Gérard FERRIERE

D.E.A. D'ECOLOGIE
OCTOBRE - 1977

Publ. 71

EXEMPLAIRE RESERVÉ

CONTRIBUTION A LA CARACTERISATION DE L'ENDENTERE DES LOMBRICIENS : ELABORATION D'UNE METHODE D'IDENTIFICATION DES FRAGMENTS VEGETAUX INGERES

SCIENCE DE LA NATURE

3 ème cycle D'ECOLOGIE MICROBIENNE
UNIVERSITE CLAUDE BERNARD
LYON 1

STATION DE RECHERCHES

SUR LA FAUNE DU SOL
I. N. R. A.
[illegible]

Gérard FERRIERE

D.E.A. D'ECOLOGIE
OCTOBRE - 1977

CONTRIBUTION A LA CARACTERISATION DE L'ENDENTERE DES LOMBRICIENS : ELABORATION D'UNE METHODE D'IDENTIFICATION DES FRAGMENTS VEGETAUX INGERES

SCIENCE DE LA NATURE

STATION DE RECHERCHES

3 ème cycle D'ECOLOGIE MICROBIENNE

SUR LA FAUNE DU SOL

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

Gérard FERRIERE

D.E.A. D'ECOLOGIE
OCTOBRE - 1977

CONTRIBUTION A LA CARACTERISATION DE L'ENDENTERE DES LOMBRICIENS : ELABORATION D'UNE METHODE D'IDENTIFICATION DES FRAGMENTS VEGETAUX INGERES

SCIENCE DE LA NATURE
3 ème cycle D'ECOLOGIE MICROBIENNE
UNIVERSITE CLAUDE BERNARD
LYON I

STATION DE RECHERCHES
SUR LA FAUNE DU SOL
I. N. R. A.
21000 DIJON

S O M M A I R E

Introduction 2

I - Importance des lombriciens dans la biosphère 2

II - Témoignage de l'endentère 3

Première partie : Analyse des bases techniques nécessaires à l'élaboration de notre méthode 5

I - Mise au point bibliographique 5

1 - Principe 5

2 - Observation des épidermes 6

II - Analyse de l'endentère des lombriciens 8

Deuxième partie - Description d'une technique pour l'identification des fragments végétaux ingérés 11

I - Etablissement d'une technique pour l'observation de la matière organique végétale contenue dans le tube digestif des vers de terre 12

1 - Présentation générale 12

2 - Décoloration 13

3 - Observation 13

II - Mise au point d'une méthode pour l'étude des micro-caractères des plantes de Cîteaux 15

1 - Raisons de notre choix 17

2 - Prélèvement botanique 17

3 - Décoloration 17

4 - Préparation microscopique 18

...

Troisième partie - Etude des épidermes des plantes de Cîteaux 21

I - La prairie de Cîteaux 21

II - Description des caractères épidermiques 22

1 - Bibliographie 22

2 - Eléments constitutifs des épidermes 28

a - Poacées 28

a_1 - Les cellules courtes 28

a_2 - Les cellules longues 29

b - Dicotylédones 29

III - Tables dichotomiques..... 31

1 - Avertissement et limites de la clé 31

2 - Clé des épidermes 32

Conclusion 41

Bibliographie 43

"Il est permis de douter qu'il y ait beaucoup d'autres animaux qui aient joué dans l'histoire du globe un rôle aussi important que ces créatures d'une organisation si inférieure".

Ch. DARWIN, The formation of vegetable mould through the action of worms, 1881.

INTRODUCTION

I - IMPORTANCE DES LOMBRICIENS DANS LA BIOSPHERE

Très tôt, l'action des vers de terre fut remarquée par White (1789) qui semble leur avoir assigné le rôle de protagonistes de la végétation. Pourtant, à cette époque, ces animaux ne faisaient l'objet d'aucune recherche approfondie ; ils étaient alors regroupés dans la masse des êtres vermiformes. Il fallut attendre Savigny qui, en 1821(1826), au grand étonnement de ses contemporains reconnut la complexité spécifique des lombriciens.

Darwin (1837-1881), après 20 années d'observations minutieuses, convint de leur utilité sur un plan général. Son oeuvre est encore admise comme celle d'un précurseur.

Puis Müller (1889), se plaçant sur un plan pédogénétique, établit la corrélation entre les vers de terre et les mulls actifs. Par la suite, plusieurs auteurs comme Wollny (1890), Bornebusch (1930), Stöckli (1928) se consacrèrent à l'étude de l'influence de ce peuplement sur la fertilité des sols.

Enfin, Bouché (1971-1972), grâce à une approche globale appliquée aux écosystèmes, entreprit d'effectuer la synthèse des fonctions des lombriciens, troisième biomasse sous nos climats après les végétaux et les microorganismes.

...

En définitive, les nombreux travaux qui ont amélioré nos connaissances dans ce domaine nous permettent de décrire à grands traits les multiples aspects de l'activité agro-écologique de cette faune : enfouissement actif de la matière organique et brassage de celle-ci avec les éléments minéraux, intensification du drainage et de l'aération par le réseau de galeries, remontée des éléments fins et lessivés des couches profondes du substrat édaphique ; stimulation de la microflore ; transferts d'énergie et rejet dans le milieu de divers produits.

II - TEMOIGNAGE DE L'ENDENTERE

La géodrilologie (science des vers de terre) a atteint un stade qui lui permet d'aborder sur des bases solides l'étude fonctionnelle des lombriciens. L'effort doit donc porter sur l'amélioration de méthodes qui conduisent à l'analyse directe des phénomènes tels qu'ils se produisent dans une station de référence (prairie permanente de Cîteaux, Côte-d'Or).

Un des témoignages de l'activité des vers de terre peut être fourni par le contenu de leur tube digestif ou endentère. Celui-ci est formé d'un mélange original conçu à partir de la litière et des différents facteurs du sol. Cet ensemble de matières subit, pendant le transit intestinal, diverses actions mécaniques et enzymatiques. Pour interpréter ces changements qui portent sur des centaines de tonnes d'ingestats par hectare et par an, il est essentiel de connaître la formation initiale de cet amalgame.

On présume aussi que le développement des microorganismes de l'endentère est étroitement lié à la nature de la matière organique végétale ingérée (Rouelle, communication personnelle).

...

C'est pourquoi, nous allons nous attacher à mettre au point une technique qui permettra de préciser l'origine botanique des fragments de plantes présents dans le tube digestif des vers de terre.

PREMIERE PARTIE

ANALYSE DES BASES TECHNIQUES NECESSAIRES A L'ELABORATION DE NOTRE METHODE

Pour arriver à une meilleure connaissance de l'alimentation des lombriciens, il est indispensable de rassembler une somme importante d'informations puisées dans différents secteurs d'études.

Une analyse bibliographique approfondie, première étape à tout travail de recherches, s'impose pour mener à bien cet objectif.

I - MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

1) Principe

L'idée selon laquelle il est possible d'obtenir des indications sur les préférences alimentaires d'un animal par l'examen de ses fèces ou du contenu de son tube digestif n'est pas nouvelle.

...

Dès 1939, Baumgarner et Martin identifièrent des particules de plantes enfermées dans l'estomac d'écureuils. Afin de parvenir à ce résultat, ils firent appel aux caractéristiques épidermiques des végétaux. Antérieurement, ils recueillirent sur le territoire occupé par ce rongeur des tiges et des feuilles qu'ils utilisèrent comme collection de référence.

Par la suite, plusieurs chercheurs reprirent cette procédure pour l'appliquer à d'autres mammifères herbivores (Dusi, 1949 ; Croker, 1959 ; Hercus, 1960 ; Ward, 1960 ; Storr, 1961 ; Williams, 1962 ; Stewart, 1967 ; Hansson, 1970 ; Vergne, 1976) ou pour l'adapter au cas d'insectes (Isely et Gordon, 1949 ; Mulkern et Anderson, 1959 ; Brusven et Mulkern, 1960 ; Ueckert et Hansen, 1972). En raison de la teinte sombre de la matière organique, ces investigateurs eurent très souvent recours à des milieux éclaircissants voisins de la solution de Hoyer ou de la solution de Hertwig.

2) Observation des épidermes

Au regard de ces différents travaux, notre attention s'est tournée vers les épidermes. Nous allons maintenant exposer diverses techniques microscopiques en vue de leur observation.

Celle-ci peut s'effectuer en lumière épiscopique ou en lumière transmise. Dans la première alternative, cette opération est rendue difficile lorsque l'échantillon est recouvert de poils. La deuxième solution quant à elle suppose l'effacement ou la suppression des tissus profonds.

...

Il est possible d'arriver à ce résultat en premier lieu, en éliminant par grattage les cellules adhérant à l'épiderme que l'on veut isoler (Prat, 1932). Une telle opération exige beaucoup de pratique afin de parvenir à l'obtention d'une couche unicellulaire parfaitement nette.

Pour les tissus fortement sclérifiés, Clarke (1960) compléta la démarche de Prat en faisant précéder la scarification d'une décoloration à l'aide de l'alcool éthylique et de l'acide lactique.

Ce dernier élément chimique avait déjà été retenu pour ses propriétés éclaircissantes par Strain (1934) et Arney (1954).

De son côté, Fournioux (1971), à la suite de Morley (1968), préconisa l'emploi de la soude en milieu oxygéné.

Quick et Paty (1932), puis Gabriel et Pellissier (1936) firent usage d'un mélange contenant de l'hypochlorite de sodium.

Par ailleurs, Steimetz (1934), ainsi que Varia (1969), utilisèrent avec succès un réactif à base d'hydrate de chloral.

Enfin, Daft et Leben (1966) dans le but d'étudier des bactéries et des champignons placés à la surface de plantes firent appel au gaz chlore pour résorber les pigments folliaires.

...

II - ANALYSE DE L'ENDENTERE DES LOMBRICIENS

Nous venons de décrire succinctement quelques procédés qui permettent l'observation des microcaractères des végétaux. Nous devons maintenant replacer notre travail dans un contexte précis : celui de l'analyse de l'endentère des lombriciens de Cîteaux. Ceci nous permettra de dégager un certain nombre de contraintes qui nous limiteront dans la progression de notre démarche.

Le but étant dans une première étape principalement technologique et afin d'opérer sur de très petites quantités de substrat (de l'ordre du mg), Bouche et Kretzschmar (1974) ont choisi de n'étudier que le contenu du jabot-gésier des vers de terre. De plus, cette fraction de l'endentère peut être considérée comme l'échantillon le moins transformé du milieu dans lequel évolue l'animal.

Si cette miniaturisation ne soulève pas trop de problèmes pour l'analyse microbiologique, les études morphologiques quant à elles présentent de grandes difficultés qui nous obligeront à développer une procédure sans perte de particules.

Le tableau 1 de la page 9 présente les différents niveaux de la méthode dans son ensemble. Cette dernière a pour objet en premier lieu de séparer du sol la matière organique non liée. Cette opération est effectuée en plaçant l'échantillon dans un mélange de bromoforme et de chloroforme de densité élevée (généralement 2).

La fraction organique libre, de densité voisine de 1, surnage alors que le complexe organo-minéral se dépose en un culot. En fait, la dissociation n'est pas totale ; la centrifugation permet d'améliorer sensiblement le résultat.

...

1) Fixation des animaux dans une solution formolée (4 % de formol du commerce).

2) Pesée des animaux (tube digestif plein).

3) Dissection ⟶ Récupération du contenu du jabot-gésier dans de l'eau distillée.

4) Ajouter quelques gouttes d'ammoniaque ⟶ Dispersion du "mucus" intra-intestinal.

5) Etuve à 105°C ⟶ Dessication de l'échantillon.

6) Etude pondérale : poids total du contenu du jabot-gésier.

7) Liquide organique séparateur (densité 2).

8) Centrifugation ⟶ Séparation en deux fractions :

9) Surnageant organique.

▽

Pesée

▽

Identification des fragments végétaux

▽

Détermination du C/N

10) Culot minéral.

▽

Pesée

▽

Analyse granulométrique

▽

Analyses chimiques (Al, Fe)

Tableau I : fonction des lombriciens ; procédure d'analyse du sol ingéré (d'après Bouché et Kretzschmar, 1974).

Les deux parties sont ensuite recueillies sur des membranes filtrantes (ester de cellulose ou fibres de verre). Puis, les débris végétaux, après avoir subi une analyse qualitative, sont caractérisés par leur rapport carbone sur azote. C'est pourquoi nous devrons veiller pendant la réalisation de notre technique à n'apporter aucune modification à leur composition chimique.

DEUXIEME PARTIE

DESCRIPTION D'UNE TECHNIQUE POUR L'IDENTIFICATION DES FRAGMENTS VEGETAUX INGERES

Au cours de l'analyse qualitative de la matière organique, il est possible de reconnaître, sans étude particulière, certains débris végétaux.

Nous pouvons alors donner des indications sur la nature de l'organe (tige, feuille, racine, etc.) et des précisions d'un caractère plus général (monocotylédones, dicotylédones).

Cependant, pour réussir à identifier de nombreuses particules, il est indispensable d'effectuer au préalable une description micromorphologique de la flore de Cîteaux.

...

Nous nous proposons donc maintenant d'élaborer deux méthodes :

- la première nous permettra d'observer les épidermes desfragments de plantes ingérés par les lombriciens ;
- la seconde aura pour but de distinguer les microcaractères des végétaux issus de la station de prélèvement de ces animaux.

I - ETABLISSEMENT D'UNE TECHNIQUE POUR L'OBSERVATION DE LA MATIERE ORGANIQUE VEGETALE CONTENUE DANS LE TUBE DIGESTIF DES VERS DE TERRE

1) Présentation générale

Nous allons maintenant chercher à développer un procédé simple et rapide qui tend vers une systématisation poussée ; il s'agit en fait d'améliorer celui amorcé en 1976 (Ferrière, 1976).

Pour éclaircir les fragments végétaux sans modifier leur composition en carbone et en azote, nous adoptons le chlore qui offre d'intéressantes propriétés décolorantes en raison de son pouvoir oxydant. Ce gaz attaque avec vivacité tous les métalloïdes, excepté l'oxygène et les deux éléments chimiques précédemment cités.

...

Nous disposons de plusieurs solutions pour obtenir du chlore en laboratoire :

- faire réagir de l'acide chlorhydrique sur certains agents oxydants comme le permanganate de potassium ;

- employer des bouteilles de gaz chlore délivrées par le commerce. Elles sont d'un usage facile, mais elles exigent de rigoureuses mesures de sécurité pour leur conservation.

2) Décoloration

La matière organique libre, séparée de la fraction minérale, est recueillie sur un filtre. Nous introduisons ce dernier sur une plate-forme à l'intérieur d'une enceinte de verre dont les joints sont en chlorure de polyvinyle.

Nous insufflons un courant d'air humide qui favorise l'action du chlore sur les débris de plantes.

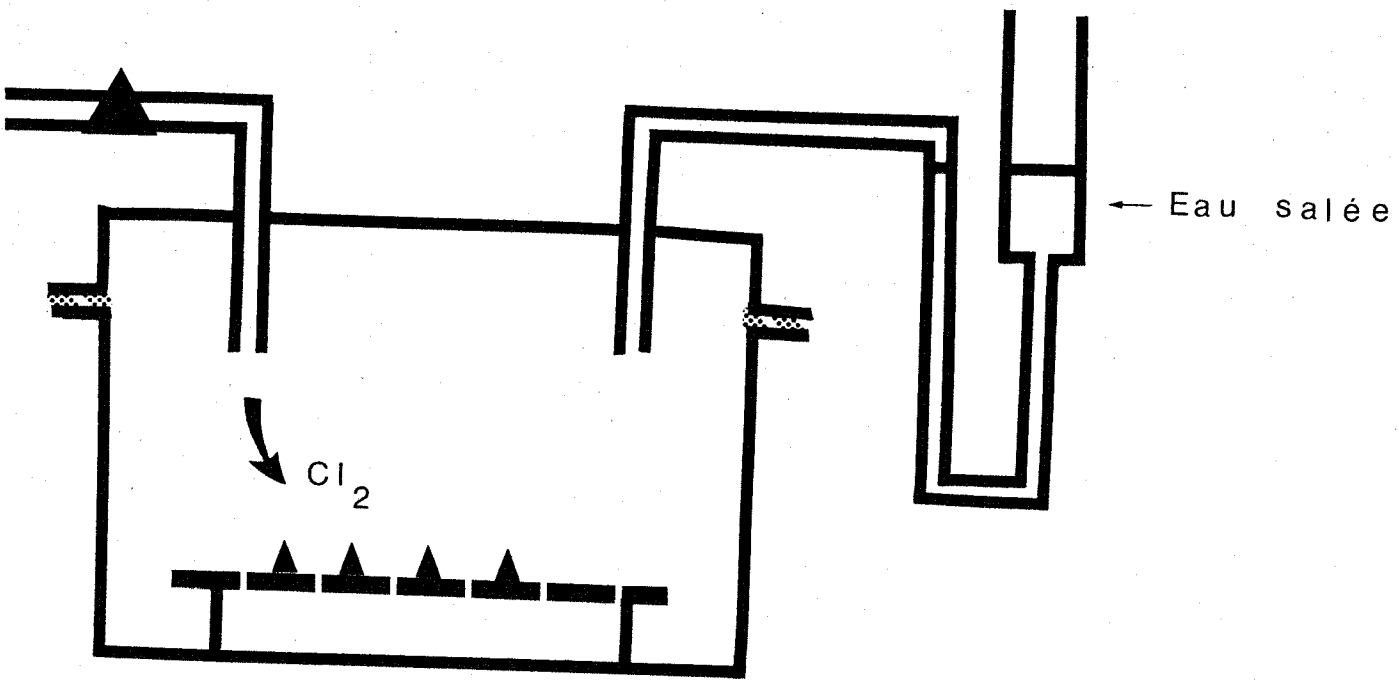
Nous sommes alors en mesure d'effectuer la décoloration. Elle commence dès que nous faisons pénétrer le chlore. Le schéma 2 de la page 14 représente le dispositif mis en oeuvre pour nos manipulations. Le tube est rempli d'eau salée. Dans le cas d'une surpression dans l'enceinte, ce liquide est chassé par le chlore qui s'y dissout très peu.

Quarante huit heures au maximum suffisent pour que les particules botaniques soient décolorées.

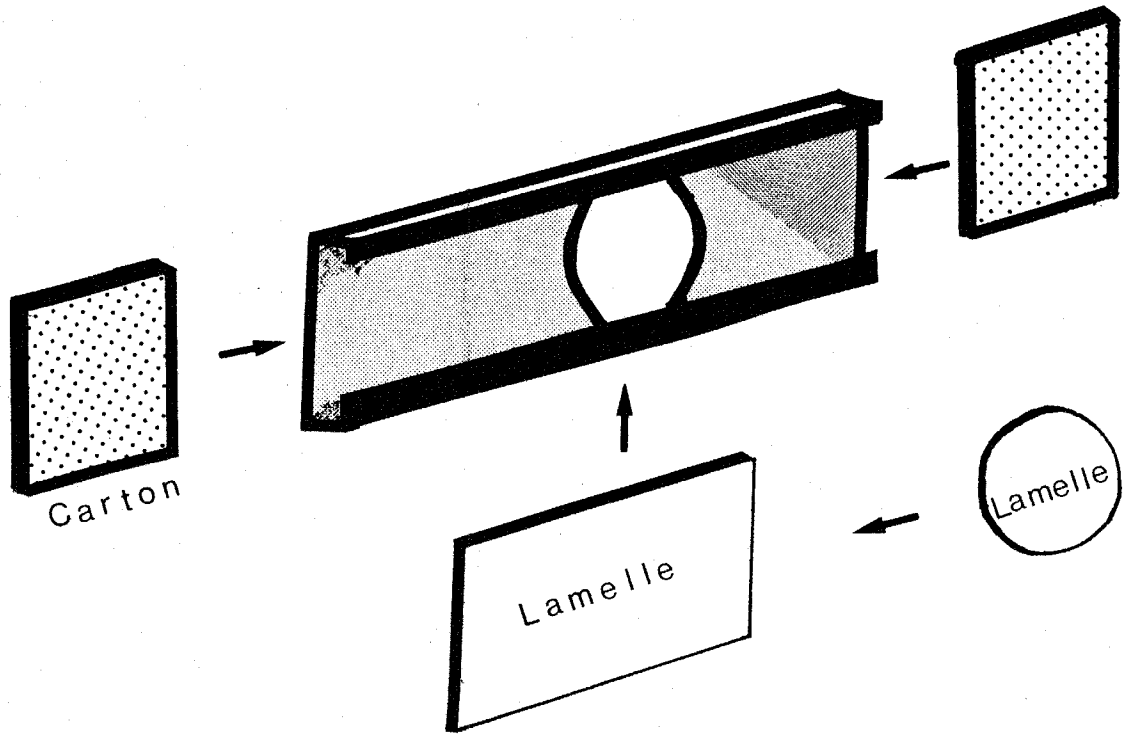
3) Observation

Nous pouvons directement distinguer les fragments végétaux sur les membranes filtrantes. Nous rendons ces dernières transparentes

...



△ Schéma 2 : Enceinte de verre permettant la décoloration de la matière organique.



△ Schéma 3 : Montage des fragments végétaux entre deux lamelles de verre.

en les plongeant dans un milieu d'indice de réfraction égal au leur (Peters, 1961). Par exemple, pour les filtres en ester de cellulose (n = 1,495), nous pouvons aboutir à ce résultat grâce à un mélange de glycérol (n = 1,474) et de benzoate de benzyle (n = 1,568).

Dans le cas où nous voudrions conserver les échantillons, nous les emprisonnerions entre deux lamelles de verre dans une gomme au chloral. Nous pouvons obtenir ce réactif à partir de (Langeron, 1949) :

- glycérine 20 cm3
- hydrate de chloral ..... 50 g
- eau distillée 50 cm3
- gomme arabique ..... 30 g

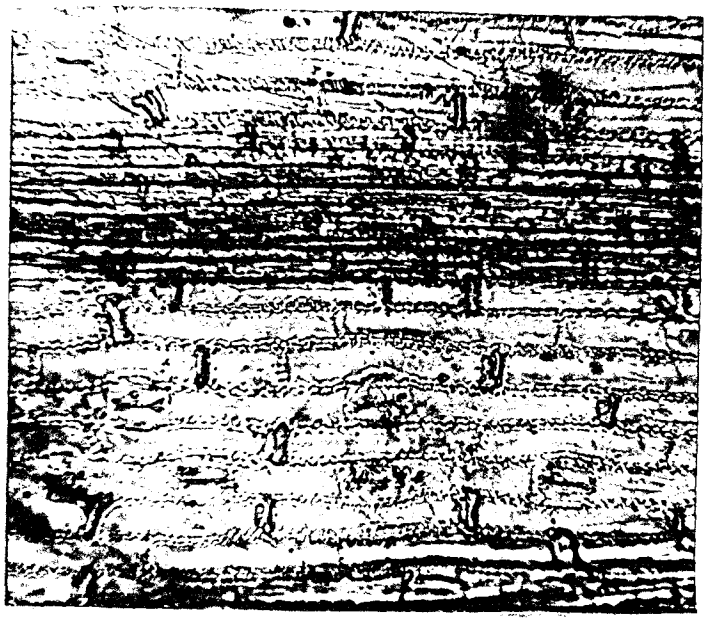
Passons à l'examen des préparations. Nous utilisons un microscope équipé en contraste interférentiel. Ce dispositif permet de réaliser de véritables coupes optiques à travers les tissus et fait ressortir le relief des structures non colorées.

Dans la plupart des cas, un grossissement de 160 suffit à nous fournir les premières données sur le matériel que nous étudions. Les épidermes sont bien visibles. Les poils souvent parfaitement conservés sont un critère important pour la détermination. La planche 1 de la page 16 illustre nos remarques.

II - MISE AU POINT D'UNE METHODE POUR L'ETUDE DES MICRO-CARACTERES DES PLANTES DE CITEAUX

Il est temps maintenant d'énoncer une technique d'examen des épidermes ayant trait à un matériel frais. Pour ce faire, nous aurions

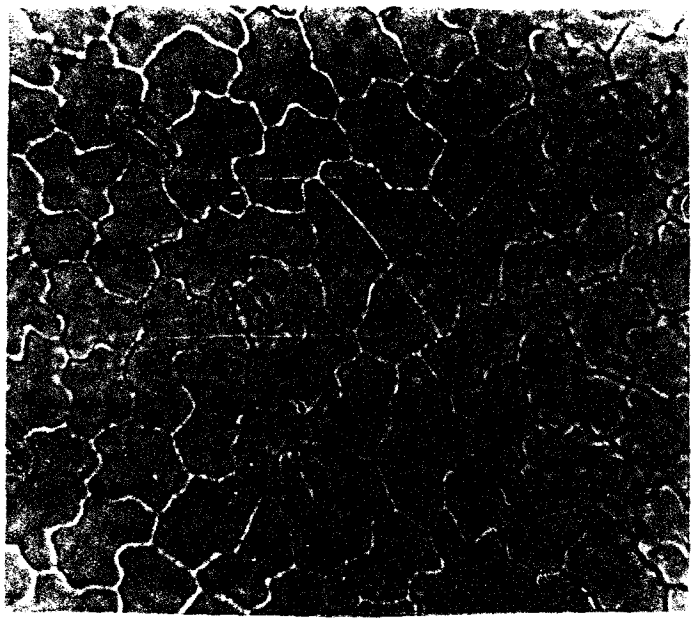
...



a. Limbe de Cynosurus cristatus L.
(x 53 environ, avec contraste interférentiel)

b. Limbe de Holcus lanatus L.
(x 53 environ, avec contraste interférentiel)

c. Feuille de Trifolium pratense L.
(x 53 environ)



d. Feuille de Bellis perennis L.
(x 83 environ)

e. Limbe de Festuca arundinacea Schreber (x 53 environ)

Planche 1

Fragments végétaux extraits de l'endentère des lombriciens de Cîteaux (21)

pu conserver notre méthode exposée antérieurement. En fait, nous préférons la réorganiser et l'adapter à ce cas précis.

1) Raisons de notre choix

En premier lieu, il nous faut veiller à ne pas favoriser l'apparition de détails anatomiques non apparents avec notre procédé primitif. Nous gardons alors l'observation en lumière transmise.

Par souci de commodité, nous préférons éclaircir les végétaux au lieu de pratiquer sur eux une scarification. Pour cela, nous retenons toujours le chlore, mais sous une forme liquide : l'hypochlorite de sodium.

Cette formule offre ici plusieurs avantages : réduction des risques de toxicité, dosage plus précis, emploi d'un matériel de verrerie simple.

2) Prélèvement botanique

Nous ne récoltons que des végétaux de la prairie de Cîteaux, ceci pour éviter d'éventuelles variations écotypiques des caractères de reconnaissance.

Dans l'attente d'étudier chaque plante, nous les plaçons dans de l'éthanol à 80°, afin d'assurer leur conservation. Cette phase permet également une dissolution partielle des pigments.

3) Décoloration

Nous retirons les végétaux de leur bain d'alcool éthylique et nous leur faisons subir une réhydratation pour qu'ils retrouvent leur souplesse.

...

Pour chaque espèce, nous prenons en considération la plupart des organes qui la compose. Par exemple, chez les Poacées, nous distinguons la gaine, la ligule, le limbe, la glume, la glumelle. Nous laissons de côté les racines qui en raison de leur complexité représentent à elles seules le sujet d'une étude.

Nous entrons à présent, dans la phase proprement dite de décoloration. Nous déposons avec précaution, chaque partie de plante dans des coupelles remplies d'hypochlorite de sodium à 10° chlorométriques.

Nous laissons agir pendant 24 heures. Après ce délai, nous transférons les épidermes dans un verre de montre contenant de l'acide acétique dilué (20 %) qui élimine l'excédent de produit éclaircissant .

4) Préparation microscopique

Les particules botaniques sont ensuite montées entre deux lamelles de verre dans un liquide conservateur, le tout maintenu par une pièce métallique (schéma 3, page 14). Nous pouvons ainsi consulter indifféremment l'une ou l'autre face.

Nous devons attacher un soin tout particulier à la sélection du milieu conservateur car nous désirons garder longtemps les préparations. Nous préférons au baume du Canada l'usage d'une résine synthétique (Merck) qui ne nécessite pas des objets parfaitement déshydratés.

Nous observons les épidermes, comme précédemment, au moyen d'un microscope équipé en contraste interférentiel. Une chambre

...

photographique nous permet de fixer chaque détail. Nous aurons ainsi une série de documents facilement consultables.

Pour identifier les débris de plantes contenus dans le tube digestif des lombriciens, nous les comparerons aux photographies que nous venons de réaliser. Une clé sera en mesure de simplifier ce diagnostic ; c'est ce que nous proposons d'établir dans la partie suivante.

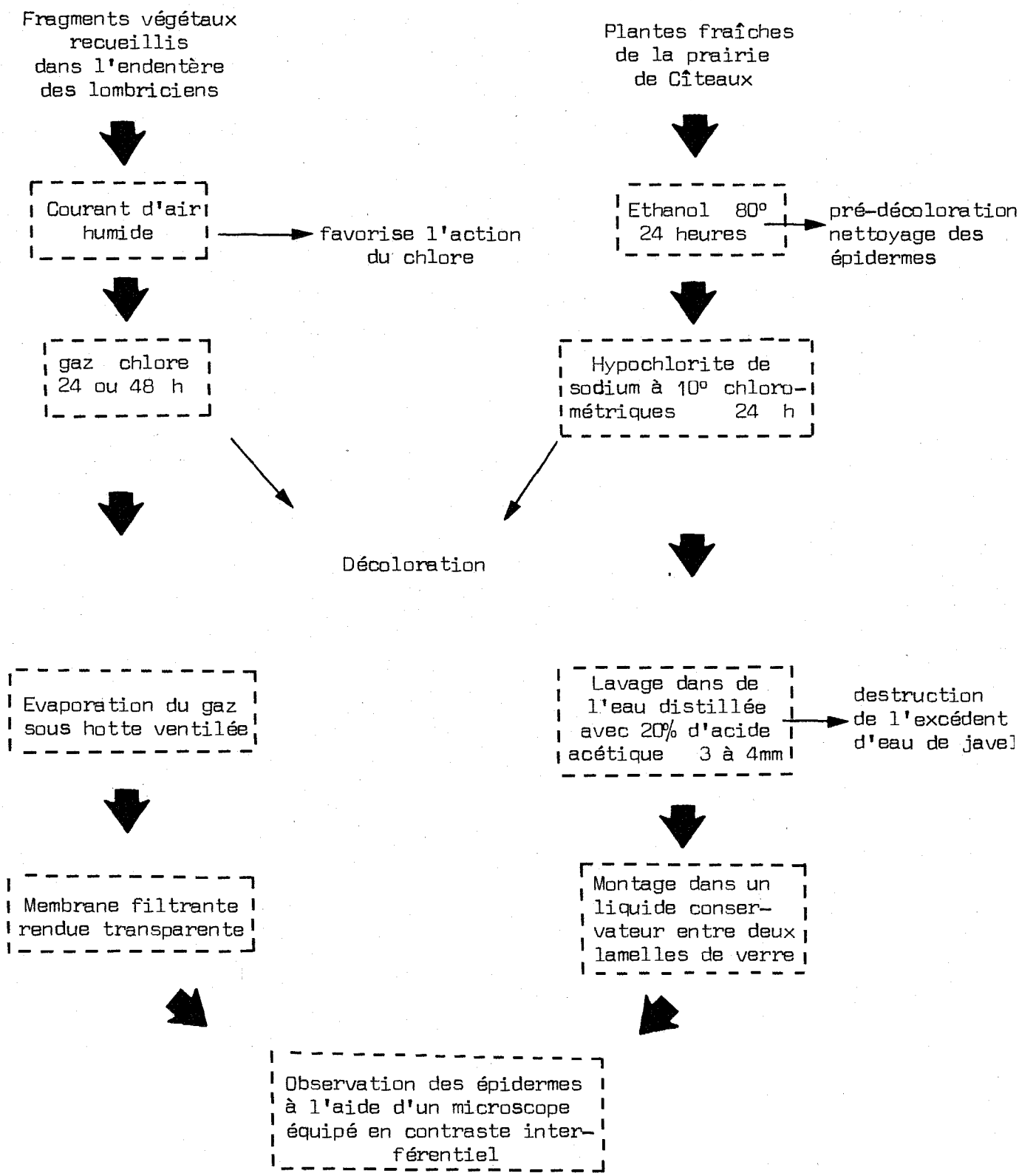


Tableau II - Comparaison des deux procédés de décoloration.

TROISIEME PARTIE

ETUDE DES EPIDERMES DES PLANTES DE CITEAUX

Avant de nous intéresser aux épidermes des plantes de Cîteaux, il nous semble important de décrire brièvement cette station.

I - LA PRAIRIE DE CITEAUX

Un bilan de la faune Oligochètes de France fut programmé sur 1400 sites par Bouché en 1972. C'est dans cet ensemble que fut conduite l'étude de la prairie permanente de Cîteaux (Côte-d'Or) dont les recherches se sont inscrites ultérieurement dans le cadre du Programme Biologique International (Bouché, 1975).

Cet herbage remonte au moins à 1840. Il est exploité par une alternance de fauche et de pâture, celle-ci assurée par des bovins.

...

Le sol est presque neutre, de texture fine (80 % de limons) et légèrement battant. Sa porosité ainsi que sa capacité d'échange sont faibles.

Le couvert végétal appartient à l'association du Lolio-cynosuretum Tx. 1937 de l'alliance Cynosurion cristati Tx. 1937.

Le Centre d'Etudes Phytosociologiques et Ecologiques (C.N.R.S.) de Montpellier dressa un inventaire floristique en 1970. L'analyse phyto-écologique actuellement entreprise par MM. Daget et Poissonet permet de conclure à un caractère équilibré de la végétation.

Pourtant, deux nouvelles espèces, Anisantha sterilis (L.)Nevski et Lamium purpureum L., se sont développées sur le terrain à la suite des fosses creusées pour l'observation des galeries des vers de terre.

II - DESCRIPTION DES CARACTERES EPIDERMIQUES

1) Bibliographie

L'ensemble des différents organes d'une plante est généralement protégé par une assise de cellules superficielles plus ou moins régulières à laquelle on a donné le nom d'épiderme.

Un grand nombre d'auteurs qui ont étudié la systématique des végétaux ont été frappés par les différences inter-spécifiques que ces épidermes présentaient, ainsi que par la constance des dispositions qu'ils affectaient au sein d'une même espèce.

...

Tableau 3 - relevé des plantes de la prairie de Cîteaux.

Espèces	Fréquence dans 8 relevés
Lolium perenne L.	8
Trifolium pratense L.	8
Taraxacum officinale Weber	8
Poa pratensis L.	8
Dactylis glomerata L.	8
Bromus mollis L.	8
Agrostis stolonifera L.	8
Agrostis tenuis Sibth.	7
Alopecurus pratensis L.	7
Bellis perennis L.	4
Ranunculus repens L.	2
Plantago lanceolata L.	7
Holcus lanatus L.	5
Achillea millefolium L.	7
Medicago lupulina L.	7
Cerastium caespitosum Gilib.	7
Agropyrum repens (L.) Beauv.	8
Brunella vulgaris L.	5
Cynosurus cristatus L.	7
Daucus carota L.	5
Festuca rubra L.	7
Festuca arundinacea Schreber	7
Festuca pratensis Hudson	5
Phleum pratense L.	1
Trifolium repens L.	7
Ranunculus bulbosus L.	7
Ranunculus acris L.	6
Poa trivialis L.	6
Verbena officinalis L.	2
Lotus corniculatus L.	3
Lathyrus pratensis L.	3
Vicia sativa L.	5
Heracleum sphondylium L.	5
Chrysanthemum leucanthemum L.	3
Hypochoeris radicata L.	4
Polygonum convolvulus L.	2
Geranium rotundifolium L.	6
Veronica serpyllifolia L.	1
Rumex crispus L.	4
Leontodon hispidus L.	2
Cirsium arvense (L.) Scop.	4
Potentilla reptans L.	4
Geranium molle L.	2
Plantago major L.	1
Arrhenatherum elatius Beauv.	1
Rumex acetosa L.	1
Veronica officinalis L.	1
Plantago media L.	3
Centaurea jacea L.	1
Carex hirta L.	1
Leontodon autumnalis L.	1
Anisantha sterilis (L.) Nevski	1
Capsella bursa-pastoris (L.) Medicus	1
Medicago arabica (L.) Hudson	1

Parmi tous les travaux avancés sur ce thème, nous devons surtout mettre en évidence celui de Duval-Jouve (1875) et celui de Grob (1896). Grob, reprenant les observations de son prédécesseur, attribua un nom à chaque catégorie de cellules épidermiques de la feuille des Poacées.

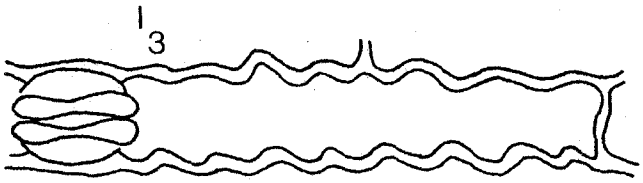
Linsbauer (1930) s'attacha à l'étude de toutes les familles et fournit également de précieux renseignements d'ordre microchimique.

Prat (1932) dans une oeuvre fondamentale aborda la répartition topographique des éléments histologiques des Poacées. Il atténua considérablement le morcellement décrit par Grob en expliquant les relations d'origine des cellules. Cet auteur démontra aussi l'influence des variations du milieu sur l'élongation et la maturation des cellules épidermiques. Seul l'aspect qualitatif, remarquablement stable doit être pris en considération. Pourtant, lorsque ces changements interviennent, ils sont toujours corrélatifs de tout un ensemble de modifications tissulaires.

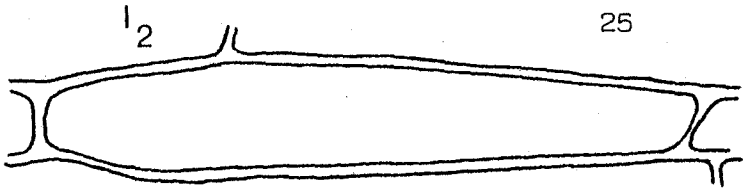
Metcalfe et Chalk (1956), dans un traité d'anatomie,résumèrent les principales connaissances que l'on possédait sur l'épiderme des Dicotylédones. Leur publication, enrichie d'excellentes figures, tient lieu aujourd'hui de référence.

Enfin, Davies (1959), puis Brusven et Mulkern (1960) codifièrent mais de façon partielle la terminologie vague employée auparavant.

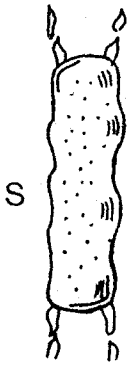
...



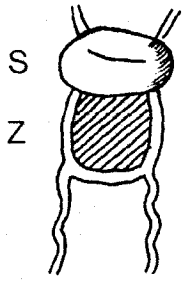
1. Cellule longue engrenée
(gaine de Festuca pratensis Hud.)



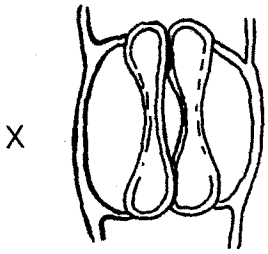
2. Cellule longue lisse
(limbe de Dactylis glomerata L.)



3. Type siliceux
(limbe d'Agropyrum repens (L.) Beauv.)

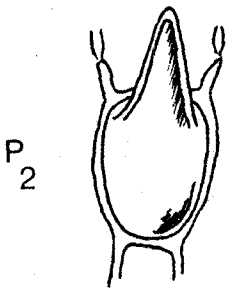


4. Couple silico-subéreux
(limbe de Lolium perenne L.)



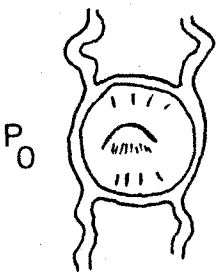
5. Stomate
(gaine de Festuca rubra L.)

CELLULES COURTES



6. Aiguillon
(limbe de Lolium perenne L.)

7. Crochet
(entre-noeud d'Agropyrum repens (L.) Beauv.)

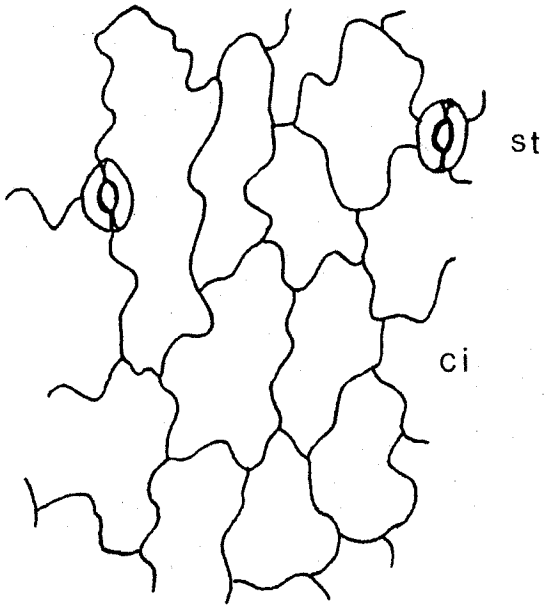


8. Cellule exodermique à pointe courte
(glumelle de Lolium perenne L.)

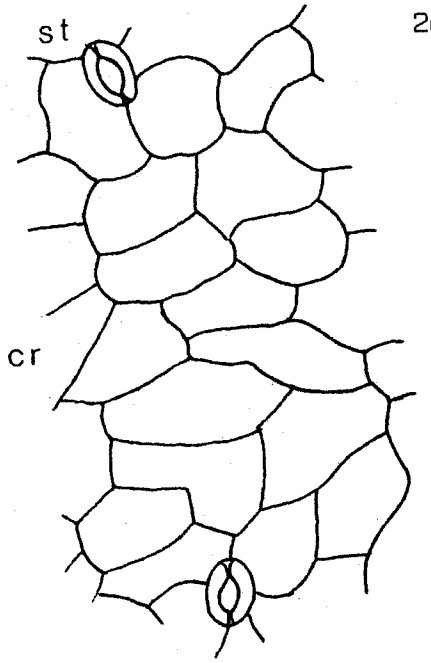
CELLULES EXODERMIQUES

Planche : 3 ELEMENTS FONDAMENTAUX DE L'EPIDERME DES POACEES

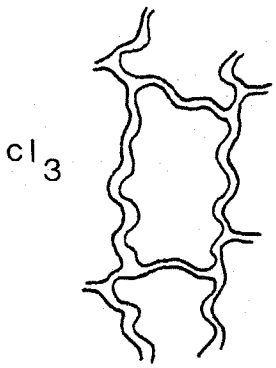
D'après Prat (1932)



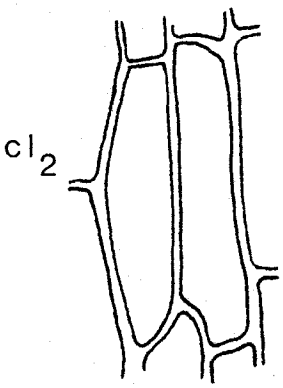
1. Cellules épidermiques de forme irrégulière



2. Cellules épidermiques de forme régulière

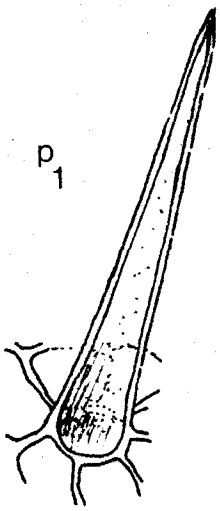


3. Cellules rectangulaires à parois ondulées

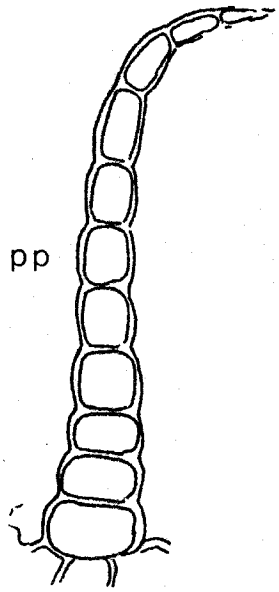


4. Cellules rectangulaires à parois lisses

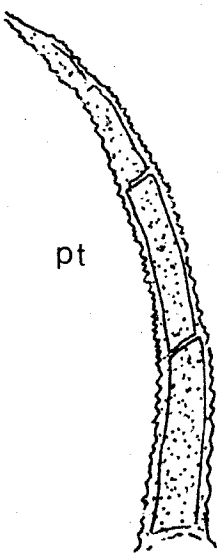
5. Cellules papilleuses



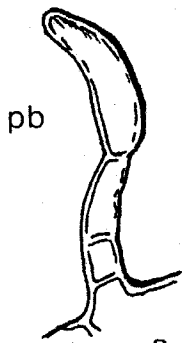
6. Poil lisse unicellulaire



7. Poil lisse pluricellulaire

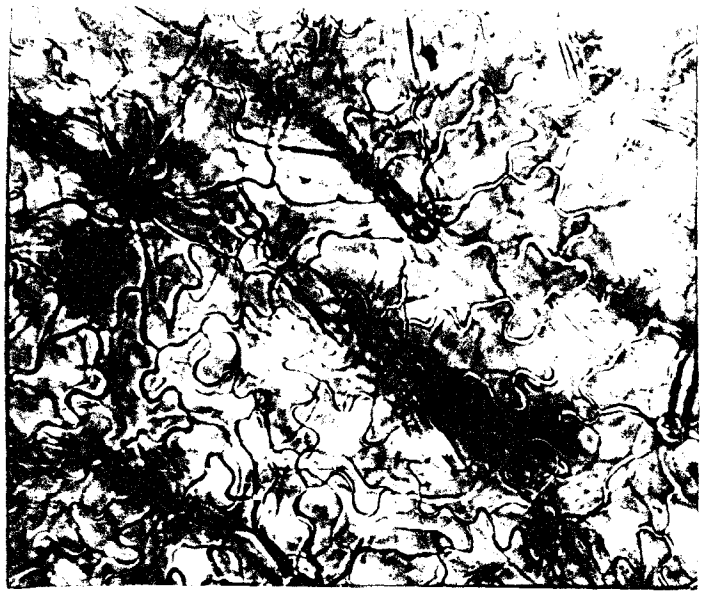


8. Poil tuberculeux

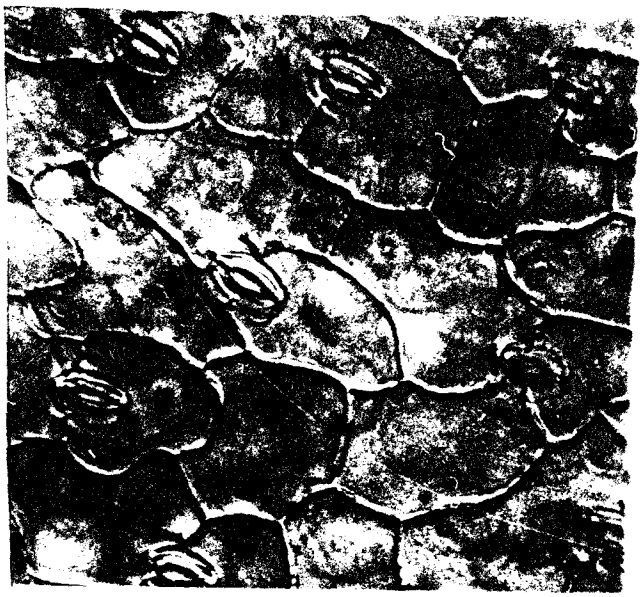


9. Poil dont la tête affecte la forme d'une massue

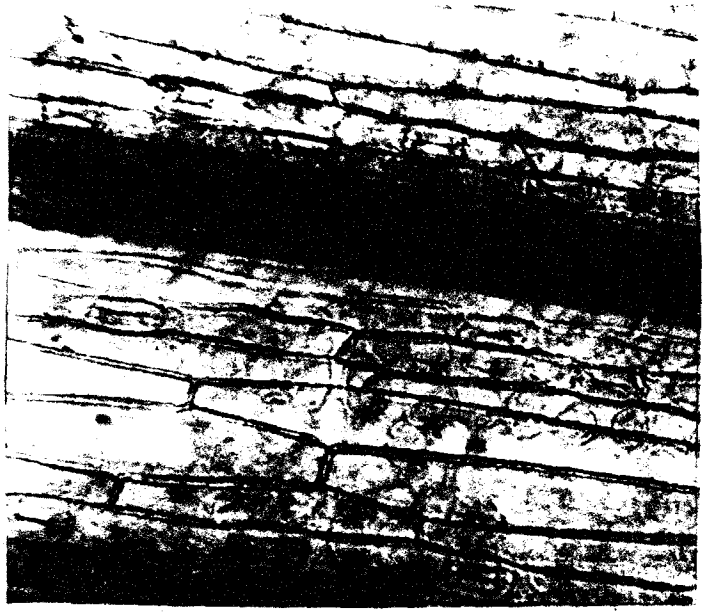
PLANCHE 4 : Dicotyledones



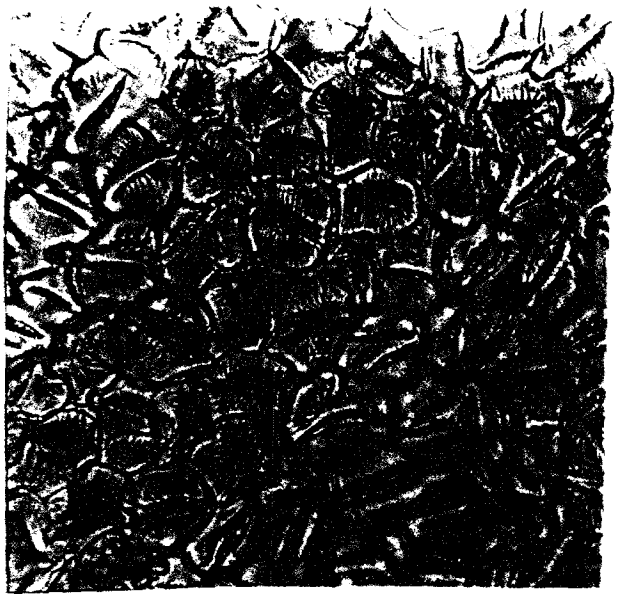
1. Feuille de Ranunculus acris L.
(x 53 environ, avec contraste interférentiel)



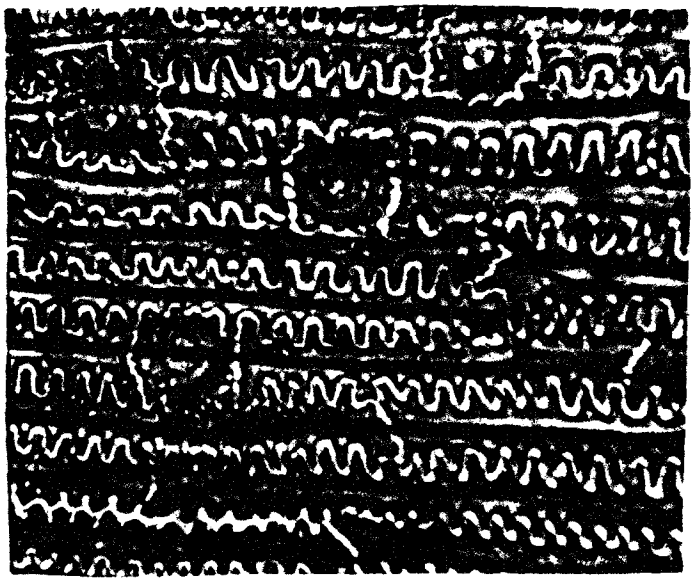
2. Feuille de Plantago lanceolata
(x 83 environ)



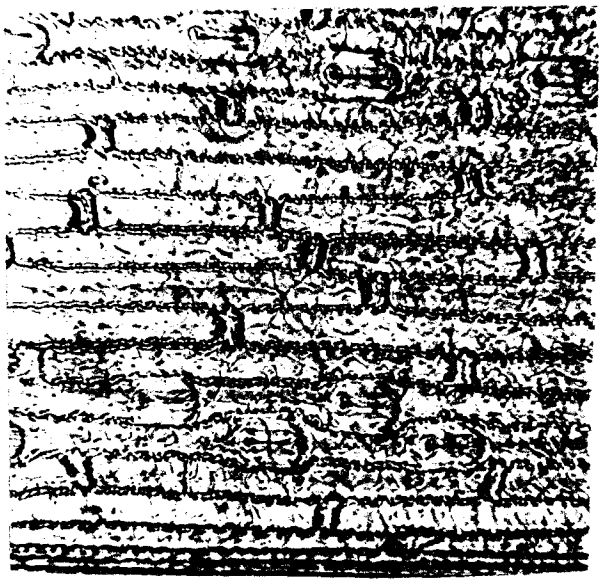
3. Limbe de Dactylis glomerata L.
(x 53 environ, avec contraste interférentiel)



4. Pétale de Potentilla reptans
(x 53 environ, avec contraste interférentiel)



5. Glumelle de Bromus mollis L.
(x 133 environ, avec contraste interférentiel)



6. Gaine de Cynosurus cristatus
(x 53 environ, avec contraste interférentiel)

2) Eléments constitutifs des épidermes

a - Poacées

L'épiderme de toutes les Poacées présente deux types de cellules : les cellules courtes et les cellules longues (planche 3, page 25).

a_1 - Les cellules courtes

Elles doivent leurs dimensions réduites à leur différenciation précose.

- De la silice peut remplir très tôt ces cellules et les arrêter dans leur évolution. Grob (1896) parle alors de cellules siliceuses désignées par la lettre S. Elles sont bien visibles sur l'épiderme frais, mais elles apparaissent légèrement altérées sur les fragments végétaux recueillis dans l'endentère des lombriciens.

- Souvent, chaque composant siliceux est associé à une cellule subéreuse (Z) pour former un couple. Cette dernière peut être assimilée à un petit coffret parallélépipédique recouvert d'une fine lamelle moyenne de nature pectique.

Duval-Jouve (1875) appela cellule exodermique (P), tout article court pourvu d'un prolongement saillant (aiguillons, crochets, poils).

- Enfin, les stomates (X) formés le plus souvent de quatre cellules (deux cellules stomatiques, deux cellules compagnes) occupent une position comparable à celle d'un élément court. Mis à part les lèvres de l'ostiole, les membranes des stomates offrent les mêmes réactions chimiques que les cellules exodermiques. Ce phénomène permet d'expliquer leur résistance dans le tube digestif des vers de terre.

...

a_2 - Les cellules longues

Elles conservent longtemps leur faculté de s'accroître et sont moins spécialisées que les cellules courtes. Elles sont désignées par la lettre l suivie d'un indice se rattachant à leur aspect (Prat, 1932).

Ainsi, le symbole l_3 s'applique aux cellules dont les parois latérales dites engrenées présentent des expansions arrondies. La notation l_2 désigne des formes dépourvues d'ondulation . Le signe l_1 s'attache aux cellules rencontrées dans les zones frappées d'un arrêt d'élongation.

En vieillissant, les membranes pecto-cellulosiques des cellules longues peuvent réagir de la même façon que les cellules exodermiques mais à un degré moindre.

b - Dicotylédones

Les travaux sur cette classe n'ont fourni que des données trop générales et insuffisamment reliées entre elles. Nous sommes conduits à créer un vocabulaire approprié. Nous éviterons ainsi des périphrases et par la suite de tomber dans un langage obscur.

Les feuilles de Dicotylédones offrent principalement deux formes de cellules épidermiques : l'une régulière (cr), c'est-à-dire aux parois non accidentées ; l'autre irrégulière (ci) composée de membranes sinueuses (planche 4, fig. 1 : Taraxacum officinale Weber ; fig. 2 : Plantago lanceolata L.).

...

Mais il existe des éléments aux configurations intermédiaires entre ces deux modèles. Nous parlerons alors de contour à tendance régulière (cri).

Nous rencontrons également chez de nombreuses espèces des poils aux dessins très variables. Ils peuvent être lisses (p) ou tuberculeux (pt) ; dans ce cas, ils présentent des aspérités sur toute leur surface (planche 4, fig. 6 : Ranunculus acris L. ; fig. 7 : Bellis perennis L. ; fig. 8 : Veronica officinalis L.). Nous groupons sous le nom de poils composés tous les spécimens chez lesquels se manifestent plusieurs zones : une base, un pied, une tête qui peut adopter diverses figurations.

Le croquis 9 de la page 4 montre un exemplaire dont la cellule apicale affecte une forme de massue (pb).

L'appareil stomatique (st) se compose de deux cellules. Vesque (1889) apporta d'intéressantes précisions sur le nombre et la disposition des cellules voisines des stomates. Il définit également des types stomatiques d'après les noms des familles chez lesquelles il les observa (types renonculacé, crucifère, rubiacé, caryophyllacé). Guyot (1965,1966), puis Humbert et Guyot (1971) nuancèrent cette affirmation. Ils démontrèrent que chez une même espèce il est possible de rencontrer différents types stomatiques qui eux-mêmes varient en fonction de l'âge de l'organe. Ces restrictions rendent difficile l'emploi de ce critière.

Sur les tiges, nous trouvons des cellules rectangulaires dont les membranes lisses parfois (cl_2) peuvent aussi s'imbriquer les unes dans les autres (cl_3) (planche 4, fig. 3 : Chrysanthemum leucanthemum L. ; fig. 4 : Taraxacum officinale Weber).

...

Enfin, notamment sur certains pétales, nous découvrons un épiderme bosselé construit d'un amalgame de cellules papilleuses (cp) (planche 4, fig. 5 : Chrysanthemum leucanthemum L. ; planche 2, fig. 4).

III - TABLES DICHOTOMIQUES

1) Avertissements et limites de la clé

Notre clé ne permet pas à elle seule d'assurer la détermination des fragments végétaux, mais elle constitue malgré tout un bon moyen d'approche. Pour arriver à cette reconnaissance, il est nécessaire de faire appel aux photographies et aux préparations microscopiques.

En outre, notre énumération purement technique n'a aucune ambition phylogénique ; elle ne hiérarchise nullement les taxons entre eux.

Nous fondons essentiellement nos remarques sur les caractères qualitatifs des épidermes. Pourtant, les variations dues au milieu se font dans le même sens pour tous les éléments cellulaires (Prat, 1932). Nous n'excluons donc pas certains critères quantitatifs qui traduisent cette relativité (exemple : appréciation de la taille des stomates par rapport aux tissus voisins).

Notre table dichotomique permet par deux voies principales d'accéder au but fixé.

Si la personne détient déjà un indice sur la nature de l'organe, elle se reporte dans ce cas directement à l'un des titres de la clé.

...

Si elle n'a aucune idée précise, elle suit le raisonnement complet qui la conduit par éliminations successives jusqu'au résultat final.

2) Clé des épidermes

. Cellules de forme rectangulaire ou losangique, stomates formés de 4 cellules (X) ..... POACEES
(limbes, gaines; glumes, glumelles)

. Cellules de forme non rectangulaire, stomates formés de deux cellules (st) ..... DICOTYLEDONES
(feuilles)

A - POACEES

.1 - Epiderme très différent sur les deux faces de l'organe (sur une face : cellules du type l_3, sur l'autre face : cellules du type l_2).
..... 14

- Epiderme identique ou voisin sur les deux faces de l'organe.
..... 2

.2 - Présence de couples silico-subéreux (SZ) 9
- Pas de couple silico-subéreux 3

.3 - Stomates nombreux (X) ; organe : limbe ou gaine 4
- Stomates peu nombreux ou absents ; organe : glume ou glumelles 21

Limbe et gaine

.4 - Présence de cellules exodermiques 5
- Absence de cellules exodermiques, présence de cellules longues et lisses (l_2), sur les nervures quelques cellules siliceuses (S) ..... Limbe de Dactylis glomerata L.

...

.5 – Entre les nervures, présence de cellules exodermiques à pointe courte (Po) et de cellules longues (l_2) ; sur les nervures quelques cellules siliceuses (S).

..... Gaine de Dactylis glomerata L.

– Entre les nervures, absence de cellules exodermiques Po

..... 6

.6 – Présence de cellules exodermiques en forme d'aiguillon (P_2) et de cellules longues (l_2) ; sur les nervures quelques cellules siliceuses (S).

..... limbe de Poa trivialis L.

– Absence de cellules exodermiques P_2 7

.7 – Entre les nervures : cellules longues et lisses (l_2) 8

– Entre les nervures : cellules longues et engrenées (l_3), poils unicellulaires abondants

..... gaine de Bromus mollis L.

.8 – Cellules longues (l_2) de forme losangique ; poils abondants ; sur les nervures absence de cellules longues et engrenées

..... limbe et gaine de Holcus lanatus L.

– Cellules longues (l_2) de forme rectangulaire ; sur les nervures cellules engrenées

..... limbe de Bromus mollis L.

.9 – Entre les nervures, cellules longues et engrenées (l_3) 10

– Entre les nervures, cellules longues et lisses (l_2), présence de couples SZ sur les nervures

..... limbe d'Agrostis stolonifera L.

.10 – Sur les nervures présence d'aiguillons (P_2) 13

– sur les nervures absence d'aiguillons 11

.11 – Cellules longues (l_3) fortement engrenées

..... gaine de Lolium perenne L.

– Cellules longues (l_3) faiblement engrenées 12

...

.12 - Entre les nervures, couples silico-subéreux abondants
..... limbe ou gaine d'Alopecurus pratensis L

- Entre les nervures, couples silico-subéreux peu abondants
..... limbe de Festuca pratensis Hudson

.13 - Sur les nervures présence de quelques cellules exodermiques en forme d'aiguillon (P_2)
..... Limbe de Lolium perenne L.

- Sur les nervures présence de quelques cellules exodermiques en forme de crochet (P_1)
..... limbe de Cynosurus cristatus L.

.14 - Absence de cellules exodermiques 15

- Présence de cellules exodermiques sur l'une ou moins des deux faces de l'organe 16

.15 - Sur une face (interne), cellules longues et lisses (l_2) de taille supérieure au moins 20 fois à celle des stomates
..... gaine de Poa pratensis L.

- Sur une face (interne), cellules longues (l_2) dont la taille ne dépasse pas 20 fois celle des stomates
..... gaine de Cynosurus cristatus L.

.16 - Sur une des deux faces (externe), cellules longues (l_3) fortement engrenées ..... gaine de Poa trivialis L.

- sur une des deux faces (externe), cellules longues (l_3) faiblement engrenées 17

.17 - Présence de quelques poils pluricellulaires sur les nervures
..... limbe de Poa pratensis L.

- Absence de poils pluricellulaires 18

.18 - Présence de cellules subéreuses (Z) non associées à une cellule siliceuse (S) 19

- Présence de couples silico-subéreux (SZ) 20

...

.19 – Cellules exodermiques en forme d'aiguillon (P_2) nombreuses
..... limbe de Festuca arundinacea Schreber
– Cellules P_2 peu nombreuses
..... gaine de Festuca arundinacea Schreber

.20 – Aiguillons (P_2) nombreux ..... limbe et gaine de Festuca rubra L.
–Aiguillons peu nombreux ..... gaine de Festuca pratensis Hudson

Glume et glumelle

.21 – Présence de cellules exodermiques 22
– Absence de cellules exodermiques ... glume de Lolium perenne L.

.22 – Présence de cellules exodermiques à pointe courte (Po) 23
– Absence de cellules Po 30

.23 – Sur une face de l'organe : présence de cellules Po ; sur l'autre face absence de cellules Po ..... glume de Festuca pratensis Hudson
– Organe ne présentant pas ces caractères 24

.24 – Présence de poils 25
– Absence de poils 28

.25 – Présence de poils seulement en bordure de l'organe
..... glume d'Alopecurus pratensis L.
– Organe ne possédant pas ce caractère 26

.26 – Poils nombreux 27
– Poils peu nombreux ..... glume de Festuca rubra L.

.27 – Au milieu de l'organe, cellules fortement engrenées
..... glume de Bromus mollis L.
– Au milieu de l'organe, cellules faiblement engrenées
..... glumelle de Festuca rubra L.

.28 – Présence de cellules exodermiques en forme d'aiguillon (P_2) seulement sur les bords de l'organe 29
– Présence de quelques cellules P_2 au milieu de l'organe
..... glumelle de Festuca arundinacea Schreber

...

.29 – Cellules longues (l_3) ramassées (fig. 1 , planche 5)
..... glumelle de Lolium perenne L.
– Cellules longues (l_3) allongées (fig. 2, planche 5)
..... glumelle de Bromus mollis L.

.30 – Présence de cellules longues et engrenées (l_3) 31
– Absence de cellules (l_3) ; seulement des cellules longues et lisses (l_2) ; au milieu de l'organe nombreux aiguillons (P_2) et nombreuses cellules siliceuses (S)
..... glume de Dactylis glomerata L.

.31 – Au milieu de l'organe, présence de nombreux aiguillons (P_2)
..... glume et glumelle de Holcus lanatus L.
– Organe ne présentant pas ce caractère
..... glumelle d'Alopecurus pratensis L.

B – DICOTYLEDONES

.1 – Deux faces de l'organe profondément différentes 20
(ex. : sur une face cellules régulières, sur l'autre cellules irrégulières)
– Deux faces de l'organe voisines ou identiques 2

Deux faces de l'organe voisines :

.2 – Cellules régulières (cr) ou à tendance régulière (cri) 3
– Cellules irrégulières (ci) 10

.3 – Sur les nervures présence de cellules papilleuses (fig. 3; planche 5) ..... feuille de Heracleum sphondylium L.
– Absence de cellules papilleuses 4

.4 – Absence de pillosité 5
– Présence de pillosité 6

...

.5 – Cellules régulières (cr) ..... feuille de Rumex crispus L.
– Cellules à tendance régulière (cri), organe profondément découpé
..... feuille de Daucus carota L.

.6 – Présence de poils composés 8
– Absence de poils composés ; présence seulement de longs poils simples (p_1 ou pt) abondants sur les deux faces de l'organe ... 7

.7 – Poils tuberculeux (pt), cellules régulières (cr)
..... feuille de Trifolium pratense L.
– Poils lisses (p_1), cellules à tendance régulière (cri)
..... feuille de Ranunculus repens L.

.8 – Cellules régulières 9
– Cellules à tendance régulière (cri), présence de longs poils composés : base renflée, corps fin et allongé (fig. 4 ; planche 5)
..... feuille de Chrysanthemum leucanthemum L.

.9 – Taille des cellules régulières une à 3 fois supérieure à celle des stomates. Poils de deux types : P_1 et poils composés dont la tête affecte une forme de massue (fig. 5 ; planche 5)
..... feuille de Potentilla reptans L.
– Taille des cellules régulières 3 à 6 fois supérieure à celle des stomates. Poils unicellulaires très larges et courts. Sur les nervures quelques poils composés pb
..... feuille de Plantago lanceolata L.

.10 – Absence de pillosité 11
– Présence de poils 13

.11 – Cellules régulières (ci) et ramassées 12
– Cellules irrégulières et allongées (fig. 6 ; planche 5)
..... feuille et stipule de Lathyrus pratensis L.

.12 – Parois des cellules irrégulières ondulées
..... feuille de Taraxacum officinale Weber

...

- Parois des cellules irrégulières anguleuses
..... feuille de Lotus corniculatus L.

.13 - Présence de poils étoilés à 4 ou 5 branches (fig. 7 ; planche 5)
..... feuille de Capsella bursa-pastoris (L.) Medicus
- Absence de poils étoilés 14

.14 - Présence de poils tuberculeux pluricellulaires (pt) 15
- Absence de poils tuberculeux 17

.15 - Présence de poils composés dont la tête affecte une forme de massue
..... feuille de Geranuim rotundifolium L.
- Absence de poils composés dont la tête affecte une forme de massue
..... 16

.16 - Présence de poils composés dont la tête globuleuse est formée de 4 cellules ..... feuille de Medicago lupulina L.
- Présence de poils composés dont la tête globuleuse est formée de deux cellules (fig. 8 ; planche 5)
..... feuille de Veronica officinalis L.

.17 - Présence de longs poils pluricellulaires lisses et ramifiés (fig. 9 ; planche 5) ..... feuille de Bellis perennis L.
- Absence de poils de ce type 18

.18 - Présence de poils simples pluricellulaires et de poils composés
..... 19
- Absence de poils composés, présence de longs poils formés de plusieurs cellules courtes prolongées par une cellule très longue
..... feuille d'Achillea millefolium L.

.19 - Présence de poils composés dont la tête pluricellulaire affecte une forme de massue (fig. 10 ; planche 5)
..... feuille de Medicago arabica (L.) Hudson
- Présence de poils composés dont le pied très court est surmonté d'une tête ovale et univellulaire
..... feuille de Vicia sativa L.

...

Deux faces de l'organe profondément différentes

.20 – Présence de poils unicellulaires et lisses (p_1) 21
– Absence de poils du type p_1 22

.21 – Pillosité très abondante, poils de plusieurs types (poils lisses p_1, poils lisses pp, poils composés : pied formé d'abord d'une cellule très longue, puis de deux cellules plus courtes ; tête unicellulaire arrondie) (fig. 11 ; planche 5).
..... feuille de Geranium molle L.

– Pillosité abondante, un seul type de poils (p_1)
..... feuille de Ranunculus acris L.

.22 – Présence de longs poils tuberculeux (pt) et de poils composés : pied court, tête globuleuse pluricellulaire
..... feuille de Brunella vulgaris L.
– Absence de poils tuberculeux 23

.23 – Sur une face de l'organe : cellules irrégulières accompagnées de poils composés dont la tête bicellulaire est ovale (fig. 12 ; planche 5) ; sur l'autre face de l'organe : cellules régulières et absence de pillosité ..... feuille de Plantago major L.
– Organe ne présentant pas ces caractères
..... feuille de Trifolium repens L.

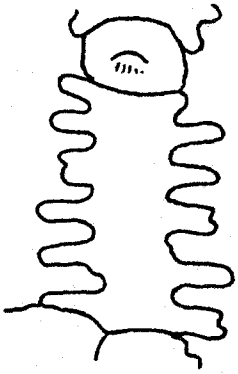
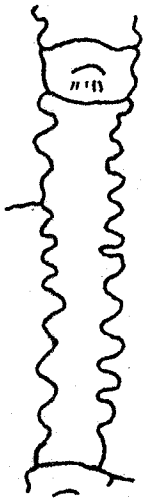
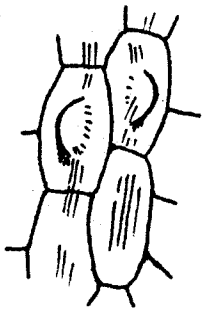


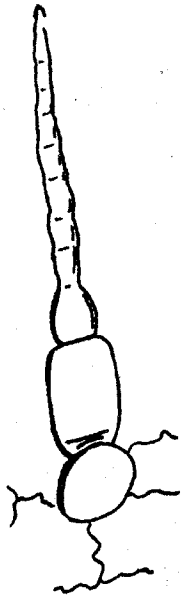
FIG. 1



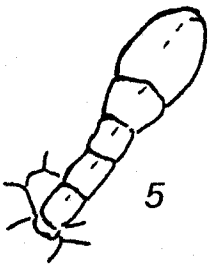
2



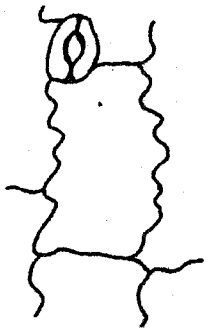
3



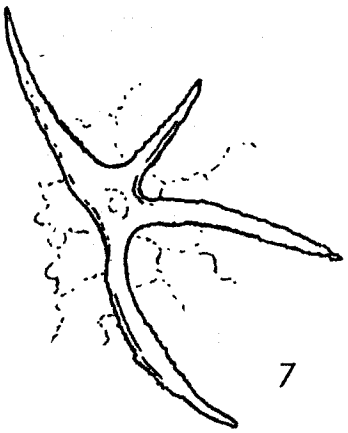
4



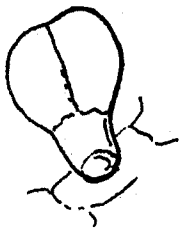
5



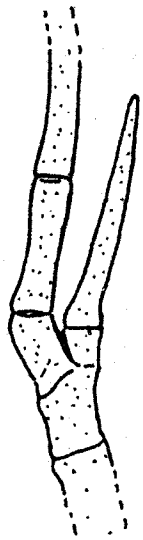
6



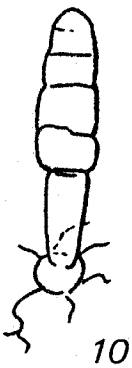
7



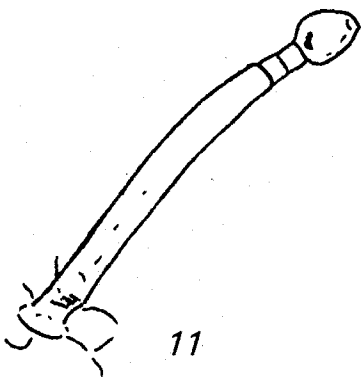
8



9



10



11

12

Planche 5

CONCLUSION

Nous venons d'énoncer une méthode qui permet la détermination des fragments végétaux renfermés dans le tube digestif des vers de terre.

De nombreuses tentatives ont été souvent engagées en laboratoire pour arriver à définir l'alimentation de cette faune. Mais, l'expérimentateur s'est imposé au départ un choix. C'est ainsi qu'il n'a sélectionné que quelques plantes à l'intérieur desquelles il ne s'est préoccupé que de certains organes, eux-mêmes à un stade plus ou moins avancé de décomposition. L'animal se trouve également perturbé dans son comportement. En écologie, de tels essais ne peuvent aboutir qu'à des résultats de valeur limitée et qui, en général, ne concordent pas avec les fonctions naturelles effectives. Par contre, notre recherche ne s'est pas appuyée sur des informations élaborées au préalable, mais elle a porté sur des données fournies directement par la nature.

Nous avons choisi de considérer les microcaractères des plantes. A la suite de plusieurs auteurs comme Prat (1932), nous avons pu vérifier à notre tour que c'est dans la famille des Poacées que les épidermes possédent le plus haut pouvoir de spécialisation.

Les premiers travaux sur l'analyse qualitative de l'endentère révèlent la possibilité de rassembler des informations très riches. Le contenu du tube digestif des lombriciens varie selon les

...

saisons, les catégories écologiques, les stades de développement, l'état physiologique (Bouché et Kretzschmar, 1974). La caractérisation de la nature des aliments nous fournira aussi une réponse en ce qui concerne la compétition éventuelle de plusieurs espèces pour une même source de nourriture.

Une application correcte de notre méthode aidera à l'approfondissement des connaissances du cycle de la matière organique dans les écosystèmes et par voie de conséquence laisse présumer de grands progrès dans la compréhension du rôle des Oligochètes.

B I B L I O G R A P H I E

ARNEY, S.E., 1954 - Studies of growth and development in the genus Fragaria. III. The growth of leaves and shoot. Ann. Bot., N.S. 18, 349-365.

BAUMGARTNER, L.L., and A.C. MARTIN, 1939 - Plant histology as an aid in squirrel food habit studies. J. Wild. Mgmt. 3, 3, 266-268.

BORNEBUSCH, C.H., 1930 - The fauna of forest soil. Pet. Forsttige Forsogsvasen, 11, 1-158.

BOUCHE,M.B., 1971 - Relations entre les structures spatiales et fonctionnelles des écosystèmes illustrées par le rôle pédo-biologique des vers de terre. In Pesson "La vie dans les sols", éd. Gauthier-Villars, 187-209.

BOUCHE, M.B., 1972 - Lombriciens de France. Ecologie et systématique. Ed. I.N.R.A., Paris, 1-671 (ann. zool.-écol. anim., numéro hors série 72/2).

BOUCHE. M.B., et A. KRETZSCHMAR, 1974 - Fonctions des lombriciens. II. Recherches méthodologiques pour l'analyse du sol ingéré (étude du peuplement de la station R.C.P.-165/P.B.I.). Rev. écol. biol. sol, 11, 1, 127-139.

BOUCHE, M.B., 1975 - Fonctions des lombriciens. III. Premières estimations quantitatives des stations françaises du P.B.I. Rev.écol. biol. sol, 12, 1, 25-44.

...

BRUSVEN, M.A., and G.B. MULKERN, 1960 - The use of epidermal characteristics for the identification of plants recovered in fragmentary condition from the crops of grasshoppers. N. Dak. agri. Exp. sta.-Res. Rep. 3, 1-11.

CLARKE, J., 1960 - Preparation of leaf epidermis for topographic study. Stain Technol., 35, 35-39.

CROKER, B.H., 1959 - A method of estimating the botanical composition of the diet of sheep. N.Z. Jl. agr. res., 2, 72-85.

DAFT, G.C., and C. LEBEN, 1966 - A method for bleaching leaves for microscope investigation of microflora on the leaf surface. Plant Dis. Rep. 50, 7, 493.

DARWIN, C.R., 1837 - On the formation of mould. Proc. geol. Soc. London 5, 505-509.

DARWIN, C.R., 1881 - The formation of vegetable mould through the action of worms with observations on their habits. Ed.John Murray and Co., London, 1-326.

DAVIES, I., 1959 - The use of epidermal characteristics for the identification of grasses in the leafy stage. J. Brit. Grassl. Soc., 14, 7-16.

DUSI, J.L., 1949 - Methods for the determination of food habits by plants microtechniques and histology and their application to cotton-tail rabbit food habits. J. Wildl. Mgmt. 13,3, 295-298.

DUVAL-JOUVE, J., 1875 - Histotaxie des feuilles des Graminées. Ann. Sc. Nat.,Bot., 6è série 1, 294-397.

...

FERRIERE, G., 1976 - Contribution à l'étude écologique des fonctions des lombriciens : mise au point d'une méthode pour l'analyse qualitative de la matière organique végétale ingérée. Mémoire thèse E.N.I.T.A., Quétigny, 1-72.

FOURNIOUX, J.C., 1971 - Analyse bibliographique et mise au point de techniques en vue de l'étude de l'histogenèse des tissus conducteurs chez Vitis vinifera L. Dipl. Etud.Approfondies Fac. Sci., Dijon, 38-47.

GABRIEL, C., et F. PELLISSIER, 1936 - Une méthode d'éclaircissement et d'étude d'anatomie végétale par transparence. Bull. Soc. bot. Fr. 83, 816-817.

GROB, A., 1896 - Beiträge zur Anatomie der Epidermis der Gramineenblätter. Bibl. Bot. Stuttgart 7, 36, 1-352.

GUYOT, M., 1965 - Les types stomatiques et la classification des Ombellifères. C.R. Acad. Sc. 260, 3739-3742.

GUYOT, M., 1966 - Les stomates des Ombellifères. Bull. Soc. Bot. Fr. 113, 5-6, 244-273.

HANSSON, L., 1970 - Methods of morphological diet micro-analysis in rodents. Oikos 21, 255-266.

HERCUS, B.H., 1960 - Plant cuticule as an aid to determining the diet of grazing animals. Proc. 8th int. grassl. long., 443-447.

HUMBERT, C., et M. GUYOT, 1971 - Types stomatiques et croissance de la feuille chez Vicia faba. Comptes rendus du quatre vingt seizième congrès national des sociétés savantes, Toulouse, Sciences 5, 329-344.

...

ISELY, F.B., and A. GORDON, 1949 - Analysis of insect food habits by crop examination. Science 109, 115-116.

LANGERON, M., 1949 - Précis de microscopie. Ed. Masson et Cie, Paris, 703-704.

LINSBAUER, K., 1930 - Handbuch der Pflanzenatomie - Epidermis 4, 1-284.

METCALFE, C.R., and L. CHALK, 1956 - Anatomy of the Dicotyledons - Oxford University Press, London : 1-724.

MORLEY, T., 1968 - Accelerated clearing of plant leaves by NaOH in association with Oxygen. Stain Technol. 43, 6, 315.

MULKERN, G.B., and J.F. ANDERSON, 1959 - A technique for studying the food habits and preferences of grasshoppers. J. econ. ent. 52, 2, 342.

MÜLLER, P.E., 1889 - Recherches sur les formes naturelles de l'humus. Traduction française de l'édition allemande de 1884. Ann. Sci. agron. fr. étrang. 1, 1-351.

PETERS, W., 1961 - Méthode et obtention de préparations éclaircies. Zool. Anz. 167, 233-240.

PRAT, H., 1932 - L'épiderme des Graminées : étude anatomique et systématique. Ann. Sci. nat. Bot. sér. 10, 15, 117-324.

PRAT, H., 1935 - Sur l'étude microscopique des épidermes végétaux. Bull. Soc. Fr. Microscop. 4, 86-104.

QUICK, C.R., and F.A. PATTY, 1932 - A convenient method of bleaching and clearing leaves. Phytopathology 22, 925-926.

...

SAVIGNY, J.C., 1826 - In Cuvier "Analyse des trav. acad. roy. sci. pendant l'année 1821, partie physique". Mém. acad. roy. sci. inst. fr., 5, 176-184.

STEIMETZ, E., 1934 - Réactif pratique pour l'analyse des coupes végétales. Bull. soc. bot. fr., 81, 296-297.

STEWART, D.R.M., 1967 - Analysis of plant epidermis in the faeces : a technique for studying the food preferences of grazing herbivores. J. appl. ecol., 4, 83-111.

STÖCKLI, A., 1928 - Studien über den Einfluss des Regenwurmes auf Beschaffenheit des Bodens. Landwirtschaftl. Jahrb. Schweiz. 42, 1-121.

STOOR, G.M., 1961 - Microscopic analysis of faeces, a technique for ascertaining the diet herbivorous mammals. Australian J. Biol. Sci., 14, 157-164.

STRAIN, R.W., 1934 - An improved method of bleaching and clearing leaves. Phytopathology, 24, 82-84.

UECKERT, D.N., and R.M. HANSEN, 1972 - Egestion time of grasshoppers determined by a microscopic technique. J.econ.entomol., 65,5,1263-1265.

VARIA, 1969 - The use of hydrogen peroxide for clearing leaves. Acta agron., acad. sci. hung., 18, 406-408.

VERGNE, Y., 1976 - Etude du régime alimentaire du campagnol des champs (Microtus arvalis). Dipl. Etud. Supérieures., fac. sci., Strasbourg, 1-61.

VESQUE, J., 1889 - De l'emploi des caractères anatomiques dans la classification des végétaux. Bull. soc. bot. fr., congr. bot., août, 36, 41-89.

...

WARD, A.L., 1960 - Mountain pocket gopher food habits in Colorado. J. Wildl. Mgmt. 24, 89-92.

WHITE, G., 1789 - The natural history of Selborn (publié en 1901 ; cité in Bornebusch, 1930).

WILLIAMS, O., 1962 - A technique for studying microtine food habits J. Mamm. 43, 365-368.

WOLLNY, E., 1890 - Untersuchungen über die Beeinflussung der Fruchtbarkeit der Ackerkrume durch die Tätigkeit der Regenwürmer. Forsch. auf d. Gebie. d. Agrikult. Physik, 13, 381-395.