

ISSN 0567-6576

Bulletin des Académie & Société Lorraines des Sciences

**ANCIENNE
SOCIÉTÉ DES SCIENCES DE NANCY**

fondée en 1828

**Etablissement d'utilité publique
(Décret ministériel du 26 avril 1968)**

BULLETIN TRIMESTRIEL

**TOME 33 NUMERO 3
1994**

AVIS AUX MEMBRES

COTISATIONS.

Les Membres des Académie & Société Lorraines des Sciences acquittent une cotisation annuelle. Celle-ci est fixée à 110 francs en 1994.

Le paiement de la cotisation donne droit au service du bulletin, et permet de bénéficier de ventes à tarif réduit. La remise accordée aux Membres des Académie & Société Lorraines des Sciences ne peut atteindre ou dépasser 50 % du prix de vente de la publication. Son taux, proposé par le Conseil, est ratifié en simple Assemblée générale annuelle (Statuts, Titre I, Art. III).

Tout règlement est à adresser, de préférence par chèque, à l'ordre du Trésorier des Académie & Société Lorraines des Sciences, Biologie végétale 1^{er} Cycle, BP 239, 54506 Vandœuvre Cédex.

Chèque bancaire ou chèque postal au compte 45 24 V Nancy.

BULLETIN.

Pour la vente exceptionnelle de numéros isolés ou anciens s'adresser au Trésorier ou au Secrétaire Général, 8, rue des Magnolias, Parc Jolimont-Trinité, 54220 Malzéville.

Afin d'assurer une parution régulière du Bulletin, les Membres ayant présenté une communication sont invités à remettre leur manuscrit en fin de séance au Secrétaire Général. A défaut, ces manuscrits seront envoyés à son adresse ci-dessus, dans les quinze jours suivant la séance. Passé ce délai, la publication sera ajournée à une date indéterminée.

Les corrections d'auteurs sur épreuves devront obligatoirement être faites dans les huit jours suivant la réception des épreuves, faute de quoi ces corrections seront faites d'office par la Rédaction, sans qu'il soit admis de réclamations. Les demandes de tirés à part non formulées en tête des manuscrits ne pourront être satisfaites ultérieurement.

Les clichés sont à la charge des auteurs.

Dans la mesure des possibilités financières, 20 tirés à part gratuits sont offerts aux auteurs. Des exemplaires payants supplémentaires peuvent être obtenus. S'adresser au Trésorier ou au Secrétaire Général.

Il n'y a pas de limitation de longueur ni du nombre des publications. Toutefois, les publications des travaux originaux restent subordonnées aux possibilités financières de la Société. En dernier lieu, le Conseil est souverain.

Il est précisé une nouvelle fois, en outre, que les observations, théories, opinions, émises par les auteurs dans les publications de l'Académie & Société Lorraines des Sciences, n'impliquent pas l'approbation de notre Groupement. La responsabilité des écrits incombe à leurs auteurs seuls.

Toute publication en tant que « note » doit être présentée par un membre titulaire de l'Académie. Il n'y a pas de « comité » de lecture pour l'agrément d'impression.

BULLETIN

des ACADEMIE & SOCIETE
LORRAINES DES SCIENCES

(Ancienne Société des Sciences de Nancy)
(Fondée en 1828)

BIBLIOTHEQUE INTERUNIVERSITAIRE DE NANCY
SECTION SCIENCES

Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY
FRANCE

S O M M A I R E

Pages

PIERRE J. Fr. Le Ried d'Alsace: Essai d'une phytosociologie algale.....	125
MAUBEUGE P. L. Paléontologie. Globorilusopsis, nouveau genre: survivance de Calyptoptomatidae au Jurassique..	141
BAUTZ A., RUDOLF E., AIMAR C., MITASHOV.V., HOUILLO N Ch. et DOURNON C. Expression d'une protéine liée au sexe, la pep- tidase-1, chez des Pleurodèles femelles sou- mises à un vol orbital et recherches d'anoma- lies génétiques dans leurs descendance.....	149
PARGNEY J. Cl. Connaissances actuelles sur la structure, la biologie et l'écologie de la truffe.....	159
Procès-verbal: séance du 10 mars 1994.....	175

**LE RIED D'ALSACE :
ESSAI
D'UNE PHYTOSOCIOLOGIE ALGALE***

Jean-François PIERRE**

Résumé : Dans les rivières phréatiques du Ried d'Alsace, CARBIENER et al. ont décrit des communautés végétales indicatrices de niveaux croissants d'eutrophisation. Le présent travail dresse l'inventaire des Algues présentes dans 4 groupes de stations caractérisées par leur niveau trophique. A chacun d'entre eux apparaît un assemblage de Diatomées qui n'est pas représentatif d'une polluo-sensibilité, celle-ci étant complètement masquée par l'effet de la minéralité élevée de l'eau des stations. Les Algues autres que Diatomées sont peu représentées et leur distribution observée n'est pas significative.

Mots-clés : Algues - Diatomées - Bioindicateurs - Eutrophisation.

Abstract : CARBIENER et al. have described vegetal communities bearing witness to the presence of increasing levels of eutrophication in the Ried phreatic rivers (Alsace - France). The present survey inventories the algal in four groups of stations characterized by their trophic levels. In each of them appears diatom assemblages which are no proof of a sensitivity to pollution, the latter being totally masked by the high minerality of water. Algae other than diatoms are very few and the observed distribution of them is not significant.

Key index words: Algae - Diatoms - Bioindicators - Eutrophication.

* Note présentée à la séance du 19 mai 1994

** Hydrobiologie-Algologie, Centre de 1er Cycle, Université de Nancy I, BP 239, 54506 VANDOEUVRE CEDEX, France

Le terme de Ried désigne, en Alsace, une vaste et originale région humide s'étendant de Strasbourg à Colmar et entre Ill et Rhin. Cet ensemble est formé de plusieurs sous-unités, comme le Ried Noir nord encore appelé Ried de la Zembs, objet de l'étude.

Cette région est caractérisée par une nappe phréatique peu profonde (à environ 1 m) donnant naissance à un réseau dense et homogène de rivières phréatiques dont la plus importante du Ried ello-rhénan, la Zembs, lui a donné son nom.

La nappe alimentant ces cours d'eau leur confère des caractéristiques très typées (CARBIENER et al. 1990); sténothermie ($11^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}$ à l'émergence), sous saturation en oxygène dissous (40 à 70%), régularité des débits, transparence, ainsi qu'une minéralité carbonée calcique ($>100 \text{ ppm Ca}^{++}$) les classant parmi les eaux dures, mais oligotrophes par les très bas niveaux de phosphate et d'azote ammoniacal.

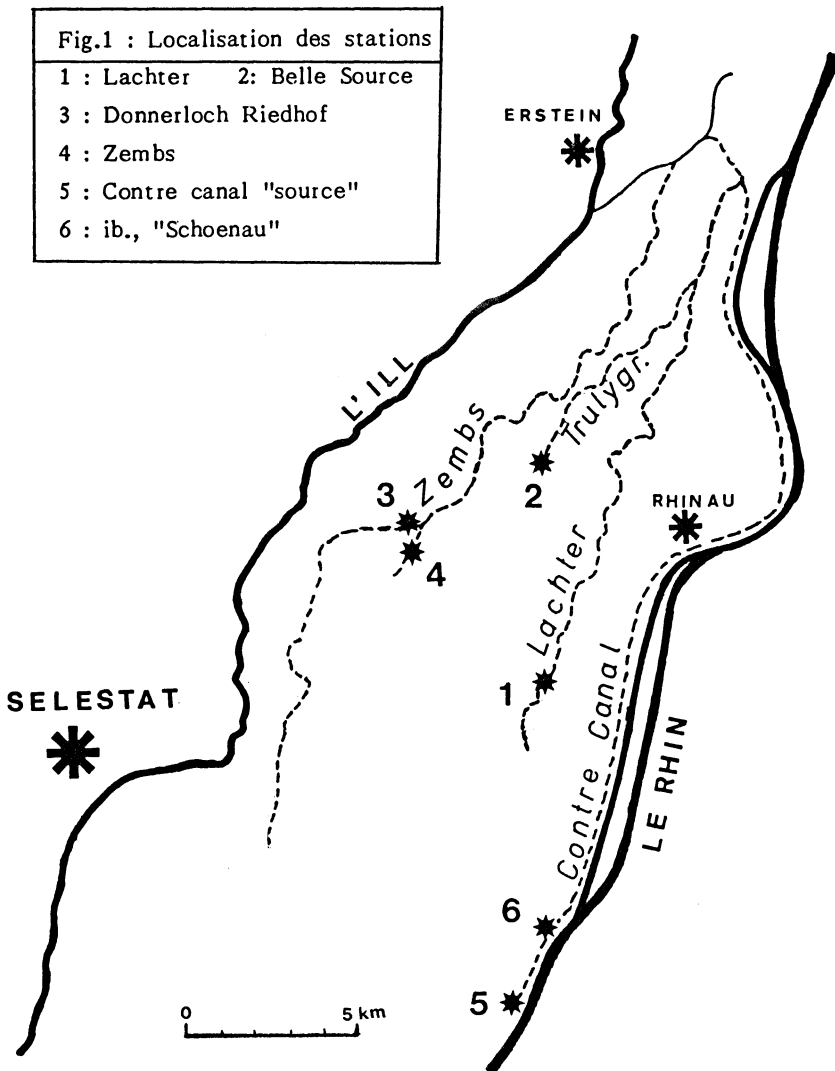
Des associations végétales caractéristiques se développent dans ces milieux; CARBIENER et al. (1977-19..) ont défini des séquences phytosociologiques symbolisées par les lettres A, B, C, D, E et ont montré qu'elles correspondaient à différents niveaux trophiques exprimés par les teneurs en P-PO_4^{3-} et N-NH_3 (NH_4^+) en solution.

Le présent travail a pour but de rechercher la possibilité de mettre en évidence, à partir de la flore algale dans son ensemble ou réduite au peuplement diatomique, des séquences "phycosociologiques" caractéristiques de ces mêmes niveaux trophiques.

MATERIEL ET METHODES

Les stations retenues (figure 1) correspondent à des localisations définies par CARBIENER et al. (1990) et sont représentatives d'un niveau précis d'eutrophisation. Les prélèvements réalisés au filet à plancton avec raclage du fond pour remise en suspension des Algues benthiques, ont

eut lieu à l'une ou l'autre, ou aux deux, dates suivantes:
22 octobre 1988, 17 mai 1989.



Au niveau A, nettement oligotrophe (<15 ppb N-NH₄, P-PO₄), appartiennent deux stations:

- celle de la Belle Source, commune de Herbsheim, qui donne naissance au Trulygraben par une source semi-artésienne créant un petit plan d'eau au fond meuble. Visitée en mai 89.

- la Lachter dans sa partie amont à proximité de Binderheim. Le cours d'eau offre l'aspect d'un fossé sub-rectiligne traversant les cultures. Les prélèvements en octobre 1988 et mai 1989 ont été réalisés en amont de la traversée de la voie départementale 211 dans une zone d'alternance de plages caillouteuses et de sédiments meubles.

Le niveau B est qualifié par CARBIENER d'oligo-mésotrophe par suite de teneurs en N et P en moyenne plus élevées qu'en A et correspond à la station Donnerloch Riedhof. Un seul prélèvement a eu lieu en octobre 1988 dans ce petit cours d'eau affluent de la rive droite de la Zembs (fig. 1). Le substrat meuble est composé de sédiments fins et de matière organique incomplètement biodégradée.

La Zembs à la traversée de la départementale 212 supporte une association végétale caractéristique du niveau C, méso-eutrophe (10 < N-NH₄ < 20 ppb et 10 < P-PO₄ < 30 ppb). Cette station a été échantillonnée à deux reprises en 1988 et 1989. Là encore, un fond meuble s'avère peu favorable aux macro-algues.

Au niveau supérieur d'eutrophisation de ces eaux, classé D, eutrophe rhéophile (N-NH₄, P-PO₄ > 20 ppb), correspondent deux stations localisées sur le canal de drainage qui, large de quelques mètres à son début, longe et draine les eaux échappées du Grand Canal d'Alsace. Il prend naissance dans une zone marécageuse (la "source", PK 246) couverte d'une végétation dense, visitée en mai 89. Il s'établit très rapidement un courant d'eau sur un fond de graviers et de galets parsemé d'herbiers. Cet aspect est peu modifié au

niveau de la deuxième station de prélèvement, située à l'aval (PK 247, amont de la passerelle de Schoenu) visitée en octobre et mai.

Une détermination du matériel fraîchement récolté à permis de dresser l'inventaire des Algues autres que Diatomées. Pour ces dernières, des préparations ont été réalisées dans le "Naphrax" après nettoyage par le peroxyde d'hydrogène concentré. L'observation est effectuée en contraste interférentiel différentiel.

PHYSICO-CHIMIE DES MILIEUX

CARBIENER et al. (1990) ont réalisé des séries d'analyses qui permettent de préciser les principaux paramètres physiques et chimiques de l'eau des stations caractéristiques des diverses séquences phytosociologiques. Ces données sont rassemblées tableau I.

L'examen de ces paramètres peut être effectué en fonction de la communauté algale. Ainsi, les faibles teneurs en nutriments devraient limiter la prolifération cellulaire mais favoriser la présence d'espèces réputées oligotrophes et oligosaprobies.

Tableau I

Caractéristiques physico-chimiques des milieux

	N-NH ⁴ µg.l ⁻¹	N-NO ³ mg.l ⁻¹	P-PO ⁴ µg.l ⁻¹	DCO mg.l ⁻¹	O ₂ mg.l ⁻¹	Cl ⁻ mg.l ⁻¹
Niveau A						
Lachter	4,7	2,3	12,9	0,4	8,0	68,5
Belle Source	5,8	3,9	6,4	0,4	4,3	63,3
Niveau B						
Riedhof	9,9	5,5	6,9	0,6	7,5	42,4
Niveau C						
Zembs	17,6	5,9	13,4	0,8	9,7	47,4
Niveau D						
Canal Source	17,8	1,0	56,4	1,2	2,4	132,7
Passerelle	20,2	0,9	33,3	0,9	3,8	133,7

Cependant la minéralité de ces eaux phréatiques est relativement élevée, même si les valeurs de la chlorinité restent dans les limites de l'oligohalobie (< 200 ppm). CARBIENER et al. (1990) précisent que dureté et conductivité ne sont pas discriminants au regard des communautés végétales. La traversée des alluvions rhénanes riches en calcaire charge également les eaux en carbonates de calcium, à un taux supérieur à 100 ppm d'ions Ca^{++} . Vis-à-vis du peuplement diatomique, ces eaux correspondent à une minéralité moyenne, selon les critères de KRAMMER & LANGE-BERTALOT (1986).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les Algues autres que Diatomées

Ces Algues sont peu nombreuses même si leur recouvrement peut être localement important.

Les eaux les plus pures de la Belle Source n'ont livré qu'un *Batrachospermum* stérile donc indéterminable, tandis que sur les galets du lit de la Lachter croissent les thalles d'une Phéophycée, *Heribaudiella fluviatilis* (Aresch) Sved. .

L'association végétale du Donnerloch Riedhof, de classe B, se développe sur un fond très meuble où se reconnaît une abondance de débris végétaux en cours de biodégradation lente, des fragments chitineux et diverses pontes. La flore algale macroscopique n'est représentée que par un *Vaucheria* stérile, également indéterminable.

La station de la Zembs, de classe C, livre des thalles filamenteux correspondant à deux Algues macroscopiques se partageant l'espace. Sur les zones meubles prolifèrent les *Vaucheria*, épipéliques, alors que des *Cladophora* les remplacent dès que la nature du substrat permet leur fixation.

Seuls, les prélèvements effectués dans le contre-canal, de niveau phytosociologique D, livrent une flore algale quelque peu diversifiée. Il s'agit principalement d'individus isolés : *Oscillatoria limosa* Ag ex Gom.,

plusieurs espèces de *Scenedesmus*, *Pediastrum boryanum* (Turp.) Menegh., *Closterium moniliferum* (Bory) Ehr., alors qu'en mai ne se rencontrent qu' *Oscillatoria limosa*, *Ulothrix tenerina* Kütz. et de longues et abondantes touffes enchevêtrées de *Cladophora*.

Comparée aux travaux peu nombreux et anciens pour la plupart consacrés aux Algues de cette région, la flore algale recensée dans chacune des stations apparaît très pauvre. Cette impression doit être corrigée à deux niveaux:

- les fonds meubles des stations où ont eu lieu les prélèvements sont défavorables à l'implantation algale. Une prospection plus étendue, copiée sur les inventaires phytosociologiques, livrerait peut-être d'autres espèces, mais l'impossibilité d'une détermination sur place en limite l'application. D'autre part, la systématique à l'intérieur de nombreux genres nécessite la présence de structures sexuelles, rarement présentes.

- la tendance actuelle de la systématique algale va dans le sens d'un regroupement. Ainsi, beaucoup d'espèces, formes et variétés décrites par les anciens auteurs ne sont plus reconnues comme telles et sont regroupées dans la même diagnose. *Cladophora* en est un bon exemple: suivant les critères actuels, le *Cladophora* trouvé dans la Zembs et le contre-canal, décrit sous différents taxons, correspond au même *C. glomerata* (L.) Kütz. var. *glomerata*. Par ailleurs Van den HOEK (1963) en souligne la grande variabilité morphologique en fonction des paramètres stationnels.

Compte tenu de cet environnement, l'inventaire algologique débouche sur le constat d'une flore algale banale et peu diversifiée, ne permettant pas de décrire, comme dans le cas des macrophytes, des séquences algales en correspondance avec un niveau trophique donné.

Le peuplement diatomique

Il est beaucoup plus riche en espèces, mais la nécessaire reconnaissance microscopique ne permet pas une interprétation in situ.

Les Diatomées constituent un élément constant de la flore algale des stations, avec une diversité taxonomique qui peut être élevée, notamment lors des récoltes automnales (tableau II).

Tableau II

Diversité taxonomique des stations.

niveau	station	date	diversité
A	Belle Source	5/89	53
	Lachter	5/89	61
	Lachter	10/88	44
B	Riedhof	10/88	50
C	Zembs	10/88	56
	Zembs	5/89	77
D	Contre-canal		
	passerelle	10/88	80
	passerelle	5/89	46
	source	5/89	41

En fonction de leur présence il est possible de regrouper les Diatomées dans l'ordre croissant d'eutrophisation des stations tel que défini par CARBIENER *et al.* (1990). Cette disposition fait apparaître des assemblages d'espèces associées à un niveau défini de pollution (Tableau III) :

assemblage du n° 1 à 21 pour le niveau A

22 à 26 niveau B

27 à 49 niveau C

140 à 162 niveau D

Il apparaît également que toute une série d'espèces (du n° 65 au n° 118) sont distribuées dans l'ensemble des stations et peuvent de ce fait être considérées comme indifférentes aux conditions stationnelles. Il est

Tableau III

Distribution des Diatomées dans les stations d'eutrophisation croissante (CARBIENER et al. 1990)

Niveau A	:	Belle Source	5/89
	:	Lachter	10/88
	:	Lachter	5/89
Niveau B	:	Riedhof	10/88
Niveau C	:	Zembs	10/88
	:	Zembs	5/89
Niveau D	:	Contre-canal	
	:	passerelle	10/88
	:	passerelle	5/89
	:	source	5/89

Classes d'abondance :

- D : espèce dominante
- C : espèce commune
- M : espèce à présence modérée
- R : espèce rare
- + : quelques individus ou individu isolé

Les déterminations suivent KRAMMER et LANGE-BERTALOT (1986-1991). Les noms d'auteur ne sont pas indiqués.

Taxons	Niveau d' eutrophisation			
	A	B	C	D
1. <i>Campylodiscus noricus</i>	+..			
2. <i>Coscinodiscus radiatus</i>	.+.			
3. <i>Epithemia goeppertiana</i>	R..			
4. <i>Gomphonema clavatum</i>	+..			
5. <i>G. gracile</i>	M..			
6. <i>Navicula meniscus</i>	..+			
7. <i>N. praeterita</i>	.+.			
8. <i>N. salinarum</i>	+..			
9. <i>N. viridula v. rostellata</i>	.+.			
10. <i>Neidium productum</i>	..+			
11. <i>Nitzschia scalpelliformis</i>	.+.			
12. <i>Pinnularia legumen</i>	.+.			
13. <i>Stauroneis wislouchii</i>	.+.			
14. <i>Surirella angusta</i>	..+			
15. <i>S. bifrons</i>	.+.			
16. <i>S. linearis</i>	.+.			
17. <i>S. minuta</i>	+..			
18. <i>Tabellaria fenestrata</i>	.+.			
19. <i>Caloneis alpestris</i>	..+			
20. <i>C. thermalis</i>	.+.			
21. <i>Diatoma vulgare v. linearis</i>	.+.			
22. <i>Melosira undulata</i>		+		
23. <i>Navicula cocconeiformis</i>		+		
24. <i>Pinnularia borealis</i>		+		
25. <i>Surirella robusta</i>		+		

26. <i>Fragilaria tenera</i>									+
27. <i>Achnanthes coarctata</i>									+
28. <i>A. inflata</i>									+
29. <i>Caloneis bacillum</i>									+
30. <i>Diatoma moniliformis</i>									.+
31. <i>Diploneis oblongella</i>									+
32. <i>D. ovalis</i>									+
33. <i>Eunotia arcus</i>									+
34. <i>Fragilaria heidenii</i>									+
35. <i>F. pinnata v. lancettula</i>									+
36. <i>Gyrosigma nodiferum</i>									++
37. <i>Hantzschia amphioxys</i>									+
38. <i>Navicula capitata v. lueneburgensis</i>									.+
39. <i>N. cohnii</i>									+
40. <i>N. crucicula</i>									.+
41. <i>Nitzschia levidensis</i>									.+
42. <i>N. tryblionella</i>									.+
43. <i>Fragilaria leptostauron v. martyi</i>									.+
44. <i>Pinnularia dactylus</i>									.+
45. <i>P. interrupta</i>									+
46. <i>Stauroneis anceps</i>									.+
47. <i>Surirella crumena</i>									.+
48. <i>S. linearis v. helvetica</i>									.+
49. <i>Fragilaria dilatata</i>									.+
50. <i>Surirella biseriata</i>	+++	+							..
51. <i>Achnanthes oestrupii</i>	+. .	+							+
52. <i>Amphipleura pellucida</i>	R. +	.							.+
53. <i>Cocconeis neodiminuta</i>	. . .	+							+
54. <i>Cymbella naviculiformis</i>	M+M	+							.+
55. <i>Denticula tenuis</i>	+++	.							+
56. <i>Frustulia vulgaris</i>	++.	.							.+
57. <i>Gomphonema angustum</i>	. +.	.							+
58. <i>Navicula striolata</i>	. . .	+							+
59. <i>Neidium ampliatus</i>	+++	.							.+
60. <i>N. binodis</i>	. +.	.							.+
61. <i>Nitzschia dubia</i>	M+M	+							++
62. <i>N. recta</i>	+. .	.							.+
63. <i>Pinnularia lundii</i>	. +.	.							.+
64. <i>Stauroneis smithii</i>	+++	+							++
65. <i>Achnanthes lanceolata</i>	+. .	+							++
66. <i>A. lanceolata v. rostrata</i>	. +.	R							++
67. <i>Amphora ovalis</i>	+++	+							+++
68. <i>Cocconeis placentula</i>	CDM	D							DC
69. <i>Cymatopleura elliptica</i>	. +.	+							++
70. <i>C. solea</i>	+++	+							.+
71. <i>C. solea v. apiculata</i>	. +.	+							.+
72. <i>Cymbella helvetica</i>	. +.	+							.+
73. <i>C. sinuata</i>	C+M	+							++
74. <i>Diatoma vulgaris</i>	. ++	+							.R
75. <i>Fragilaria leptostauron</i>	+. .	+							++
76. <i>F. leptostauron v. dubia</i>	+++	+							++
77. <i>Gomphonema angustum</i>	D++	+							++
78. <i>Gyrosigma acuminatum</i>	CRM	+							++
79. <i>G. attenuatum</i>	+++	+							++
80. <i>Melosira varians</i>	. +.	+							.+
81. <i>Navicula capitata</i>	+++	+							.+
82. <i>N. lanceolata</i>	+++	+							+R
83. <i>N. placentula</i>	. ++	+							++
84. <i>N. pupula</i>	++. .	+							.+

85. <i>N. tripunctata</i>	+++	+	++	R++
86. <i>Neidium dubium</i>	+++	+	++	++.
87. <i>Nitzschia constricta</i>	+.+	+	.+	++.
88. <i>N. linearis</i>	++.	+	+C	+.+
89. <i>N. sigmoidea</i>	+++	+	+M	+++
90. <i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	M++	+	C+	MMR
91. <i>Fragilaria ulna</i>	++.	+	+M	+++
92. <i>Caloneis amphisbaena</i>	.+	.	.+	+..
93. <i>C. silicula</i>	+++	.	.+	+..
94. <i>Campylodiscus hibernicus</i>	+++	.	.+	..+
95. <i>Cocconeis placentula v lineata</i>	+++	.	.+	.+.
96. <i>Cymbella caespitosa</i>	.+	.	+	R.+
97. <i>Fragilaria pinnata</i>	+..	.	++	++.
98. <i>F. capucina v. vaucheriae</i>	.+	.	.+	.+.
99. <i>Gomphonema olivaceum</i>	.+	.	++	C+M
100. <i>G. parvulum</i>	++.	.	++	+++
101. <i>Navicula bacillum</i>	+++	.	++	+..
102. <i>N. oblonga</i>	+++	.	++	++.
103. <i>N. radiosa</i>	+++	.	.+	++.
104. <i>N. viridula</i>	+++	.	+R	+..
105. <i>Nitzschia dissipata</i>	.R.	.	++	C++
106. <i>Pinnularia viridis</i>	..+	.	.+	+..+
107. <i>Surirella brebissonii</i>	+..	.	.+	..+
108. <i>S. ovalis</i>	..+	.	.+	.+.
109. <i>Achnanthes minutissima</i>	.R.	.	..	++.
110. <i>Cyclotella distinguenda</i>	+..	.	..	+..
111. <i>Cymbella silesiaca</i>	++.	.	..	R..
112. <i>Diatoma vulgare v. brevis</i>	.+	.	..	++.
113. <i>Navicula capitatoradiata</i>	.+	.	..	+..
114. <i>N. rhynchocephala</i>	..+	.	..	+..
115. <i>Nitzschia vermicularis</i>	+.++.
116. <i>Ellerbeckia arenaria</i>	+..	+	..	++.
117. <i>Fragilaria capucina</i>	.+	+	..	+RR
118. <i>Navicula protracta</i>	.+	+	..	+..
119. <i>Achnanthes lanceolata elliptica</i>		+	.+	++.
120. <i>Amphora lybica</i>		+	+	..+
121. <i>A. pediculus</i>		R	..	++.
122. <i>Cocconeis disculus</i>		+	+	+..
123. <i>Fragilaria biceps</i>		+	..	+..
124. <i>F. leptostauron</i>		+	..	+..
125. <i>Gomphonema acuminatum</i>		+	++	+++
126. <i>Meridion circulare</i>		+	++	+C+
127. <i>Anomoeoneis sphaerophora</i>			.+	+..
128. <i>Caloneis schumanniana</i>			+	+..+
129. <i>Cyclotella meneghiniana</i>			.+	+..
130. <i>Cymbella lanceolata</i>			.+	+..+
131. <i>Eunotia pectinalis</i>			.+	..++
132. <i>Fragilaria brevistriata</i>			+	+..
133. <i>Gomphonema truncatum</i>			.+	+R+
134. <i>Navicula cuspidata</i>			.+	+..
135. <i>N. goeppertiana</i>			+	.+.
136. <i>N. reinhardtii</i>			++	..+
137. <i>Nitzschia angustata</i>			++	+..+
138. <i>Stauroneis phoenicenteron</i>			.+	+..
139. <i>Fragilaria parasitica</i>			++	+..
140. <i>Amphora veneta</i>				+..
141. <i>Cocconeis pediculus</i>				+MM
142. <i>Cymbella affinis</i>				+..
143. <i>C. cistula</i>				+..+

144. <i>C. cuspidata</i>	+..
145. <i>C. ehrenbergii</i>	+..+
146. <i>C. prostrata</i>	+..
147. <i>Denticula kuetzingii</i>	+..
148. <i>Diatoma mesodon</i>	++.
149. <i>D. tenuis</i>	+..+
150. <i>Epithemia adnata</i>	+..
151. <i>Eunotia bilunaris</i>	.+.
152. <i>Fragilaria construens</i>	+..
153. <i>F. fasciculata</i>	..+
154. <i>F. ulna v. acus</i>	.M+
155. <i>Gomphonema affine</i>	.+.
156. <i>Navicula exigua v. signata</i>	+..
157. <i>N. gastrum</i>	+..
158. <i>N. subhamulata</i>	.+.
159. <i>Nitzschia acula</i>	+..
160. <i>N. heufleriana</i>	+..
161. <i>N. perminuta</i>	.+.
162. <i>Cyclostephanos dubius</i>	+..

Tableau IV

Espèces les plus abondantes en fonction du niveau de polluo-sensibilité.

Niveau A	<i>Cocconeis placentula</i> , <i>Cymbella sinuata</i> , <i>Gomphonema angustatum</i> , <i>Gyrosigma acuminatum</i> , <i>Cymbella naviculiformis</i> , <i>Nitzschia dubia</i> .
Niveau B	<i>Cocconeis placentula</i> .
Niveau C	<i>Cocconeis placentula</i> , <i>Fragilaria ulna</i> , <i>Nitzschia linearis</i> , <i>N. sigmoidea</i> , <i>Rhoicosphenia</i> <i>abbreviata</i> .
Niveau D	<i>Achnanthes lanceolata</i> , <i>Cocconeis placentula</i> <i>Diatoma vulgare</i> , <i>Fragilaria ulna v. acus</i> , <i>Gomphonema olivaceum</i> , <i>Melosira varians</i> , <i>Meridion</i> <i>circulare</i> , <i>Nitzschia dissipata</i> , ainsi que <i>Cocconeis pediculus</i> , <i>Rhoicosphenia abbreviata</i> .

remarquable que presque toutes les espèces ayant une abondance significative se rencontrent dans ce groupement. Beaucoup d'entre elles indiquent cependant une préférence pour les milieux C et D qui paraissent plus favorables à la prolifération algale (tableau IV).

Il convient de se demander si ces assemblages sont réellement caractéristiques de niveaux différents de polluo-sensibilité et pourraient être utilisés, à l'image des macrophytes, comme indicateurs de qualité de l'eau.

Considérées individuellement, les espèces diatomiques récoltées possèdent une valence écologique étendue, ce que conforte notre connaissance de leur large distribution régionale. En prenant l'exemple du niveau A, l'assemblage correspondant est composé d'espèces qui sont toutes, à quelques exceptions, présentes dans le Grand Canal d'Alsace au niveau de Fessenheim (PIERRE 1989) dans des conditions de trophie considérablement plus élevées.

Cette remarque pourrait s'appliquer successivement aux autres niveaux de polluo-sensibilité.

Pour ce qui est des Diatomées trouvées dans le Ried et absentes de nos relevés du Rhin, il apparaît qu'elles sont presque toutes connues d'autres milieux régionaux dépourvus de toute affinité avec le milieu phréatique du Ried (PIERRE, non publié).

Les Diatomées recueillies dans les stations du Ried ne sont donc pas spécifiques de celles-ci et se rencontrent en mélange dans des eaux de qualité très variée. Il n'est pas envisageable, dans ces conditions, d'accorder aux assemblages diatomiques décelés dans le Ried, la valeur de séquences "phycologiques" indicatrices d'un niveau de trophie.

Selon KRAMMER et LANGE-BERTALOT (1986-1991) la plupart des espèces recueillies dans cette région ont une affinité pour les eaux à minéralité moyenne voire élevée. Il est probable que ce facteur, caractéristique des eaux

phréatiques du Ried d'Alsace, soit suffisant pour masquer les variations des niveaux d'azote et de phosphore.

Bien que quelques une de ces Diatomées (certains *Gomphonema* par exemple) soient plus ou moins étroitement inféodées aux milieux oligotrophes, la plupart offrent un spectre de distribution élargi jusqu'aux stades a- et b-mesosaprobés, et parfois davantage.

Le problème de la signification de ces assemblages se trouve donc posé. Ils sont composés d'espèces représentées seulement par un tout petit nombre d'individus, voire de Diatomées isolées dont l'apparition dans les stations est aléatoire. Il s'agit là d'espèces que l'on peut qualifier d'erratiques, comme il en existe dans tous les prélèvements en proportions variables. Par sa présence dans les trois prélèvements du contre-canal et par son abondance, *Cocconeis pediculus* constitue l'une des rares exceptions, mais il s'agit d'une Diatomée épiphyte qui trouve sur l'abondante végétation phanérogamique de ces stations des supports favorables à sa prolifération.

CONCLUSIONS

L'étude ponctuelle de la végétation algale de quelques stations des rivières phréatiques du Ried de la Zembs a livré une flore, hors Diatomées, très réduite en diversité et quantité, à l'exception des *Vaucheria* et *Cladophora* capables de recouvrir des surfaces importantes, leur compétition étant orientée par la nature du substratum.

En comparaison, la flore diatomique apparaît diversifiée et relativement abondante, mais sans originalité: pour la plupart, il s'agit d'espèces très tolérantes et largement distribuées. La répartition des espèces dans les stations de niveaux différents d'eutrophisation ne peut être la conséquence d'une sensibilité particulière envers ce facteur. Par contre, la minéralité constamment élevée paraît occulter complètement l'impact des variations du niveau trophique. De ce fait, les classes de polluo-sensibilité définies par CARBIENER et

al (1990) sur des bases phytosociologiques n'ont pas de correspondance au niveau de la flore algale des stations étudiées

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Pr R. CARBIENER ainsi que Mme M. TREMOLIERES, de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg, pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans ce travail.

BIBLIOGRAPHIE SPECIALISEE

- CARBIENER R, HERRSCHER P, 1989 - Les Rieds, riches et fragiles espaces convoités. *Bull. Soc. indust. Mulhouse*, 813, 2, 23-60.
- CARBIENER R, TREMOLIERES M., MERCIER J.L., ORTSCHHEIT A., 1990 - Aquatic macrophyte communities as bioindicators of eutrophication in calcareous oligosaprobe stream. *Vegetatio*, 86, 71-88.
- HOEK C. van den, 1963 - *Revision of the european species of Cladophora*. Leiden.
- KRAMMER K., LANGE-BERTALOT H. 1986-1991 - *Bacillario-phyceae. Süßwasserflora von Mitteleuropa*, 2:1-2:4, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- PIERRE J.F., 1989 - Inventaire du peuplement diatomique du Rhin canalisé (1977-1987). *Bull. Acad. Soc. lorr. Sci.*, 28, 3, 87-105.

PALEONTOLOGIE
GLOBORILUSOPSIS, NOUVEAU GENRE :
SURVIVANCE DE CALYPTOPTOMATIDAE AU JURASSIQUE *

Pierre Louis MAUBEUGE

-:--:--:--:--

La classe des CALYPTOPTOMATIDAE montre de très nombreuses formes de taille minuscule, a son épanouissement au Paléozoïque. Plusieurs centaines d'espèces sont décrites. Cette classe renferme des HYOLITHIDES et formes voisines. Selon les auteurs il y a été vu des Vers, des PTEROPODES, voire des CEPHALOPODES quand la prudence de l'auteur ne l'a pas orienté sur des incertae sedis.

C'est en toute certitude une classe indépendante de Mollusques, de position systématique encore incertaine (1).

Par exemple, pour EICHWALD les HYOLITHIDES de l'Ordovicien sont des PROBLEMATICA, pour WORMS des Céphalopodes et incertae sedis pour d'autres auteurs. En 1946 G.W SINCLAIRE traitant des HYOLITHES, donc des CALYPTOPTOMATIDAE, établit l'existence d'opercules à la coquille et recense 363 espèces à ce moment. Ces formes commencent à disparaître au Carbonifère. On en recense une au Trias et une douteuse au Miocène. Toutefois l'âge des couches rapportées au Trias pour la première, est discuté. Il y a donc un grand vide, peut-être vide total, jusqu'ici, après le Primaire, quant à une survie de ces formes. Si SYSSOIEV (1958) de son côté recense 400 espèces décrites, il n'enrichit pas pour cela le tableau d'extension chronologique (7).

Monsieur Jean SIMON, de Kayl (Grand Duché de Luxembourg) ardent et éclairé collectionneur de fossiles a eu son attention attirée dans des examens microscopiques de débris coquilliers. Dans des nodules de calcaire gris-bleu, finement cristallin, faiblement marneux, du Toarcien moyen provenant de Belvaux (G.D. Lux.), il a récolté et observé, perplexe, des Mollusques. Ceux-ci étant au milieu de nombreux embryons d'Ammonites indéterminables, il conclut, longtemps, être en face d'une forme déroulée de Céphalopodes, anormale ou d'un genre inconnu. Un des individus a éclaté, étant donc malheureusement détruit, lors d'une tentative de dégagement un peu plus poussée. D'autres, étudiés ici, ont pu fort heureusement être conservés.

Le niveau paléontologique précis se situe un peu au-dessus des "Schistes cartons" de la base du Toarcien, ici dans

*. Note présentée à la séance du 19 mai 1994.

l'horizon à HILDOCERAS BIFRONS, en fait, vu la rareté de ce fossile zonal, dans celui à H. LUSITANICUM (=BIFRONS AUCT.). L'endroit précis est le lieu "An den Aessen", dans des terrassements routiers.

On peut à première vue s'interroger s'il ne s'agit pas d'une forme anormale embryonnaire d'Ammonite, comme souligné. Les LABECERAS du Crétacé inférieur ont, pour la moitié inférieure de leur coquille une forme géométrique de tendance arquée, relativement voisine, bien que fort différente. Mais des formes géométriques, liées à une géométrie fractale de MANDELBROT, peuvent avoir, par convergence, des formes plus ou moins voisines chez des animaux de groupes bien différents. PICTETIA ASTIERI PUZOS, également du Crétacé inférieur, a des portions de sa forme également voisines de celles du présent organisme.

La tendance au déroulement prend une forme stabilisée différente selon les genres. C'est une dérivée de la spirale logarithmique de la forme parfaite ammoïdale. Ceci se retrouve dans des groupes fort éloignés systématiquement. Ce déroulement se constate déjà chez les Gastéropodes, avec les genres LITHOSPIRA de l'Ordovicien, ECCULIOMPHALUS de l'Ordovicien-Silurien. Les NAUTILOIDEA, quand même plus proches des Ammonites, s'agissant de Céphalopodes, les PHRAGMOCERAS et PROTOPHRAGMOCERAS du Silurien ont une tendance au déroulement. Ceci conduit même à une forme aussi simple, à faible courbure, que l'allure d'un cor. On retrouve cela chez les NAUTILOIDEA de la famille des LITUITIDAE. ANCISTROCERAS et ANGELINOCERAS ont un déroulement avec des formes spécifiques abandonnant plus ou moins rapidement la forme spiralée initiale. Encore un autre exemple : chez les NAUTILOIDEA de la famille des LECHRITROCHOCERATIDAE avec au Silurien PLEISMOCERAS et LECHRITROCHOCERAS.

On a donc des genres ou des espèces plus ou moins déroulées ayant acquis un caractère morphologique stable. Des cas extrêmes vont jusqu'à la simple forme de cor.

On peut donc conclure qu'il n'y a pas obligation biologique, ni aucune raison, à ce qu'une forme en cor résulte de données pathologiques sur un, ou de rares, individus de genres normalement spiralés, tels des embryons d'Ammonites. Une forme en arc n'implique pas obligatoirement un phénomène pathologique individuel. L'ensemble des considérations conduit à analyser si l'on n'est pas en face d'une forme stable dans la phylogénie d'un groupe. C'est ce que je me sens autorisé à faire dans le cas présent vu une parenté évidente avec les GLOBORILUS (1).

Le voisinage côte à côte d'une Ammonite embryonnaire indéterminable avec un des présents organismes prouve comparativement qu'il ne s'agit pas d'un embryon pathologique d'Ammonite.

Il existe certes, soudain, au Jurassique moyen (Bajocien) des Ammonites plus ou moins totalement déroulées, sinon quasi rectilignes, telles les SPIROCERAS, PARAPATOCERAS, APSORROCERAS, ARCUCERAS, dont les formes embryonnaires sont loin d'être connues ; sinon même elles sont inconnues. D'une part des formes déroulées sont jusqu'ici inconnues au Jurassique inférieur. Le mécanisme biologique du

déroulement a très bien pu se manifester également à cette époque.

Il semble impossible que les présents spécimens correspondent à une très jeune Ammonite, soit genre inconnu, soit forme pathologique. Le caecum initial de la coquille ne répond en rien à une protoconque d'Ammonite. Il n'y a aucun ornement sur la coquille. Il serait étonnant qu'il y ait simultanément plusieurs formes pathologiques ; les embryons des nombreuses Ammonites voisines sont normaux et l'ensemble de la faunule ne traduit pas un milieu anormal. Il faudrait qu'un individu ait en lui les causes d'une forme pathologique. Une répétition serait anormale, de son côté, en tant que phénomène, surtout par simple traumatisme au stade embryon.

Par contre, en examinant les caractères des GLOBORILIDAE, on retrouve un ensemble de caractères suffisants pour un rapprochement dans cet ordre. La partie embryonnaire de ces organismes est conique, cylindrique ou globulaire ; on voit parfois de fines stries d'ornementation, transverses ou longitudinales ; la coquille est conoïde de taille 1 mm. à 1,5 cm. dans les cas tout à fait extrêmes. L'angle d'inclinaison du profil est de 10 à 40°. On sait que certains spécimens ont montré un opercule phosphaté et un septum médian dans des cas très rares, sur des pièces bien conservées.

On peut affirmer, sur ces spécimens être en face d'un Mollusque. Ils relèvent d'un phylum de cette catégorie animale, prospère au Primaire et apparemment éteinte à ce jour. Son extinction totale après le Primaire demeure l'objet de discussions. On n'en avait pas signalé ou décrit au Jurassique. On peut admettre que ces formes existaient encore au Jurassique inférieur.

Ainsi, le genre GLOBORILUS, prospérant au Cambrien moyen pour disparaître brutalement, on voit soudain réapparaître au Jurassique, soit environ 350 millions d'années plus tard, une forme excessivement voisine. Elle est tellement voisine que l'on peut s'interroger quant à un phénomène d'homéomorphie dans un même groupe animal, ou mieux sur une survivance d'un phylum avec genres et espèces très peu évolués face au plan géométrique initial de la coquille.

Le fait qu'ils ne soient pas encore signalés réside dans des causes complexes. La taille est excessivement petite. L'organisme est de conservation fragile. Les roches du Jurassique ont des caractères diagénétiques tels que la conservation et la consolidation de la roche, donc du fossile, sont moins favorables que celles des couches du Primaire. On a pu, très souvent, en examens microscopiques, passer à côté de telles formes. Maintenant en éveil, j'ai l'impression d'en avoir cotoyé à plusieurs reprises de façon pourtant fortuite. Il est très probable que les paléontologistes, mis en éveil, vont dorénavant signaler d'autres présences de représentant du groupe, après le Trias, sinon dans le trias même.

Rappelons que les CONODONTES, quand on les a recherchés dans le Trias germano-lorrain, après découvertes fortuites, n'y sont plus des raretés. Ils sont même abondants dans le Trias moyen germanique (4,5).

Un autre fossile présente un double intérêt à être évoqué ici. En 1936 MULLER-STOLL (6) créait, chez les

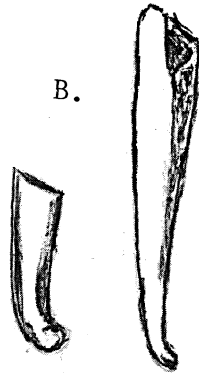


A.



A.-GLOBORILUSOPSIS SIMONI. Nouveau Genre, Nouvelle Espèce, Toarcien,
Belvau, Grand Duché de Luxembourg.
En haut grossissement 95.
En bas contour et vue à grossissement 35.
Ammonite embryonnaire contigüe.

Photographies: Guy HEINEN.



B.-GLOBORILUSOPSIS GLOBIGER, Saïto du Cambrien.



C.



C.-GLOBORILUSOPSIS ELEGANS. Nouvelle Espèce. Deux grossissements de l'individu de longueur 1,5 mm., à contours empâtés dans un liseré de calcite. Dessin de contour obtenu en jouant sur différents éclairages à l'observation.

Photographies: Guy HEINEN.

BELEMNOIDEA la famille des CHITINOTEUTHIDAE. Ceci commençait à clarifier une fort ancienne situation (1829, DE LA BECHE) quant à des organismes de toute évidence à caractères archaïques. Ce qui explique qu'au milieu d'avis variés (2,3) et bien que certains paléontologistes assez ironiques y aient vu des Belemnites, d'autres avaient envisagé une survivance pure et simple de même genres depuis le Primaire. Y a t-il rareté réelle de ces fossiles peu recensés (signalés d'ailleurs en Lorraine) au Jurassique, ou simple méconnaissance, comme présentement sur forme ancestrale ?

DESCRIPTION DU FOSSILE

CLASSE CALYPTOPTOMATIDAE FISHER 1962
ORDRE DES GLOBORILIDAE SYSSOIEV 1957
FAMILLE GLOBORILIDAE SYSSOIEV 1958
GENRE GLOBORILUS (=HYOLITHES) SYSSOIEV 1958
GENRE GLOBORILUSOPSIS Nov.
GLOBORILUSOPSIS SIMONI Nov. Sp.

C'est une petite forme en cornet avec globule distal. Contrairement au genre GLOBORILUS il existe une amorce de spire qui confère à l'ensemble la forme d'une sorte de trompe musicale. Très étroit au début, depuis le globule distal de l'organisme, sans angle, le profil prend une courbure arquée harmonieuse et régulière. A la fin de cette courbe, se redressant brutalement, le profil tend à devenir vertical avec brutal évasement donnant la forme d'un cornet.

Le test de substitution est en calcite brûnâtre, présentement. La taille est de 1 millimètre. il n'est pas possible de distinguer une ornementation. Il n'y a pas d'arêtes traduisant un contour non circulaire ou subcirculaire. La section paraît plus ou moins subcirculaire. L'état de conservation ne permet pas de déterminer la nature exacte du bord de l'ouverture. On ne peut déceler la structure interne. Absence d'opercule plus ou moins en place ou identifiable à quelque distance.

La courbure arquée et l'évasement en cornet distinguent de façon très tranchée ce genre de GLOBORILUS.

Le genre et l'espèce, en l'état actuel des connaissances sont cantonnés au Jurassique inférieur, précisément étage Toarcien.

Der. nominis : du grec ophis, semblable, traduisant une analogie avec le genre GLOBORILUS du Primaire. Espèce dédiée à Monsieur Jean SIMON qui a eu tout le mérite de reconnaître immédiatement un fossile insolite.

Biotope : l'animal est un Mollusque vivant en milieu marin, certainement pas transporté mort dans le biotope ambiant. Il est dans un milieu fondamentalement argileux de mer calme, fossilisé dans un nodule calcaire à forte concentration de fossiles. Ceux-ci sont, pour son voisinage, un véritable nésaire d'Ammonites. Ces formes embryonnaires indéterminables génériquement avec certitude atteignent parfois environ 1 mm., mais le plus souvent au maximum 1/2 mm. De nombreux embryons

de Lamellibranches accompagnent la nuée de Céphalopodes. Il est quasi certain que l'animal vivait flottant à côté et dans une masse de très jeunes Céphalopodes, relevant des Ammonites. Toute la nuée d'êtres vivants ayant péri en masse et tombé en même temps sur le fond marin boueux, y rejoignait les Lamellibranches ou larves plus ou moins flottantes.

Age : Jurassique inférieur, étage Toarcien.

GLOBORILUSOPSIS GRACILIS Nov. Sp.

Cette espèce est pourvue, comme chez l'autre représentant du genre, d'un globule initial ; on retrouve une tendance à une forme spiralée, nette au stade jeune, suivie d'une croissance à tendance verticale, mais encore, en fin de coquille, avec disposition à allure de cornet. La forme est très différente de G. SIMONI, attendu que cette dernière prend immédiatement une forme évasée en cor.

L'enroulement initial est légèrement plus prononcé que chez le genre GLOBORILUS ;

Le saccule initial n'est pas totalement dégagé de la gangue et il y a risque d'éclatement en cas de tentative de dégagement total.

Il ne peut en aucun cas, vu les dissemblances radicales, s'agir d'une même espèce capable de légères variations dans un polymorphisme.

L'existence de plusieurs individus de formes différentes, dans le même biotope, exclut une forme pathologique sur un organisme et, bien entendu, sur un embryon du groupe des Ammonoïdea.

Der. nominis : dénomination liée à une forme allongée, élancée.

L'espèce est de petite taille comme les représentants du genre, ici 1,5 mm.

Age : Jurassique inférieur, étage Toarcien.

Origine : nodule calcaire à Céphalopodes et restes divers de Lamellibranches, même endroit que G. SIMONI.

A.- Les fossiles de la classe des CALYPTOPTOMATIDAE paraissent avoir disparu au Paléozoïque, de très rares citations de spécimens d'âge plus récent étant controversées. Les HYOLITHIDES y constituent un groupe problématique. Deux espèces, nouvelles, du genre, nouveau, GLOBORILUSOPSIS, sont décrites du Toarcien du Grand Duché de Luxembourg.

Die Klasse der CALYPTOPTOMATIDEN entwickelt sich im Paläozoicum. Die HYOLITHIDEN bilden darin eine problematische Gruppe. Es würden im Toarcium des Grossherzogtums Luxemburg winzige Organismen gefunden, die zu dieser Gruppe gehören.

GLOBORILUSOPSIS muss als eine neue Art des Toarcium mit G.SIMONI N.Sp. anerkannt werden. Eine zweite neue Art, G. GRACILIS hat auf höchster Ebene eine morphologische Ähnlichkeit mit GLOBORILUS. Seit dem Cambrium, das heisst innerhalb von 400.000.000 Jahren, waren solche Arten nicht erwähnt worden.

BIBLIOGRAPHIE

--:--:--:--:--

(1)- FISCHER Donald W.- 1962.- Small Conoidal Shells of uncertain affinities. Treatise on Vertebrate Paleontology. Part. W. Miscellaneous, pp. 98-143.

(2)- FRIREN, Abbé.- 1876.- Mélanges paléontologiques. 1er. article ORTHOIDEA, STRAPAROLUS, AMMONITES, AULACOCERAS & TISOA SIPHONALIS du Lias moyen. Bull. Soc. Hist. Nat. Metz, 14e Cahier, 2-11 (1875), 22 pp. 2 Pl. (Observation : l'auteur figure sous le nom d'AULACOCERAS, ici en cause, un Cephalopode et des terriers d'organismes fousseurs).

(3)- FRIREN, Abbé.- 1868.- Quelques mots sur une Belemnite du Lias moyen. Ib., 11e Cahier, p. 243-252.

(4)- TATGE U.- 1956.- Conodonten aus dem germanischen Muschelkalk. Pal. Zeitsch., Bd.30, pp. 108-147.

HAGENHAUER B.- 1963.- Sur la présence de Conodontes dans le Muschelkalk supérieur lorrain. C.R. Som. Soc. Géol. Fr., F.1, pp. 127-8.

(5)- KOZUR H.- 1967.- Scolenodonten aus dem Muschelkalk des germanischen Binnenbeckens. Monatsberichte d. deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. Mitt. aus Mathem., Naturwiss. Med., und Technik. Bd. 9, Heft. 11, pp. 842-865.

- KOZUR H.- 1968.- Neue Conodonten aus dem Oberen Muschelkalk des germanischen Binnenbeckens. Ibid., Bd. 10, Heft. 2, pp. 130-142, 1 Taf.. 3 Taf..

(6)- MULLER-STOLL.- 1936.- Beiträge zur Anatomie der Belemnoidea. Nova Acta Léopoldina, T. IV.

(7)- SYSSOIEV V. A.- 1957.- (en Russe). Sur la morphologie, la position systématique et la Systématique des Hyolithoidea. Aka. Nauk., SSSR, Doklady, Vol. 116, N° 2, pp. 304-307, Leningrad.

Expression d'une protéine liée au sexe, la peptidase-1, chez des Pleurodèles femelles soumises à un vol orbital et recherche d'anomalies génétiques dans leurs descendance.*

A. BAUTZ (1), E. RUDOLF (1), C. AIMAR (2),
V. MITASHOV (3), Ch. HOUILLON (2) et C. DOURNON (1).

(1) Laboratoire de Biologie expérimentale-Immunologie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté des Sciences, BP 239, 54506 Vandoeuvre-les-Nancy Cedex, France. (2) Laboratoire de Biologie animale-Embryologie, Université Pierre et Marie Curie, 75252 Paris Cedex 05, France. (3) Institut de Biologie du Développement, Académie des Sciences, Moscou, Russie.

(A) - RESUME - L' "Expérience Triton" embarquée à bord du Biosatellite Cosmos 2229 (ou Bion 10) regroupait plusieurs équipes scientifiques russes et françaises. Nos laboratoires avaient à étudier chez l'Amphibien Urodèle *Pleurodeles waltl* : 1- l'expression d'une enzyme liée au sexe, la peptidase-1, chez des femelles spatialisées et chez leurs contrôles synchrones au sol. Les patterns électrophorétiques de l'enzyme obtenus pour l'ovaire, l'intestin et les muscles abdominaux sont semblables au pattern de référence établi à partir des érythrocytes d'animaux témoins. En revanche, le pattern est différent pour le rein et le cœur. Aucune différence majeure n'a été décelée entre les patterns des animaux du vol orbital et ceux de leurs contrôles synchrones. L'activité enzymatique spécifique ne présente pas de différences significatives entre les animaux du vol et ceux du lot synchrone pour l'ovaire, l'intestin, le cœur et les muscles; dans les reins, l'activité paraît plus élevée pour les femelles du vol que pour celles du lot synchrone. 2- la recherche d'anomalies génétiques dans la descendance des femelles soumises aux contraintes de l'environnement spatial, et plus particulièrement à la microgravité et au rayonnement cosmique. Selon le protocole retenu pour la mission, toutes les femelles embarquées devaient être sacrifiées après leur retour sur Terre. Aussi leurs ovaires ont été transplantés dans des femelles adultes castrées ou des mâles juvéniles castrés. En mai 1994, une femelle et 6 mâles greffés sont en vie. Chez la femelle et 5 mâles, le succès des greffes a été constaté à partir de

*.Note présentée par M. J.M. KELLER à la séance du 19 mai 1994.

laparotomies pratiquées sur les animaux. Le développement des ovaires étant très lent chez le Pleurodèle, l'obtention et l'analyse des descendances des animaux greffés ne peuvent pas être envisagées avant quelques mois.

ABSTRACT- The "Experience Triton" embarked on board of Biosatellite Cosmos 2229 (or Bion 10) pooled several experiments engaged by different teams. Our laboratories have to study in the amphibian urodele *Pleurodeles waltl* : 1- the expression of a sex-linked enzyme, the peptidase-1, in embarked and synchronone control females. The electrophoretical patterns of the enzyme in ovary, gut and muscles of flight samples were similar to erythrocyte controls but they were slightly different for kidney and heart. 2- the detection of possible genetic abnormalities in the offspring of females submitted to space environment. Embarked females and synchronone females were used as donors of ovaries both to castrated adult females and juveniles males. In may 1994, one recipient female and 6 recipient males are alive in may 1994. Laparotomy of the host animals allowed to oversee the success of the graft for all the surviving animals excepted one male which had received an ovary of an embarked female. Because of the slow development of ovaries in *Pleurodeles* , the success of this space experiment cannot be ascertain before the reproduction of these animals which will conduct in some months.

1-INTRODUCTION

Lancé de Plessetsk le 29 décembre 1992, le satellite russe Cosmos 2229 (Bion 10) a atterri en Asie Centrale dans le Kazakhstan le 10 janvier 1993. Ce vol de 12 jours était consacré aux Sciences de la Vie et conduit par l'Institut des Problèmes Biologiques de Moscou (IPBM). La mission comprenait l' "Expérience Triton" pour laquelle avait été retenues deux propositions de nos laboratoires : l'étude de l'expression de la peptidase-1 chez des Pleurodèles femelles et celle de possibles anomalies génétiques dans leurs descendances.

Chez le Pleurodèle, la peptidase-1 est une enzyme liée au sexe. Elle est dimérique, polymorphique et codée par deux gènes A et B (ou A et β) localisés respectivement sur les chromosomes Z et W (Ferrier *et al.*, 1980, 1983; Dournon *et al.*, 1988; Rudolf *et al.*, 1993). Les mâles sont de génotype sexuel et enzymatique Z_AZ_A , les femelles Z_AW_B ou Z_AW_β . Le génotype sexuel peut être établi à partir du nombre et de la disposition des bandes révélées sur les patterns électrophorétiques de la peptidase-1 érythrocytaire (Wright *et al.*, 1976). La présence d'une seule bande lente , correspondant à l'homodimère AA, caractérise les mâles Z_AZ_A . Un génotype femelle Z_AW_B correspond à 3 bandes: une bande hétérodimérique AB comprise entre une bande lente AA et une bande rapide BB, le génotype femelle Z_AW_β correspondant à 3 bandes AA, $A\beta$ et $\beta\beta$ (Fig. 2).

Le but de la première proposition était de détecter de possibles altérations dans l'expression de la peptidase-1 à partir de l'analyse des patterns électrophorétiques et d'étudier l'activité enzymatique dans divers organes. L'objectif de la seconde proposition était la recherche d'anomalies

caryologiques et de malformations morphologiques pouvant apparaître au cours du développement dans les descendances des femelles soumises aux contraintes du vol orbital, et plus particulièrement aux rayonnements cosmiques. En effet, il est établi que les radiations spatiales peuvent induire des délétions chromosomiques, des translocations, des altérations de l'ADN dans les cellules somatiques des animaux ou des plantes, et dans les microorganismes (Cadet *et al.*, 1993; Horneck *et al.*, 1984; Sabatier *et al.*, 1992, 1993). Elles pourraient entraîner des anomalies génétiques dans les descendances si les cellules germinales des organismes ayant séjourné dans l'espace étaient affectées (Kadhim *et al.*, 1992). Mais les accords passés avec les responsables russes impliquaient le sacrifice des femelles après le vol orbital. Afin de maintenir les ovaires spatialisés dans de bonnes conditions de vie, nous avons réalisé leur transplantation dans des animaux receveurs castrés restés au sol. De telles greffes induisent les femelles, mais également les mâles receveurs castrés, à se différencier en femelles phénotypiques fonctionnelles (Houillon, 1972).

2- MATERIEL ET METHODES

2.1- Les animaux

Pleurodeles waltl est un Amphibien Urodèle Salamandridé originaire du Maroc, du Portugal et d'Espagne. L'élevage de ce Triton et sa reproduction sont pratiqués au laboratoire (Gallien, 1952). Cet animal rustique, de faible encombrement, pouvant supporter un jeûne prolongé de plusieurs semaines, est un bon modèle de Vertébré pour la Biologie spatiale (Grindfeld *et al.*, 1992).

2.2- La Peptidase-1

Organes étudiés. Cinq types d'organes ont été retenus : le cœur, le rein, l'intestin moyen, les muscles du flanc et les ovaires.

Préparation des échantillons. Les fragments d'organes prélevés sur les animaux sont homogénéisés dans un tampon A (50mM Tris HCl pH 8.5, 25 mM NaCl, 5mM MgCl₂). Après centrifugation à 17000 rpm pendant 30 minutes, le surnageant est éliminé et le culot remis en suspension dans le tampon A.

Taux de protéines. La concentration en protéines des extraits préparés est déterminée selon la méthode de Lowry (1951) par mesure de l'absorbance à 750 nm.

Activité enzymatique. L'activité de la peptidase-1 est mesurée selon la méthode de Nicholson et Kim (1975) en utilisant la Valyl-leucine comme substrat.

Electrophorèses. Elles sont pratiquées en horizontal sur des gels d'amidon à 12%, selon le protocole de Wright *et al.*(1976) modifié par usage d'un tampon tris-citrate pH 8. La coloration des bandes sur les gels est obtenue après réaction à la peroxydase.

2.2- Les transplantations d'ovaires

Anesthésie. Toutes les opérations chirurgicales sont pratiquées sous

anesthésie générale des animaux. Elle est obtenue par immersion des sujets dans une solution de benzocaïne à 3% dans l'éthanol à 95° et diluée à 1% dans l'eau avant usage.

Castration des animaux receveurs. La peau et les muscles des flancs sont incisés de chaque côté de l'animal, le long de la ligne latérale. Les mésovariums ou les mesorchiums sont découpés à l'aide de ciseaux de Pascheff-Wolff, puis les ovaires ou les testicules sont extirpés.

Prélèvement des ovaires. Les ovaires à transplanter sont prélevés selon le protocole décrit pour les castrations. Ils sont lavés et stockés avant usage dans le milieu physiologique approprié de Steinberg (1957).

Transplantation. L'ovaire, ou le fragment d'ovaire, est déposé dans le cœlome de l'animal receveur castré. Pour assurer le succès de la greffe et la cicatrisation de la blessure, le tissu gonadal est placé en contact avec le mésovarium ou le mesorchium, à la même place que celle de l'ovaire ou du testicule extirpé(en position orthotopique). En fin d'opération, l'incision est suturée.

Laparotomie. La reprise et le développement de l'ovaire transplanté sont ultérieurement contrôlés à partir d'une laparotomie. A cause des désordres anatomiques générés par cette procédure (adhérences entre les tissus), une seule laparotomie est pratiquée pour chaque animal receveur, un an après la transplantation.

3- PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Conformément au protocole d'accord initial, 30 mâles juvéniles ont été castrés 3 mois avant le lancement de Bion 10. Les génotypes peptidase-1 et sexuel de ces mâles et de 60 femelles juvéniles prévues pour le vol orbital et un lot synchrone au sol étaient respectivement ZAZA et Z_A W_β. Les femelles sont mortes avant le lancement de Bion10 et ont été remplacées par 45 femelles adultes âgées de deux ans, de génotype Z_AW_B. Ces femelles issues d'une même descendance provenant d'une lignée élevée à Moscou ont été réparties en trois lots de 15 individus.

Les femelles du premier lot ont séjourné dans l'espace. Celles du second lot ont été utilisées comme contrôles synchrones au sol, soumises aux mêmes variations de température que les femelles du vol. Les femelles du troisième lot ont été castrées juste avant l'atterrissage en vue de l'implantation d'ovaires prélevés sur des femelles provenant des deux lots précédents.

A cause d'une augmentation anormale de la température à l'intérieur du satellite, le vol a du être écourté. Les femelles ont été soumises à une élévation de la température nominale de 22°C à plus de 32°C pendant les deux derniers jours du vol. Sur 15 femelles embarquées, 5 ont été récupérées vivantes à Moscou. Les 15 femelles du lot synchrone ont toutes survécu. Mais en réalité, elles ont été soumises à un profil de température inférieur de 2°C par rapport à celui du satellite. De plus, elles ne sont restées qu'un seul jour à plus de 32°C.

Suite au remplacement des femelles juvéniles initialement prévues par des femelles adultes de plus grande taille, les mâles juvéniles castrés étaient trop petits pour recevoir en entier les ovaires volumineux des femelles de remplacement. En conséquence, le protocole expérimental initial a été modifié : les ovaires ont été découpés en trois fragments (Fig. 1A); les

fragments antérieurs ou médians, volumineux et renfermant principalement des ovocytes matures, ont été transplantés dans les femelles adultes castrées (Fig.1B), tandis que les fragments postérieurs de plus petite taille et renfermant des ovogonies et des ovocytes en croissance, ont été implantés dans des mâles juvéniles castrés (Fig. 1C). Les mêmes opérations chirurgicales ont été réalisées à partir des ovaires des femelles du lot synchrone (Dournon *et al.*, 1993).

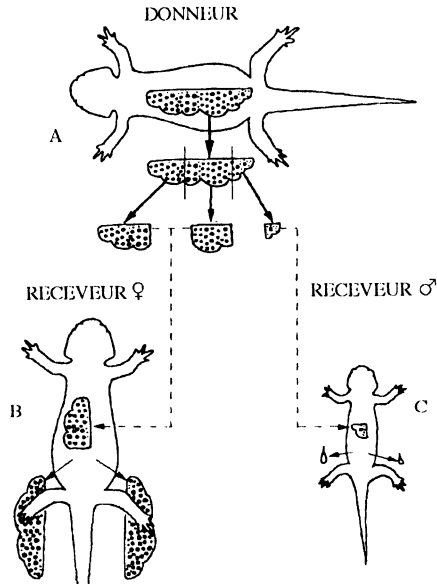


Figure 1 : Protocole des transplantations d'ovaires faites à Moscou pour Bion 10. **A :** femelle embarquée ou femelle synchrone; **B :** femelle adulte castrée receveur du greffon ovarien (fragment antérieur ou médian); **C :** mâle juvénile castré receveur du greffon ovarien (fragment postérieur)

4 - RESULTATS

4.1 - Etudes au sol

Peptidase-1 . Pour contrôler *a posteriori* l'effet de l'augmentation de la température au cours du vol, des femelles du laboratoire ont été soumises aux mêmes conditions de température que celles du satellite. Des femelles témoins ont été maintenues à la température du laboratoire (20°C). Le pattern électrophorétique de la peptidase-1 est le même pour tous les organes étudiés: ovaire, muscles abdominaux, intestin, rein et coeur. Il est le même pour les femelles des deux lots. L'élévation de température n'a pas modifié le pattern de la peptidase-1 chez ces animaux issus d'une lignée élevée à Nancy.

Transplantations fonctionnelles d'ovaires . Comme chez les Mammifères, il existe chez les Pleurodèles femelles une discontinuité entre les gonades

(ovaires) et le tractus génital (oviductes). En conséquence, le système anatomique ovaire greffé / tractus génital peut être physiologiquement fonctionnel. Chez les Pleurodèles, les deux canaux de Müller à l'origine des oviductes sont présents à la fois chez les femelles juvéniles et chez les mâles juvéniles. Ils se différencient en oviductes chez les femelles adultes. Si des ovaires sont transplantés dans des femelles castrées, la discontinuité est naturellement maintenue et fonctionnelle.

Chez les Pleurodèles mâles adultes, les canaux de Müller subsistent à l'état vestigial. Cependant leur développement en oviductes peut être induit hormonalement. Ainsi un ovaire greffé dans un mâle castré peut provoquer la différenciation des oviductes. Le mâle castré qui a reçu un ovaire se transforme en une femelle fonctionnelle et peut pondre des oeufs provenant de l'ovaire transplanté (Houillon, 1972).

Une étude de faisabilité des greffes d'ovaires avait été réalisée en utilisant des animaux juvéniles âgés de 4 à 10 mois, femelles et mâles. Les greffes ont repris aussi bien dans les femelles que dans les mâles. A maturité sexuelle, ces deux types de receveurs ont pondu des oeufs fécondés après accouplement avec des mâles standard (Dournon *et al.*, 1994).

4.2 - Résultats concernant Bion10

Peptidase-1. Pour l'ovaire, les muscles abdominaux et l'intestin, le pattern électrophorétique de la peptidase-1 présente les trois bandes caractéristiques AA, AB et BB des animaux de génotype sexuel et enzymatique Z_{AWB} . En revanche, seules deux bandes sont révélées pour le cœur et le rein, la bande rapide BB n'étant pas détectée. Ces résultats concernent aussi bien les femelles vivantes issues du vol que les femelles du lot synchrone (Fig. 2).

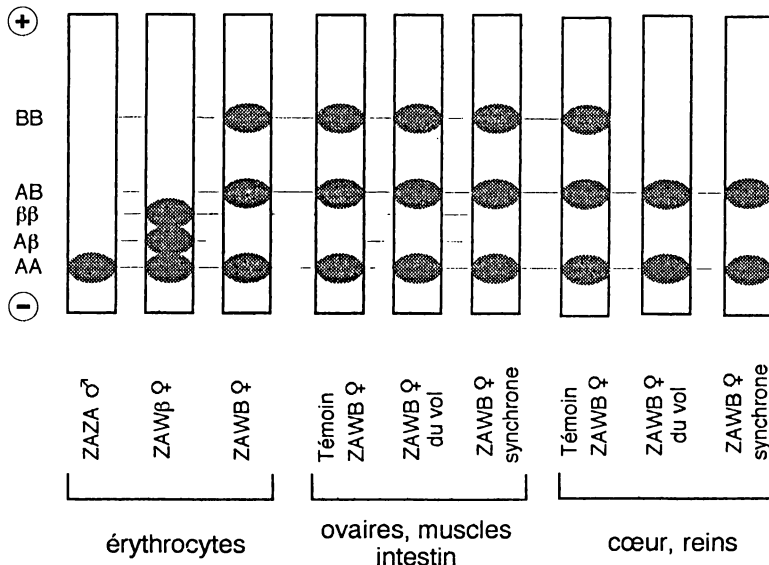


Figure 2 : Patterns électrophorétiques de la Peptidase-1 chez *Pleurodeles waltl*.

L'activité spécifique de l'enzyme ne présente pas de différences statistiquement significatives entre les animaux du vol et ceux du lot synchrone pour l'ovaire, l'intestin, le cœur et les muscles. Il semble exister une différence pour le rein; l'activité spécifique serait plus élevée dans le rein des animaux du vol (Tableau 1).

organes	animaux du vol orbital		animaux synchrones	
	nombre	activité spécifique	nombre	activité spécifique
muscles	6	22,9±6,7	9	22,5±21,9
cœur	5	39,8±23,8	8	44,5±10,8
ovaire	5	141±48,9	9	204,6±61,6
intestin	6	71,6±25,3	9	55,6±16,8

Tableau 1 : Activité de la peptidase-1 chez les Pleurodèles femelles à l'issue du vol dans BION 10, exprimée en nmole/mn/mg de protéines (moyenne ±SD ; test de Student $p < 0,05$).

Anomalies génétiques dans la descendance des femelles du vol. Sur 10 femelles adultes castrées receveuses d'une partie d'ovaire de femelle adulte du vol, une est en vie. Une laparotomie a permis de constater la reprise effective de l'ovaire. Sur 5 mâles juvéniles castrés receveurs de la partie postérieure d'ovaire de femelle du vol, 3 sont en vie; pour 2, l'ovaire a repris et se développe (Tableau 2).

Sur 5 femelles adultes castrées receveuses d'une partie d'ovaire de femelle du lot synchrone, toutes sont mortes. Sur 5 mâles juvéniles castrés receveurs de la partie postérieure d'ovaire de femelle du lot synchrone, 3 sont en vie. Les ovaires ont repris et se développent (Tableau 2).

	transplantations dans des femelles adultes castrées de fragments antérieurs ou médians d'ovaires provenant de		transplantations dans des mâles juvéniles castrés de fragments postérieurs d'ovaires provenant de	
	femelles du vol	femelles synchrones	femelles du vol	femelles synchrones
donneurs				
nombre d'animaux greffés (01/93)	10	5	5	5
nombre de survivants (05/94)	1	0	3	3
nombre de reprises de greffes	1	0	2	3

Tableau 2 : Bilan des transplantations d'ovaires pratiquées à l'issue du vol Bion 10 en janvier 1993.

5 - DISCUSSION

La différence constatée entre les patterns électrophorétiques de l'ovaire, des muscles et de l'intestin d'une part, et ceux du rein et du cœur d'autre part, organes provenant des femelles adultes russes du vol et du lot synchrone, est inattendue. Elle peut s'interpréter de plusieurs façons; par exemple, par une activité enzymatique non détectable de la bande BB par la méthode utilisée ou par une inactivation de la forme enzymatique BB. La répression du gène B est exclue puisque l'hétérodimère AB est observé. La différence entre les patterns pour les organes des animaux russes du vol et du lot synchrone, et les contrôles *a posteriori* réalisés au sol avec des animaux provenant des élevages français n'est présentement pas interprétable. Peut être s'agit-il d'une différence entre lignées de *Pleurodeles*.

En ce qui concerne l'activité spécifique de la peptidase-1 des organes étudiés, compte tenu du faible nombre de femelles testées, la différence observée pour le rein devra être vérifiée.

Pour la plupart des organes étudiés, l'expression de la peptidase-1 n'apparaît pas altérée chez des animaux maintenus 12 jours en microgravité (10⁻⁵G en phase orbitale). La peptidase-1 reste un bon marqueur pour déterminer le génotype sexuel des Pleurodèles qui se développeront dans l'Espace lors de futures missions.

Actuellement une femelle adulte receveuse d'une partie d'ovaire d'une femelle du vol est encore en vie. En revanche, 6 mâles juvéniles castrés receveurs de la partie postérieure d'ovaire des femelles du vol et du lot synchrone sont toujours en vie. Ces mâles se transforment en femelles phénotypiques.

L'obtention de descendance à partir d'ovocytes ayant séjourné dans l'Espace, après accouplement des animaux receveurs (femelles, ou mâles génétiques transformés en femelles phénotypiques) avec des mâles standard, est envisageable dans quelques mois. Les éventuelles anomalies caryologiques et celles du développement y seront recherchées.

Le test peptidase-1 permettant de reconnaître les tissus mâles des tissus femelles, il sera possible de prouver que l'ovaire développé chez les mâles castrés est bien l'ovaire greffé et non un testicule imparfaitement castré et inversé en un ovaire.

Le protocole de transplantation peut être adapté à l'étude des effets de l'environnement spatial sur d'autres types d'organes provenant d'animaux que certaines nécessités scientifiques contraignent à sacrifier.

Remerciements à Sergeï Znoïko et Natacha Bruslinskaja de l'Institut de Biologie du Développement à Moscou pour leur aide amicale, à L. Serova de l'I.B.M.P. à Moscou pour la coordination des expériences biologiques de la mission Bion 10, et au Centre National des Etudes Spatiales (CNES) pour son assistance et son support financier.

REFERENCES

Cadet, J., Berger, M., Incardona, M.F., Odin, F., Polverelli, M., Sabatier, L. & Nevzgodina, L. : Effects of cosmic radiation on the DNA of biological samples. *Fifth European Symposium on Life Sciences Research in Space*,

ESA-CNES, Arcachon, in abstracts : RAD-O-06, 1993.

Dournon, C., Collenot, A. & Lauthier, M. : Sex-linked peptidase-1 patterns in *Pleurodeles waltl* Michah. (Urodele: Amphibian) : genetic evidence for a new codominant allele on the W sex chromosome and identification of ZZ, ZW and WW sexual genotypes. *Reprod. Nutr. Develop.* , **28**, 979-987, 1988.

Dournon, C., Rudolf, E., Bautz, A., Aimar, C., Mitashov, V. & Houillon, C. : Two phases of the "experience Triton" on board of biosatellite 10 : 1- study of peptidase-1 expression in embarked females, 2- detection of genetical abnormalities in their progeny. *Fifth European Symposium on Live Sciences Research in Space, ESA-CNES, Arcachon, september 26-october 1, in abstracts : DEV-P-03, 1993.*

Dournon, C., Houillon, C., Bautz, A., Aimar, C., Rudolf, E., Mitashov, V., Bruslinskaja, N., Znoïko, S. & Serova, L. : Results concerning the "experience Triton" one year after the Cosmos 2229 flight. Expression of a protein, the peptidase-1, and Research of genetic abnormalities. *International BioCosmos Symposium, Moscou, december 14-19 , 1993.*

Dournon, C., Rudolf, E., Bautz, A., Aimar, C., Mitashov, V. & Houillon, C. : "Experience Triton" on Bion10 : study of peptidase-1 expression in embarked *Pleurodeles* females and detection of genetic abnormalities in their progeny. *Proceedings of the Fifth European Symposium on Live Sciences Research in Space, ESA-ESTEC, sous presse, 1993.*

Dournon, C., Bautz, A., Rudolf, E., Aimar, C., Mitashov, V. & Houillon, C. : Functional transplantations of ovaries from salamanders submitted to a space flight. *J. Appl. Physiol.*, soumis, 1994.

Ferrier, V., Jaylet, A., Cayrol, C., Gasser, F. & Buisan, J.J. : Etude électrophorétique des peptidases érythrocytaires chez *Pleurodeles waltlii* (Amphibien : Urodèle) : mise en évidence d'une liaison avec le sexe. *C.R.Acad.Sci.Paris* , série **D 290**, 571-574, 1980.

Ferrier, V., Gasser, F., Jaylet, A. & Cayrol, C. : A genetic study of various enzyme polymorphism in *Pleurodeles waltlii* (Urodele : Amphibian), II peptidases : demonstration of sex-linkage. *Biochem. Genet.* , **21**, 535-549, 1983.

Gallien, L. : Elevage et comportement du Pleurodèle au laboratoire. *Bull. Soc. Zool. France*, **77**, 456-461, 1952.

Grinfeld, S., Dournon, C., Houillon, C., Bautz, A. & Duprat, A. M. : *In vivo* fertilization and development in microgravity using pleurodele ("ZEUS" project). *Proceedings of the 29th COSPAR Meeting, Washington, in Advance in Space, sous presse, 1992.*

Horneck, G., Bückler H., Reitz, G., Requardt, H., Dose, K., Martens, K.D., Mennigmann, H.D. & Weber, P. : Microorganisms in the Space environment. *Science*, **225**, 226-228, 1984.

Houillon, C. : Tolérance des greffes ovariennes entre espèces différentes chez les Amphibiens Urodèles; conséquences sur l'émission de pontes hétérologues. *C.R.Acad.Sci.Paris* , série D 274, 2790-2793, 1972.

Houillon, C., Bautz, A., Aimar, C., Mitashov, V. & Dournon, C. : Organ transplantation : a tool to keep alive organs from animals sacrificed following a space flight. Our model, the salamander *Pleurodeles waltl*. *International Symposium on Animals in Space : Animal Models in Space Physiology, AAAF-CNES, Bordeaux, 15-17 mars, 1993*.

Kadhim, M.A., Mac Donald, D.A., Goodhead, D.T., Lorimore, S.A., Marsden, S.J. & Wright, E.G. : Transmission of chromosomal instability after plutonium α -particule irradiation. *Nature*, 355, 738-740, 1992.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. : Protein measurement with the folin reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275, 1951.

Nicholson, J.A. & Kim, Y.S. : A one step L-aminoacid oxydase assay for intestinal peptide hydrolase activity. *Analytical Biochem.*, 63, 110-117, 1975.

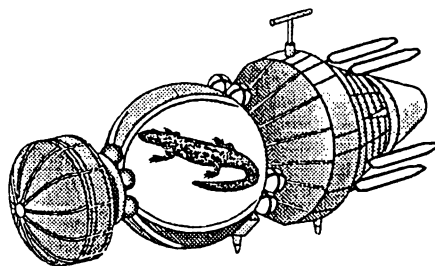
Rudolf, E., Chesnel, A., Bautz, A.M. & Dournon, C. : Peptidase-1 expression in *Pleurodeles* adult females. *Int. J. Dev. Biol.*, 37 (4), 7S-8S, 1993.

Sabatier, L., Dutrillaux, B. & Martin, M.B. : Chromosomal instability. *Nature*, 357, 548, 1992.

Sabatier, L., Fedorenko, B., Hoffschir, F., Flüry-Herard, A., Ricoul, M., Martins, L., Reillandou, M., Gerasimenko, V. & Dutrillaux, B. : Radiation-induced chromosomal damages during space missions. *Fifth European Symposium on Life Sciences research in Space, ESA-CNES, Arcachon, in abstracts : RAD-O-04, 1993*.

Steinberg, M. : A non-nutrient medium for culturing amphibian embryonic tissues. In *Carnegie Institution of Washington Year Book*, 56, 347, 1957.

Wright, D.A., Huang, C.P., Chuoke, B.D. : Meiotic origin of triploidy in the frog detected by genetic analysis of enzyme polymorphisms. *Genetics* , 84, 319-332, 1976.



COSMOS 2229 " BION 10 "

**CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LA STRUCTURE, LA BIOLOGIE
ET L'ÉCOLOGIE DE LA TRUFFE**

Jean-Claude PARGNEY
Laboratoire de Biologie Forestière
Equipe Cytophysiologie des Symbioses Mycorhiziennes
Faculté des Sciences
Université de Nancy I
BP 239
54506 Vandoeuvre Cédex
France

Résumé

Des études structurales (macro- et microscopiques et ultrastructurales) effectuées sur les mycorhizes et les ascocarps de truffes (*Tuber melanosporum*, *T. uncinatum*, *T. aestivum*) ont permis de mettre en évidence les interactions multiples qui existent dans l'écosystème truffier entre l'arbre, le champignon, le sol et la mésofaune environnante.

Abstract

Macro-, micro- and ultrastructural analysis were carried out mycorrhizas, ascocarps and ecosystem of truffles (*Tuber melanosporum*, *T. uncinatum*, *T. aestivum*). Numerous interactions between tree, truffle, soil and mesofauna are described.

*. Note présentée par M. J. Fr. PIERRE à la séance du 10 mars 1994

Les truffes sont des corps fructifères souterrains appartenant à des champignons Ascomycètes du genre *Tuber*. De part leur développement hypogé, elles ont toujours intéressé les philosophes et les scientifiques. Les mystères qui ont subsisté autour de ces organismes ont suscité maintes discussions et hypothèses. Si très tôt, des philosophes grecs ont émis des idées relativement précises sur les truffes, d'autres naturalistes ont eu des jugements beaucoup plus fantaisistes. Le philosophe grec THEOPHRASTE (372-287 av J.C.) dans un ouvrage intitulé "Histoire des Plantes", mentionna que les truffes sont des végétaux sans racines, engendrés par les pluies automnales (in PACIONI, 1986). Plus tard, le moraliste grec PLUTARQUE (46-125 ap J.C.) considéra ces végétaux comme une production issue de la fusion de l'eau, de la terre et de la foudre (in PACIONI, 1986). Ces philosophes avaient déjà compris que la truffe est, d'une part, un végétal, et, d'autre part, que des éléments comme l'eau et la terre sont nécessaires à son développement.

D'autres penseurs considèrent qu'elles étaient des organismes de reproduction d'insectes ou des produits minéraux. Il est vrai que les insectes sont activement présents dans l'écosystème truffier et que certains d'entre eux ont un rôle capital dans la décomposition du sol précédant l'installation de la fructification de la truffe (CALLOT et GUYON, 1990).

Ce n'est qu'à la fin du 18ème siècle que VITTADINI (1831) attribua la truffe au monde des champignons. Cependant au cours des 18ième et 19ième siècles, des botanistes remirent en question la nature végétale et cryptogamique de la truffe. Ce champignon, longtemps délaissé par les mycologues, a été peu étudié du point de vue scientifique jusqu'à il y a une vingtaine d'années.

En 1857, RAVEL (in PACIONI, 1986) affirma que les truffes sont produites par les piqûres d'une mouche sur les racines d'un chêne. Le lien entre le chêne et la truffe était alors accepté, mais l'idée que les truffes étaient des organismes autonomes était encore lointaine. A la fin du 19ième siècle, FRANK (1885) observa dans les zones de production des fructifications de truffe, la présence de structures particulières au niveau des racines des chênes. Il nomma ces structures "mycorhizes" et conclua que le mycélium des mycorhizes était du champignon de truffe.

Depuis, les connaissances de ces structures se sont affinées. L'organisation des mycorhizes et celle des corps fructifères (les ascocarpes) sont à présent bien connues. La recherche s'oriente actuellement vers une meilleure connaissance de la physiologie des mycorhizes et des ascocarpes par des analyses au niveau cellulaire des processus impliqués dans la croissance et le fonctionnement de ces deux types de structures.

Nous nous proposons de décrire successivement ces deux phases du développement du mycélium truffier en présentant plus particulièrement les acquisitions scientifiques récentes. La connaissance des mycorhizes et des ascocarpes passe obligatoirement par une compréhension du système dans lequel ils se développent. L'étude de l'écosystème truffier est celle d'un domaine complexe dans lequel les interactions sont multiples. Nous tenterons de montrer celles qui présentent une influence primordiale sur les mycorhizes et surtout sur la formation et le développement des ascocarpes tant recherchés par les mycophages et les gourmets.

LES MYCORHIZES

Au cours de son cycle biologique, le mycélium truffier présente une phase mycorhizienne importante. Il est associé avec les racines secondaires des arbres et arbustes (chêne, noisetier, charme, tilleul, pin, cèdre, ciste) pour former des mycorhizes (Fig 1). Cette association symbiotique assure le développement du champignon dans le sol. L'obtention de jeunes arbres mycorhizés par du mycélium truffier est une technique actuellement bien contrôlée et reproductible (FONTANA, 1971 ; CHEVALIER et al., 1972 ; CHEVALIER, 1973).

Les mycorhizes de truffe sont de type ectomycorhize. Elles ressemblent à des massues courtes et épaisses portées par les racines longues de la plante-hôte (Fig 2). Leur couleur est fonction de leur âge : jeunes, elles sont petites et claires ; âgées, elles sont longues et noires ; au cours de leur croissance, elles passent successivement par des stades beige-clair, brun-noisette, brun foncé (Fig 2 a-d). La zone apicale reste toujours plus claire que le reste de la mycorhize. Certaines mycorhizes montrent parfois un aspect segmenté consécutif à une croissance différentielle du champignon et de la racine impliquée dans la mycorhize (Fig 2 e). Dans certains cas, les mycorhizes sont fortement ramifiées (Fig 3).

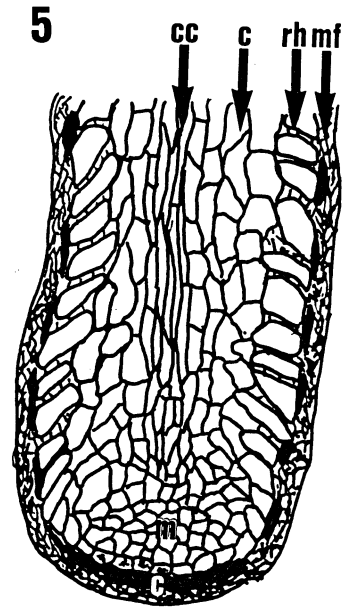
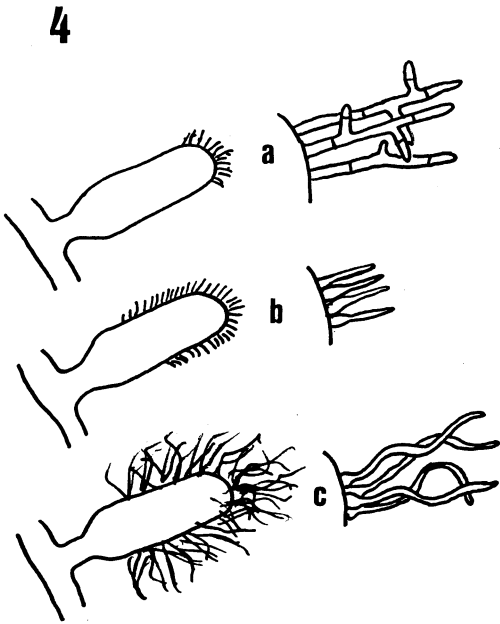
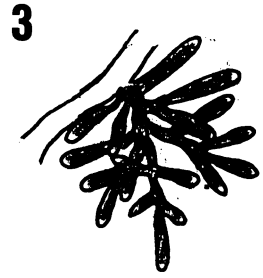
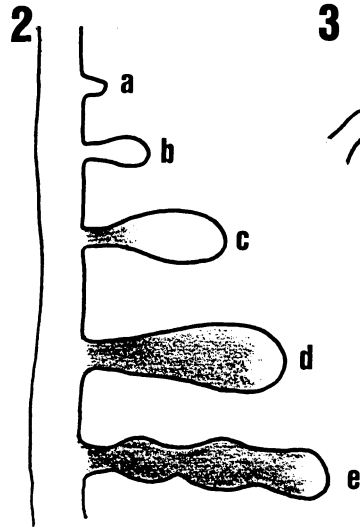
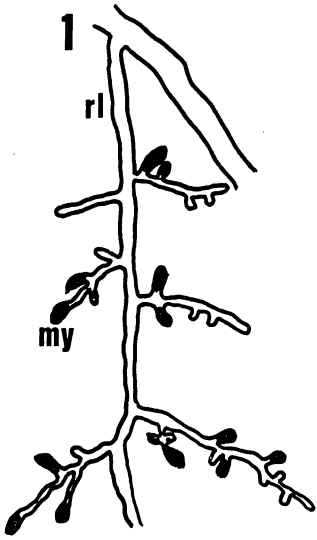
Les mycorhizes de truffe portent fréquemment à leur surface des filaments appelés spinules constituant le mycélium frangeant. Leur morphologie et leur structure varient en fonction des espèces de truffe. Chez la truffe du Périgord (*Tuber melanosporum*), les spinules sont plus ou moins longues, cloisonnées et ramifiées à angle droit (Fig 4 a). Elles sont courtes, massives, à bout arrondi et jamais ramifiées chez *Tuber brumale* (Fig 4 b). Chez la truffe de Bourgogne (*Tuber uncinatum*) et la truffe d'été (*Tuber aestivum*), les mycorhizes sont ornementées d'hyphes longues, souples, jamais ramifiées et présentant souvent des granulations à leur extrémité. D'autres truffes, moins courantes en France, ne peuvent être départagées par l'aspect de leurs spinules : il s'agit de la truffe blanche (*Tuber albidum*) et de la truffe du Piémont (*Tuber magnatum*). La valeur marchande des fructifications de cette dernière est dix fois plus importante. La recherche de protéines spécifiques à chaque espèce de truffe est actuellement tentée sur les

mycorhizes ainsi qu'à partir des ascocarpes et du mycélium cultivé *in vitro* (MOUCHES et al., 1981 ; DUPRE et CHEVALIER, 1991 ; PAPA et al., 1992). Le but de ces travaux est d'obtenir une méthode de caractérisation rapide et fiable des mycorhizes afin d'éviter les fraudes lors de la vente des plants mycorhizés produits en pépinière.

Les spinules sont constituées d'une paroi épaisse adaptée à l'exploration de la mycorhizosphère. Fréquemment dépourvues de contenu cellulaire, elles apparaissent comme des expansions fongiques à différenciation rapide : issues de l'allongement des hyphes de la surface de la mycorhize, elles montrent un cytoplasme qui dégénère précocément (CARNERO-DIAZ, 1992). L'utilisation de marqueurs facilement détectables en microscopie électronique (comme le lanthane ou le cérium) et déposés au niveau des spinules, a montré que celles-ci ne sont pas de simples ornements, mais qu'elles interviennent dans la migration de l'eau du sol et des ions dissous : les marqueurs sont détectés le long des spinules jusqu'à la surface de la mycorhize montrant ainsi leur implication dans le drainage de l'eau ; ils sont aussi présents dans les cavités des spinules après avoir traversé la paroi. Les marqueurs atteignent ainsi l'intérieur de la mycorhize (CARNERO-DIAZ, 1992).

La mycorhize est constituée d'un manteau fongique entourant une racine courte (Fig 5). Le manteau est formé d'hyphes vivantes à l'apex. Il peut être rompu par une croissance trop rapide de la racine. Dans les zones latérales, le manteau montre des hyphes mortes à l'extérieur et des hyphes vivantes en contact avec la racine. Les hyphes externes dépourvues de cytoplasme constituent des sites où les bactéries sont présentes. Certaines, du genre *Pseudomonas* jouent un rôle important dans la croissance du champignon (BOUTEKRABT et PARGNEY, 1991). A partir du manteau, les hyphes pénètrent dans la racine, entre les cellules corticales, et forment le réseau de Hartig, siège des échanges entre la plante-hôte et le champignon.

L'arbre fournit les substances hydrocarbonées que le champignon ne peut synthétiser (non chlorophyllien), ni tirer du sol (non saprophytique). Inversement, le champignon permet une meilleure nutrition minérale de la plante-hôte grâce à la forte capacité d'absorption des hyphes pour les minéraux présents en faible concentration et peu mobiles (comme par exemple les phosphates, peu solubles en sol calcaire nécessaire au mycélium truffier). La présence du manteau représente pour la racine une véritable barrière protectrice face aux agents pathogènes du sol. De plus, le champignon produit des hormones capables d'influencer la morphogénèse des racines impliquées dans les mycorhizes : extension radiale des cellules racinaires bordées par le réseau de Hartig, prolifération des ramifications au niveau des mycorhizes entraînant la formation de glomérules (grappes de mycorhizes) (Fig 3).



D'autres structures racinaires sont modifiées par la présence du champignon. Le méristème de la racine, responsable de la production de nouvelles cellules qui assurent la croissance racinaire, est de taille plus réduite que celui observé dans les racines non mycorhizées. De même, la coiffe, formant dans les racines non mycorhizées un petit massif d'une dizaine de couches de cellules protégeant le méristème, est limitée dans les mycorhizes à 2 ou 3 couches de cellules à différenciation extrêmement rapide. Celles-ci, issues du méristème, synthétisent précocement des polyphénols qui s'accumulent dans les vacuoles. Après lyse des parois et du cytoplasme par le champignon, seuls les composés polyphénoliques subsistent et sont incorporés au manteau. Le mycélium truffier est capable de les dégrader partiellement. Il se comporte vis-à-vis des cellules de la coiffe comme un champignon saprophytique. Par contre, au niveau des cellules racinaires, il a un rôle de champignon symbiotique, du moins tant que les échanges entre lui et la plante-hôte sont possibles. Par manque de composés hydrocarbonés de l'arbre, il peut devenir saprophytique vis-à-vis de la racine.

La phase symbiotique, au cours de laquelle s'effectuent les échanges entre le champignon et l'arbre, est limitée à la zone sous-apicale de la mycorhize, c'est-à-dire à une région d'une longueur inférieure au millimètre. Au-delà, la dégénérescence des cytoplasmes des deux partenaires réduit l'efficacité de la symbiose. L'absorption des nutriments par la mycorhize apparaît plus importante à l'apex et au niveau des zones sous-apicales.

L'ASCOCARPE

L'ascocarpe de truffe est de forme globuleuse, irrégulière, dont les dimensions varient selon leur âge de quelques millimètres à quelques centimètres (Fig 6). Sa surface appelée périidium est soit lisse, soit divisée en écailles comme chez les truffes françaises (truffe du Périgord, truffe de Bourgogne et truffe d'été). Les écailles sont soit larges et plates, soit plus petites et de forme pyramidale. Les plus grosses écailles sont déprimées à leur sommet et peuvent être parcourues par de larges fentes indiquant leur division (PARGUEY-LEDUC et al., 1987). L'observation de très jeunes ascocarpes a permis à PARGUEY-LEDUC et al. (1985) de montrer que le périidium se différencie dès les très jeunes stades du développement et qu'il présente la capacité de se développer en même temps que grossit la truffe.

Les observations macroscopiques et microscopiques d'ascocarpes immatures de truffes du Périgord, de Bourgogne et de truffe d'été (*Tuber melanosporum*, *T. uncinatum*, *T. aestivum*), ont révélé la présence de houppes de filaments mycéliens au sommet des écailles pyramidales du périidium et des filaments courts, en forme de soies sur les versants des écailles (Fig 8) (BARRY, 1992 ; BARRY et al., 1993). Les

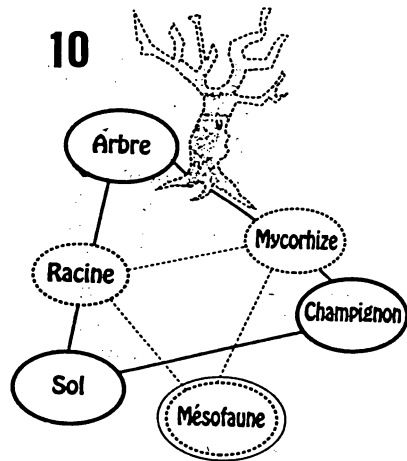
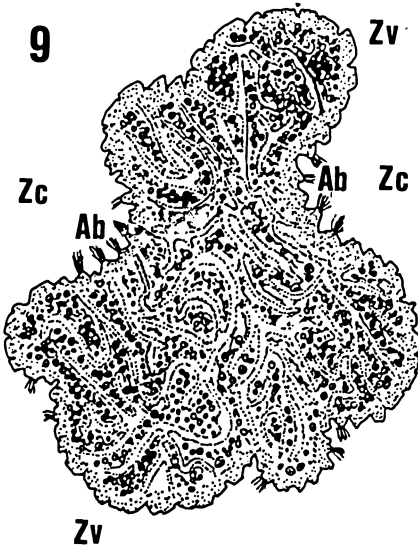
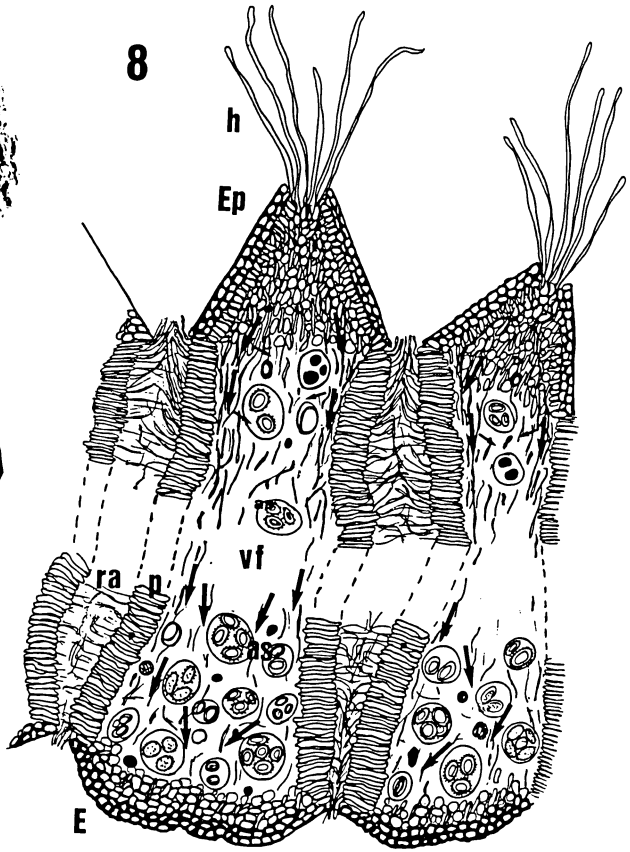
houppes de filaments sont capables d'adhérer aux particules du sol environnant et de coloniser toutes les structures organiques résiduelles qui y seraient présentes.

Le péridium est constitué d'hyphes à cytoplasme dégénéré et à parois épaisses et mélanisées. Elles jouent un rôle de barrière de protection avec le milieu externe. Les hyphes internes de l'ascocarpe forment la gleba qui est composée de zones stériles et de zones fertiles (Fig 7). Les veines stériles de couleur blanche sont constituées de filaments pluricellulaires organisés en un réseau arachnoïde et sont limitées par des filaments mycéliens appelés paraphyses. La présence de bactéries entre les filaments du réseau arachnoïde suggère que les veines stériles sont en relation avec le milieu extérieur (PARGUEY-LEDUC et al., 1987 ; 1988 ; PACIONI, 1990). La sortie de ces veines se fait au niveau des versants des écailles ou dans le fond des vallées séparant les écailles (CALLOT et GUYON, 1990). Ces zones sont directement impliquées dans les échanges gazeux entre l'ascocarpe et l'atmosphère du sol (BARRY, 1992).

Les veines fertiles sont disposées parallèlement aux veines stériles (Fig 6). Elles sont constituées d'hyphes stériles non orientées au niveau desquelles des filaments se différencient en appareil sporophytique qui génère les asques contenant les ascospores (pour plus de détails, voir PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1987 ; JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC, 1988 ; PARGUEY-LEDUC et al., 1991).

Le développement des asques et des ascospores aboutit à un élargissement des veines fertiles entraînant la compression des veines stériles et du réseau arachnoïde. L'ascocarpe atteint alors des pressions internes très importantes (PARGUEY-LEDUC et al., 1987). La couleur des veines fertiles est un caractère de maturité et constitue un critère important de commercialisation (noire chez *Tuber melanosporum* ; marron foncé chez *T. uncinatum*).

Grâce à l'utilisation de radioéléments et à l'application de la technique autoradiographique, BARRY (1992) a montré l'implication des veines fertiles dans la conduction des éléments transférés dans l'ascocarpe (Fig 6). Les écailles pyramidales pourvues de filaments mycéliens sommitaux puisent dans le sol les éléments nutritifs qui seront ensuite distribués dans la gleba pour être métabolisés. Les veines fertiles assurent ce transfert, alors que les veines stériles ne semblent jouer aucun rôle direct. L'ascocarpe apparaît divisé en zones préférentielles d'absorption et en zones à métabolisme actif, reliées entre elles par des voies de conduction (Fig 9). Le développement différentiel entre les zones d'absorption à croissance lente et les zones métaboliquement actives à croissance rapide conduit à l'établissement d'un ascocarpe déformé et constitué de zones concaves absorbantes et de zones convexes en croissance (BARRY, 1992).



Il est rare de trouver des ascocarpes uniformément sphériques, sans boursouflures. Les ascocarpes les plus volumineux sont les plus déformés. A maturité, les veines fertiles remplies d'asques et de spores, ne peuvent plus assurer le transfert des éléments du sol vers les zones à métabolisme actif. Les veines stériles compressées n'assurent plus les échanges gazeux. L'ascocarpe passe alors de l'anabolisme au catabolisme (BARRY, 1992). La maturation de l'ascocarpe s'accompagne de modifications au niveau des composés lipidiques et aromatiques. Les arômes développés à maturité sont diffus, pénétrant et persistant. Ils témoignent d'un critère de qualité.

ECOLOGIE DE LA TRUFFE

En France, trois espèces de truffe sont consommées et cultivées : la truffe du Périgord (*Tuber melanosporum*), la truffe de Bourgogne (*Tuber uncinatum*) et la truffe d'été (*Tuber aestivum*). *Tuber aestivum* se rencontre dans le nord de la France (Bourgogne, Lorraine, Champagne, Franche-Comté, Bresse) alors que *Tuber melanosporum* se récolte dans le Périgord, le Quercy, l'Angoumois, le Poitou, la Provence, le Dauphiné. Cette espèce est aussi signalée de façon plus ponctuelle dans d'autres régions françaises à microclimat favorable (exemple, dans la Meuse). *Tuber aestivum* accompagne *Tuber melanosporum* dans le Midi et s'étend vers le Nord-Est dans la région de *Tuber uncinatum*.

Les truffes sont très dépendantes des conditions du milieu et du climat. La pluviométrie est un facteur dominant dans l'activité du mycélium truffier, le développement des mycorhizes et la formation des ascocarpes (LE TACON et al., 1982 ; DELMAS, 1983 ; MAMOUN et OLIVIER, 1990).

Les zones trufficoles sont des zones calcaires, bien drainées, sans discontinuités structurales et présentant un horizon profond à porosité biologique. Des études pédologiques détaillées, menées dans une truffière de *Tuber melanosporum* ont montré que le fonctionnement hydrique des sols calcaires constituerait le facteur déterminant de l'entrée en production d'une truffière (CALLOT, 1993).

Les observations des terrains producteurs d'ascocarpes réalisées par CALLOT (1993 et comm. pers.) ont révélé l'importance de l'activité biologique du sol. La mésofaune (essentiellement les Oribates, les Collemboles, les Acariens) joue un rôle fondamental dans la décomposition et l'aération du milieu, indispensables à la croissance du champignon. L'intervention de la mésofaune et des vers de terre dans la transformation du sol autour de l'ascocarpe permet la décomposition du sol par formation de boulettes fécales (CALLOT et GUYON, 1990). Les fourmis montrent également une grande activité. En fait, tous les insectes du sol participent à une chaîne permettant la dissémination des spores et du mycélium, l'aération du milieu et la

biodisponibilité des éléments minéraux indispensables au développement de ce champignon (azote, phosphore, notamment).

La flore bactérienne est également présente et active dans les zones trufficoles (CHALVIGNAC et al., 1959 ; MAMOUN et OLIVIER, 1990). Des populations de *Pseudomonas fluorescens* ont été identifiées et elles sont particulièrement développées en périodes humides. Elles interviendraient alors dans la mobilisation du fer présent dans le sol. En périodes sèches, c'est le mycélium truffier qui assurerait cette activité, alors que les populations de *Pseudomonas* sont moins nombreuses (MAMOUN et OLIVIER, 1990).

D'autres espèces de champignons peuvent se développer sur les zones à truffe. Ces champignons mycorhiziens entrent alors en concurrence avec le mycélium truffier et établissent des mycorhizes avec la plante. Chaque fois que se forment de nouvelles racines, des centaines de spores et de mycélium sont aptes à germer et à se développer pour constituer des mycorhizes. Le mycélium truffier est peu agressif et il est souvent considéré comme perdant. Par contre, celui de *Cenococcum geophilum* qui produit aussi des ectomycorhizes et un corps fructifère hypogé, est un dangereux concurrent pour le mycélium de truffe. A l'inverse, d'autres champignons mycorhizogènes, saprophytes ou pathogènes, ont une croissance inhibée par le mycélium truffier (LUPPI-MOSCA, 1972 ; FASOLO-BONFANTE et al., 1972). Chez la truffe, le mycélium et l'ascocarpe présente une action phytotoxique et une action antagoniste vis-à-vis de certains microorganismes. Récemment, des substances aldéhydiques et alcooliques permettant d'altérer les parois cellulaires et d'inhiber la synthèse des acides nucléiques des microorganismes, ont été isolés à partir d'ascocarpes de *Tuber melanosporum* (PACIONI, 1991).

La présence de mycélium truffier est souvent révélé par l'absence de végétation dans un rayon correspondant approximativement à la zone d'exploitation racinaire de la plante-hôte : c'est le brûlé ou brûlis. Son intensité est variable selon les espèces de truffe. Il est particulièrement net avec *Tuber melanosporum* et *T. aestivum*. Toutefois d'autres champignons sont capables de produire des brûlis (*Scleroderma verrucosa*, *Astraeus hydrometricus* et certaines Russules).

Seules quelques espèces végétales particulièrement bien adaptées aux conditions de sécheresse sont capables de se développer sur les brûlis : Sedum, Brome, Silène,... (MONTACHINI et CARAMIELLO-LOMAGRO, 1977). Le mycélium truffier pourrait avoir une action toxique vis-à-vis de la plupart des végétaux herbacés (FASOLO-BONFANTE et al., 1971 ; MONTACHINI et al., 1977).

Dans le sol des brûlis, de très nombreuses boulettes fécales sont présentes. Elles témoignent d'une activité biologique intense, indispensable au développement des ascocarpes. La disparition

progressive de cette activité entrainerait des modifications physico-chimiques du milieu : diminution de la porosité, minéralisation des racines et des microorganismes, compaction du sol, stagnation de l'eau dans le sol, perturbation du fonctionnement hydrique du milieu (CALLOT, 1993). De telles modifications, défavorables au développement du champignon, pourraient être à l'origine de la régression de la production truffière amorcée depuis plusieurs dizaines d'années.

En conclusion, l'écosystème truffier est un système complexe qui présente des interactions multiples (Fig 10). Si l'arbre et le champignon sont les deux composantes de base, leur développement est sous la dépendance des conditions physico-chimiques du milieu : sol calcaire ou carboné, fonctionnement hydrique permettant un bon drainage, activité biologique intense. Ces conditions sont nécessaires à la propagation du mycélium, au développement maximal des mycorhizes, à la formation et au grossissement des ascocarpes.

Bibliographie

- BARRY, D. - Croissance et fonctionnement d'un ascocarpe au stade adulte de *Tuber melanosporum* et *Tuber aestivum*. Etude structurale des hyphes externes et approche expérimentale de leur fonction. Thèse de Doctorat de l'École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier (1992).
- BARRY, D., CALLOT, G., JANEX-FAVRE, M.C., PARGUEY-LEDUC, A. et PARGNEY, J.C. - Morphologie et structure des hyphes externes du péridium des *Tuber* à écailles : évolution au cours du développement de l'ascocarpe. Can. J. Bot. , 71 : 609-619 (1993).
- BOUTEKRABT, A. et PARGNEY, J.C. - Etude ultrastructurale de *Tuber melanosporum* Vitt. en culture isolée et en association avec des vitroplants de *Quercus* (*Q. robur* et *Q. pubescens*). Cryptogamie, Mycologie, 12 : 25-45 (1991).
- CALLOT, G. - Microstructural analysis of the truffle ascocarp/soil interface during development. In 14th Intern. Cong. of Soil Science, Kyoto, Japon, 256-261 (1990).
- CALLOT, G. - La relance de la trufficulture en Languedoc-Roussillon. L'exemple d'un programme recherche/développement. Le Trufficulteur Français, 4 : 12-13 (1993).
- CARNERO-DIAZ, I. - Les spinules d'ectomycorhizes de Truffes : études morphologique et ultrastructurale. Approche cytophysiologique de leur implication dans l'absorption des cations. Rapport de stage de DEA, Université de Nancy I (1992).
- CHALVIGNAC, M.A., TYSET, C. et POCHON, J. - Action de la truffe (*Tuber melanosporum*) sur la microflore tellurique. Annales de l'Institut Pasteur, 355-358 (1959).
- CHEVALIER, G., GREUTE, J. and POLLASEK, A. - Obtention de mycorhizes de différentes *Tuber* par synthèse à partir de spores en conditions gnotoxéniques. Acad. Agri. Fr., 981-989 (1972).
- CHEVALIER, G. - Synthèse axénique des mycorhizes de *T. brumale* (Vitt.), à partir de cultures pures du champignon. Ann. Phytopa., 5(2) : 163-182 (1973).
- DELMAS, J. - La truffe et sa culture. INRA, PARIS, 2^e édition (1983).
- DUPRE, C. et CHEVALIER, G. - Analyse électrophorétique des protéines fongiques de différentes *Tuber* en association ou non avec *Corylus avellana*. Cryptogamie, Mycol., 12(4) : 243-250 (1991).

- FASOLO-BONFANTE, P., FONTANA, A. and MONTACCHINI, F. - Studi Sull'ecologia del "*Tuber melanosporum*". I. Dimonstrzione di un effeto fitotossico. *Allionia*, 17 : 47-53 (1971).
- FASOLO-BONFANTE, P., CERUTE-SCURTI, J. and OBERT, F. - Interazione di *Tuber melanosporum* Vitt. con miceli di altri funghi. *Allionia*, 18 : 54-59 (1972).
- FONTANA, A. - Il micelio di "*Tuber melanosporum*" Vitt. in coltura pura. *Allionia*, 17 : 19-23 (1971).
- FRANCK, A.B. - Uber die auf Wurzelsymbiose beruende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Aust. J. Biol. Sci.*, 20 : 915-926 (1885).
- JANEX-FAVRE, M.C. et PARGUEY-LEDUC, A. - Les asques de *Tuber* (Discomycètes, Tubérales) : particularités morphologiques et structurales. Atti del II Congresso Internazionale Sul Tartufo, Spoleto (1988).
- LE TACON, F. DELMAS, J., GLEIZE, R. et BOUCAHRD, D. - Influence du régime hydrique du sol et de la fertilité sur la fructification de la truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum* Vitt.) dans le Sud-Est de la France. *Acta Oecologica, Oecol. Applic.*, 3(4) : 291-306 (1982).
- LUPPIN-MOSCA, A.M. - La micoflora de la rizosfera nelle Tartufoaie. III. Analisi micologica di terreni tartuiferi francesi. *Allionia*, 18 : 33-40 (1972).
- MAMOUN, M. et OLIVIER, J.M. - Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers. III. Effet du régime hydrique sur la mycorhization et la micoflore associée. *Agronomie*, 10 : 77-84 (1990).
- MONTACCHINI, F., LO BUE, G. and CARAMIELLO-LOMAGO, R., - Studi sull'ecologia del "*Tuber melanosporum*". III. Fenomeni di inibizione nell'ambiente naturale nell'Italia centrale. *Allionia*, 22 : 87-104 (1977).
- MONTACCHINI, F. and CARAMIELLO-LOMAGO, R., - Studi sull'ecologia del "*Tuber melanosporum*". II. Azione inibitrice su specie erbacee della flora spontanea. *Allionia*, 22 : 81-85 (1977).
- MOUCHES, C., DUTHIL, P., POITOU, N., DELMAS, J. and BOVE, J.M. - Caractérisation des espèces truffières par analyse de leurs protéines en gel de polyacrylamide et application de ces techniques à la taxonomie des champignons. Mushroom Science XI. Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi, Australia (1981).

- PACIONI, G. - La culture des truffes. Vecchi Ed, PARIS, 125 p (1986).
- PACIONI, G. - Scanning electron microscopy of *Tuber* sporocarps and associated bacteria. Mycol. Res., 94(8) : 1086-1089 (1990).
- PACIONI, G. - Effects of *Tuber* metabolites on the rhizospheric environment. Mycol. Res., 95(12) : 1355-1358 (1991).
- PAPA, G., POLIMENI, C., MISHIATI, P. and CONTINI CORTELLEZZI, G. - Immunological aspects of the characterization of *T. magnatum* and *T. albidum*. Proceedings of the 3rd European Symposium on Mycorrhizas, SHEFFIELD (1992).
- PARGNEY, J.C., LEDUC, J.P., DEXHEIMER, J. et CHEVALIER, G. - Etudes ultrastructurale et cytochimique des interfaces de l'association mycorrhizienne *Tuber melanosporum*/*Corylus avellana*. Atti del II Congresso Internazionale sul Tartufo, Spoleto (1988).
- PARGNEY, J.C. et LEDUC, J.P. - Etude ultrastructurale de l'association mycorrhizienne Noisetier/Truffe (*Corylus avellana*/*Tuber melanosporum*). Bull. Soc. Bot. Fr., 137 : 21-34 (1990).
- PARGUEY-LEDUC, A., MONTANT, C. and KULIFAJ, M. - Structure et évolution de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord). C. R. Acad. Sci. Paris, t229, série III(8) : 315-320 (1984).
- PARGUEY-LEDUC, A. and JANEX-FAVRE, M.C. - Formation et évolution des ascospores de *Tuber melanosporum* (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). Can. J. Bot., 65 : 1491-1503 (1987).
- PARGUEY-LEDUC, A., MONTANT, C. and KULIFAJ, M. - Morphologie et structure de l'ascocarpe adulte de *Tuber melanosporum* Vitt. Cryptogamie, Mycologia, 8(3) : 173-202.
- PARGUEY-LEDUC, A., JANEX-FAVRE, M.C. and MONTANT, C. - L'ascocarpe de *Tuber melanosporum* (Truffe noire du Périgord, Discomycètes) : structure de la gleba. I. Les veines fertiles. Atti del II Congresso Internazionale Sul Tartufo, Spoleto (1988).
- PARGUEY-LEDUC, A., JANEX-FAVRE, M.C. and MONTANT, C. - Ontogénie et structure de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). Bull. Soc. Myc. Fr., t105 (3) : 227-246 (1989).
- VITTADINI, C. - Monographia Tubercearum. Milan, 88 p (1831).

Légendes

- Fig 1 : Racine longue (rl) de Chêne portant des mycorhizes (my).
- Fig 2 : Evolution d'une mycorhize (a-d) et aspect segmenté de certaines mycorhizes à croissance différentielle entre le champignon et la racine (e).
- Fig 3 : Glomérule de mycorhizes.
- Fig 4 : Aspects des spinules de *Tuber melanosporum* (a), *T. brumale* (b), *T. uncinatum* (c).
- Fig 5 : Coupe longitudinale dans une mycorhize montrant la racine courte formée du cylindre central (cc) et du cortex (c) et entourée par un manchon fongique (mf). La première couche de cellules corticales est bordée par le réseau de Hartig (rh). A l'apex, les cellules de la coiffe (c) forment entre le méristème (m) et le manteau fongique, une zone tanifère caractéristique. Les polyphénols issus de ces cellules sont ensuite incorporés au manteau fongique.
- Fig 6 : Ascocarpe de *Tuber melanosporum* (cliché original : PARGUEY-LEDUC et al., 1987).
- Fig 7 : Coupe longitudinale de *Tuber melanosporum* (cliché original : PARGUEY-LEDUC et al., 1987).
- Fig 8 : Représentation d'une zone à écailles pyramidales (Ep) avec houppes de filaments mycéliens (h) reliées à une zone en croissance à écailles plates (E). Les éléments absorbés par les écailles pyramidales circulent dans les veines fertiles (vf) contenant les asques (as). Le réseau arachnoïde (ra), bordé par les paraphyses (p), n'est pas impliqué dans le transfert des éléments. Il s'ouvre au fond des vallées séparant les écailles. Les flèches représentent les flux d'éléments dans les veines (d'après BARRY, 1992).
- Fig 9 : Représentation du mode de croissance de l'ascocarpe adulte indiquant les sites d'absorption (Ab) des zones concaves (Zc) et les zones de croissance convexes (Zv) (d'après BARRY, 1992).
- Fig 10 : Schématisation de l'écosystème truffier (d'après CALLOT, 1993).

PROCES-VERBAL DE LA SEANCE DU 10 MARS 1994

-:-:-:-:-

A 17 heures, le Président, M. J.M. KELLER, ouvre la séance en présence de 51 personnes dans la Salle du Conseil de l'Hôtel du District de l'Agglomération nancéienne.

Ont signé le registre :

Mmes HEUSSER, PATARD, BERNA, KAYL, GRAND'EURY,
MASSON.

MM. LESUEUR, PUEYO, NABET, BAUTZ, DOSSMANN,
COUDRY, PHILIPPON, WENZEL, MATHIOT, VALCK, GALOTTE, ANTOINE,
NOURISSON, CLAUDON, COEURDEROY, KAYL, PETIT, PICHEREAU, FOSSARD,
KIFFER, WAGNER, LESTIENNE, CHOUVIAC, COMBREMONT, BERNA, FLECHON,
CORNEVAUX, MAUBEUGE, JACQUIN.

Etaient excusés :

Mmes. COLIN, TRABALON, CLEVENOT, TOUZOT,
MAUBEUGE.

MM. BOURGOIN, PIERRE, BAUDOT, PERCEBOIS, LEHR,
CONDE.

Le Secrétaire Général présente des nouveaux membres :

Mme. Béatrice MATHIOT : Directeur de recherche en génie biologie, responsable de l'Ecole de visiteurs médicaux, présentée par MM. KELLER et PHILIPPON.

M. Paul LEHR : Directeur de recherche au CNRS Directeur de l'UER de Sciences Physiques-Biologie à Nancy I, présenté par MM. KELLER et PIERRE.

M. J.C. PARGNEY : Maître de conférences à Nancy I, Docteur en Sciences Naturelles, présenté par MM. KELLER et MAUBEUGE.

M. WENZEL : Directeur Général de formation professionnelle, présenté par MM. KELLER et MAUBEUGE.

Mme. TRABALON-TOUZOT, Maître de conférences à Nancy I, présentée par MM. KELLER et MAUBEUGE.

Le Président donne la parole à M. CHERRORET, professeur, Docteur de l'Université de Metz, pour la première communication portant sur les "effets d'une intoxication aluminique par intubation gastrique sur quelques variables plasmatiques chez le rat adulte. Comparaison avec le rat en développement".

Cette expérience avait pour but de démontrer que l'absorption de sels d'aluminium (lactate et chlorure) utilisés comme anti-acides, n'a pas de conséquences sur les adultes, mais se révèle par contre toxique pour les jeunes rats et surtout entre le 5ème et le 14ème jour, car les barrières intestinale et périencéphalique ne sont pas encore en place.

M. KELLER s'étonne de l'équivalence chlorure 100 et lactate 200 dans l'administration des doses. Pour M. CHERRORET cela est dû à ce que le chlorure doit descendre le pH.

M. MAUBEUGE présente ensuite la deuxième communication de M. COURTOIS de Metz, spécialiste des insectes, à propos de la découverte d'un hyménoptère parasite des papillons, inconnu en France jusqu'en 1983 mais qui existait déjà en Espagne.

La troisième communication, celle de M. B. CONDE, lue également par M. MAUBEUGE, relate la morsure au bras subie en 1992 par M. C. POIVRE, de la part d'une larve de Chrysopidae de 1 mm. de long. M. MAUBEUGE y ajoute d'autres exemples personnels de morsures dues aux insectes : celle d'une sauterelle verte et celle des coccinelles sur les plages.

Suit alors une conférence donnée par M. J.C. PARGNEY sur les "Connaissances actuelles sur la structure, la biologie et l'écologie de la truffe". M. PARGNEY est Maître de conférences à l'Université de Nancy I, chercheur en biologie forestière en liaison avec les INRA de Montpellier et de Clermond-Ferrand.

La truffe, dès l'antiquité a été l'objet de descriptions et d'hypothèses nombreuses par suite de son aspect écologique complexe ; Théophraste, Plutarque, Cicéron, Pline l'Ancien. Au XIX^e siècle seulement est établi le rapport avec les racines du chêne grâce à RAVEL et surtout à FRANCK qui parlent de la structure modifiée des racines : les mycorhizes. C'est par celles-ci que débute le cycle de la truffe. Le mycélium infecte la racine sur son pourtour, permet le passage des sels et nourrit la truffe qui se coupera bientôt de la racine pour dépendre seule de son milieu. La coupe de la truffe montre des veines stériles blanches avec des hyphes à la périphérie afin d'assurer l'aération et des veines fertiles dont les spores foncées donnent la couleur noire.

La truffe est produite dans le SO et le SE de la France, en Bourgogne, dans le département de la Meuse, mais ne se rencontre pas dans les massifs anciens aux terres acides. Dans le sol, le front du mycélium en tête des racines, empêche la croissance d'autres plantes et provoque en surface une zone de brûlis desséchés. Le grossissement de la truffe doit beaucoup à l'activité des vers de terre qui ameublissent le sol autour d'elle et la nourrissent de leurs boulettes fécales. L'arôme de la truffe est perçu par le chien, le porc, les mouches. Les tonnages récoltés ont baissé de 10 fois depuis 1900, sans doute en raison des autoroutes qui perturbent les systèmes hydriques et les passages fertilisants d'animaux. D'où la nécessité d'établir des zones à truffes.

Toute cette conférence s'appuyait sur des diapositives montrant, pour certaines, des coupes vues en microscopie électronique.

Les remerciements du Président et les nombreuses questions posées témoignent de l'intérêt porté à cette conférence.

Ce sont d'abord les questions de M. JACQUIN de l'ENSAIA et leurs réponses : les transferts de calcium entre le sol et la truffe s'effectuent sans doute sous forme ionique. Les apports de dolomie sont recommandés dans ce genre de culture. La biofaune du brûlis est nécessaire au développement du champignon. M. JACQUIN souhaite aussi que le texte de cette conférence soit porté à la connaissance des syndicats truffiers de la Meuse. Dans cette région l'espèce du Périgord (*T. melanosporum*) ne convient pas car les mycorhizes sont du type de Bourgogne (*T. incinatum*). Cette dernière variété est donc à recommander aux producteurs.

M. COUDRY regrette que l'INRA ne s'intéresse pas à l'Est alors que le SO possède un centre important, formé par l'Université de Toulouse, l'INRA de Bordeaux et de nombreux lycées agricoles. Il souligne également la grande différence de prix séparant la variété blanche du Piémont (*T. magnatum*) de celle du Périgord (20.000 F. le kilo contre 4.000 F).

Au Pr. LABE de la Faculté de médecine qui demande s'il faut utiliser des engrais, M. PARGNEY répond que ce n'est pas obligatoire mais que, par contre, le mycélium aime les tanins. Toutefois la présence de calcaire demeure le facteur le plus important ainsi que les pluies d'automne, deux conditions propres à la région méditerranéenne. Le Pr. LABE ajoute que les arômes truffiers sont des stéroïdes évoquant l'odeur de la chienne en chaleur. D'ailleurs les arômes artificiels de près de 50 constituants, trouvés par les chercheurs suisses, servent à dresser les chiens.

M. JACQUIN parle aussi d'un détecteur électronique des arômes mis au point à Toulouse.

M. KELLER évoque le rôle des boulettes fécales qui attirent les insectes sur la truffe et se demande si les vacuoles des racines ne sont pas des organismes de stockage.

M. MAUBEUGE rappelle le souvenir d'un ancien membre de la Société, fin mycologue, M. KALAFI, qui offrait à l'apéritif une dégustation de *melanosporum*. Pour le Secrétaire Général n'y a-t-il pas un ou des oligoéléments favorisant la truffe. Par ailleurs n'y aurait-il pas corrélation entre la chute de la production et la progression des moteurs rejetant du plomb tétraéthyle ? Le conférencier considère que, jusqu'ici, la seule étude de toxicité a été effectuée à propos des excès de cuivre dans le sol des anciennes vignes.

Enfin, dernier conseil -gastronomique celui-là- sollicité par M. KELLER : il faut éviter les truffes dans les pâtés en boîte et ne les consommer que fraîches et venant de chez le producteur.

Après avoir remercié à nouveau M. PARGNEY, le Président lève la séance à 19 heures 15.