected in the contact zone and cultivated in uniform conditions were used for this part. A correct classification was obtained with 30 measures for each individual, 10 measures of stomata performed on three leaves, and 15 diameters of pollen measured on two stamens.

BIBLIOGRAPHIE

BIDAULD, M. – (1964). Relation entre la polyploïdie, les longueurs des cellules épidermiques et le diamètre des grains de pollen chez quelques types de *Festuca ovina* L. s. l. *Bull. Soc. Fr.* 111: 111-119.

BORRILL, M. et LINDNER, R. – (1971). Diploid-tetraploid sympatry in *Dactylis* (Gramineae). *New Phytol.* 70: 1111-1124.

BRONCKERS, F. – (1963). Variations polliniques dans une série d'autopolyploïdes artificiels d'*Arabidopsis Thaliana* (L.) Heynh. *Pollen et spores*, vol. 5 (2): 233-238.

DAVIS, T. M., MATTHEWS, L. J. et FAGERBERG, W. R. – (1990). Comparison of tetraploid and single gene-induced gigas variants of chickpea *(Cicer arietinum)*. – I. Origin and genetic characterization. *Amer. J. Bot.* 77 (3): 295-299.

FELBER, F. – (1986). Distribution des cytodèmes d'*Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. en Suisse. Les relations Alpes-Jura. *Botanica Helvetica* 96 (2): 145-158.

– (1987*a*). Contribution à l'étude phytogéographique, biosystématique et expérimentale du complexe polyploïde *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. *Thèse, Université de Neuchâtel.*

– (1987*b*). Sensitivity of the four cytodemes of *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. (Poaceae) to *Puccinia sardonensis* Gäumann (Uredinales). *Taxon* 36 (3): 573-577.

– (1988). Phénologie de la floraison de populations diploïdes et tétraploïdes d'*Anthoxanthum alpinum* et d'*Anthoxanthum odoratum*. *Can. J. Bot.* 66: 2258-2264.

– (à l'impression). Evaluation de la stabilité d'une zone de contact entre *Anthoxanthum alpinum* A. et D. Löve diploïde et *A. alpinum* tétraploïde. Résultats préliminaires. Compte rendu du colloque de la Thuile.

GROSSETÊTE, M.-P. – (1982). Contribution à l'étude biosystématique du genre *Anthoxanthum* L. en France. *Thèse, Université de Paris-Sud*: 177 pp.

HEDBERG, I. – (1967). Cytotaxonomic studies on *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. II – Investigations of some Swedish and a few Swiss population samples. *Symbolae Bot. Upsalien.* 18 (5): 1-88.

– (1969). Cytotaxonomic studies on *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. III – Investigations of Swiss and Austrian population samples. *Svensk Bot. Tidskr.* 63: 233-250.

– (1970). Cytotaxonomic studies on *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. IV – Karyotypes, meiosis and the origin of tetraploid *A. odoratum*. *Hereditas* 64: 153-175.

HILU, K.W. et RANDALL, J.L. – (1984). Convenient method for studying grass leaf epidermis. *Taxon* 33: 413-415.

HRISHI, N.J. et MÜNTZING, A. – (1960). Structural heterozygosity in *Secale Kuprijanovii*. *Hereditas* 46: 745-752.

ORJEDA, G., FREYE, R. et IWANAGA, M. – (1990). Production of 2*n* pollen in diploid *Ipomoea trifida*, a putative wild ancestor of sweet potato. *Journal of Heredity* 81: 462-467.

POLATSCHEK, A. – (1966). Cytotaxonomische Beiträge zur Flora der Ostalpenländer, II. *Österr. Bot. Z.* 113: 101-147

PRZYWARA, L., PANDEY, K. K. et SANDERS, P. M. – (1988). Length of stomata as an indicator of ploidy level in *Actinia deliciosa*. *New Zealand J. Bot.* 26: 179-182.

ROZMUS, M. – (1960). The taxonomical rank of *Anthoxanthum alpinum* L. et L. in the light of anatomical studies. *Acta Biol. Cracov. Sér. Bot.* 3: 81-90.

SAX, K. et SAX, H. J. – (1937). Stomata size and distribution in diploid and polyploid plants. *Jour. Arnold Arb.* 18: 164-172.

SCHWANITZ, F. – (1952). Einige kritische Bemerkungen zur Methode der Bestimmung der Polyploidie durch Messung der Pollen und Spaltöffnungsgrösse. *Der Züchter* 22: 273-275.

STEBBINS, G. L. – (1971). Chromosomal evolution in higher plants. Addison-Wesley, *Reading, Mass.*

TEPPNER, H. – (1970). Karyotypen europäischer, perennierender Sippen der Gramineen-Gattung *Anthoxanthum*. *Österr. Bot. Z.* 118: 280-292.

VAN DJIK, P. et VAN DELDEN, W. – (1990). Evidence for autotetraploidy in *Plantago media* and comparisons between natural and artificial cytotypes concerning cell size and fertility. *Heredity*, vol. 65: 349-357.

VAN SANTEN, E. et CASLER, M. D. – (1986). Evaluation of indirect ploidy indicators in *Dactylis* L. subspecies. *Crop. Science* 26: 848-852.

VUILLE, C. – (1983). Apomixie chez *Ranunculus parnassiflorus* L. s. l. *Travail de licence, Université de Neuchâtel.*

Adresse des auteurs: Laboratoire de phanérogamie, Institut de botanique, Université de Neuchâtel, 22, chemin de Chantemerle, CH-2000 Neuchâtel 7, Suisse.