

Zeitschrift: Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles
Herausgeber: Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles
Band: 116 (1993)

Teilband

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 05.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

BULLETIN
DE LA
SOCIÉTÉ NEUCHÂTELOISE
DES SCIENCES NATURELLES

FONDÉE EN 1832

Tome 116 Fascicule 2

PUBLIÉ AVEC L'AIDE DE
L'ACADÉMIE SUISSE DES SCIENCES NATURELLES

1993

PUBLICATIONS DANS LE *BULLETIN* DE LA SOCIÉTÉ NEUCHÂTELOISE DES SCIENCES NATURELLES

(Sous réserve des art. 35 et 36 des statuts)

Les auteurs se conformeront aux instructions publiées à la fin du volume.

Les travaux seront acceptés *dans l'ordre de réception des manuscrits et jusqu'au 31 janvier au plus tard.*

Le comité de rédaction est habilité à refuser un manuscrit, à en différer la publication, ou à demander toute modification qu'il juge utile.

Le nombre de travaux publiés sera fonction des disponibilités financières de la Société.

Le prix moyen par page est de 200 francs.

Quel que soit le nombre d'articles qu'il publie, seul ou en collaboration, un auteur a droit à 12 pages au maximum. La Société neuchâteloise des Sciences naturelles prend en charge les frais de composition et de mise en pages ainsi que la moitié des frais effectifs des illustrations. Les pages excédentaires sont facturées aux auteurs au prix coûtant.

Les auteurs ont droit gratuitement à 50 exemplaires de tirés à part, brochés et munis d'une couverture sans impression. L'impression du titre sur la couverture est à leur charge.

Les auteurs peuvent obtenir, à leurs frais, un nombre de tirés à part supérieur à 50 exemplaires au prix coûtant, à la condition de ne pas les mettre en vente.

Rédacteur: M. Philippe Küpfer, Institut de botanique, Chante-merle 22, CH-2007 Neuchâtel.

Comité de lecture: MM. M. Aragno (président), P. Galland, W. Matthey, J. Remane.

BULLETIN
DE LA SOCIÉTÉ NEUCHÂTELOISE
DES SCIENCES NATURELLES

Tome 116 Fascicule 2

BULLETIN

DE LA SOCIÉTÉ NEUCHÂTELOISE DES SCIENCES NATURELLES

FONDÉE EN 1832

Tome 116 Fascicule 2

AVEC 44 FIGURES, 2 DIAGRAMMES

ET 14 TABLEAUX

AINSI QUE LES OBSERVATIONS MÉTÉOROLOGIQUES FAITES EN 1992

À L'OBSERVATOIRE CANTONAL DE NEUCHÂTEL

RÉSUMÉES EN UN DIAGRAMME

1993

Instructions à l'intention des auteurs

Les manuscrits inédits, rédigés en français et dactylographiés avec double interligne, doivent être remis au président du comité de lecture (Michel Aragno, Institut de botanique, Chantemerle 22, CH-2007 Neuchâtel, Suisse) jusqu'au **31 janvier** pour paraître dans le *Bulletin* de l'année. Ils seront présentés dans leur *rédaction définitive*, prêts à l'impression. Les auteurs utilisant un traitement de texte peuvent remettre, avec leur manuscrit, une disquette de 3,5 ou 5,25 pouces en précisant le type de logiciel. Les frais résultant de modifications apportées en cours de composition sont à la charge des auteurs.

Il est recommandé de rédiger trois résumés (en français, en allemand et en anglais), donnant l'essentiel des résultats.

Les auteurs recevront au moins une épreuve. Les corrections d'auteur sont à leur charge.

(Pour la participation éventuelle aux frais de publication, voir deuxième page de couverture du *Bulletin*.)

I. Manuscrits

Titres: En cas de nombreux titres ou sous-titres d'importances diverses, indiquer leur hiérarchie par des couleurs.

Mots latins: Ils doivent être en italique dans le texte imprimé (p. ex. *Scilla bifolia*) et seront soulignés *une fois* dans le manuscrit dactylographié.

Noms d'auteurs: Ils doivent être composés en petites capitales s'il s'agit d'une citation (p. ex. LINNÉ et seront soulignés *deux fois* dans le manuscrit dactylographié. Quand plus de deux ou trois auteurs signent un travail, le nom du premier est suivi de la mention «et al.» (p. ex. CORT, W. et al.). Cette remarque n'est pas valable pour la bibliographie.

Si, au contraire, le nom d'auteur est associé à celui d'un taxon, il s'écrit en romain et ne doit pas être souligné (p. ex. *Scilla* Linné); il est recommandé, dans ce cas, de l'abréger, en se conformant aux abréviations usuelles (p. ex. *Scilla* L.).

Titres d'ouvrages ou d'articles: Ils seront placés entre guillemets.

Titres de revues et de journaux (publications régulières): Ils seront composés en italique (p. ex. *Bulletin de la Société neuchâteloise des Sciences naturelles*, *Journal suisse d'horlogerie*).

Numérotation des figures et des planches dans le texte: Entre parenthèses et en chiffres arabes pour les figures (fig. 12, 13a), en chiffres romains pour les planches (pl. III, fig. 5). Dans le texte courant, les mots «figure» et «planche» ne sont pas abrégés.

Abréviations et symboles usuels: On recommande de faire usage des suivants:

a) *Abréviations* (suivies d'un point)

vol.	= volume	fig.	= figure
t.	= tome	pl.	= planche
p.	= page (pp. = pages)	chap.	= chapitre

Bull. Soc. neuchâtel. Sci. nat.

b) *Symboles* (non suivis d'un point)

m	= mètre (432,5 m)	kg	= kilogramme
cm	= centimètre (15,2 cm)	mg	= milligramme
mm	= millimètre (0,65 mm)	μ g	= microgramme (et non γ)
μ m	= micromètre, ou micron (et non μ) 1μ m = 10^{-6} m	h	= heure
nm	= nanomètre (et non $m\mu$) $1 \text{ nm} = 10^{-9}$ m	mn	= minute
km	= kilomètre (618 500 km)	s	= seconde (20 h 12 mn 18 s)
l	= litre (2,5 l)	°C ou °K	= degré Celsius ou Kelvin (15 °C, -27,3 °C, 279,09 °K)
ml	= millilitre	1 ^{er} , 2 ^e	= premier, deuxième
μ l	= microlitre	N S E W	= points cardinaux
g	= gramme (3,45 g)	NE SSW	= (ni trait d'union, ni espace)

c) **Coordonnées géographiques:** les valeurs indiquant la longitude (ou la latitude) et la distance sont séparées par un espace (ni point, ni virgule).

Renvois à la bibliographie: LINNÉ (1758) ou (LINNÉ 1758) ou encore (1758, p. 43). Des indicatifs en italique et mis entre parenthèses (*12*) peuvent être utilisés; ils seront soulignés *une fois* dans le manuscrit dactylographié.

Bibliographie: A établir par ordre alphabétique des noms d'auteurs et selon les modèles suivants:

BOSC, L. A. G. — (1802). Histoire naturelle des Vers, contenant leur description et leurs mœurs. 324 pp., pl. 1-10, *Paris*.

DIESING, K. M. — (1850). Systema Helminthum. 1: XIII + 679 pp., *Vindobonae*.

— (1851). *Ibid.* 2: VI + 588 pp., *Vindobonae*.

— (1855a). Sechzehn Gattungen von Binnenwürmern und ihre Arten. *Denkschr. Akad. Wiss. Wien* 9 (1): 171-185, pl. 1-6.

— (1855b). Neunzehn Arten von Trematoden. *Ibid.* 10 (1): 59-70, pl. 1-3.

FUHRMANN, O. — (1934). Un Cestode aberrant. *Bull. Soc. Neuchâtel. Sci. Nat.* 58: 197-120, 12 fig.

GOTO, S. et OZAKI, Y. — (1930). Brief notes on new Trematodes. III. *Japon J. Zool.* 3: 73-82, 7 fig.

1 BIDAL, P. et DE RHAM, G. — (1947). Les formes différentielles harmoniques. *Comm. Math. Helv.* 19: 1-49.

2 DUBOIS, P., COR, P. et COLIN, R. — (1947). Manuel des plastiques. *Paris* (Presses documentaires).

3 NEWTON, T. D. — (1953). *Canad. J. Phys.* 34: 804.

Ainsi, dans une série d'articles du même auteur, le nom de celui-ci n'est pas répété, mais remplacé chaque fois par un filet. Si deux articles consécutifs ont été publiés dans la même revue, le nom de celle-ci ne sera pas répété, mais remplacé par *Ibid.*

En cas d'indicatifs utilisés dans le texte, ceux-ci figureront en italique devant les noms d'auteurs; ils seront soulignés une fois dans le manuscrit dactylographié.

2. Illustrations

Procédés: Les dessins aux traits (à l'encre de Chine) sont reproduits en offset. Les photographies, qui nécessitent des similigravures (autotypies), constituent des planches hors-texte.

Réductions: L'exécution d'un dessin doit tenir compte de la réduction qu'il subira lors de la confection du film positif offset. (Des détails trop fins se perdent; des traits ou des points trop serrés produisent des empâtements.)

Les réductions les plus courantes sont de moitié ou de deux tiers de l'original. Il est recommandé de grouper en un seul film positif offset les dessins se rapportant au même objet; dans ce cas chaque figure portera son numéro.

Les figures ou groupes de figures ne peuvent dépasser la justification: 18 cm en hauteur, 11,2 cm en largeur (légendes comprises).

La largeur maximum des figures «habillables» est de 7 cm.

Les photographies gagnent à être très peu réduites: les originaux ne dépasseront donc pas la justification indiquée ci-dessus.

Légendes: Elles seront réunies à la fin du texte dactylographié.

PRIX DE LA SOCIÉTÉ NEUCHÂTELOISE DES SCIENCES NATURELLES

(Ancien Prix quinquennal)

RÈGLEMENT

1. La Société institue un prix sous le nom de «Prix de la Société neuchâteloise des Sciences naturelles». Il est unique et d'une valeur de 500 francs. Le comité déterminera les dates auxquelles le prix sera délivré.

2. Une somme de 100 francs est prévue chaque année sur le budget pour alimenter le prix.

3. Ne sont admis à concourir que les membres de la S.N.S.N.

4. Les travaux, présentés dactylographiés, doivent être inédits.

5. Les travaux auront trait à l'une des disciplines des sciences naturelles, chimiques, physiques et mathématiques.

6. Ils porteront une devise répétée sur un pli cacheté qui contiendra le nom et l'adresse de l'auteur.

7. Les travaux, remis avant le 1^{er} novembre, seront appréciés par un jury d'au moins trois membres, désignés par le comité de la S.N.S.N. Ce jury rapportera à l'assemblée générale, où le nom du lauréat sera proclamé.

8. La Société se réserve le droit de publier les mémoires couronnés.

Dernier délai pour la remise des manuscrits: le 1^{er} novembre 1994.

Les publications de la S.N.S.N. (*Bulletins et Mémoires*) peuvent être obtenues à l'adresse suivante: **Société neuchâteloise des Sciences naturelles**, p. a. **Bibliothèque publique et universitaire de la Ville, Neuchâtel (Suisse)**.

Les publications envoyées à la S.N.S.N. en échange du *Bulletin* ou des *Mémoires* doivent être adressées à: **Société neuchâteloise des Sciences naturelles**, p. a. **Bibliothèque publique et universitaire de la Ville, Neuchâtel (Suisse)**.

TABLE DES MATIÈRES
DU TOME 116 (1993)

	Pages
<i>Lise Gern, Suzanne Leuba-Garcia and Ellen Frossard</i> — Characterization and follow-up of the IgG antibody response against <i>Borrelia Burgdorferi</i> using western blot in a seropositive (Elisa) population from an endemic area	5
<i>Zhenqin Zhu, Lise Gern and André Aeschlimann</i> — A preliminary observation on the peritrophic membrane atrophy in engorged nymphal <i>Ixodes Ricinus</i> (Acari: Ixodidae) using light and electron microscopes	15
<i>Yves Gonseth</i> — Les lépidoptères diurnes (Rhopalocera) des milieux humides du canton de Neuchâtel I, les milieux à <i>Maculinea Nausithous</i> (Bergstr.), Lep. Lycaenidae	25
<i>Jean-Steve Meia, Sandrine Meyer et Stéphane Aubry</i> — Renards et lièvres dans le Jura suisse: ignorance réciproque	41
<i>Stéphane Plante, Camille Gervais, Norman Dignard et Gabriel Roy</i> — Examen chromosomique d'individus sains ou dépérissants d' <i>Acer saccharum</i>	47
<i>Olivier Reymond et François Straub</i> — Phytoplancton du lac de Morat en 1988-1989: comparaison avec les données antérieures	55
<i>Yong-Ming Yuan and Philippe Küpfer</i> — Karyological studies on <i>Gentiana</i> sect. <i>Frigida</i> s.l. and sect. <i>Stenogyne</i> (<i>Gentianaceae</i>) from China	65
<i>Ulf Bodensieck, Helen Stoeckli-Evans et Georg Süss-Fink</i> — Etude de la réactivité des thiourées dans la sphère de coordination de complexes oligonucléaires de Ruthénium	79
<i>Bernard Clot</i> — Analyse aéropalynologique à Neuchâtel et à La Chaux-de-Fonds en 1992	89
<i>Michel Brossard, Adrien Kindler et Harald Modde</i> — Le diagnostic parasitaire dans le canton de Neuchâtel, rapport d'activité 1992	93
<i>Gilbert Jornod</i> — Observations météorologiques faites en 1992 à l'Observatoire cantonal de Neuchâtel	97
Procès-verbaux des séances, année 1992 et rapport sur l'activité de la Société en 1992	105

CHARACTERIZATION AND FOLLOW-UP OF THE IgG ANTIBODY RESPONSE AGAINST *BORRELIA BURGENDORFERI* USING WESTERN BLOT IN A SEROPOSITIVE (ELISA) POPULATION FROM AN ENDEMIC AREA

by

LISE GERN, SUZANNE LEUBA-GARCIA AND ELLEN FROSSARD

WITH 4 FIGURES

INTRODUCTION

Since the identification of *Borrelia burgdorferi* as the causative agent of Lyme borreliosis in the United States and Europe (BURGDORFER *et al.* 1982), the number of clinical and pathological reports of this disease continues to increase. The criteria for diagnosis of Lyme borreliosis are not clearly defined and are complicated by the fact that culture or direct visualization of spirochetes are often unsuccessful. Hence serological testing has been the only practical laboratory aid in diagnosis.

In a prospective study done in 1986 (GERN *et al.* 1989), we studied a rural population from the Swiss Plateau (Aarberg), an endemic area, showing no signs of Lyme borreliosis but presenting a high percentage (26.6%) of persons with IgG antibodies (ELISA) against *B. burgdorferi*. These results prompted us to test this population using Western blot and to continue this study by following the seropositive persons. This paper describes the serological and clinical follow-up of some of these individuals using ELISA and Western blot techniques.

MATERIALS AND METHODS

Studied populations. A rural population frequently exposed to tick bites ($n = 491$) from an endemic area was examined on hospital admission in 1986 (GERN *et al.* 1989). The only condition for inclusion in the study was that active Lyme borreliosis was not suspected and was not diagnosed during hospitalization. Of the patients examined, 131 had IgG antibodies against *B. burgdorferi* detected by ELISA (GERN *et al.* 1989). To obtain a better indication on the frequency of the different proteins of *B. burgdorferi* reacting with the sera from asymptomatic seropositive individuals, 61 sera

collected in 1986 were tested by Western blot. Thirty four of these individuals were reexamined in 1989 using ELISA and Western blot. In 1989, each person was asked about possible manifestations of Lyme borreliosis during the last 3 years.

A control population (blood donors; $n = 84$) from a non endemic area, where *I. ricinus* ticks are absent, was investigated by Western blot and ELISA.

Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay. The ELISA sonicate antigen (strain B31) was prepared as described by Russell *et al.* (1984). The ELISA was done as previously described (FAHRER *et al.* 1991). Briefly, microtitre plates (Dynatech, USA) were coated overnight at 4°C with 50 µl of sonicate antigen diluted in 0.1 M carbonate buffer (pH 9.6). The optimal coating concentration was 6.5 µg of protein/ml. All serum samples were tested in duplicate at a dilution of 1/200. Antibody-antigen reactions were visualized with peroxidase conjugated goat anti-human IgG (GaHu/IgG (Fc)/PO Nordic) and ortho-phenyldiamine as substrate. In each assay, a negative serum and a strongly positive one (diluted 6 times from 1:300 to 1:9600) were included. The curve derived from the results with the positive serum was used as reference. The optical density (OD) of each serum sample was compared with the positive control curve and the result was expressed as the logarithm of the dilution (log dil) of the positive serum corresponding to this OD. The positive cut-off level for IgG antibodies was defined as a log dil of <3.74 which corresponded to 2 standard deviations below the mean log dil of 51 sera of people living at high altitude, in a non endemic area. At this cut-off level, the specificity of the test is 96% if we exclude other spirochetes like leptospire and treponemes, and the sensitivity of the serologic test varied from 26% to 100% depending on clinical manifestations in cases of definite Lyme borreliosis (GERN 1991; FAHRER *et al.* 1991).

Immunoblot. *B. burgdorferi* strain B31 was used for antigen preparation. BSK II medium containing 10^8 organisms was centrifuged at $17,000 \times g$ for 30 min and washed 3 times in PBS with 5 mM $MgCl_2 \cdot 6H_2O$. The final pellet was resuspended (1:2) in sample buffer containing Tris HCl 0,5M, 12,5% Glycerol, 4% sodium dodecyl sulfate, 10% mercaptoethanol and 0.1% bromophenol blue. A 12,5% polyacrylamide gel (12 cm plate, 0.80 mm gel thickness; 30.0:0,8 acrylamide:bisacrylamide) was used to separate 12 µg of spirochetal protein per lane. A current of 20 mA was applied for 30 min. (concentration gel) followed by 30 mA for 1 hour 30 (separation gel). Proteins were electrophoretically transferred from the gel to nitrocellulose paper (NC-0.2 µm) using a current of 0.8 mA/cm² of gel for 1 hour. After transfer, the paper was cut into strips and the blots were blocked by immersion in tris-buffered saline (TBS; pH 7.5) (Tris-HCl 1M, NaCl 5M) with 5% fatfree milk (TSM) for 2 hours 30 and then were washed three times with TBS (pH 7.5) at room temperature.

The blocked strips were incubated individually with patient sera diluted 1:200 in TSM (pH 7.5) and left overnight at room temperature with gentle agitation. After three washings, strips were incubated in horseradish peroxidase conjugated goat anti-human IgG (Nordic; diluted 1:1000 in TSM).

Bands were visualized with 4-chloro-1-naphthol (Fluka) for 3-5 min. Finally, all strips were washed with distilled water. All visible bands were counted, irrespective of their intensity. All immunoblots were read by one of the authors (SLG). Low molecular weight standards of 14.4-97.4 kDa (Biod-Rad) were used for size estimation of the bands.

The specificity of the Western blot test was assessed using sera from 3 patients with leptospirosis, 13 with syphilis, 2 with pneumonia, 5 with bacterial intestinal diseases and 5 patients with Tick Borne Encephalitis. The cross-reactive antigens were the 41 kDa and 66 kDa proteins which appeared respectively in 22/28 (11/13 syphilis) and 11/28 sera. No proteins with a molecular weight <41 kDa reacted in the Western blot of these individuals.

The 34 sera from 1986 and 1989 were tested simultaneously in the same immunoblot and the same ELISA assay.

Statistical analysis. Statistical analysis of paired data (1986-1989) were performed using Student's T-test.

RESULTS

Control population. All individuals ($n = 84$) of the control population were seronegative when tested by ELISA. When tested by Western blot, 7 sera showed no bands, 15 demonstrated traces of reaction with the 41 kDa flagellar protein and 62 had weak reactions with mainly 2, sometimes 3 bands of 41, 66 and 97 kDa.

Frequency of responses to antigenic components of *B. burgdorferi* in the asymptomatic population. The frequency of responses to antigenic components of *B. burgdorferi* of the 61 tested sera are shown in Fig. 1. These sera reacted with as many as 37 distinct proteins. The most frequent reactions were observed with proteins 41, 97, 66, 80/81, 32, 31 and 22 kDa (listed in order of frequency). Four sera did not react with the 41 kDa protein but two of them reacted with the highly specific proteins OspA and pC and one reacted with the 39 kDa and OspA. The sera reacted with a mean of 7.1 bands (3.2 bands <41 kDa and 3.9 bands >41 kDa). A minimum of 2 bands was observed in the immunoblot pattern of 60/61 individuals (98%) and of 5 bands in 45/61 (74%). Of the sera tested 35/61 (57%) reacted with a band corresponding to a 41 kDa protein and at least one band corresponding to low proteins of 18, 21.5 or 23 kDa.

Follow-up 1986-1989. ELISA. Serum antibody titers of the 34 studied individuals are shown in Fig. 2. All had positive IgG titers in 1986, and 26 were positive in 1989. The eight negative individuals showed a log dil value above the 3.74 cut-off value, but only four of them demonstrated a significant decrease in antibody titer (FAHRER *et al.* 1991). In contrast, a significant increase in titer was observed for three individuals.

Immunoblot. The evolution, between 1986 and 1989, of the number of bands observed in the Western blot of the 34 subjects is presented in Fig. 3

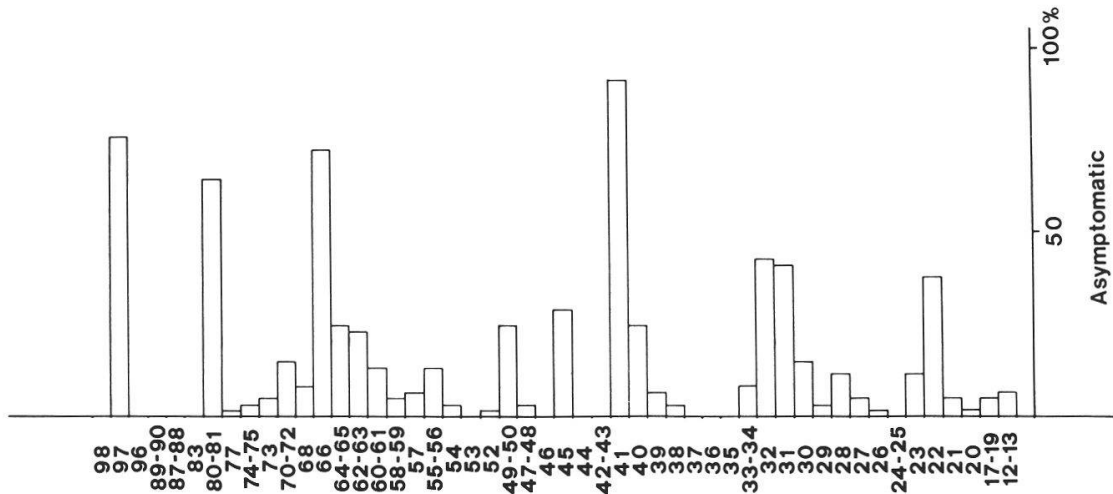


Fig. 1. Frequency of antigenic proteins of *Borrelia burgdorferi* (B31) detected in Western Blot of sera from 61 asymptomatic persons (indicated in %). The abscissa represents the molecular weights (kDa) of the proteins detected in the Western Blot and the ordinate the percentage of Western Blot in which the proteins reacted.

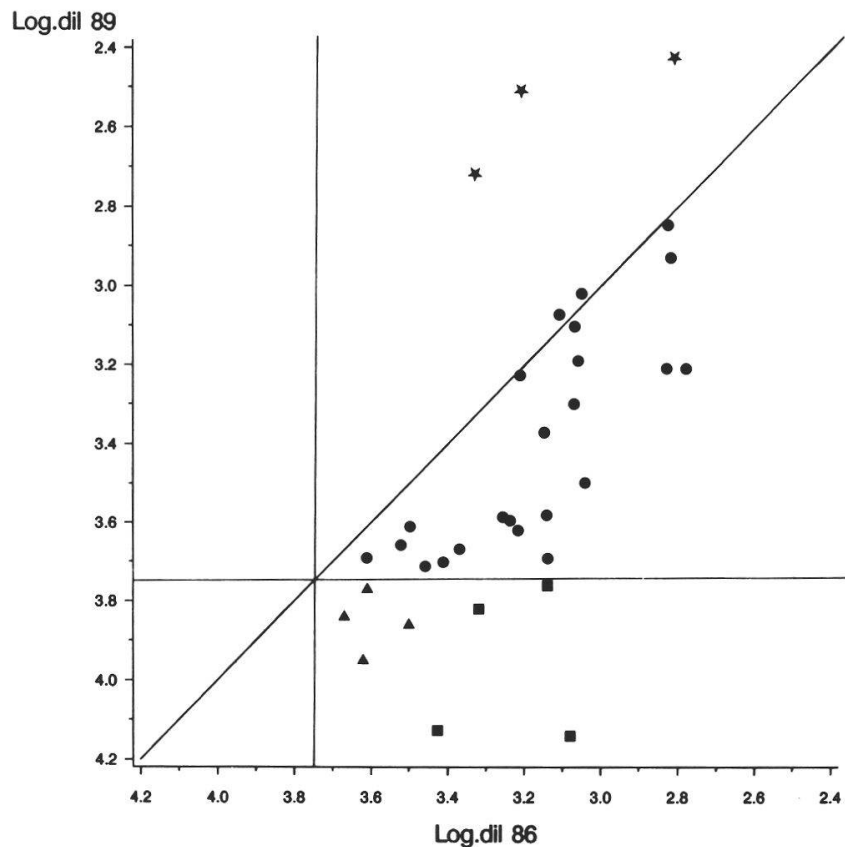


Fig. 2. Plot of IgG ELISA tests for anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies in serum samples from 34 asymptomatic individuals, obtained in 1986 and 1989. Cut-off level for a positive ELISA is log. dilution < 3.74.

- : Sera positive in 1986 and negative in 1989, presenting an increase in log.dil of at least 0.40
- ▲ : Sera positive in 1986 and negative in 1989, presenting an increase in log.dil of less than 0.40 (not relevant)
- ★ : Sera presenting a relevant antibody concentration increase.

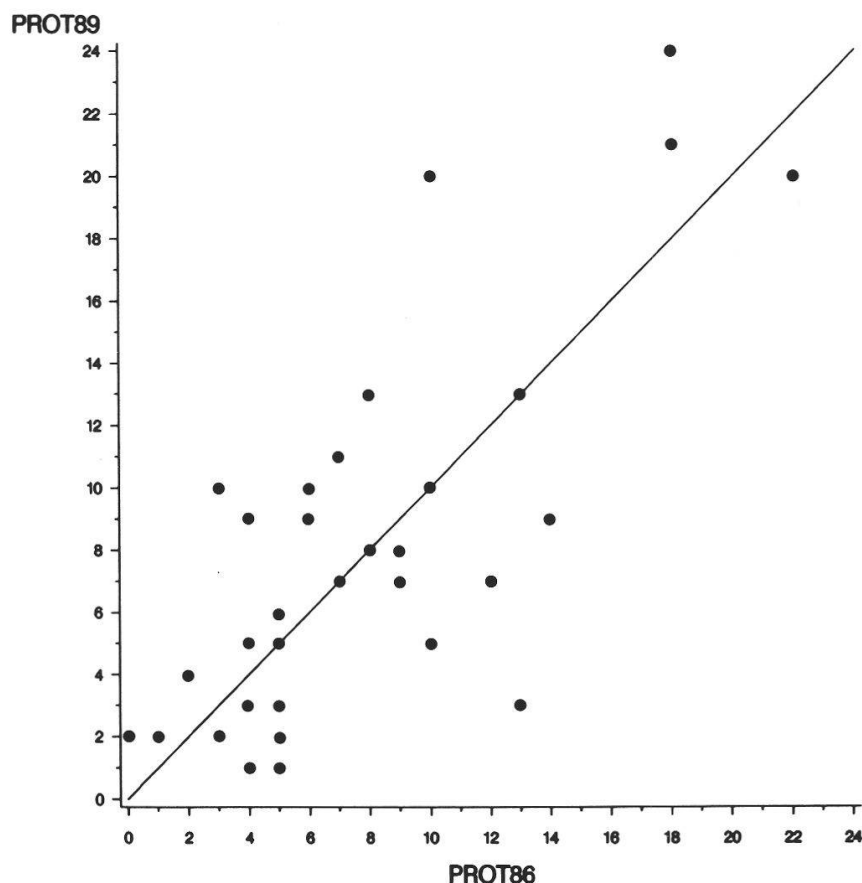


Fig. 3. Plot of the number of *Borrelia burgdorferi* proteins detected by Western Blot in the sera of 34 asymptomatic persons in 1986 and 1989. Note that 2 sera presented no reaction in 1986 and a reaction against 2 proteins in 1989; and 2 sera presented a reaction against 3 proteins in 1986 and against 2 in 1989.

and representative immunoblots are shown in Figure 4. IgG bound to as many as 22 distinct proteins in 1986 and 24 in 1989. The sera reacted with a mean number of 7.37 bands in 1986 ($3.48 < 41$ kDa; $3.88 > 41$ kDa) and 7.57 bands in 1989 ($3.17 < 41$ kDa and $4.4 > 41$ kDa). No statistical difference was detected in either the number of reacting proteins during the follow-up ($p = 0.768$) or in the number of reacting proteins having molecular weight < 41 kDa ($p = 0.411$) or > 41 kDa ($p = 0.188$).

Nevertheless, the number of reacting proteins decreased in two cases from 13 and 10 proteins to 3 and 5, respectively, and increased in two other cases from 3 to 10 and from 4 to 9 proteins.

The most commonly recognized polypeptide was the 41 kDa flagellin antigen but many samples reacted with other proteins, frequently those with molecular weight of 97, 66, 80/81, 31 (OspA) and 22 kDa (presented in order of frequency). Counting all bands, a minimum of 2 bands was recognized by 91% of the sera in 1986 and in 1989, 5 bands by 69% in 1986 and 63% in 1989 and 15 bands by 9% in 1986 and 11% in 1989.

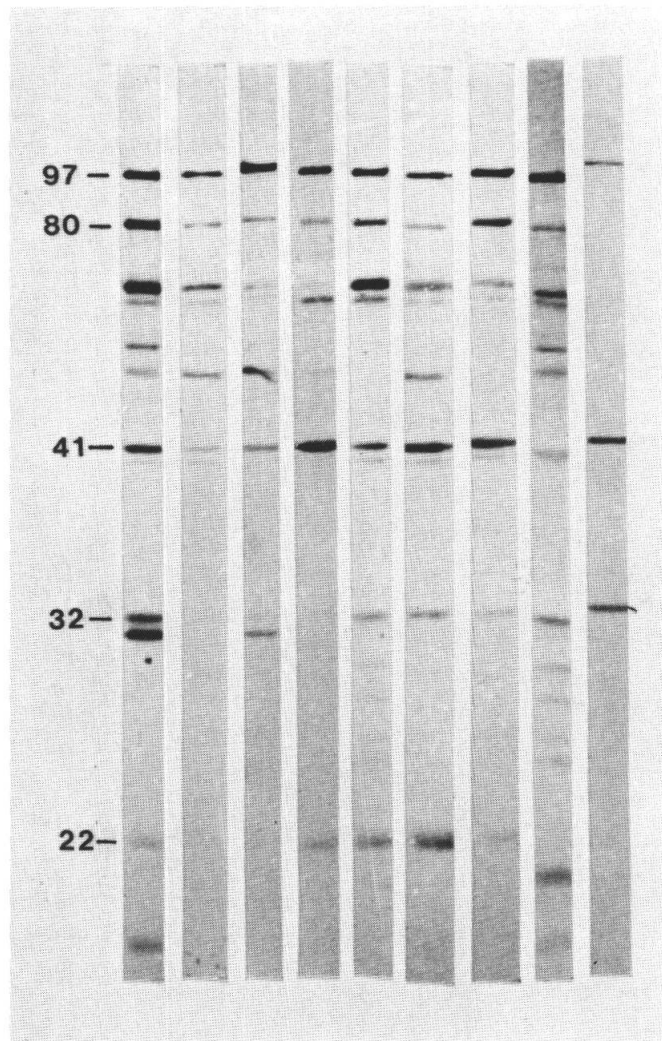


Fig. 4. Representative immunoblots (*Borrelia burgdorferi*, strain B31) of 9 asymptomatic individuals. Molecular weights (kDa) of some proteins are indicated on the left.

None of the 34 individuals available for the follow-up reported any clinical manifestations compatible with Lyme borreliosis during the 1986-1989 period.

DISCUSSION

The association of *B. burgdorferi* with Lyme borreliosis was first revealed by serology (BURGDORFER *et al.* 1982). Since that time, this disease has been diagnosed in laboratories by detection of specific antibodies to the spirochete, mainly by immunofluorescence or ELISA. Western blot has previously been evaluated for serodiagnosis and found to be more sensitive and specific than ELISA (GRODZICKI and STEERE, 1988; KARLSSON *et al.* 1989) and therefore has been proposed as a confirmation test of specific

antibodies (GRODZICKI and STEERE, 1988, ZÖLLER *et al.* 1991). The definition of positivity of Western blot has been discussed in many papers (GRODZICKI and STEERE, 1988, FISTER *et al.* 1989, KARLSSON *et al.* 1989, KARLSSON 1990, MAGNARELLI *et al.* 1989, NADAL *et al.* 1989, OLSSON *et al.* 1991, ZÖLLER *et al.* 1991). Recommendations were given to consider a Western blot positive if at least 2 to 5 bands were detected (KARLSSON *et al.* 1989, OLSSON *et al.* 1991, ZÖLLER *et al.* 1991). KARLSSON *et al.* (1989) considered an immunoblot as positive if containing a band to a 41 kDa and at least one band corresponding to low molecular weight proteins of 18, 21.5 or 23 kDa and ZÖLLER *et al.* (1991) observed the best specificity and sensitivity if at least 5 bands were present and a specificity of 97% if reactions with the 94 kDa, 73 kDa, 30 kDa and 21 kDa were observed.

In this study, the more frequent bands appearing in immunoblots were 41, 97, 66, 80/81, 32, 31 and 22 kDa. The flagellar 41 kDa band was the most frequent band observed. Reaction against this protein has been reported as being cross reactive with other spirochetes and bacteria, and also as being the first one appearing in *B. burgdorferi* infection (GASSMANN *et al.* 1989, LUFT *et al.* 1989). This cross reactivity was also observed when we assessed the specificity of our test. Proteins from 66 to 73 kDa were found to possess homologies to a heat shock protein by Luft *et al.* (results presented at the VI International Conference on Lyme Borreliosis in 1990, in Stockholm) and this could explain its high frequency and weak specificity. In this study, four groups of antigens within the range of 90 kDa, 80, 30 and 20 were frequent, they probably correspond to the proteins described by Zöller *et al.* (1991) as presenting the best specificity.

Interestingly, reactions against polypeptides of 30 kDa range (OspA) were frequent in the sera examined. The difference observed concerning the frequency of OspA in the immunoblot pattern of our samples with the results obtained by other European researchers (ZÖLLER *et al.* 1991) could be due to the distribution of the different antigenic strains in this area (HU *et al.* in prep) or to the quantity of antigenic stimulation (e.g. numerous tick bites) among the studied population.

The present study shows that in the 1989 follow-up, of 34 seropositive but asymptomatic individuals identified in 1986 (GERN *et al.* 1989), none reported clinical manifestation of Lyme borreliosis. Four individuals became seronegative whereas three individuals presented an increase in antibody titre. A significant difference was noticed in the number of proteins recognized by Western blot during this follow-up, in four cases only. This phenomenon, that qualitative immunoblot band patterns do not change, even after successful treatment of Lyme borreliosis, has already been described (ZÖLLER *et al.* 1989). The observed difference between both tests (ELISA and Western blot) is probably due to the different sensitivities of the tests, the difference in antigen preparation, and the fact that Western blot was not quantitative.

Actually, some studies, in an endemic area or in populations at risk, indicate that most infections with *B. burgdorferi* remain inapparent and lead to a high prevalence of specific antibodies (FAHRER *et al.* 1991, GERN *et al.* 1989, GERN *et al.* 1991, SATZ *et al.* 1988). This situation considerably

increases the difficulty of making a diagnosis of active disease using serological tests. We applied the Western blot testing to the asymptomatic population in this study, because this technique allows the visualization of a specific antibody response directed against the different polypeptides of the spirochete. As shown here, Western blot (IgG) gives no further definite information on the activity of the disease if compared with the diagnostic criteria described in other studies concerning patients with active disease (unpublished data; GRODZICKI and STEERE, 1988; FISTER *et al.* 1989; KARLSSON *et al.* 1989; KARLSSON 1990; MAGNARELLI *et al.* 1989; NADAL *et al.* 1989; OLSSON *et al.* 1991; ZÖLLER *et al.* 1991). Hence Western blot (IgG) is of little help in diagnosing Lyme borreliosis, in populations at risk and in endemic areas where seropositivity against *B. burgdorferi* is frequent. An IgG seropositivity detected by ELISA and/or by immunoblot, in this context, is mainly a sign of previous exposure to infectious tick bites. An immunoblot analysis of two successive serum samples might help to determine if a patient has an active disease or not. Detection of specific IgM may be another method of diagnosing active Lyme borreliosis, especially if IgM-capture ELISA is used (BERARDI *et al.* 1988, HANSEN *et al.* 1991).

Acknowledgements

This work was supported by the Swiss National Research Foundation. We gratefully acknowledge the help of Jacqueline Moret for the statistical analysis and of Patricia Nuttall for having improved the English of this manuscript. We thank Reto Lienhard for the useful discussions.

Summary

In 1986, we investigated the immune response to *Borrelia burgdorferi* of seropositive (ELISA) asymptomatic individuals ($n = 61$) from an endemic area using Western blot. The sera reacted with as many as 37 distinct proteins of the spirochete. A minimum of 2 proteins was observed in the Western blot of sera of 60/61 individuals (98%) and of 5 in 45/61 (74%). The most frequent proteins in the immunoblots were the 41, 97, 66, 80/81, 32, 31 and 22 kDa (listed in order of frequency).

The evolution of positive serological responses to *Borrelia burgdorferi*, detected by ELISA and Western blot, was followed over 3 years in 34/61 of these asymptomatic persons. During the follow-up, 8 of 34 persons had a decrease in IgG titers (ELISA) and the other 26 did not. In contrast, a significant increase in titer was observed for three individuals. The number of proteins in IgG Western blot increased in two cases (3 to 10; 4 to 9) and decreased in two other cases (13 to 3 and 10 to 5). It is concluded that Western blot is difficult to use for routine diagnosis of active disease in endemic areas or in populations at risk.

Résumé

Nous avons caractérisé et suivi la réponse immune contre *Borrelia burgdorferi*, l'agent de la borréliose de Lyme, chez une population asymptomatique séropositive provenant d'une région endémique (Aarberg, Suisse) pendant une période de 3 ans (1986-1989). En 1986, les sera testés en Western Blot ($n = 61$) ont réagi avec 37 protéines différentes. Une réaction avec au minimum 2 protéines a pu être observée chez 60/61 individus (98%) et avec 5 protéines chez 45/61 (74%). Les bandes antigéniques apparaissant le plus fréquemment présentaient des poids moléculaires de 41, 97, 66, 80/81, 32, 31 et 22kDa (présentées dans l'ordre de leur fréquence d'apparition).

En 1989, 34/61 personnes ayant déjà participé à l'étude en 1986 ont pu être retestées. Une diminution du titre d'anticorps IgG (ELISA) a été observée chez 8 personnes et une augmentation du titre chez 3. Le nombre de protéines ayant réagi en Western blot (IgG) a augmenté dans 2 cas (3 à 10 protéines et de 4 à 9) et diminué dans 2 autres cas (de 13 à 3 protéines et de 10 à 5). Ces résultats montrent que l'utilisation et l'interprétation du Western blot, pour diagnostiquer une borréliose de Lyme en zone endémique, peuvent poser quelques problèmes.

REFERENCES

- BERARDI, V.P., WEEKS, K.E. and STEERE, A.C. — (1988). Serodiagnosis of early Lyme disease: analysis of IgM and IgG antibody responses by using an antibody-capture enzyme immunoassay. *J. Inf. Dis.* 158: 754-760.
- BURGDORFER, W., BARBOUR, A.G., HAYES, S.F., BENACH, J.L., GRUNWALDT, E. and DAVIS, J.P. — (1982). Lyme Disease — a tick-borne spirochetosis? *Science*, 216: 1317-1319.
- FAHRER, H., VANDER LINDEN, S.J., SAUVAIN, M.J., GERN, L., ZHIOUA, E. and AESCHLIMANN, A. — (1991). The prevalence and incidence of clinical and asymptomatic Lyme borreliosis in a population at risk. *J. Infect. Dis.* 163: 305-310.
- FISTER, R.D., WEYMOUTH, L.A., McLAUGHLIN, J.C., RYAN, R.W. and TILTON, R.C. — (1989). Comparative evaluation of three products for the detection of *Borrelia burgdorferi* antibody in human serum. *J. Clin. Microbiol.* 27: 2834-2837.
- GASSMANN, G.S., DEUTZMANN, R., VOGT, A. and GOBEL, U.B. — (1989). N-terminal amino acid sequence of the *Borrelia burgdorferi* flagellin. *FEMS Microbiol. Lett.* 51: 101-105.
- GERN, L. — (1991). La borréliose de Lyme en Suisse. Savoir faire concorder diagnostic sérologique et signes cliniques. *Gazette médicale* 7: 649-651.
- GERN, L., FROSSARD, E., WALTER, A. and AESCHLIMANN, A. — (1989). Presence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* in a population of the Swiss Plateau. *Zentralbl. Bakt. Hyg. Suppl.* 18: 321-328.
- GERN, L., de MARVAL, F. and AESCHLIMANN, A. — (1991). Comparative considerations on the epidemiology of Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in Switzerland. In *Modern Acarology*, eds F. Dusbabek and V. Buska. Academia Prague and SPB Academic Publishing, The Hague 1: 249-254.

- GRODZICKI, R.L. and STEERE, A.C. — (1988). Comparison of immunoblotting and indirect enzyme-linked immunosorbent assay using different antigen preparations for diagnosing early Lyme disease. *J. Infect. Dis.* 157: 790-797.
- HANSEN, K., PII, K. and LEBECH, A.M. — (1991). Improved immunoglobulin M serodiagnosis in Lyme borreliosis by using a u-capture enzyme-linked immunosorbent assay with biotinylated *Borrelia burgdorferi* flagella. *J. Clin. Microbiol.* 29: 166-173.
- KARLSSON, M., MOLLEGARD, I., STIERNSTEDT, G. and WRETLIND, B. — (1989). Comparison of Western Blot and enzyme-linked immuno-sorbent assay for diagnosis of Lyme borreliosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Inf. Dis.* 8: 871-877.
- KARLSSON, M. — (1990). Western immunoblot and flagellum enzyme linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J. Clin. Microbiol.* 28: 2148-2150.
- LUFT, B., JIANG, W., DATTWYLER, R.J. and GOREVIC, P.D. — (1989). Biochemical and immunological characterization of the surface proteins of *Borrelia burgdorferi*. *Inf. Imm.* 57: 3637-3645.
- MAGNARELLI, L.A., ANDERSON, J.F. and BARBOUR, A.G. — (1989). Enzyme linked immunosorbent assays for Lyme disease: reactivity of subunits of *Borrelia burgdorferi*. *J. Inf. Dis.* 159: 43-49.
- NADAL, D., TAVERNA, C. and WITZIG, W.H. — (1989). Immunoblot analysis of antibody binding to polypeptides of *Borrelia burgdorferi* in children with different clinical manifestations of Lyme disease. *Pediat. Res.* 26: 377-382.
- OLSSON, I., von STEDINGK, L.V., HANSON, H.S., von STEDINGK, M., ASBRINK, E. and HOVMARK, A. — (1991). Comparison of four different serological methods for detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in Erythema Migrans. *Acta Dermatol. Venereol.* 71: 127-133.
- RUSSELL, H., SAMPSON, J.S., SCHMID, G.P., WILKINSON, H.W. and PLIKAYTIS, B. — (1984). Enzyme-linked immunosorbent assay and immunofluorescence for Lyme disease. *J. Inf. Dis.* 149: 465-470.
- SATZ, N., ACKERMANN, A., GERN, L., AESCHLIMANN, A. OTT, A. and KNOBLAUCH, M. — (1988). Zur Epidemiologie der Infektion mit *Borrelia burgdorferi*. *Schw. Med. Wschr.* 118: 422-426.
- ZÖLLER, L., HAUDE, M., HASSLER, D., BURKARD, S. and SONNTAG, H.G. — (1989). Spontaneous and post-treatment antibody kinetics in late Lyme borreliosis. *Serodiag. Immunother. Inf. Dis.* 3: 345-353.
- ZÖLLER, L., BURKARD, S. and SCHAFER, H. — (1991). Validity of Western immunoblot band patterns in serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J. Clin. Microbiol.* 29: 174-182.

Adresses des auteurs:

Lise Gern et Suzanne Leuba-Garcia, Université de Neuchâtel, Chantemerle 22, CH-2000 Neuchâtel, Suisse.

Ellen Frossard, Dählhölzliweg 18, CH-3000 Bern, Suisse.

A PRELIMINARY OBSERVATION ON THE
PERITROPHIC MEMBRANE ATROPHY IN
ENGORGED NYMPHAL *IXODES RICINUS*
(ACARI: IXODIDAE) USING LIGHT AND
ELECTRON MICROSCOPES

by

ZHENQIN ZHU, LISE GERN AND ANDRÉ AESCHLIMANN

WITH 4 FIGURES

INTRODUCTION

A peritrophic membrane (PM) has been described in the midgut lumen of all three developmental stages of *Ixodes dammini* and *I. ricinus* (RUDZINSKA *et al.* 1982; ZHU *et al.* 1991). It is a transient branched tube-like structure produced after blood-feeding stimulation and covers the whole midgut contents. The occurrence time of the PM in *I. dammini* and *I. ricinus* (RUDZINSKA *et al.* 1982; ZHU *et al.* 1991), its morphological changes in *I. ricinus* during and after blood-feeding (ZHU *et al.* 1991) and its time of disappearance in molting larval *I. dammini* (RUDZINSKA *et al.* 1982) have been investigated. However, the atrophy and/or disintegration of the PM in replete ticks have never been reported before. As vectors of diverse diseases, *I. dammini* and *I. ricinus* transmit numerous pathogenic microorganisms to man and animals. Findings involving the atrophy and/or disintegration of the PM may shed some light on the evaluation of the behaviour of the microorganisms contained within endoperitrophic space, including *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales: Spirochaetaceae), the causative agent of Lyme borreliosis, which had been demonstrated in the endoperitrophic space in the midgut lumen of blood-feeding *I. dammini* and *I. ricinus* nymphs (ZUNG *et al.* 1989; N. LEBET unpublished data). The purpose of this study was to observe the morphological process of the PM atrophy in replete nymphal *I. ricinus*.

MATERIALS AND METHODS

Nymphal *I. ricinus* were collected by flagging vegetation in a forest near Neuchâtel, Switzerland in May, 1990. Collected ticks were fed on uninfected New Zealand white rabbits (GRAF 1978). Replete nymphs were kept

at 20-22°C and in a saturated humidity condition. Alternate periods of 16 hours of light and 8 of darkness were maintained. Ticks were sampled at day 15 ($n = 15$) and 21 ($n = 9$) after repletion and longitudinally halved in phosphate buffered saline (pH 7.35). Halved ticks were fixed in freshly prepared Karnovsky's fixative (KARNOVSKY 1965) at 4°C overnight and processed for transmission electron microscopy (TEM) (AGBEDE *et al.* 1986; ZHU *et al.* 1991). Spurr's (Electron Microscopy Sciences Fort Washington, PA)-embedded halved ticks were sectioned transversally. Both semi-thin and ultra-thin sections were made with an ultra microtome (Reichert-Jung Ultracut E, Reichert-Jung Optische Werke Ag Austria). Semi-thin sections were stained with toluidine blue and observed with an Olympus Vanox-S (OLYMPUS OPTICAL CO., LTD) optical microscope (OM). Ultra-thin sections were first stained with uranyl acetate and then with lead citrate and examined with a Philips EM 201 electron microscope. For the control of the molting duration, replete nymphs ($n = 26$) were also maintained until they molted to adults.

RESULTS

The molting period of the examined nymphs

All nymphs kept as controls molted to adults at day 36-43 after repletion. Thus, the nymphs examined at day 15 and 21 after repletion were in the early middle to middle pre-molting period. OM and TEM observations showed that in nymphs examined at day 15 after repletion, the detachment of the hypodermis from the old cuticle had taken place, in varying degrees, at the anterior part of the ticks. In nymphs examined at day 21 after repletion, the hypodermis had completely separated from the old cuticle. Thus, the apolysis (JENKIN and HINTON 1966) of the examined nymphs had begun or finished and the ticks were in the nymph-pharate adult transition phase.

The distribution and morphology of the PM in nymphs examined at day 15 after repletion

A PM was present in the midgut lumen of each of the 15 nymphs examined at day 15 after repletion. The development of the PM was not synchronous among the examined nymphs. Based on the appearance and the distribution of the PM, 3 situations (I-III) were recognized:

I): In two of the 15 nymphs, a thick, winding and multi-layered PM similar to that previously described in molting nymphs sampled at day 14 after repletion (ZHU *et al.* 1991), was seen throughout the midgut lumen. That is to say, the PM was still situated quite close to the midgut epithelial cell surface and the endoperitrophic space remained very wide. Its electron density was obviously lower than that of the endo- and ectoperitrophic spaces.

II): In 3 nymphs, a PM was detected in the lumen of the stomach and in the basal parts of the midgut diverticula (fig. 1). A considerable length of the terminal diverticular lumen was free of the PM. Disintegration was not

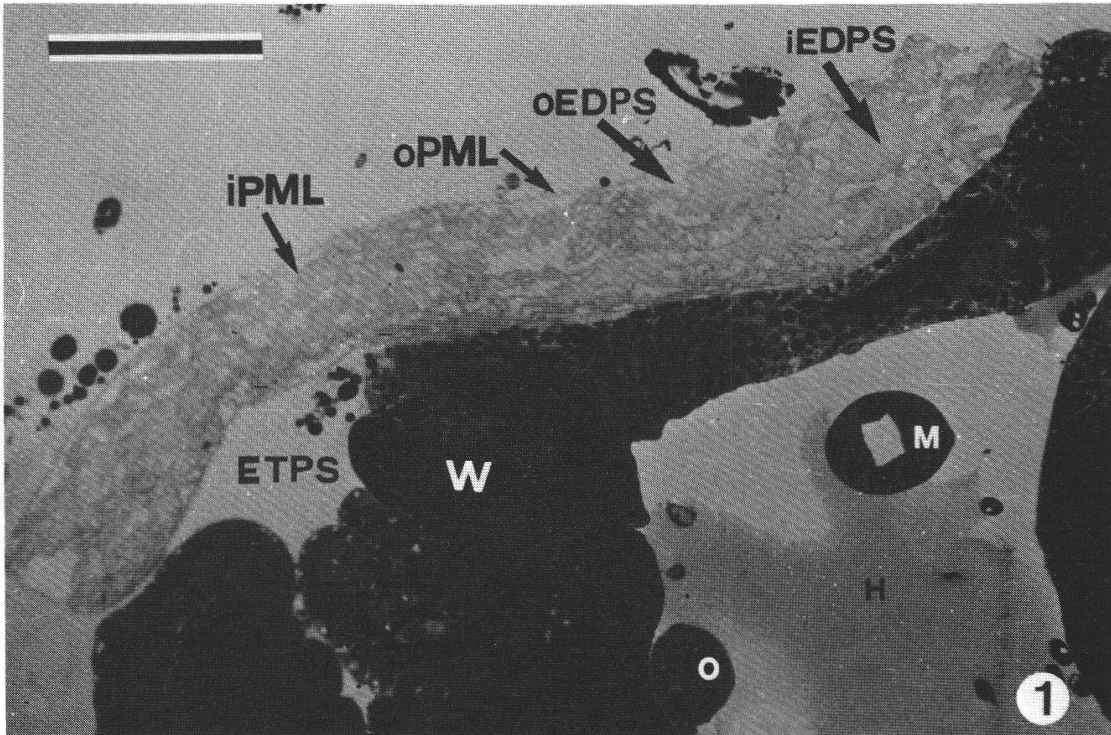


Fig. 1. Peritrophic membrane in the stomach lumen of a nymph examined at day 15 after repletion (the second situation). The peritrophic membrane consists of two layers: an almost non-rippled outer layer (oPML) and a greatly folded inner one (iPML). The inner endoperitrophic space (iEDPS) enclosed by the iPML has largely decreased. The folds of the iPML is still distinguishable and remain un-disintegrated. The outer endoperitrophic spaces (oEDPS) between the oPML and the iPML can still be recognized. Note that half of the stomach wall had been removed during dissection. ETPS ectoperitrophic space; H hemocoel; M Malpighian tubule; O ovarian primordium; W wall of the stomach. Optical micrograph, Toluidine blue, Bar = 100 μ m.

found at the distal part of the diverticular branches of the PM. The terminal midgut diverticula were devoid of a histologically visible lumen which was completely closed with the enlarged epithelial cells (TILL 1961).

In histological sections, the PM was found to consist of two morphologically different layers: a nearly non-rippled outer PM layer, and a highly rippled and greatly folded inner one (fig. 1). The occurrence of the outer PM layer had led to the presence of a space between the inner and outer PM layers. For the convenience of description, this space is tentatively named the outer endoperitrophic space and the space enclosed by the inner PM layer the inner endoperitrophic space (fig. 1).

The inner endoperitrophic space enveloped by the highly rippled and folded inner PM layer had largely decreased in volume but was still recognizable in histological sections (fig. 1). The folds of the inner PM layer remained still distinguishable, and showed an un-disintegrated appearance (fig. 1). Both the outer and the inner PM layer were found to be multi-layered by TEM. The electron density of both the ectoperitrophic space and the outer endoperitrophic space was identical, but it was obviously lower than that of the inner endoperitrophic space. The outer PM layer and the

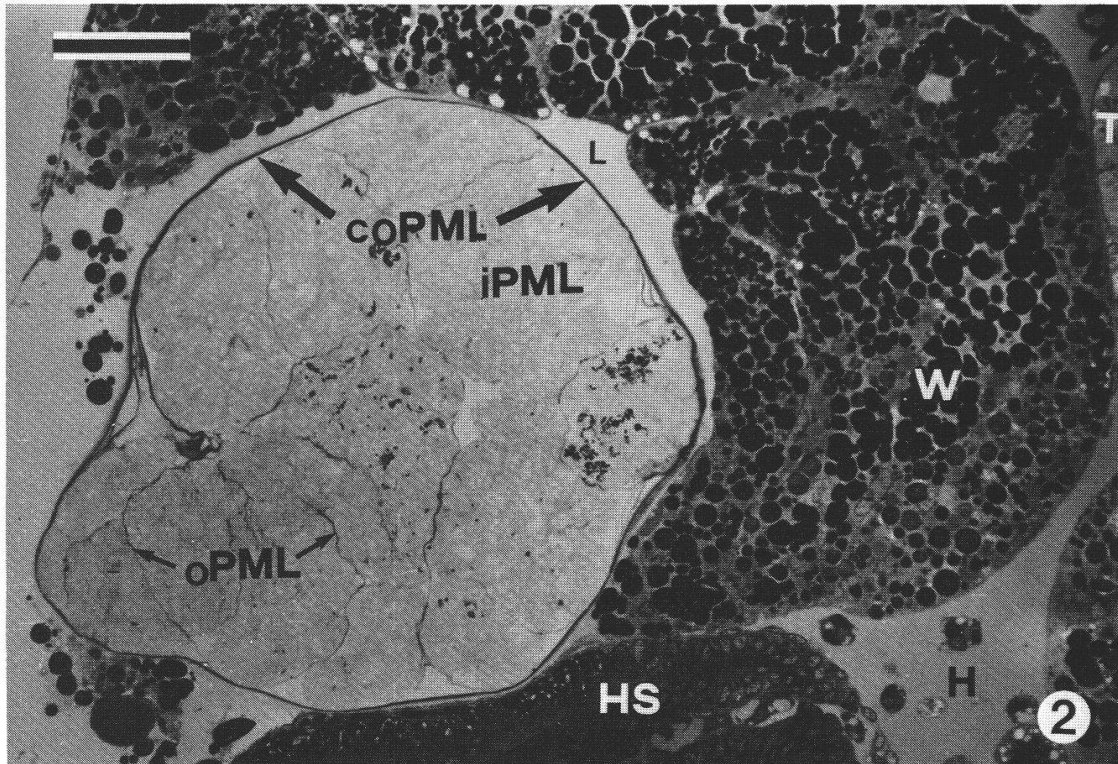


Fig. 2. Semi-thin section crossing the anterior part of a nymph examined at day 15 after repletion (the third situation), showing a large peritrophic membrane mass in the stomach lumen. The large mass consists of several small masses and is enclosed within a common outer peritrophic membrane layer (coPML). Each small mass itself is surrounded with a relatively thin outer peritrophic membrane layer (oPML). The inner peritrophic membrane layer (iPML) is extremely folded. Note that half of the gut wall had been removed during dissection. H hemocoel; HS hypodermal sac of the genital organ; L lumen of the stomach; T testicular primordium; W wall of the stomach. Optical micrograph, Toluidine blue, Bar = 50 μ m.

folded inner PM layer showed a higher electron density than the inner endoperitrophic space, and particularly than the outer endoperitrophic space and the ectoperitrophic space.

III): In the remaining 10 ticks, a PM was only found in the stomach lumen (figs. 2-3). In the transversal histological sections, it appeared to be a large mass consisting of a surrounding common outer PM layer and several small PM masses (fig. 2). Each of these small masses was enclosed with a relatively thin outer PM layer (fig. 2). In these small masses, the inner PM layer was so greatly folded and so densely distributed that the spaces enclosed by inner PM layer (belonging to the inner endoperitrophic space) and those between the outer and the inner PM layers (belonging to the outer endoperitrophic space) were hard to be recognized in the histological sections (fig. 2). However, by TEM, they could still be distinguished from each other and the inner endoperitrophic space was represented by numerous very narrow spaces between the folds of the inner PM layer (fig. 3). The electron density of these spaces was obviously lower than that of the greatly folded inner PM layer and particularly than that of the outer PM

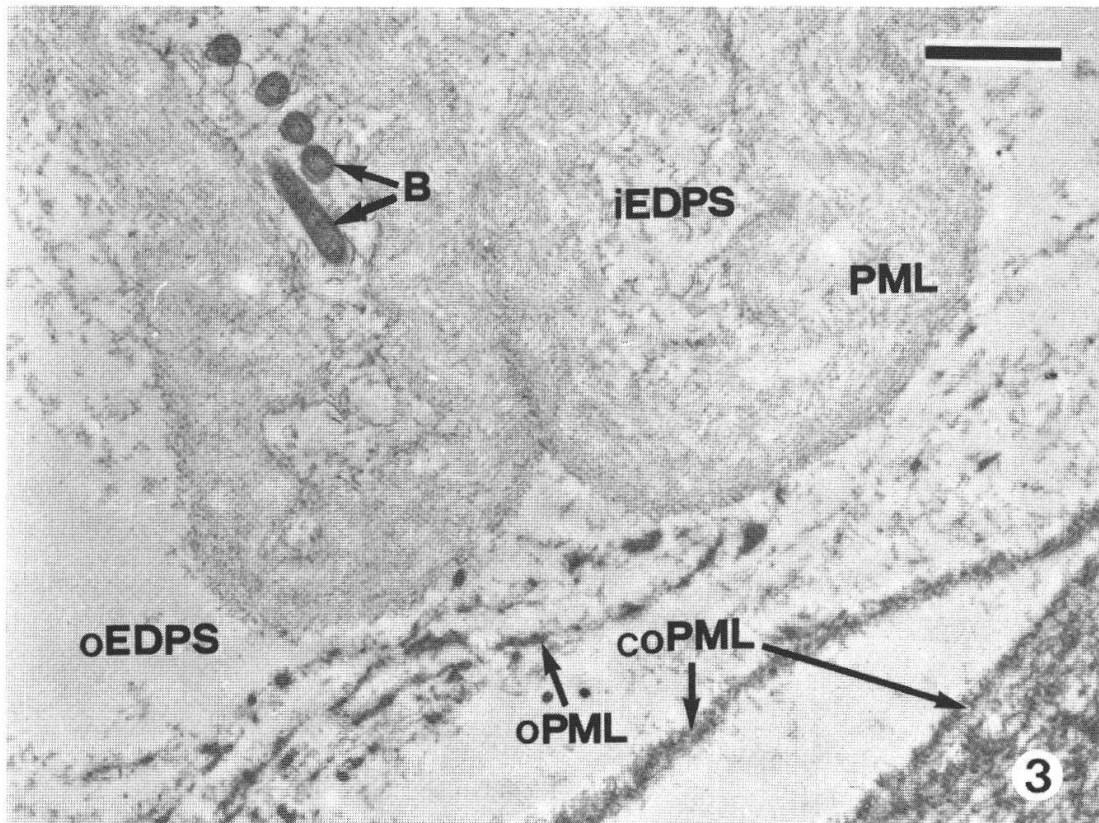


Fig. 3. Ultra-thin section showing the greatly folded inner peritrophic membrane layer (iPML), and the multi-layered outer (oPML) and common peritrophic membrane (coPML) layers in a nymph examined at day 15 after repletion (the third situation). Note that several *B. burgdorferi* are situated in a narrow inner endoperitrophic space (iEDPS). The iEDPS shows a lower electron density than the iPML, oPML and coPML. *B. burgdorferi*. Transmission electron micrograph, Bar = 1 μ m.

layer and the common outer PM layer (fig. 3). TEM observation also showed that the common outer PM layer, the outer PM layer and the inner PM layer had a multi-layered appearance (fig. 3). Although the PM had completely changed its appearance, it seemed to be still un-disintegrated (figs. 2-3).

The distribution and morphology of the PM in nymphs examined at day 21 after repletion

The development of the PM was also not synchronous among the 9 nymphs examined at day 21 after repletion. According to the presence or absence of a PM, two additional situations (IV-V) were distinguished:

IV): In 3 of the 9 nymphs, the lumen of the stomach was still quite large, though most part of the diverticula lumen was not detectable in the semi-thin sections by OM. A disintegrating PM mass was observed in the stomach lumen (fig. 4). The common outer PM layer was still very prominent, but the enclosed contents appeared to be homogeneous, that is to say, the con-

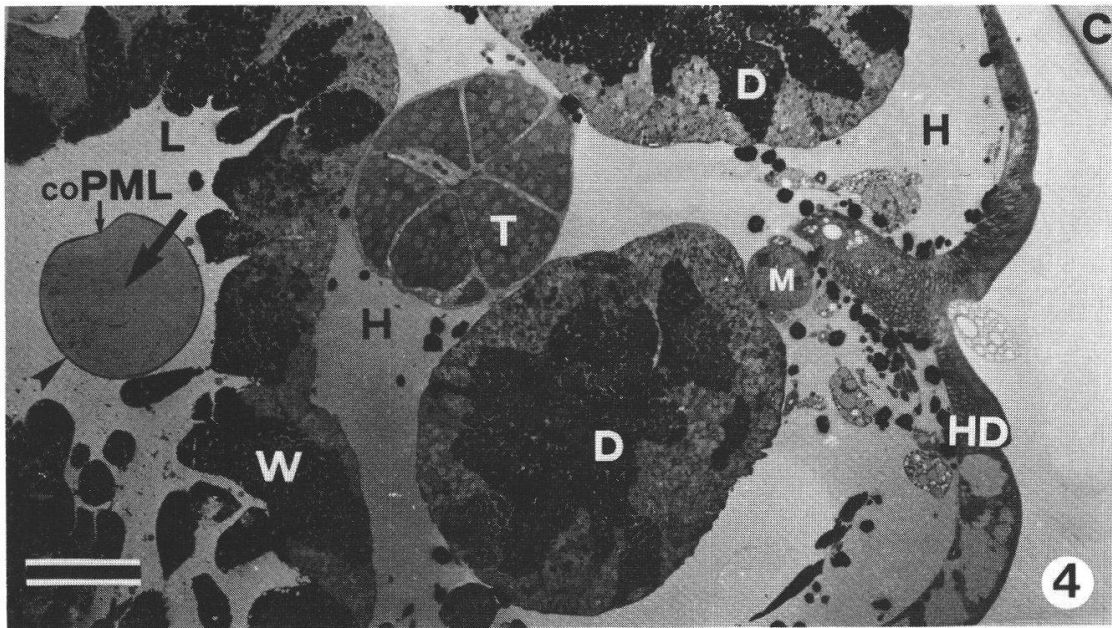


Fig. 4. Semi-thin section traversing the anterior part of a nymph examined at day 21 after repletion (the fourth situation), demonstrating a disintegrating peritrophic membrane mass (arrowhead) in the stomach lumen. Note that the common outer peritrophic membrane layer (coPML) is still prominent but the enclosed content shows a homogeneous appearance (big arrow). The diverticula (D) lack a visible lumen and the hypodermis (HD) has totally separated from the old cuticle (C). H hemocoel; L lumen of the stomach; M Malpighian tubule; T testicular primordium; W wall of the stomach. Optical micrograph, Toluidine blue, Bar = 100 μ m.

tained small PM masses present in the nymphs belonging to the third situation, were no longer distinguishable (fig. 4).

V): In the remaining 6 ticks, most part of the midgut lumen was completely enclosed with the enlarged epithelial cells (TILL 1961; BALASHOV 1968). TEM observation showed no PM in these ticks.

DISCUSSION

The present study reveals that, under our experimental conditions, during the early middle to middle pre-molting period, the PM of nymphal *I. ricinus* undergoes a rapid atrophy process, though this phenomenon is not synchronous among the ticks examined. This period corresponds to the transition phase from nymph into pharate adult. The temperature and the day-time have an important influence on the molting duration of the nymphal *I. ricinus* (KAHL *et al.* 1990). The molting duration is variable among nymphal *I. dammini* under the same laboratory conditions (PIESMAN *et al.* 1990). A PM was reported in a nymphal *I. ricinus* examined at day 30 after repletion, though it had become thick, winding and multi-layered (ZHU *et al.* 1991). Moreover, in our present investigation the PM of most molting nymphs examined at day 21 after repletion has completely disappeared. This developmental delay may be mainly due to the relatively low temperature

(18-20°C) (ZHU *et al.* 1991) and a relatively short-day condition (alternate periods of 10.5 hours of light and 13.5 of darkness) applied to the experiments but not mentioned in the resultant publication (ZHU *et al.* 1991). In addition, ticks used in the previous study were from a laboratory strain, while nymphs for the present experiments were captured in nature. This may also be responsible for the different molting durations.

The authors' previous study has demonstrated that after repletion the PM in nymphal *I. ricinus* becomes thicker and thicker, increasingly winding and multi-layered (ZHU *et al.* 1991). Simultaneously, the distance between the PM and the midgut epithelium increases continuously (ZHU *et al.* 1991). The present investigations show that these morphological changes of the PM are greatly accelerated during early middle to middle pre-molting period. At the same time, the PM disappears gradually from the terminal parts of the midgut diverticula towards stomach. Thus, it appears that the PM atrophy begins soon after repletion, but only during early middle to middle pre-molting period, when nymphs begin to enter their pharate stage of adult, does a rapid atrophy process of the PM occur. The fate of the PM in diapausing nymphs (KAHL *et al.* 1990) deserves to be investigated.

The observation that in the majority of the nymphs examined at day 15 after repletion, the PM was only present in the stomach lumen and had become a large mass (figs. 2-3) suggests that the PM might be able to contract itself towards stomach during its rapid atrophy.

Only 3 of the 9 nymphs examined at day 21 after repletion possessed a PM, and the PM was restricted in the stomach lumen and displayed a disintegrating appearance. Furthermore, disintegrating PM was not found in any other ticks. These results suggest that the PM in repleted *I. ricinus* nymphs might finally disintegrate and disappear in the stomach lumen at the beginning of their pharate adult phase. However, the possibility that the atrophying PM disintegrates and disappears gradually from the terminal ends of its diverticular branches towards the stomach lumen should not be excluded, since the real extremity of the diverticular PM branches in the nymphs belonging to the second situation was difficult to be detected. Further investigation is needed to elucidate the concrete morphological and biochemical process of the PM disintegration.

We observed that in the nymphs pertaining to the second situation, the electron density of the outer endoperitrophic space was identical to that of the ectoperitrophic space, but lower than that of the inner endoperitrophic space. In addition, the outer PM layer was found to be nearly non-rippled, while the enclosed inner PM layer was greatly folded. These findings suggest that the outer PM layer may be secreted during the rapid shrinkage and folding of the inner PM layer which represents the PM produced before rapid atrophy. The presence of a thick common outer PM layer surrounding the whole large PM mass in the nymphs belonging to the third situation, provides an additional evidence for the secretion of the PM materials even after the PM had become restricted in the stomach lumen. The multi-layered appearance of both the outer PM layer and the common outer PM layer (figs. 2-3) implicates that these secretions might be intermittent.

We have found a large number of *B. burgdorferi*, most of which are atypical forms including gemmae, imprisoned in the greatly reduced inner endoperitrophic space in systemically infected molting nymphal *I. ricinus* examined at day 15 after repletion (the third situation) (fig. 3) (ZHU *et al.* 1992). The relationship between the atrophy and disintegration of the PM and the behaviour of *B. burgdorferi* enveloped in the endoperitrophic space will be reported in another paper.

Acknowledgements

This study was supported by the Swiss National Science Foundation (No. 3. 975. 87) and the Laboratory of Diagnostic Parasitology, University of Neuchâtel, Switzerland. This work represents part of the Ph. D. thesis of one of the authors (Z. ZHU).

Summary

Although the peritrophic membrane atrophy in nymphal *I. ricinus* begins soon after tick repletion, only during early middle to middle pre-molting period, corresponding to the nymph-pharate adult transition phase, does the peritrophic membrane undergo a rapid atrophy process. When this rapid process begins, the tube-like peritrophic membrane becomes more infolded and shrinks rapidly and the endoperitrophic space rapidly decreases in volume. At the same time, the peritrophic membrane disappears gradually from the terminal parts of the diverticular lumen towards the stomach. In the majority of the nymphs examined at day 15 after repletion, it is only found in the stomach lumen and appears to be a large mass packed with membranous folds. The endoperitrophic space in these ticks is enormously reduced and is represented by numerous narrow spaces between the peritrophic membrane folds. The peritrophic membrane has completely disappeared in most ticks examined at day 21 after repletion.

Key-words: Peritrophic membrane atrophy, Molting nymphs, *Ixodes ricinus*, *Borrelia burgdorferi*, Light and electron microscopy.

Résumé

Bien que l'atrophie de la membrane péritrophique débute peu après le repas sanguin chez les nymphes d'*I. ricinus*, ce n'est que pendant la période précédant directement la mue conduisant au stade adulte que la membrane péritrophique subit une rapide atrophie. Celle-ci se manifeste par un rétrécissement et un plissement de la membrane péritrophique et l'espace endopéritrophique diminue de volume. En même temps, la membrane péritrophique disparaît graduellement des extrémités des diverticules intestinaux pour se concentrer dans l'estomac. Dans la majorité des nymphes examinées 15 jours après le repas sanguin, elle n'est visible que dans la lumière de l'estomac où elle apparaît comme une large masse remplie par les plis membranaires. L'espace endopéritrophique chez ces tiques est alors énormément réduit et se limite aux petits espaces situés entre les plis de la membrane péritrophique. Chez la plupart des tiques examinées 21 jours après le repas sanguin, la membrane péritrophique a complètement disparu.

Mots-clés: Atrophie de la membrane pérित्रophique, Nymphes en train de muer, *Ixodes ricinus*, *Borrelia burgdorferi*, Microscope optique et électronique.

REFERENCES

- AGEBEDE, R. I. S., KEMP, D. H. and HOYTE, H. — (1986). Secretory and digest cells of female *Boophilus microplus*: Invasion and development of *Babesia bovis*; Light and electron microscopic studies. In: J. K. SAHER and J. A. HAIR (eds.) Morphology, physiology and behavioral biology of ticks, *Ellis Horwood*, England, pp. 457-471.
- BALASHOV, YU. S. (ed.) — (1968). Bloodsucking ticks (Ixodoidea)-vectors of diseases of man and animals. — Nauka Publishers, Leningrad. (In English, 1972) Translation 500 (T500), Medical Zoology Department, United States Naval Medical Research Unit Number Three, Cairo, Egypt. pp. 161-376.
- GRAF, J. F. — (1978) Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae) 1^{re} partie. *Bull. Soc. Entomol. Suisse* 51: 89-87.
- JENKIN, P. M. and HINTON, H. E. — (1966). Apolysis in arthropod molting cycles. *Nature* 211: 871.
- KAHL, O., HOFF, R. and KNÜLLE, W. — (1990). Gross morphological changes in the salivary glands of *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodidae) between bloodmeals in relation to active uptake of atmospheric water vapour. *Exp. Appl. Acarol.* 9: 239-258.
- KARNOVSKY, M. J. — (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Cell Biol.* 27: 137-139.
- PIESMAN, J., OLIVER, J. R. and SINSKY, R. J. — (1989). Growth kinetic of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*) in vector ticks (*Ixodes dammini*). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 42: 352-357.
- RUDZINSKA, M. A., SPIELMAN, A., LEWENGRUB, S., PIESMAN, J. and KARAKASHIAN, S. — (1982). Penetration of the peritrophic membrane of the tick by *Babesia microti*. *Cell Tissue Res.* 221: 471-481.
- TILL, W. M. — (1961). A contribution to the anatomy and histology of the brown ear tick *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann. Thesis accepted for the Degree of Doctor of Philosophy in the Department of Zoology, University of the Witwatersrand, South Africa, pp. 124.
- ZHU, Z., GERN, L. and AESCHLIMANN, A. — (1991). The peritrophic membrane of *Ixodes ricinus*. *Parasitol. Res.* 77: 635-641.
- ZHU, Z., GERN, L. and AESCHLIMANN, A. — (1992). Localization of *Borrelia burgdorferi* in repleted *Ixodes ricinus* nymphs. *Program and Abstracts*, A50, 292. Vth International Conference on Lyme Borreliosis, Arlington, Virginia, U.S.A. May 30-June 2, 1992.
- ZUNG, J. L., LEWENGRUB, S., RUDZINSKA, M. A., SPIELMAN, A., TELFORD, S. R. and PIESMAN, J. — (1989). The fine structural evidence for the penetration of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* through the gut and salivary tissues of *Ixodes dammini*. *Canad. J. Zool.* 67: 1737-1748.

LES LÉPIDOPTÈRES DIURNES (RHOPALOCERA)
DES MILIEUX HUMIDES DU CANTON DE
NEUCHÂTEL I
LES MILIEUX À *MACULINEA NAUSITHOUS*
(BERGSTR.), LEP. LYCAENIDAE¹

par

YVES GONSETH

AVEC 1 TABLEAU ET 3 FIGURES

INTRODUCTION

Maculinea nausithous (Bergstr.) est une espèce caractéristique des prairies humides à *Sanguisorba officinalis*, l'unique plante-hôte de sa chenille. De telles prairies, généralement peu ou pas engraisées et extensivement exploitées, se sont fortement raréfiées en Europe avec l'intensification de l'agriculture, l'abandon progressif de l'exploitation des prés à litière et le drainage des zones humides. Ce papillon est ainsi menacé partout en Europe (HEATH 1981), y compris en Suisse (GONSETH 1987) et figure parmi les espèces d'invertébrés incluses dans l'annexe II de la Convention de Berne (que la Suisse a ratifiée). La découverte de stations à *Maculinea nausithous* dans une région donnée est importante, car elle doit déboucher, ne serait-ce que par respect des engagements pris, sur la définition de mesures efficaces devant assurer le maintien de ses populations.

Les résultats présentés sont le reflet partiel d'une étude effectuée dans plus de 700 stations du Jura suisse, canton de Neuchâtel, entre 1984 et 1990 (GONSETH 1991).

ESQUISSE BIOLOGIQUE

Concernant le papillon

Maculinea nausithous est une des rares espèces de papillon de la faune suisse dont les chenilles ont un régime alimentaire xénophage (changement brusque de régime alimentaire au sein d'un même stade de développement).

¹ Cet article fait partie de la thèse de l'auteur (projet FNRS, 3.269-0.85).

Si, jusqu'à leur troisième mue larvaire, ses chenilles se nourrissent des boutons floraux de *Sanguisorba officinalis* (régime phyto-spermophage, monophagie stricte), elles terminent leur développement dans une fourmilière, aux dépens du couvain de leur hôte: *Myrmica laevinodis* Nylander (= *Myrmica rubra* nomen nudum, voir KUTTER 1977, p. 42). A l'inverse d'autres espèces du genre *Maculinea*, dont le régime alimentaire est identique, plusieurs chenilles de ce papillon peuvent se développer simultanément dans la même fourmilière (THOMAS 1984, LSPN 1987).

Les imagos, sédentaires, forment de petites populations isolées confinées sur des surfaces parfois très réduites. Ils passent la totalité de leur vie aux abords immédiats de leur lieu d'émergence et/ou de ponte. Ils sont nectarivores et monophages (THOMAS 1984, LSPN 1987, GONSETH 1992) et se reposent systématiquement, par mauvais temps par exemple, sur la plante-hôte de leurs chenilles. Cette particularité comportementale facilite d'ailleurs l'étude de leur distribution dans une région donnée. Les adultes éclosent entre la fin du mois de juin et le début du mois d'août selon l'altitude, les mâles quelques jours avant les femelles. Ils peuvent vivre jusqu'à un mois. Leurs milieux de prédilection sont les prairies humides à végétation luxuriante abritant de nombreux nids de leur fourmi-hôte. En Suisse, l'espèce a surtout été signalée au versant nord des Alpes, sur le Plateau et dans le Jura entre 350 et 1000 m d'altitude (max. 1600 m). Malgré les recherches effectuées par de nombreux entomologistes jurassiens, les populations de *M. nausithous* que nous avons découvertes sont les seules qui ont été signalées dans le Jura central (canton du Jura, Jura bernois et Jura neuchâtelois). Les populations non neuchâtelaises les plus proches sont situées sur la rive sud du lac de Neuchâtel (MULHAUSER 1991).

Concernant la fourmi

Myrmica laevinodis est une espèce qui se développe essentiellement dans les milieux humides à sol lourd, peu perméable. Elle semble toutefois éviter les zones périodiquement inondées de ses milieux de prédilection (THOMAS 1984). Sa fourmilière est souvent creusée dans le sol, de préférence sous une pierre, mais est parfois aménagée dans du bois en voie de décomposition. Ses colonies sont généralement riches en individus et nombreuses. Si elle supporte mal le fauchage régulier des milieux qui l'abritent, leur abandon total se traduit par une régression progressive du nombre de fourmilières (THOMAS 1984). *M. laevinodis* est largement répandue en Suisse jusqu'aux altitudes les plus élevées (KUTTER 1977).

Concernant la plante-hôte

Sanguisorba officinalis est généralement associée aux sols basiques (HESS & LANDOLT 1970). Bien qu'hygrophile (indicatrice de sols à humidité variable), elle peut toutefois coloniser des milieux à sol relativement sec et est ainsi parfois associée à certaines espèces mésophiles des pelouses maigres (Mesobromion). Elle colonise préférentiellement les prairies à litière (Molinion) et les bas-marais alcalins (*Caricion davallianae*), mais peut aussi

se retrouver en contact direct de Mégaphorbiées (Filipendulion) ou dans des pâturages humides légèrement engraisés. Elle ne supporte pas l'amendement et l'exploitation intensive des surfaces qui l'abritent (un fauchage régulier et pluriannuel se traduit par la diminution de la taille des plants présents, par une diminution progressive du nombre de pousses florifères, puis par la disparition totale de la plante; cf. THOMAS 1984 notamment). *S. officinalis* est largement distribuée en Suisse, surtout sur calcaire (WELTEN 1982) et est relativement fréquente de l'étage collinéen à subalpin (HESS & LANDOLT 1970).

MÉTHODE

Les nombres d'imagos indiqués dans le tableau 1 (colonne ind) sont basés sur des comptages directs effectués lors d'un seul passage. Dans les milieux de structure linéaire, ces comptages ont été faits par le biais d'un itinéraire rectiligne; dans les milieux recouvrant une certaine surface, ils ont été effectués par le biais d'un itinéraire en zigzag (10 m d'espacement entre chaque ligne parallèle du parcours). Les milieux inventoriés ayant généralement une taille réduite, le temps passé dans chacun d'eux a oscillé entre 15' et 60'. Si les chiffres obtenus par cette méthode d'échantillonnage ne permettent pas d'évaluer l'effectif réel des populations présentes (une méthode de capture/recapture devrait être adoptée pour le faire), ils permettent toutefois une comparaison des différentes stations étudiées.

Les visites des milieux potentiels ont été réalisées aussi bien par temps couvert (imagos immobiles sur les inflorescences de la Sanguisorbe) que par beau temps. Le choix des stations a été effectué sur la base des indications fournies par les photos aériennes et par les cartes topographiques (1:25 000) du canton de Neuchâtel. La plupart des milieux cités ont été découverts en août 1988, lors d'une recherche spécifique de *Maculinea nausithous*. Le maintien des populations découvertes a été confirmé lors de relevés complémentaires effectués en 1989 et 1990.

Les études autécologiques faites sur cette espèce soulignant son extrême sédentarité, nous avons assimilé à une station chaque milieu abritant 1 ou plusieurs papillons adultes et séparé de son plus proche voisin par une prairie de fauche, une prairie artificielle ou une culture intensive, par un obstacle important (forêt, agglomération), ou par une distance de plus de 100 m.

Le nombre de pieds de *Sanguisorba officinalis* par station a été évalué par comptage de tous les plants fleuris. Les variables suivantes ont été retenues pour décrire les milieux:

- localisation géographique, longueur, largeur, pente, altitude et exposition
- type de végétation dominante
- absence ou présence d'une zone tampon avec les milieux voisins
- type d'entretien ou d'exploitation déterminé de visu

TABLEAU 1: Caractéristiques des stations étudiées

parc	sppap	dmsp	ind	ingt	srftot	igztp	ingso	srftso	l/aso	l/hmC	PSo	So/m2	ztpg	ztpd	Irgg	Irgd	Milieu	MV1	MV2	C1%	C2%	C3%	C4%	C5%	X%
161*	6	1200	28	120	530	0	120	530	5.3								talus	route pâtp.							
6*	18	675	22	165	2900		45	225	9.8								talus	route pâtp.							
329	4	20	9	200	320	0	86	138	6.5	4.5	120	0.87			1.6		talus	pâtp. cult.							
340	9	375	33		2317			720	4.6								pâthu	pâtp. pâtp.							
330	14	150	25		10075			772	3.2								pâthu	pâtp. pâtp.							
336	18	325	13		21375			600	2.2								pfnu	pâtp. canal							
197*	1	1050	12		1375			1375	0.9			1					pfnu	cult. cult.							
211	14	30	5		5075			1394	0.4			0.04					pâthu	pâtp. canal							
209	1	50	3		9300			1724	0.2			0.25					pâthu	pâtp. canal							
212	18	150	20		2950			1407	1.4			0.5					phu	pâtp. pâtp.							
205	8	75	3		900			100	3		6	0.06					phu	for. for.							
195*	1	450	12	222	598	0	221	300	4	5.4	959	3.2	0	0	1.3	1.4	canal s	pâtp. cult.		90	0	0	0	0	10
201	1	325	24	960	1344	420	362	254	9.4	2.5	516	2	0.8	3	0.4	1	canal s	pâtp. pâtp.		0	31	13	37	20	0
203*	1	575	22	1000	2400	1580	187	224	9.8	2.2	231	1	2	1.5	1.2	1.2	canal m	phu. chem.		5	0	5	60	13	17
206	1	250	7	284	1022	384	168	307	2.3	2.5	228	0.7	1	2.7	2.1	1.5	canal s	cult. cult.		0	76	0	0	0	24
200	1	200	19	670	2010	440	191	319	6	2.8	222	0.7	0	1.3	1.2	1.8	canal s	cult. pâtp.		0	28	22	38	0	12
193*	1	2400	14	188	713	0	90	198	7.1	7.4	166	0.8	0	0	1.6	2.2	canal s	pâtp. pâtp.		29	71	0	0	0	0
202*	1	500	5	350	1456	500	47	75	6.7	1.4	102	1.4	1	1	1.6	1.6	canal s	cult. cult.		0	0	11	89	0	0
210	7	20	10	139	1251	0	139	417	2.4	7.2	80	0.2		0		9	canal m	canal pâtp.		0	0	0	100	0	0
199	1	425	7	200	620	0	39	57	12	3.5	57	1	0	0	1.8	1.3	canal s	cult. cult.		5	0	0	89	0	6
208*	2	1000	10	170	629	170	12	20	50	5.9	12	0.6	1.5	0	1.7	2	canal	pâtp. cult.		0	0	0	100	0	0
196	1	450	1	75	667	150	50	75			30	0.4	5.5	1	1.5	7.4	canal m	cult. chem.		50	0	0	50	0	0
207	1	300	1	140	476	280	67	114			86	0.8	0.5	0.5	1.7	1.7	canal s	cult. cult.		0	100	0	0	0	0
198	1	300	1	240	616	260	14	24			14	0.6	0.3	0.8	0.9	1.7	canal i	pâtp. cult.		0	50	0	50	0	0
194	1	200	1	95	218	105	5	6			13	2.2	7	7	1.1	1.2	canal m	cult. parc		50	50	0	0	0	0
204	7	350	1		1250			1250			10	0.01					phu	for. cult.							
192	1	350	1	82	123		20	30			17	0.57			1.5		talus	pâtp. route							

TABLEAU 1

parc = numéro de la station; les stations avec astérisque sont considérées comme isolées
sppap = nombre total d'espèces de papillons observées dans la station
dmsp = distance (m) à la plus proche station principale
ind = nombre de papillons observés
lngt = longueur totale (m) du canal/talus
srftot = surface totale de la station
lgzp = longueur (m) de zone tampon (2 rives confondues)
lngso = longueur (m) des tronçons à *S. officinalis* (2 rives confondues)
srfsso = surface (m²) avec *S. officinalis*
i/a = nombre de papillons par are avec *S. officinalis*
i/hmC = par hectomètre de canal
PSo = nombre de pieds de *S. officinalis* répertoriés
So/m² = par m²
ztpg = longueur (m) de la zone tampon, rive gauche
ztpd = de la rive droite
lrgg = largeur de la rive gauche
lrgd = de la rive droite
Milieu = **pâthu** = pâturage humide; **pfhu** = pré de fauche humide; **phu** = prairie humide;
canal s = partie supérieure d'un canal; **m** = partie centrale d'un canal; **i** = partie inférieure d'un canal
MV1/MV2 = Milieux voisins; **chem** = chemin; **pâtp** = pâturage permanent; **pfau** = prairie de fauche; **cult.** = culture intensive; **for** = massif boisé
C1-C5 = catégories de rive (voir fig. 1) en % de la longueur des rives (= 2 × lngt)
X% = rive de nature différente à l'une ou l'autre des catégories définies.

MILIEUX INVENTORIÉS ET DISTRIBUTION DE L'ESPÈCE

Compte tenu des premières observations faites sur cette espèce (2 talus et un canal de drainage), 83 km de rives de cours d'eau et 74 milieux humides répartis entre 430 et 1100 m d'altitude sur l'ensemble du canton ont été inventoriés entre 1986 et 1990.

Maculinea nausithous a été observé sur 5 km de rives (dont 1,7 km présentent des peuplements denses de *S. officinalis*) et dans 10 milieux humides. La totalité des 27 stations découvertes sont réparties dans une région géographiquement limitée. Elles sont confinées dans 18 carrés kilométriques (surface cantonale: 796 km²) et la moyenne de la distance entre les plus proches stations prises 2 à 2 est de 425 m (écart type: 486 m; cf. tableau 1). En outre, la distance séparant les 2 stations les plus éloignées est d'environ 8 km.

Nous avons postulé que la découverte d'un seul papillon dans un milieu donné (station secondaire) était due à la présence fortuite d'un individu issu de populations voisines plus importantes (stations principales). Les distances moyenne, minimale et maximale séparant les stations secondaires et principales les plus proches étant respectivement de 325, 200 et 450 m, de rares adultes pourraient s'éloigner de plus de 400 m de leur lieu d'émergence. Ces observations peuvent être comparées avec celles de THOMAS (1984), qui a constaté que des milieux potentiellement favorables situés à environ 350 m de milieux effectivement colonisés n'étaient pas exploités

par l'espèce. Si, sur la base de ces faits, une distance de 400 m peut être considérée comme critique dans les échanges entre populations de *M. nausithous*, 8 stations découvertes dans le canton de Neuchâtel abriteraient des populations isolées.

Comparés aux seules informations disponibles concernant la distribution ancienne de cette espèce dans le Jura (de ROUGEMONT 1904), ces premiers résultats sont assez intéressants. Au début de ce siècle, *M. nausithous* était dite «...rare chez nous... Bienne (Robert), Yverdon, Dombresson (Rougemont) et même Chasseral (Couleru)...». A l'échelle cantonale, cette situation ne semble pas s'être beaucoup modifiée depuis lors. Cette constatation souligne l'extrême sédentarité et le faible pouvoir de dispersion du papillon.

COMPARAISON DE LA DISTRIBUTION DU PAPILLON ET DE CELLE DE SA PLANTE-HÔTE

Nous n'avons pas la prétention d'avoir découvert la totalité des stations neuchâtelaises abritant *S. officinalis* lors de notre étude. Toutefois, une comparaison de la distribution géographique de la plante, telle que nous pouvons la déduire de nos observations de terrain, avec celle du papillon apporte les éléments suivants :

- les 58 stations à *S. officinalis* qui ont été répertoriées sont disséminées sur la plus grande partie du territoire cantonal (littoral excepté) entre 615 et 1405 m d'altitude
- les 2 stations les plus éloignées où la plante se développe sont distantes de 47 km
- 20 km séparent en moyenne les 41 stations à *S. officinalis* qui n'abritent pas *M. nausithous* du centre de la région où il a été découvert (écart type 7.8 km, min. 8 km)
- la majorité des 41 stations à *S. officinalis* qui n'abritent pas *M. nausithous* sont séparées de la région abritant le papillon par des chaînes de montagne culminant à plus de 1300 m.

Ces éléments permettent de souligner les faits suivants :

- il n'y a aucune corrélation entre les distributions géographiques du papillon et de sa plante-hôte (malgré les rares informations en notre possession, il est possible de supposer, sur la base des connaissances générales rassemblées sur l'espèce, qu'il n'existe pas de corrélation non plus entre la distribution géographique du papillon et celle de sa fourmi-hôte)
- compte tenu de l'éthologie du papillon, les populations neuchâtelaises de *M. nausithous*, prises dans leur ensemble, peuvent être considérées comme isolées
- compte tenu de la structure topographique de la région et de la distance séparant les stations qui abritent *M. nausithous* des autres biotopes potentiellement favorables du canton, les chances d'une augmentation de l'aire de distribution régionale de l'espèce sont extrêmement limitées.

TYPES DE MILIEUX COLONISÉS

Le tableau 1 fournit des indications sur la nature et la structure des milieux qui abritent *M. nausithous*. Pour assurer la protection des populations présentes (cette espèce est activement recherchée dans des buts commerciaux), ce tableau ne contient par contre aucune information géographique précise, les différentes stations étant identifiées par un simple numéro².

M. nausithous a été découvert dans 4 types de milieux différents: prairies humides (Molinion) peu ou pas exploitées (3 stations); pâturages et/ou prés à fauche à résurgences (6 stations); talus de route ou de limite de cultures (4 stations); rives de cours d'eau (14 stations).

Prairies humides

Parmi les 3 stations concernées, la station 212 est celle qui correspond le mieux au milieu originel de *M. nausithous*. Elle présente une végétation très diversifiée, où alternent des éléments caractéristiques du Molinion (*Molinia coerulea*, *Sanguisorba officinalis*), du Mesobromion (*Onobrychis viciifolia*, *Ajuga genevensis*, *Plantago media*, *Centaurea scabiosa*, *Helianthemum nummularium*, *Ranunculus bulbosus*) et des prairies fleuries extensives (*Lotus corniculatus*, *Knautia arvensis*, *Thymus gr. serpyllum*, *Sanguisorba minor* par ex.). Cette diversité floristique est due à la présence d'une résurgence d'eau, assurant par endroits une forte humidité superficielle, à son exploitation très épisodique (fauchage) et à sa position topographique particulière (rupture de pente). Son peuplement lépidoptérologique est assez riche. Il comprend 18 espèces dont les plus intéressantes sont: *Carterocephalus palaemon*, *Erynnis tages*, *Callophrys rubi* et *Melanargia galathea* [une vérification effectuée sur le terrain en 1990 nous a permis de constater que des essais de drainage avaient été faits dans cette station!]. Les stations 204 et 205, situées dans une réserve naturelle, ont une végétation beaucoup plus pauvre en espèces, dominée par *Molinia coerulea* et par des peuplements denses de *Phragmites communis*. Elles sont caractérisées par une densité extrêmement faible de *S. officinalis* et par la pauvreté de leur peuplement lépidoptérologique respectif (7 et 9 espèces). A côté de quelques individus de *M. nausithous*, nous soulignerons toutefois la présence de *Brenthis ino* dans les 2 stations.

Prairies de fauches et pâturages humides

Les 6 stations concernées sont exploitées assez intensivement (pâturage ou 2 coupes annuelles). La station 197, la moins humide, est la seule qui n'est pas amendée. Les pieds de *S. officinalis* y sont relativement nombreux, mais chétifs (fauchage régulier). Toutes les autres stations, très pentues, présentent localement des résurgences d'eau garantant d'une forte humidité

² Les données précises sont toutefois à la disposition des instances publiques ou privées de protection de la nature et peuvent être obtenues à la demande auprès du CSCF.



Photo 1: station 340. Pâturage à groupements hygrophiles.

superficielle. Ces zones humides, recouvertes de groupements à *Juncus sp.*, *Molinia coerulea*, *Filipendula ulmaria*, *S. officinalis* et parfois *Phalaris arundinacea*, représentent les seules surfaces floristiquement intéressantes dans des stations où les plantes caractéristiques des pâturages et prés gras dominent. Si leurs peuplements lépidoptérologiques sont ainsi relativement pauvres (12 espèces en moyenne), deux d'entre elles (330, 340) abritent toutefois des populations stables et assez importantes de *M. nausithous*. Notons que les stations 209, 211, 330, 336 et 340 (photo 1) abritent avec les stations 212 et 329 un ensemble de populations de cette espèce dont l'éloignement moyen (inf. à 400 m) n'exclut pas certains échanges d'individus adultes.

Talus

Les 4 stations regroupées sous cette dénomination sont toutes très différentes. La station 161 présente la flore la plus originale. En effet, ce talus routier très humide abrite notamment *Molinia coerulea*, *Sanguisorba officinalis* et *Pinguicula vulgaris*. Il subit un fauchage printanier et une pâture automnale au moins, ce qui explique l'absence de toute autre espèce de Rhopalocère que *M. nausithous* [une vérification effectuée sur le terrain en 1992 nous a permis de constater que ce milieu s'était fortement dégradé depuis 1989 sous l'effet d'un changement d'affectation des milieux voisins (prairie de fauche ==> culture céréalière); *M. nausithous* est toutefois encore présente]. La station 6 est un talus de chemin, partiellement re-

modelé, et colonisé par une végétation où des espèces de pelouses humides ou d'ourlets mésophiles (*S. officinalis*, *Valeriana officinalis*, *Trifolium medium*, *Heracleum sphondylium*) alternent avec des espèces caractéristiques de friches ou de pelouses sèches (*Anthyllis vulneraria*, *Hippocrepis comosa*, *Thymus gr. serpyllum*, *Scabiosa columbaria*, *Sanguisorba minor* notamment). Fauché très épisodiquement, ce talus abrite un peuplement lépidoptérologique aussi diversifié que la station 212: 18 espèces dont *Brintesia circe*, *Lycaena hippothoe*, *Erynnis tages*, *Spialia sertorius* et *Melanargia galathea*. Le talus 329 sépare un pâturage permanent et une culture intensive de céréales. Sa végétation reflète sa situation, sa flore étant dominée par des espèces caractéristiques de milieux eutrophisés (*Ranunculus acris*, *Filipendula ulmaria*, *Epilobium hirsutum*, *Galeopsis tetrahit*, *Polygonum bistorta* notamment). De nombreux pieds de *S. officinalis*, très vigoureux, s'y développent toutefois. A notre connaissance, ce talus n'est qu'exceptionnellement fauché. Le talus 192 est pris entre une route secondaire et une prairie artificielle et est bordé d'un fossé fortement colonisé par *Filipendula ulmaria*. Il est fauché au minimum 1 fois par année.

Canaux de drainage

La moitié (14/27) des stations à *M. nausithous* qui ont été découvertes sont des rives de canaux dont les caractéristiques principales sont rassemblées dans le tableau 1. Nous nous bornerons ainsi à souligner ici leurs points communs et leurs différences principales (par catégorie).

Points communs:

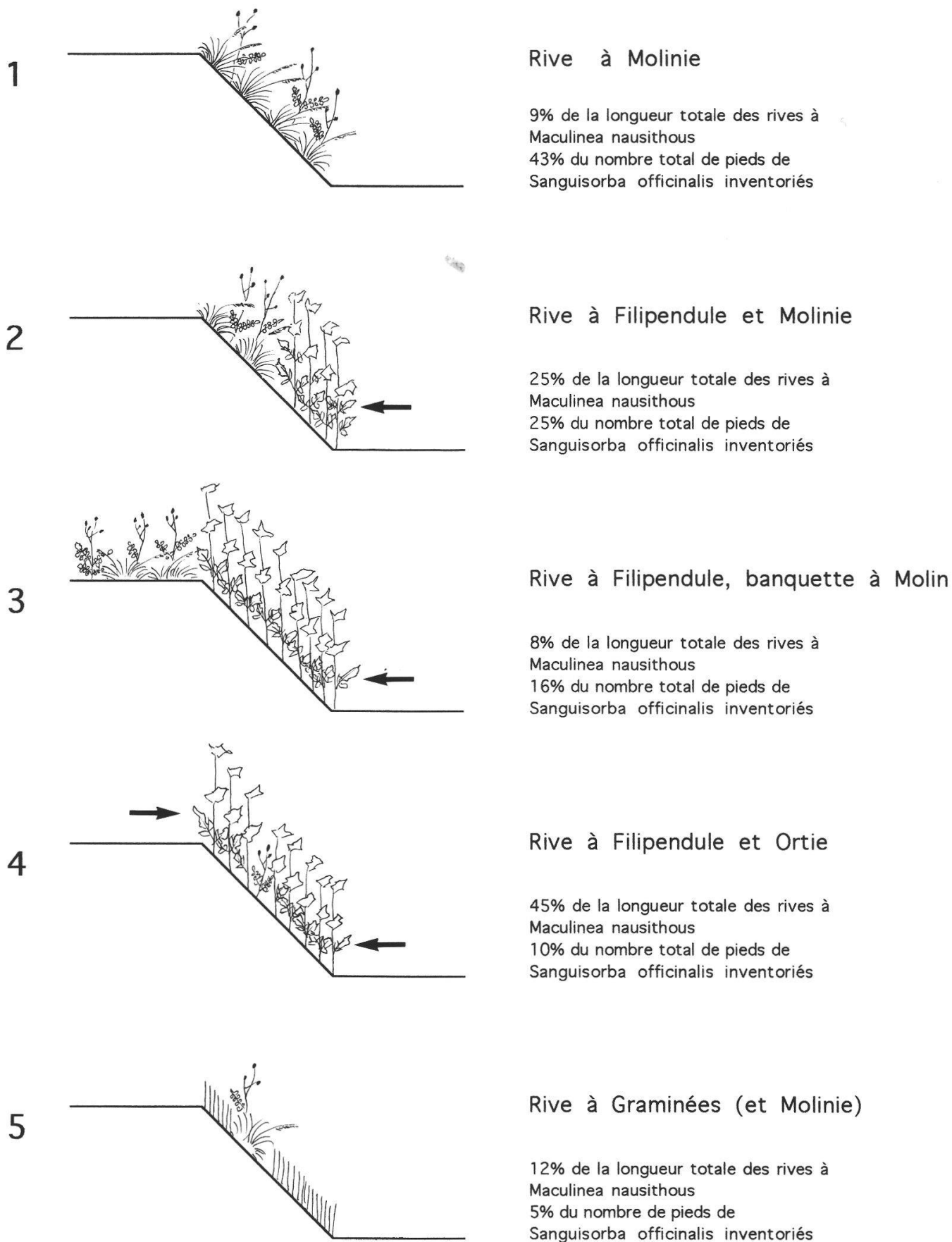
- ces canaux rectilignes sont généralement bordés de cultures intensives (prairies artificielles, pâturages permanents ou prairies artificielles)
- à l'exception de tronçons très limités, leurs rives et leur fonds ne sont ni empierrés, ni bétonnés
- en été, la plupart de ces canaux sont à sec ou n'ont qu'un très faible écoulement superficiel
- leur largeur (d'une rive à l'autre) n'excède que rarement 3 m (fond: 0.6-1 m)
- la pente des rives oscille entre 45° et 60° et leur largeur moyenne n'excède pas 2 m.

Différences:

Nous avons réparti les tronçons de rives de canaux inventoriés en 5 catégories (fig. 1) sur la base de leur composition floristique. Les différences principales de l'ensemble des stations découvertes sont les suivantes:

- longueur de chaque station (voir plus haut la définition donnée à ce terme)
- proportion relative (en % de leur longueur totale) des 5 catégories de rives définies
- présence ou absence de zones tampons entre les rives et les milieux agricoles voisins
- densité de pieds de *S. officinalis*
- nature et type d'entretien des milieux voisins

FIGURE 1 : SCHEMAS DES STRUCTURES DE RIVES INVENTORIEES



Nous avons tenté de trouver une corrélation entre la présence du papillon et la plupart des variables susmentionnées. Parmi les variables testées, la présence de *S. officinalis* est bien entendu le premier facteur limitant pour le papillon. En effet, sur les 83 km de rives inventoriées, nous n'avons jamais trouvé *M. nausithous* le long de tronçons où cette plante était absente.

L'interprétation de nos résultats par le biais des autres variables retenues est plus difficile. Il n'existe en effet aucune corrélation significative entre le nombre de papillons inventoriés par stations et l'une ou l'autre de ces variables prises isolément : il n'existe pas de corrélation significative entre le nombre de papillons observés et la densité de pieds de *S. officinalis* (tab. 1 : PSO, SO/m², Ind, I/hmC pour les stations 195 et 208) [ce qui confirme les résultats de THOMAS (1984)], ou avec la seule présence de zone tampon (tab.1 : lgzp pour les stations 193, 200, 203). Les 3 stations les plus longues, 201, 203 et 200 (longueur moyenne 876 m), présentent toutefois un nombre moyen d'individus (21) proche du double du nombre moyen d'individus (9) de l'ensemble des autres stations (longueur moyenne 221 m). En outre, pour ces mêmes stations, la longueur moyenne de tronçon de rive favorable (avec *S. officinalis*) est dans un rapport de 2 à 1 (246 et 102 m).

Ces constatations impliquent que plusieurs variables agissent en synergie et/ou que d'autres variables entrent en ligne de compte. Le tableau 1 permet de mettre en évidence les faits suivants pour les 10 stations dites principales :

- 3 stations sur 10 (195, 206, 193) présentent une proportion très importante (>75%) de structure de rive très favorable (catégories 1 et 2). Or la station 195 (photo 2) est bordée par un pâturage permanent sur sa rive droite, la station 206 est bordée d'une zone tampon sur environ 70% de sa longueur et la station 193 est uniquement bordée de prés à fauche
- 2 stations (201, 200) sur les 7 restantes ont une proportion importante (40-50%) de rive favorable (catégories 2 et 3). Or elles sont toutes bordées d'une zone tampon sur plus de 40% de leur longueur

FIGURE 1





Photo 2: station 195. Canal dont la rive droite, bordée d'un pâturage permanent, est essentiellement colonisée par *Molinia coerulea* et *S. officinalis* (catégorie 1 de la fig. 1).

- 3 stations (203, 202, 208) sur les 5 restantes présentent une structure de rive moins favorable (catégorie 4), mais sont bordées d'une zone tampon sur plus de 50% de leur longueur
- la station 210 présente une structure de rive identique aux 3 précédentes, mais est bordée par un pâturage permanent sur environ 50% de sa longueur
- les 7 individus répertoriés dans la station 199 l'ont été dans le 5.5% de rive de catégorie 1. Cette station est bordée de cultures intensives et ne présente aucune zone tampon.

Il existe ainsi un lien entre la catégorie de rive rencontrée, la présence de zones tampon, la nature et le type d'exploitation des milieux voisins et la présence de *S. officinalis*. En effet, sur la base de l'ensemble des informations obtenues, il est possible d'esquisser un schéma «évolutif» de la structure des rives en fonction des agressions qu'elles subissent (cette «évolution» se traduisant, sur la figure 1, par la diminution de la densité de pieds de la Grande Sanguisorbe par catégories de rives décrites):

- la catégorie 1 représente la structure de rive idéale, épargnée, par la présence de zone tampon ou par l'exploitation particulière des milieux voisins (pâturage, pré de fauche), de l'arrivée massive d'engrais chimiques ou de pesticides par épandage direct
- la catégorie 2 représente le premier niveau de dégradation de la rive due à l'apport de fertilisants par les eaux de ruissellement. Cette eutrophication de la partie inférieure de la rive est marquée par l'implantation de la Filipendule (voire dans les cas aigus par celle d'*Urtica dioica*). Cette

structure de rive ne peut se maintenir que si l'épandage direct de fertilisants par voie terrestre est limitée (zone tampon, ou exploitation particulière des milieux voisins)

- la catégorie 3 représente le second niveau de dégradation de la rive due à l'effet synergique de l'apport de fertilisants des eaux du canal et le pouvoir concurrentiel de la Filipendule. Les zones favorables à la Grande Sanguisorbe sont reléguées sur la banquette de la rive et ne peuvent se maintenir que si elles sont isolées (zone tampon, exploitation particulière des milieux voisins) de l'épandage direct d'engrais
- la catégorie 4 représente le troisième niveau de dégradation de la rive, où les zones particulièrement favorables à la Grande Sanguisorbe ont disparu (action directe par voie terrestre et/ou aquatique), cette dernière se maintenant tant bien que mal entre les pieds de la Filipendule. Ce maintien est favorisé si l'épandage direct de fertilisants par voie terrestre est limité (zone tampon ou exploitation particulière des milieux voisins)
- l'ultime niveau de dégradation de la rive (structure globale identique à la catégorie 4) est atteint à partir du moment où la Grande Sanguisorbe a disparu sous l'action croisée de l'apport direct de fertilisants et de la concurrence de la Filipendule et de l'Ortie. Cette structure de rive représente l'écrasante majorité des 83 km de rives de canaux étudiés.

La catégorie 5 de la figure 1 représente un cas particulier dû à la pâture ou au fauchage d'une rive déjà passablement eutrophisée.

CONCLUSIONS

Certains points développés dans les paragraphes précédents méritent d'être relevés pour déterminer le statut actuel et pour tenter d'assurer l'avenir des populations de *M. nausithous* dans notre région:

- le canton de Neuchâtel abrite les seules stations à *Maculinea nausithous* actuellement connues dans le Jura central. Des mesures de protection devant assurer leur maintien doivent donc être impérativement prises
- l'extrême sédentarité de l'espèce a deux implications directes. 1) une augmentation de son aire de distribution régionale est très hypothétique; 2) compte tenu de l'isolement presque total de plus de 25 % des stations découvertes, toute nouvelle disparition de stations abritant l'espèce serait irrémédiable
- le maintien de la plante-hôte (et probablement aussi de la fourmi-hôte) de l'espèce est favorisé par la présence d'une zone tampon de 2 à 3 m de large entre les rives de canaux proprement dites et les milieux exploités qui les bordent. Les zones tampons encore présentes aujourd'hui doivent donc être impérativement préservées. Une alternative à la création de zones tampons le long des canaux qui en sont dépourvus serait l'interdiction d'épandage d'engrais à moins de 5 m de leurs rives
- l'aménagement des rives des canaux doit tenir compte des particularités comportementales de l'espèce. Comme le papillon hésite à franchir des obstacles importants, tout reboisement devrait être proscrit le long des canaux où ses populations sont les plus denses. En outre, pour ne pas

limiter les chances d'une éventuelle recolonisation de milieux favorables, le reboisement des canaux où il est absent ne devrait être effectué que sur une seule rive et sur des tronçons relativement courts

- les pâturages, les prairies, les talus et les rives qui abritent encore l'espèce devraient faire l'objet d'un entretien qui tient compte de sa biologie particulière. Les périodes cruciales de la vie du papillon sont la période d'émergence des adultes, nectarivores, et la courte période de régime phyto-spermophage des chenilles. Le fauchage et dans une moindre mesure la pâture des milieux colonisés doivent donc être proscrits entre les mois de mai et d'août afin de laisser le temps à la Grande Sanguisorbe de pousser et de fleurir avant l'émergence des adultes, la ponte et la nutrition des premiers stades larvaires. Un fauchage printanier (mars/avril) ou automnal (à partir de septembre) des surfaces est donc possible. Il ne devrait toutefois pas être effectué plus d'une fois par année. Dans les pâturages, les surfaces colonisées ne seront pas drainées (!). En outre, les milieux qui actuellement déjà ne sont plus exploités devraient être mis sous réserve et être entretenus de manière à contre-carrer leur embuissonnement.
- comme nous ne possédons aucune donnée sur la répartition et la densité des nids de *Myrmica laevinodis* dans les stations qui abritent *Maculinea nausithous*, il serait impératif d'étudier ce facteur afin d'optimiser les mesures de protection que nous venons de décrire.

Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur W. Matthey et le Dr W. Geiger pour leur aide dans la réalisation de ce travail et pour la lecture attentive de ce manuscrit. Je remercie en outre Christian Lavorel qui a effectué un second passage dans une partie des stations signalées dans cet article et qui m'a fourni ses propres résultats.

Résumé

L'auteur décrit les principaux types de milieux abritant *Maculinea nausithous* (Bergstr.) dans le Jura suisse (canton de Neuchâtel). Il souligne certains facteurs pouvant influencer sa distribution régionale et propose certaines mesures devant assurer la protection de cette espèce menacée.

Summary

The author describes the main biotopes of *Maculinea nausithous* (Bergstr.) in the Swiss Jura (canton of Neuchâtel). He outlines some factors which can influence its regional distribution and proposes some measures to protect this threatened species.

Zusammenfassung

Der Autor beschreibt die hauptsächlichlichen Lebensräume von *Maculinea nausithous* (Bergstr.) des Schweizer Juras (Kanton Neuenburg). Er hebt einige Faktoren, die seine regionale Verbreitung beeinflussen, hervor und schlägt einige Massnahmen vor, um diese gefährdete Art zu schützen.

BIBLIOGRAPHIE

- GONSETH, Y. — (1987). Atlas de distribution des papillons diurnes de Suisse. *Doc. faun. helv.* 5 (version française), 242 pp., et 6 (version allemande), 242 pp.
- GONSETH, Y. — (1991). La faune des Rhopalocères (Lepidoptera) du Jura neuchâtois, un reflet partiel de la faune lépidoptérologique jurassienne. *Bull. Soc. neuchâtel. Sci. Nat.* 114: 31-41.
- GONSETH, Y. — (1992). Relations observées entre Lépidoptères diurnes (Lepidoptera Rhopalocera) adultes et plantes nectarifères dans le Jura occidental. *Nota Lepidopterologica* 15: 106-122.
- HEATH, J. — (1981). Rhopalocères (Papillons diurnes) menacés en Europe. Coll. Sauvegarde de la Nature N° 23. Conseil de l'Europe, Strasbourg, 157 pp.
- KUTTER, H. — (1977). Hymenoptera Formicidae. *Insecta helvetica*, Fauna 6, 298 pp.
- HESS, H.E., LANDOLT, E. & HIRZEL, R. — (1970). Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete. Bd. 2: Nymphaeaceae bis Primulaceae. 956 pp.
- LSPN — (1987). Les Papillons de jour et leurs biotopes. Ligue suisse pour la protection de la nature (LSPN), Bâle, 512 pp.
- MULHAUSER, B. — (1991). Compte rendu du premier recensement des libellules et papillons diurnes de la «Grande Cariçaie» (Rive sud du lac de Neuchâtel). *Bulletin romand d'entomologie* 9: 31-39.
- ROUGEMONT, F. de — (1904). Catalogue des Lépidoptères du Jura neuchâtois. *Bull. Soc. neuchâtel. Sci. nat.* XXIX et XXXI: 1-366.
- THOMAS, J.A. — (1984). The Behaviour and Habitat Requirements of *Maculinea nausithous* (the Dusky Large Blue Butterfly) and *M. teleius* (the Scarce Large Blue) in France. *Biological Conservation* 28: 325-347.
- WELTEN, M. & RUBEN SUTTER, H.C. — (1982). Atlas de distribution des Ptéridophytes et des Phanérogames de la Suisse. Vol. 1. 716 pp.

Adresse de l'auteur:

Centre suisse de cartographie de la faune, 14 Rue des Terreaux, CH-2000 Neuchâtel, Suisse.

RENARDS ET LIÈVRES DANS LE JURA SUISSE: IGNORANCE RÉCIPROQUE

par

JEAN-STEVE MEIA, SANDRINE MEYER ET STÉPHANE AUBRY

AVEC 1 FIGURE ET 1 TABLEAU

INTRODUCTION

Les zoologues ont clairement établi que le lièvre, *Lepus europaeus*, n'est qu'une proie secondaire du renard, *Vulpes vulpes* (ARTOIS 1989). Cependant, les talents de chasseur que l'on attribue encore bien souvent au renard peuvent laisser penser que son impact sur le gros gibier est très important. HAINARD (1987), par exemple, rapporte des propos qui disent le renard capable de poursuivre inlassablement le lièvre, le fatiguant, lors de courses ininterrompues de 15 à 18 heures. Pour LABHARDT (1989), le renard s'attaquera avec plus d'acharnement au lièvre si ses proies principales viennent à manquer. Les relations entre ces deux espèces méritent encore d'être précisées notamment pour deux raisons: elles sont difficiles à mettre en évidence, et elles varient sensiblement selon la région — le renard, généraliste, adaptant son comportement aux conditions du milieu — (revue dans ARTOIS 1989).

Une présence régulière, de nuit, dans une zone de 30 km² située dans le Jura bernois nous a permis d'effectuer quelques observations concernant les relations renard — lièvre dans notre région. Bien que peu nombreuses, il nous a paru intéressant de présenter ces observations, dans la mesure où elles sont concordantes et résultent d'une présence soutenue dans le terrain.

ZONE D'ÉTUDE ET MÉTHODES

La zone d'étude, déjà présentée plus en détail (MEIA *et al.* 1993, par exemple), est située dans la région de La Chaux d'Abel (Carte nationale de la Suisse 1:25 000, feuille 1124 Les Bois, coordonnées 561/223). Elle est composée d'une mosaïque de pâturages et prairies engraisées, de pâturages boisés, et de forêts dominées par l'épicéa *Picea abies*.

Toutes les observations rapportées ici ont été effectuées dans des zones ouvertes, de nuit, d'un véhicule, et à l'aide d'un phare hallogène. Elles ont été réalisées à deux occasions: 1) lors de recensements et observations de la

faune le long d'un parcours standard (WEBER *et al.* 1991, MEIA *et al.* 1993), et 2) lors de radio-pistage de renards munis de colliers-émetteurs, le phare étant alors utilisé pour confirmer une localisation et permettre de préciser le comportement de l'animal suivi.

Le comportement des renards observés a été classifié comme suit :

- «déplacement»: L'individu se déplace de manière rectiligne, la tête dirigée dans le sens du déplacement. Peu d'arrêts.
- «exploration-chasse»: L'individu se déplace de manière généralement non rectiligne, la tête dirigée vers le sol. Il s'arrête fréquemment: à l'affût, ou pour capturer une proie. (Attitude typique du renard «mulotant» ou chassant des invertébrés.)
- «repos»: L'individu est immobile, assis ou couché, et ne montre aucune autre activité.

Seules les observations faisant intervenir au moins un renard et un lièvre à une distance maximale de 50 m ont été retenues; parmi elles, il n'a pas été tenu compte de celles où l'un des individus a été mis en fuite par l'éclairage.

RÉSULTATS

Entre le 21 novembre 1989 et le 30 décembre 1992, 220 observations de lièvres et plus de 2200 observations de renards ont été effectuées. Seules 14 observations (tabl. I) mettaient en présence les deux espèces dans les conditions requises. Aucune de ces observations n'a permis de mettre en évidence une interaction interspécifique; dans chaque cas, même lors de proximité forte (distance minimale observée: 3 mètres), aucun intérêt du renard pour le lièvre et aucun mouvement de fuite des lièvres n'ont été observés.

Les 14 observations de renards et de lièvres ont montré une ignorance réciproque entre les deux espèces.

DISCUSSION

Les résultats obtenus concordent tout à fait avec ceux obtenus par l'analyse du régime alimentaire du renard dans la même région (WEBER et AUBRY 1993, fig. 1). Dans cette analyse, basée sur l'étude du contenu des faeces, les lièvres ont été inclus dans la catégorie «autres mammifères» regroupant toutes les proies mammaliennes (y compris les charognes) à l'exclusion du campagnol terrestre, ou rat-taupier, *Arvicola terrestris scherman*, à savoir: autres rongeurs (*Apodemus* sp, *Microtus* sp, *Pitymys* sp), lagomorphes (lièvre et lapin domestique), bovidés (*Bos taurus*), chevreuil (*Capreolus capreolus*). Cette catégorie ne constitue, sur 3 années et 1707 proies identifiées, que le 8% des proies consommées.

Ainsi le qualificatif de proie ponctuelle (ARTOIS 1989) du renard peut être attribué au lièvre dans nos régions, comme il l'est de manière générale. Les différentes études réalisées à travers l'aire de répartition du renard montrent que ses deux proies principales sont les lapins, en particulier le

Obs. No	Date Heure	Age / Sexe du renard	Observateur	Description de l'observation
1	21.11.1989 02H05	adulte mâle	1	Le renard est en déplacement et passe à proximité du lièvre (distance minimum : 50 m). Aucune interaction.
2	18.12.1991 00H45	indét. indét.	1	Le renard est au repos, couché en lisière de forêt. Le lièvre est devant lui à 50 m. Aucune interaction.
3	29.04.1991 04H30	2+ femelle	2	Le renard est en déplacement et passe à proximité de deux lièvres (distance minimale: 5 m). Aucune interaction.
4	12.05.1992 00H10	2 + femelle	1	Le renard se déplace rapidement et passe à 20 m du lièvre. Aucune interaction.
5	26.05.1992 22H37	adulte femelle	1	Le renard se déplace rapidement en bordure d'un champ de céréales. Il passe entre la bordure du champ et le lièvre, assis (distance minimum: 3 m). Aucune interaction.
6	21.08.1992 02H30	2+ femelle	1	Le renard est en exploration-chasse. Deux lièvres broûtent dans le même champ (distance minimum: 50 m). Aucune interaction.
7	21.10.1992 19H02	indét. indét.	3	Le renard est en exploration-chasse à environ 10 m du lièvre en train de broûter. Aucune interaction.
8	27.10.1992 00H35	indét. indét.	2	Un lièvre est couché à environ 5 m d'un renard en exploration-chasse. Aucune interaction.
9	29.10.1992 18H45	6+ femelle	2	Le renard est en exploration-chasse dans un champ. Un lièvre et un blaireau sont à proximité (distance minimale entre lièvre et renard: environ 5 m). Aucune interaction.
10	04.11.1992 22H02	indét. indét.	3	Le renard est au repos, assis. Deux lièvres sont dans le même champ à environ 50 m. Aucune interaction.
11	25.11.1992 19H54	indét. indét.	3	Le renard est en exploration-chasse. Deux lièvres sont dans le même champ à environ 50 m. Aucune interaction.
12	03.12.1992 03H00	indét. indét.	1	Deux renards sont au repos, assis le long d'une haie, chacun au pied d'un arbre à 15 m l'un de l'autre. Le lièvre se déplace dans le champ devant eux; il s'approche et passe à quelques mètres d'un des renards. Aucune interaction.
13	22.12.1992 23H15	0 + mâle	1	Le renard est en exploration-chasse en bordure de forêt. Le lièvre est assis dans le champ à 50 m. Aucune interaction.
14	30.12.1992 04H30	indét. indét.	1	Le renard est en exploration-chasse dans un champ. Deux lièvres sont à environ 30 m. Le renard s'approche d'eux sans sembler les remarquer; les lièvres s'éloignent de quelques mètres; le renard poursuit son chemin dans la même direction. Aucune interaction.

1 = J.S. Meia, 2 = S. Aubry, 3 = S. Meyer

TABLEAU I *Liste des observations*

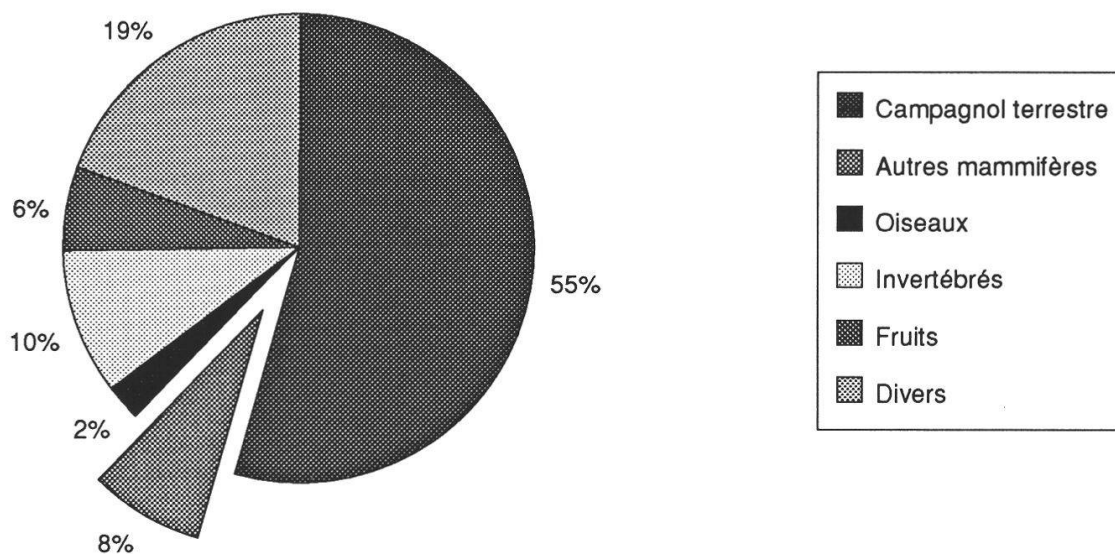


Fig. 1. Régime alimentaire du renard dans le Jura suisse (1988-1990), d'après WEBER et AUBRY 1993.

lapin de Garenne (*Oryctolagus cuniculus*) et les campagnols, les microtidés principalement (revue dans ARTOIS 1989).

Le désintérêt du renard pour le lièvre peut être attribué à l'agilité et à la vitesse de fuite de ce dernier qui rendent une proie potentiellement très intéressante (grosse quantité de nourriture en une seule capture) trop difficile et trop coûteuse à capturer, comme l'a également souligné LABHARDT (1990); cet auteur attribue ce comportement à un apprentissage réalisé durant les premiers mois par les renardeaux: il relate quelques observations de tentatives malheureuses de poursuites de lièvres entreprises par des renardeaux. L'origine d'un comportement est toujours difficile à établir et il paraît hasardeux de décider si effectivement ce manque d'intérêt résulte uniquement d'un apprentissage; on relèvera que les renardeaux, très joueurs, poursuivent presque tout objet en mouvement devant eux et que de jeunes renards peuvent déjà témoigner d'un manque d'intérêt pour le lièvre (observation N° 13, par exemple). Il est intéressant de noter que les lièvres ne montrent pas de crainte vis-à-vis du renard, même à des distances très courtes; ce fait peut être expliqué de deux manières: 1) les quelques tentatives de capture dans les premiers mois de sa vie par le renard sont toutes infructueuses (LABHARDT 1990), 2) le nombre de tentatives de capture est négligeable.

La consommation des proies secondaires dépend de l'abondance des proies principales. GOSZCZYNSKI (1974, 1986) a montré qu'en Pologne, où le lapin est rare et le lièvre abondant, la consommation de lièvres peut atteindre une proportion importante de la biomasse consommée (en moyenne 26%); cette consommation étant d'autant plus forte que la consommation de la proie principale (le campagnol des champs, *Microtus arvalis*) est faible. Il a observé que la prédation sur le lièvre s'effectue essentiellement sur les jeunes individus. Il est probable que les cas de prédation de

lièvres dans nos régions concernent également des levrauts, que le renard découvre au hasard de ses déplacements.

En cas de raréfaction des proies principales, le renard n'accentue pas forcément sa consommation de lièvres. Dans notre zone d'étude, les populations de la proie principale, le campagnol terrestre, subissent des fluctuations périodiques. Les observations relatées ici ont pour la plupart été effectuées lorsque les campagnols étaient très rares (1991-1992) et les études de régime alimentaire qui se poursuivent montrent que les renards se sont tournés plus fortement vers des sources telles qu'invertébrés ou déchets (MERMOD 1991).

Remerciements

Nous tenons à remercier les personnes qui nous ont permis d'effectuer ces observations: A. Badstuber, N. Ferrari, J. Fragnière et N. Lachat de leur aide technique, le Prof. C. Mermod, et tout particulièrement le Dr J.-M. Weber qui a accepté de relire et de commenter le manuscrit. Nous pensons également aux habitants de notre zone d'étude qui ont toléré avec sympathie le balayage de notre phare hallogène. Les recherches dans lesquelles s'inscrivent ces observations ont reçu le soutien du Fonds national de la recherche scientifique (subside 31-27766.89/2), de l'Office Fédéral de l'Environnement, des Forêts, et du Paysage, et du Département de l'agriculture du canton de Neuchâtel.

Résumé

Quatorze observations de renards et de lièvres effectuées dans le Jura suisse sont décrites. Dans tous les cas, une absence d'interaction interspécifique a été observée. Ces résultats concordent avec les analyses de régime alimentaire effectuées dans la même région: le lièvre est une proie secondaire du renard. Dans cette région, le renard n'a pas accentué sa consommation de lièvres en l'absence de sa proie principale, le campagnol terrestre.

Zusammenfassug

Es werden 14 im Schweizer Jura durchgeführte Beobachtungen von Rotfüchsen und Feldhasen beschrieben. In allen Fällen wurden keine interspezifischen Interaktionen beobachtet. Diese Resultate stimmen mit den im gleichen Gebiet vorgenommenen Analysen der Nahrung überein: der Feldhase ist eine zweitrangige Beute des Rotfuchses. In Abwesenheit seiner Hauptbeute, der Schermaus, wurde in dieser Gegend kein erhöhter Konsum an Feldhasen festgestellt.

Summary

Fourteen observations of red foxes and european hares done in the Swiss Jura Mountains are described. In all cases, no interspecific interaction was observed. These results agree with the diet analysis done in the same area: the hare is a prey of secondary importance for the fox. In this area, the fox did not increase its consumption of hares when its main prey, the water vole, was scarce.

BIBLIOGRAPHIE

- ARTOIS, M. — (1989). Le Renard roux (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758). *Encyclopédie des carnivores de France* 3: 1-90.
- GOSZCZYNSKI, J. — (1974). Studies on the food of foxes. *Acta theriol.* 19,1: 1-18.
- GOSZCZYNSKI, J. — (1986). Diet of foxes and martens in Central Poland. *Acta theriol.* 31,36: 491-506.
- HAINARD, R. — (1987). Mammifères sauvages d'Europe, Insectivores Cheiroptères Carnivores. 332 pp., *Neuchâtel* (Delachaux & Niestlé).
- LABHARDT, F. — (1989). Le renard. *In: Nos animaux sauvages*, pp. 8-25. (Ed. Mondo) *Lausanne*.
- LABHARDT, F. — (1990). Der Rotfuchs. 158 pp., *Hamburg* (Paul Parey).
- MEIA, J.S., AUBRY, S., FERRARI, N., LACHAT, N., MERMOD, C. et WEBER, J.M. — (1993). Observations nocturnes au phare dans le Jura bernois: Septembre 1988-août 1991. *Mitt. Natf. Ges. Bern* 50: 193-202.
- MERMOD, C. — (1991). Les prédateurs du campagnol terrestre (*Arvicola terrestris scherman*): relations trophiques et démographiques. *Rapport non publié, Institut de zoologie, Université de Neuchâtel*, 30 pp.
- WEBER, J.M., AUBRY, S., LACHAT, N., MEIA, J.S., MERMOD, C. et PARATTE, A. (1991). Fluctuations and Behaviour of Foxes determined by night-lighting. Preliminary results. *Acta theriol.* 36, 285-291.
- WEBER, J.M. et AUBRY, S. — (1993). Predation by foxes, *Vulpes vulpes*, on the fossorial form of the water vole, *Arvicola terrestris scherman*, in western Switzerland. *J. Zool. Lond.* 229: 553-559.

Adresse des auteurs:

Institut de zoologie, Université de Neuchâtel, Chantemerle 22, CH-2007 Neuchâtel, Suisse.

EXAMEN CHROMOSOMIQUE D'INDIVIDUS SAINS OU DÉPÉRISSENTS D'*ACER SACCHARUM*

par

STÉPHANE PLANTE, CAMILLE GERVAIS, NORMAN DIGNARD ET
GABRIEL ROY

AVEC 7 FIGURES ET 1 TABLEAU

INTRODUCTION

Compte tenu de l'intérêt soulevé par le problème de la dégradation des forêts, en particulier par celui du dépérissement des érablières au Québec, les recherches sur la biologie de l'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh.) revêtent une grande importance.

Dans cette optique, ce travail rapporte les résultats d'une étude cytologique de l'érable à sucre portant sur quatre points: 1) le nombre chromosomique d'*A. saccharum*, connu de quelques comptages déjà anciens ($n = 13$ et $2n = 26$) sur du matériel américain, est-il constant et applicable aux arbres du Québec? 2) peut-on reconstituer la caryogramme de cette espèce? 3) *A. saccharum* possède-t-il des chromosomes surnuméraires (chromosomes B)? 4) rencontre-t-on des anomalies chromosomiques évidentes et fréquentes chez les arbres en dépérissement?

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les rameaux d'érable à sucre ayant servi à nos recherches proviennent de sept érablières situées dans les localités suivantes, au Québec: Duchesnay (comté de Portneuf), Val Racine, Sainte-Cécile, Audet, La Patrie (comté de Mégantic), Saint-Méthode et Beauceville (comté de Beauce). Ceux-ci ont été prélevés entre le 27 avril et le 7 mai 1988, à l'aide de sécateurs de 20 m dans la cime d'arbres dont le taux de dépérissement était connu. Les bourgeons des rameaux étaient ouverts immédiatement et fixés dans un mélange 3/1 d'alcool absolu et d'acide acétique glacial.

Pour l'étude cytologique des racines, des plantules d'environ 15 cm de hauteur prélevées à Sainte-Cécile au printemps 1988 et gardées en serre ont été utilisées. Avant la fixation des racines, les pots étaient placés en chambre froide à 4°C (avec éclairage incandescent) pour 7 heures afin de provoquer un raccourcissement des chromosomes.

Les tissus étaient colorés au carmin acétique (3 à 4 heures au minimum) après dissection des bourgeons et ramollissement des jeunes feuilles dans un mélange aqueux, à 5%, de cellulase et de pectinase pendant quelques heures. Parmi les nombreuses métaphases examinées pour comptages chromosomiques et observation des anomalies, celles présentant le moins de superpositions ont été sélectionnées pour des essais de réalisation du caryogramme, soit 7 dans les tissus foliaires et 4 dans les racines. Chaque chromosome était mesuré à fort grossissement (1000×) à l'aide d'un oculaire à curseur.

Le degré de dépérissement, sur une échelle de 1 à 5, a été calculé par évaluation de la portion de cime présentant les symptômes typiques de ce phénomène (ROY et GAGNON 1988).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats globaux, comprenant le nombre chromosomique des arbres étudiés, leur cote de dépérissement, les anomalies observées s'il y a lieu, apparaissent au Tableau 1 avec le lieu d'origine de chaque arbre et le code permettant de le retrouver.

Nombre chromosomique

Comme nous l'avons signalé dans l'introduction, le nombre chromosomique d'*A. saccharum* avait déjà été déterminé sur du matériel américain. TAYLOR (1920) comptait $\eta = 13$ sur des bourgeons provenant vraisemblablement de Pennsylvanie, FOSTER (1933) a indiqué $n = 13$ (ou $n = 12$, d'après une de ses figures) pour des arbres de l'Arnold Arboretum et KRIEBEL (1957) rapportait $2n = 26$ pour du matériel du Massachusetts, de l'Ohio et du Tennessee. Nos propres résultats, sur 44 individus (Tableau 1), montrent que le nombre chromosomique d'*A. saccharum*, au Québec, correspond aux déterminations américaines, avec $2n = 26$ (fig. 1, 2, 3) ou $\eta = 13$ (fig. 4). Des cas de cytomixie dans certaines étamines (arbre 415 de la parcelle E-6, tableau 1) ont cependant démontré que ces accidents pouvaient donner des cellules mères de pollen avec des nombres chromosomiques aberrants, comme $\eta = 6$, $\eta = 16$ (fig. 5 et 6). La figure de FOSTER (1933), à $\eta = 12$, pourrait peut-être s'expliquer de cette façon. Il n'est pas impossible que des phénomènes de cytomixie puissent se produire naturellement (GERVAIS 1973) et soient responsables de certains cas d'aneuploïdie.

L'aneuploïdie, chez l'érable à sucre, n'est pas facile à détecter au niveau des chromosomes somatiques. Ceux-ci sont petits et leur taille varie du simple au double, de sorte que deux petits chromosomes juxtaposés peuvent en simuler un grand. Dans le cas de l'arbre 880 de la parcelle E-6 (tableau 1), plusieurs cellules semblaient avoir $2n = 27$, le chromosome à satellite étant apparemment présent en 3 exemplaires, à moins qu'une deuxième paire de chromosomes à satellites, difficile à détecter, nous ait échappé. Nous avons choisi de regarder cet arbre comme un individu aneuploïde possible.

Dimensions des chromosomes, caryogramme

Pour mesurer les chromosomes de l'érable à sucre et tenter d'obtenir un caryogramme, nous avons choisi 11 cellules au stade métaphase, appar-

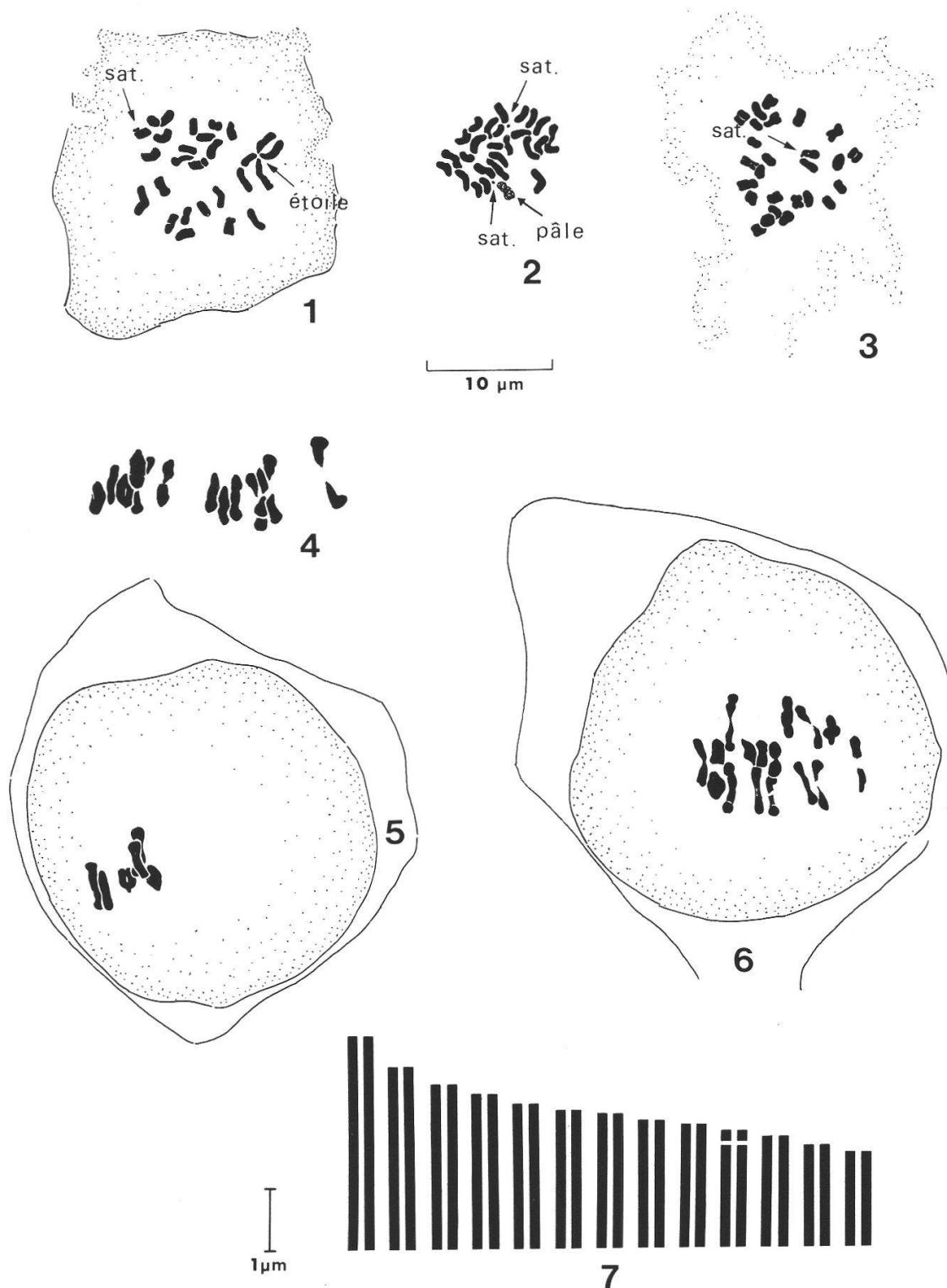


Fig. 1-7. *Acer saccharum* Marsh. Fig. 1, métaphase, bourgeon foliaire, E-6 (852), $2n = 26$, chromosomes en étoile et chromosome à satellites (flèches). Fig. 2, métaphase, bourgeon foliaire, C-1 (279), $2n = 26$, chromosomes pâles et satellites (flèches). Fig. 3, métaphase, méristème racinaire traité au froid (Ste-Cécile, 1), $2n = 26$, chromosome à satellites (flèche). Fig. 4, métaphase I, $\eta = 13$, bourgeon floral, E-12 (415). Fig. 5, métaphase I anormale (cytomixie?) $\eta = 6$, bourgeon floral, E-12 (415). Fig. 6, métaphase I anormale (cytomixie?) $\eta = 16$, bourgeon floral, E-12 (415). Fig. 7, caryogramme construit à partir de mesures effectuées sur les chromosomes de 7 métaphases observées sur de très jeunes feuilles de 7 arbres différents. Une longueur moyenne a été calculée pour chaque chromosome et les paires ont été égalisées. La position des centromères n'a pu être déterminée.

tenant à 11 arbres différents (dont 4 à l'état de plantules tableau 1), en utilisant de très jeunes tissus foliaires ou des racines. Les chromosomes étaient mesurés en corrigeant les courbures et en essayant de tenir compte de la position des centromères. Ceux-ci étant souvent impossibles à localiser avec certitude, vu la petitesse des chromosomes, nous avons dû abandonner l'utilisation de ces données devant les difficultés rencontrées pour construire un caryogramme en les incorporant.

Comme les données obtenues à partir de racines provenaient de plantules traitées par le froid, leurs chromosomes étaient plus courts (fig. 3) et plus faciles à mesurer que ceux observés sur les feuilles. En revanche, les différences entre chromosomes longs et courts s'étant estompées, il nous a semblé préférable de ne garder finalement que les mesures des chromosomes foliaires, non raccourcis, pour établir le caryogramme et faire ressortir davantage les différences entre les 13 paires. Le caryogramme (fig. 7) a été finalement reconstitué de façon mathématique: les 26 mesures obtenues pour chaque cellule étudiée ont été classées par longueurs décroissantes et une moyenne a été établie, chromosome par chromosome entre les 7 métaphases examinées. Finalement, pour égaliser les deux chromosomes de chaque paire, une autre moyenne était calculée entre la longueur des chromosomes 1 et 2, 3 et 4, etc. La paire de chromosomes la plus longue mesure c. 3,4 μm et la plus courte c. 1,5 μm . La paire porteuse de satellites mesure c. 1,8 μm . Ces chiffres donnent une bonne idée de la dimension des chromosomes métaphasiques de l'érable à sucre mais ceux-ci peuvent varier d'une cellule à l'autre selon leur état de contraction.

Chromosomes surnuméraires

Nous n'avons rencontré de chromosomes surnuméraires (chromosomes B) dans aucun des 44 individus examinés. Chez l'arbre 880 (parcelle E-6), le chromosome apparemment en surplus serait le chromosome à satellite du génome régulier et non pas un B. Il est possible que la présence de chromosomes B ait pu nous échapper ailleurs si leur taille se confondait avec celle des petits chromosomes ordinaires. Nous n'avons en tout cas aucune certitude sur la présence de chromosomes B chez l'érable. Leur absence semble plus probable, du moins dans le matériel examiné.

Anomalies chromosomiques

Cette recherche s'est limitée à l'examen de cellules en métaphase où les chromosomes étaient à peu près tous visibles et comptables, sans procéder à une analyse systématique des anomalies chromosomiques classiques (ponts anaphasiques, micro-noyaux, etc.) des tissus foliaires ou radiculaires. L'anomalie la plus fréquente a été la présence d'un chromosome (parfois plusieurs) plus ou moins pâle et flou se démarquant de la coloration et de l'état uniforme des autres chromosomes de la même cellule (fig. 2, flèche). Ce genre d'anomalie, produit vraisemblablement par désérialisation partielle du chromosome (GRANT 1978), a été remarqué aussi bien chez les individus peu touchés par le dépérissement (cotes 1 et 2) que chez des individus gravement atteints (cotes 3 et 4). Nous ne savons pas pour le moment s'il faut regarder ce type d'accident comme une anomalie signifi-

Tableau 1. Provenance, cote de dépérissement et nombre chromosomique de 44 individus d'*Acer saccharum* avec notes sur les anomalies observées

Provenance	Numérotation ^a	Cote de dépérissement en 1988 ^b	Nombre chr.		Anomalies
			2n	n	
Duchesnay	C-1 (255)*	1	26		1 chr. pâle
Duchesnay	C-1 (276)	1	26		1 chr. pâle
Duchesnay	C-1 (279)*	2	26		1 chr. pâle
Duchesnay	E-6 (846)*	4	26		1 chr. pâle
Duchesnay	E-6 (850)	1	26		1 chr. pâle
Duchesnay	E-6 (852)*	4, mort en 89	26		chr. en étoile
Duchesnay	E-6 (857)	4	26		-
Duchesnay	E-6 (871)	4	26		-
Duchesnay	E-6 (874)	1	26		-
Duchesnay	E-6 (876)	2	26		-
Duchesnay	E-6 (877)	3	26		1 chr. pâle;étoile
Duchesnay	E-6 (878)	3	26		-
Duchesnay	E-6 (880)	4, mort en 89	27?		chr. en étoile
Duchesnay	E-12 (415)	1		13	cytomixie
St-Méthode	95-1 (A)	1	26		-
St-Méthode	95-1 (8)	3, mort en 89	26		-
St-Méthode	95-1 (21)	4	26		-
St-Méthode	95-1 (22)	2	26		-
St-Méthode	95-1 (23)	2	26		-
St-Méthode	95-1 (24)	4	26		-
St-Méthode	95-1 (25)	4	26		-
St-Méthode	95-1 (28)*	2	26		chr. pâles
St-Méthode	95-1 (32)*	3	26		-
Ste-Cécile	918-1 (3)*	4	26		-
Ste-Cécile	918-1 (10)	4, mort en 89	26		-
Ste-Cécile ^c	1*	1, plantule	26		-
Ste-Cécile	2*	1, plantule	26		-
Ste-Cécile	3*	1, plantule	26		-
Ste-Cécile	4*	1, plantule	26		-
Ste-Cécile	5	1, plantule	26		-
Audet	547-1 (28)	1	26		-
Audet	547-1 (43)	1	26		-
Audet	547-1 (45)	4	26		-
La Patrie	61-1 (1)	2	26		-
La Patrie	61-1 (13)	1	26		-
La Patrie	61-1 (19)	3	26		chr. pâles
La Patrie	61-1 (21)	1	26		-
La Patrie	61-1 (41)	1	26		-
La Patrie	61-1 (44)	1	26		-
Val Racine	325-1 (25)	3	26		-
Val Racine	325-1 (36)	4	26		1 chr. pâle
Val Racine	325-1 (37)	2	26		-
Val Racine	325-1 (55)	1	26		-
Beauceville	4005-1 (31)	2	26		-

* Individus ayant servi à des mesures de chromosomes.

a. Les chiffres entre parenthèses indiquent le numéro de l'arbre étudié. Les données qui précèdent désignent la station ou la parcelle expérimentale où il croît.

b. Le dépérissement est calculé par évaluation visuelle du pourcentage de cime affectée.
 cote 1, 0 à 5% de cime affectée cote 4, 51% et plus de cime affectée
 cote 2, 6 à 25% de cime affectée cote 5, arbre mort
 cote 3, 26 à 50% de cime affectée
 Dans la parcelle C-1, le dépérissement a été évalué en 1986 et 1989; celui de 1988 a été interpolé.

c. Les individus numérotés de 1 à 5 ont été pris à l'état de plantules dans la station 918-1.

cative, un indice de stress et un signe précurseur de dépérissement ou l'état fortuit d'un chromosome. Le nombre de nos données n'est pas suffisant pour calculer une relation statistique «dépérissement/chromosomes pâles». Il en est de même pour l'observation de chromosomes disposés en étoile (fig. 1), apparemment par une sorte d'attraction des télomères. Des fibres sub-chromatidiques mal repliées pourraient former des ponts et être responsables du «collage» des chromosomes (GRANT 1978) mais il faut analyser ces «accidents» avec beaucoup de circonspection pour distinguer les chromosomes fortuitement juxtaposés de ceux qui paraissent réellement attachés. Il est curieux de constater que ce phénomène a été observé sur deux des quatre arbres morts l'année suivante. Notons pour terminer que les bourgeons de certains des arbres échantillonnés [95-1 (21), 547-1 (10,19,28), 325-1 (27)], malgré une apparence extérieure normale, étaient complètement desséchés à l'intérieur, de sorte qu'il n'a pas toujours été possible d'en déterminer le nombre chromosomique et d'y observer des anomalies. Ces arbres n'apparaissent pas tous sur le tableau 1 mais il nous a paru intéressant de signaler le cas.

Le présent travail apporte finalement certaines précisions manquantes sur les chromosomes de l'érable à sucre: leurs dimensions, la présence de satellites, l'uniformité du nombre chromosomique, etc. La position des centromères n'a pu être établie avec sûreté mais le caryogramme incomplet présenté apporte tout de même des renseignements utiles. Du côté des anomalies chromosomiques, nos observations préliminaires pourraient servir de pistes de recherche sur le dépérissement en indiquant quels types particuliers de polluants peuvent être associés aux aberrations observées (GRANT 1978).

Remerciements

Les auteurs remercient Mesdames Jocelyne Tessier et Jocelyne Gouge pour la dactylographie du manuscrit.

Résumé

Les chromosomes d'érables à sucre (*Acer saccharum* Marsh.) provenant de 7 érablières différentes ont été examinés sur des bourgeons foliaires ou floraux de 39 individus sains ou plus ou moins dépérissants et sur des méristèmes radiculaires de 5 plantules. Le nombre chromosomique observé, $2n = 26$, est constant mais un individu était apparemment aneuploïde ($2n = 27$). Peu d'anomalies chromosomiques ont été observées, les plus fréquentes étant des chromosomes pâles ou un regroupement des chromosomes en étoile, peut-être à cause de télomères collants. Des cas de cytomicose ont aussi été notés chez un individu. Le caryogramme des

13 paires de chromosomes a été établi à partir de mesures effectuées sur les meilleures métaphases. Les paires se différencient par leur longueur (une possède des satellites) mais il a été pratiquement impossible de déterminer la position du centromère pour chacune d'entre elles.

Summary

The chromosomes of sugar maple trees (*Acer saccharum* Marsh.) from 7 different stands, were examined on foliar or flower buds of 39 healthy or more or less dieback-affected trees and on root tips of 5 plantlets. The observed chromosome number, $2n = 26$, was constant but one individual was apparently aneuploid ($2n = 27$). Few chromosomal aberrations were found, the most frequent being pale chromosomes or star-grouped chromosomes, perhaps from sticky telomeres. Cytomixis was also present in one case. The karyogram of the 13 pairs of chromosomes has been determined from measures taken on the best metaphases. The pairs differ by their lengths (one has satellites) but it was not possible to ascertain the centromere position for each of them.

BIBLIOGRAPHIE

- FOSTER, R.C. — (1933). Chromosome number in *Acer* and *Staphylea*. *J. Arnold Arb.* 14: 386-393.
- GERVAIS, C. — (1973). Contribution à l'étude cytologique et taxonomique des avoines vivaces. Genres *Helictotrichon* Bess. et *Avenochloa* Holub. *Mém. Soc. helv. sci. nat.* 88: 1-166, ill. 1-56.
- GRANT, W.F. — (1978). Chromosomes Aberrations in Plants as a Monitoring System. *Environmental Health Perspectives* 27: 37-43.
- KRIEBEL, H.B. — (1957). Patterns of genetic variation in sugar maple. *Ohio Agr. Exp. Sta. Res. Bull.* 171, 56 pp.
- ROY, G. et GAGNON, G. — (1988). Fiche technique de l'élaboration des places d'étude, projet MV 83-1: Dépérissement des érablières. Rapport interne N° 307. Ministère des Forêts, Direction de la recherche et du développement, 27 pp. Québec.
- TAYLOR, W.R. — (1920). A morphological and cytological study of reproduction in the genus *Acer*. *Bot. contrib. Univ. Penn.* 5: 111-138, pl. 6-11.

Adresse des auteurs:

S. Plante et C. Gervais, Laboratoire de cytologie et des ressources phylogénétiques du MENWIQ, Département des sciences forestières, Faculté de foresterie et de géomatique, Université Laval, Québec, Canada G1K 7P4.

N. Dignard et G. Roy, Service de la recherche appliquée, Ministère des Forêts, Complexe scientifique, 2700 rue Einstein, Sainte-Foy, Canada G1P 3W8.

PHYTOPLANCTON DU LAC DE MORAT EN 1988-1989: COMPARAISON AVEC LES DONNÉES ANTÉRIEURES

par

OLIVIER REYMOND ET FRANÇOIS STRAUB

AVEC 2 TABLEAUX

INTRODUCTION

Le lac de Morat (46°56' lat. N – 7°06' long. E) est situé à une altitude de 429 m, occupe une surface de 22,8 km², a une profondeur maximum de 45,5 m, et sa profondeur moyenne est de 23,3 m (DAVAUD 1976). Diverses études, dont nous ne citons que quelques-unes, ont été réalisées concernant sa géochimie, sa sédimentologie (DAVAUD 1976), ses caractéristiques physico-chimiques (RIVIER, 1936; HIRSIG 1983; E.A.W.A.G. 1960; LIECHTI 1989), sa faune planctonique (DE GANDOLFI 1910/11; BURCKHARDT 1899; ROBERT 1923) et benthique (FAVRE 1941; LANG & REYMOND 1993), ses macrophytes (LACHAVANNE 1979) ainsi que ses diatomées épilithiques (STRAUB 1982).

Certaines de ses algues planctoniques ont été étudiées par DE CANDOLLE (1825), CHODAT (1897), BACHMANN (1901), RIVIER (1936), JAAG (1948) et WUTHRICH (QUARTIER 1948). Cependant, les derniers relevés phytoplanctoniques sont ceux de RIVIER (1936). En conséquence, il était intéressant de refaire des prélèvements afin de les comparer avec ceux de RIVIER (1936) notamment. Cette étude, limitée dans le temps pour des raisons techniques, a été entreprise en annexe à celle sur l'évolution (1980-1991) du benthos (LANG & REYMOND 1993).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Treize récoltes de phytoplancton ont été réalisées entre décembre 1988 et novembre 1989 aux alentours du point 574/198 (cartes nationales, feuille 1165, Office topographique fédéral) à l'aide d'une bouteille à prélèvement intégré (SCHROEDER 1969) entre 0 et 10 m de profondeur. Chaque prélèvement a été divisé en deux sous-échantillons dont l'un a été fixé au lugol pour les comptages au microscope inversé, et l'autre a été fixé à la formaline à 3% pour l'obtention de préparations permanentes dans la glycérine-

gélatine pour des observations plus précises au microscope optique conventionnel.

Si pour certains taxa les comptages se sont avérés assez précis (ex: *Stephanodiscus neoastraea*), pour d'autres, le peu de matériel, associé à une importante turbidité, n'a pas permis un dénombrement très rigoureux (ex: *Scenedesmus linearis*). Nous avons donc adopté dans le Tableau 2 une échelle d'abondance adaptée à ces circonstances.

RÉSULTATS

Les analyses ont révélé la présence de 44 genres incluant 68 espèces (Tab. 1 et 2). La plus grande diversité des genres (26) est constatée dans le prélèvement du 24.8.89 avec notamment beaucoup de Chlorophycées, et le minimum de diversité est atteint le 30.11.89 avec 11 genres seulement (Tab. 2).

Du point de vue quantitatif, le tableau 2 indique également que 15 taxa dépassent une densité de 10 cellules/ml, les autres taxa n'atteignant jamais cette abondance. Les résultats précis obtenus pour les maxima d'abondance de *Rhodomonas* sp., *Stephanodiscus neoastraea* ainsi que *Oocystis* sp. sont mentionnés dans la discussion relative à ces trois taxa.

Les résultats antérieurs de CHODAT (1897), BACHMANN (1901) ainsi que RIVIER (1936) ne montrent qu'un petit nombre d'espèces, respectivement 21, 12, et 27 (Tab. 1). Cette différence s'explique par l'emploi de filets de prélèvements aux mailles trop larges pour retenir les espèces de petite taille (RIVIER, 1936).

DISCUSSION

Remarques concernant quelques taxa

Oscillatoria rubescens De Candolle ou sang des Bourguignons sont des noms liés au lac de Morat après qu'une impressionnante prolifération de cette cyanobactérie eût coloré ses eaux et ses rivages en rouge à la fin de l'hiver 1825 (DE CANDOLLE, 1825). Citée à nouveau par CHODAT (1897) et RIVIER (1936), cette algue n'apparaît plus dans les présents relevés. Elle n'a pas non plus été observée dans quelques prélèvements effectués à 20 m de profondeur.

Dans les autres lacs de la région, cette espèce occasionnait aussi des fleurs d'eau (*blooms* des auteurs anglo-saxons). En particulier au Loclat (près de St-Blaise, Neuchâtel), au début des années septante, il n'était pas rare en région pélagique d'en trouver 1000 à 2000 filaments par ml, soit sur toute la colonne d'eau en hiver, soit confinés en dessous du thermocline dès 4-5 m de profondeur en été (Labo. de Microbiologie, Université de Neuchâtel, non publié et STRAUB 1976). Ces fleurs d'eau se sont raréfiées après 1976 puis ont complètement disparu (B. POKORNI, com. orale), résultat probable du détournement des eaux usées du haut du village de St-Blaise. Dans le lac de Neuchâtel (WUTHRICH 1965), *Oscillatoria rubescens* n'a provoqué de fleurs d'eau que depuis 1960, bien que présente depuis longtemps. Les proliférations se sont raréfiées ou ont disparu, sans doute grâce à la mise en fonction

CHODAT 1897	PRELEVEMENTS 1988-1989
CYANOBACTERIES	CYANOBACTERIE
<i>Anabaena flos-aquae</i>	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>
<i>Chroococcus minutus v. lacustris</i>	<i>Merismopedia sp</i>
<i>Gomphosphaeria lacustris</i>	<i>Anabaena sp</i>
<i>Oscillatoria rubescens</i>	DINOPHYCEAE
DINOPHYCEAE	<i>Ceratium hirundinella</i>
<i>Ceratium hirundinella</i>	<i>Gymnodinium helveticum</i>
<i>Peridinium tabulatum</i>	<i>Peridiniopsis cunningtonii</i>
CHRYSOPHYCEAE	<i>Peridinium aciculiferum</i>
<i>Mallomonas acarioides</i>	<i>Peridinium rotunda</i>
<i>Sichogloea olivae v. sphaerica</i>	<i>Peridinium umbonatum</i>
DIATOMOPHYCEAE	CRYPTOPHYCEAE
<i>Asterionella gracillima</i>	<i>Cryptomonas sp</i>
<i>Cymatopleura elliptica</i>	<i>Rhodomonas sp</i>
<i>Diatoma elongatum</i>	CHRYSOPHYCEAE
<i>Fragilaria crotonensis</i>	<i>Bitrichia chodatii</i>
<i>Melosira arenaria</i>	<i>Dinobryon divergens</i>
<i>Melosira orichalcea</i>	<i>Dinobryon sp</i>
<i>Melosira varians</i>	<i>Kephyrion sp</i>
<i>Rhizosolenia longiseta</i>	DIATOMOPHYCEAE
<i>Stephanodiscus astraee</i>	<i>Amphora pediculus</i>
<i>Tabellaria fenestrata</i>	<i>Asterionella formosa</i>
<i>Tabellaria flocculosa</i>	<i>Cyclotella radiosa</i>
CHLOROPHYCEAE	<i>Cymbella sp</i>
<i>Botryococcus braunii</i>	<i>Fragilaria crotonensis</i>
<i>Sphaerocystis schroeteri</i>	<i>Fragilaria ulna</i>
	<i>Aulacoseira sp</i>
BACHMANN 1901	<i>Navicula gregaria</i>
CYANOBACTERIES	<i>Navicula reichardtiana</i>
<i>Clathrocystis aeruginosa</i>	<i>Navicula scutelloides</i>
<i>Merismopedia glauca</i>	<i>Navicula viridula</i>
DINOPHYCEAE	<i>Nitzschia dissipata</i>
<i>Ceratium hirundinella</i>	<i>Nitzschia intermedia</i>
<i>Peridinium cinctum</i>	<i>Nitzschia linearis</i>
CHRYSOPHYCEAE	<i>Nitzschia palea</i>
<i>Dinobryon divergens</i>	<i>Rhoicosphenia curvata</i>
<i>Dinobryon stipitatum</i>	<i>Stephanodiscus minutulus</i>
DIATOMOPHYCEAE	<i>Stephanodiscus neoastraee</i>
<i>Asterionella gracillima</i>	<i>Synedra acus v. angustissima</i>
<i>Campylodiscus noricus</i>	EUGLENOPHYCEAE
<i>Cymatopleura elliptica</i>	<i>Trachelomonas sp</i>
<i>Cymatopleura solea</i>	CHLOROPHYCEAE
<i>Fragilaria crotonensis</i>	<i>Ankyra judayi</i>
<i>Sunrella robusta v. splendida</i>	<i>Ankistrodesmus sp</i>
	<i>Chlamydomonas sp</i>
RIVIER 1936	<i>Chlorella sp</i>
CYANOBACTERIES	<i>Closterium aciculare</i>
<i>Coelosphaerium kuetzingianum</i>	<i>Closterium acutum v. variable</i>
<i>Microcystis aeruginosa</i>	<i>Coelastrum sp</i>
<i>Oscillatoria rubescens</i>	<i>Cosmarium abbreviatum v. variable</i>
DINOPHYCEAE	<i>Cosmarium biretum</i>
<i>Ceratium hirundinella</i>	<i>Cosmarium cf impressulum</i>
<i>Gymnodinium neglectum</i>	<i>Cosmarium kjellmanni</i>
<i>Peridinium cinctum</i>	<i>Cosmarium subprotumidum</i>
<i>Peridinium volzi</i>	<i>Crucigena tetrapedia</i>
CHRYSOPHYCEAE	<i>Elakatothryx gelatinosa</i>
<i>Dinobryon divergens</i>	<i>Golenkinia sp</i>
<i>Dinobryon sertularia</i>	<i>Kirchneriella obesa</i>
<i>Dinobryon sociale</i>	<i>Lagerhermia sp</i>
<i>Dinobryon stipitatum</i>	<i>Mougeotia sp</i>
<i>Mallomonas producta</i>	<i>Nephroclytium limneticum</i>
DIATOMOPHYCEAE	<i>Oocystis sp</i>
<i>Asterionella gracillima</i>	<i>Pediastrum boryanum</i>
<i>Campylodiscus noricus</i>	<i>Pediastrum duplex</i>
<i>Cyclotella comta v. melosiroides</i>	<i>Pediastrum tetras</i>
<i>Cyclotella schroeteri</i>	<i>Scenedesmus acutus</i>
<i>Fragilaria crotonensis</i>	<i>Scenedesmus linearis</i>
<i>Melosira islandica v. helvetica</i>	<i>Scenedesmus magnus</i>
<i>Stephanodiscus astraee</i>	<i>Scenedesmus obtusus</i>
<i>Stephanodiscus hantschii</i>	<i>Sphaerocystis lacustris</i>
<i>Synedra delicatissima</i>	<i>Staurastrum avicula</i>
<i>Tabellaria fenestrata</i>	<i>Staurastrum cf crenulatum</i>
<i>Tabellaria flocculosa</i>	<i>Staurastrum chaetoceras</i>
EUGLENOPHYCEAE	<i>Staurastrum pingue</i>
<i>Colacium vesiculosum</i>	<i>Tetraedron minimum</i>
CHLOROPHYCEAE	
<i>Gloeococcus schroeteri</i>	
<i>Pediastrum boryanum</i>	
<i>Spirogyra sp</i>	

Tableau 1. Liste des taxa observés par CHODAT (1987), BACHMANN (1901) et RIVIER (1936) et liste des taxa déterminés dans la présente étude (1988-1989).

TAXA	Fréq.	7.12.88	21.12.88	15.1.89	18.2.89	9.3.89	23.3.89	16.5.89	20.6.89	21.7.89	24.8.89	25.9.89	30.10.89	30.11.89
CYANOBACTERIES														
<i>Anabaena</i>	7	x	x		x			x	x	x	x			
<i>Aphanizomenon</i>	4					x	x						x	x
<i>Merismopedia</i>	3	x								x		x		
DINOPHYCEAE														
<i>Ceratium</i>	5			x					x	x	x	x		
<i>Gymnodinium</i>	7		x		x		x	x	x		x		x	
<i>Peridiniopsis et Peridinium</i>	6		x			x	x			x	1		x	
CRYPTOPHYCEAE														
<i>Cryptomonas</i>	13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	2
<i>Rhodomonas</i>	12	x	x	x	x	x	x	3	x	x	x		x	x
EUGLENOPHYCEAE														
<i>Trachelomonas</i>	1										x			
CHRYSTOPHYCEAE														
<i>Bitrichia</i>	2										x	x		
<i>Dinobryon</i>	5	x						x	x	x	x			
<i>Dinobryon divergens</i>										1	1			
<i>Kephyrion</i>	1					x								
DIATOMOPHYCEAE														
<i>Amphora</i>	1				x									
<i>Asterionella formosa</i>	6		x			x	x	x					x	1
<i>Cyclotella radiosa</i>	4	x	x							2	x			
<i>Cymbella</i>	3	x		x	x									
<i>Fragilaria</i>	10	x	x	x		x	x	x	x	x			x	x
<i>Fragilaria crotonensis</i>			1											
<i>Aulacoseira</i>	4	x				1			2				x	
<i>Navicula</i>	6	x	x	x	x	x	x							
<i>Nitzschia</i>	4	x	x	x	x									
<i>Rhoicosphenia</i>	1												x	
<i>Stephanodiscus</i>	13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Stephanodiscus neoastraea</i>			1	1	1	2								1
<i>Synedra</i>	1										x			
CHLOROPHYCEAE														
<i>Ankyra</i>	10	x	x			x		x	x	x	x	x	x	x
<i>Ankistrodesmus</i>	2						x	x						
<i>Chlamydomonas</i>	1						x							
<i>Chlorella</i>	7	x			x		x	x			x	x	x	
<i>Closterium</i>	13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Glosterium aciculare</i>										1	1			
<i>Coelastrum</i>	4								x		x	x	x	
<i>Cosmarium</i>	5	x								x	x	x	x	
<i>Cosmarium subprotumidum</i>													1	
<i>Crucigena tetrapedia</i>	8	x		x				x	1	1	x	x	x	
<i>Elakathryx</i>	6	x					x		x	x	x	x		
<i>Golenkinia</i>	1									x				
<i>Kirchneriella</i>	4								x	x	x	x		
<i>Lagerhemia</i>	2									x	x			
<i>Mougeotia</i>	2	x											x	
<i>Nephrocytium</i>	1	x												
<i>Oocystis sp.</i>	10	x			x	x		x	4	3	x	1	1	x
<i>Pediastrum</i>	11	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
<i>Scenedesmus</i>	12	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Scenedesmus linearis</i>										1				
<i>Sphaerocystis lacustris</i>	5			x					1	1	1	x	1	
<i>Staurastrum</i>	11	x	x	x		x		x	x	x	x	x	x	x
<i>Tetraedron</i>	3	x									x	x		
Total des genres/prélevement		25	15	14	14	16	16	17	20	23	26	24	17	11

Tableau 2. Présence (X) /absence des genres observés entre le 7.12.1988 et le 30.11.1989. Les genres *Peridiniopsis* et *Peridinium*, souvent difficiles à départager lors des comptages, ont été regroupés.

Certains genres, mais aussi des espèces au sein d'un genre (par exemple *Scenedesmus linearis*) sont remarquables par leur abondance et ont été notés comme suit: 1: densité pouvant atteindre 10 à 99 cellules/ml. 2: 100 à 999 cellules/ml. 3: 1000 à 9999 cellules/ml. 4: densité supérieure à 9999 cellules/ml. Les taxa notés par X ont une abondance inférieure à 10 cellules/ml.

des stations d'épuration sur le bassin versant du lac. Dans le lac de Nantua (France), cette cyanobactérie a disparu (en tout cas dans l'épilimnion) à la suite de travaux d'assainissement (FEUILLADE 1985). Dans ce lac, en été, dès que les eaux épilimniques sont carencées en azote, cette espèce se réfugie en profondeur vers des régions plus fertiles (cette carence a pour effet d'augmenter la densité des cellules d'*Oscillatoria rubescens*). Il nous faut également signaler la présence de cette espèce depuis de nombreuses années dans le lac de Joux, Haut-Jura, Vaud (BOSSET 1981, REYMOND et LANG obs. pers.).

Aphanizomenon flos-aquae (L.) Ralfs est toujours discrète dans les relevés. Elle peut cependant proliférer et former des boues sur la rive du lac de Morat, comme à la fin de l'automne 1991. Au lac de Neuchâtel de fortes invasions ont été observées dans les années soixante, après les premières fleurs d'eau à *Oscillatoria rubescens* (WUTHRICH 1962). Cette espèce est connue pour sa capacité de fixer l'azote moléculaire grâce à ses hétérocystes (KOHL & NICKLISCH 1988, ROUND 1981), c'est-à-dire de proliférer lorsque l'azote est limitant et que plus aucune concurrence n'existe pour l'acquisition des surplus de phosphore (UEHLINGER 1981). Alors qu'en principe, le phosphore limite la production primaire dans les lacs carbonatés, on observe des cas de limitation par l'azote, lorsque les eaux sont surchargées en phosphore. C'est le cas de lacs recevant beaucoup d'eaux usées non traitées ou qui subissent un fort impact agricole. Dans le Haut-Jura, le lac des Taillères (près de La Brévine, Neuchâtel) est affecté par ce genre de pollution agricole. Dès 1983, chaque année en fin d'été, *Anabaena solitaria* fo. *planctonica* (Brunnth.) Komárek, une autre cyanobactérie fixatrice d'azote gazeux, a provoqué des fleurs d'eau avec dépôt littoral de boues très colorées et odoriférantes. C'est seulement à la suite de mesures prises contre les excès de fumures à proximité du lac et le maintien de son niveau proche de la cote maximale (directives du Service cantonal de la protection de l'environnement, Neuchâtel), que ces fleurs d'eau ont diminué en intensité jusqu'en 1990, ont disparu en 1991 et n'ont que coloré légèrement l'eau en 1992.

Rhodomonas sp. est présent presque toute l'année, avec un maximum d'abondance d'environ 1400 cellules/ml le 23.3.89. Par sa petite taille c'est une algue qui fait partie du nannoplancton. L'abondance de cette fraction du phytoplancton, représentée également ici (Tab. 2) par *Cryptomonas* sp. et *Oocystis* sp. est une marque d'eutrophie. Dans de tels régimes trophiques, c'est surtout cette fraction, grâce à sa bonne flottabilité, qui assure la croissance du zooplancton herbivore dans la zone épilimnique (POURRIOT *et al.* 1982, REYNOLDS 1986, SOMMER 1986).

Stephanodiscus neoastrea Håkansson est la diatomée la plus abondante des présents relevés (Tab. 2). Visible tout au long de l'année, elle atteint sa densité maximale le 9.3.89 avec 125 cellules/ml. Elle avait vraisemblablement été répertoriée par CHODAT (1897) et RIVIER (1936) sous le nom de *S. astrea*.

Plusieurs espèces de *Stephanodiscus* dominent le phytoplancton des lacs à hautes teneurs en électrolytes, eutrophes ou très pollués (BUERGI 1976, ENNIS *et al.* 1983, HÅKANSSON 1989, KLEE et STEINBERG 1987, KRAMMER

& LANGE-BERTALOT 1991). Le maxima printanier (et parfois automnal) de ces espèces et des diatomées en général, est lié à leur forte compétitivité pour l'acquisition du phosphore et leur fort pouvoir de multiplication (ROUND 1981, UEHLINGER 1981) pendant et vers la fin de circulation des eaux, lorsque les fertilisants sont amenés en surface et que suffisamment de silicates sont à disposition.

Une étude de WUTHRICH (QUARTIER 1948) est consacrée à la diatomée *Tabellaria fenestrata* auct. non (Lyngbye) Kütz., alors abondante dans les lacs de Morat, Neuchâtel et Biemme. Il s'agit probablement de *Tabellaria flocculosa* (Roth) Kütz., comme dans le lac de Neuchâtel, mais la vérification n'a pas pu être faite, car le matériel original ne se trouve pas dans la collection Wuthrich. Cette espèce n'apparaît plus dans les relevés actuels. Elle se développe plutôt dans les lacs oligotrophes à mésotrophes (KRAMMER & LANGE-BERTALOT 1991).

Oocystis sp. est particulièrement abondant pendant les mois de juin et juillet 1989 avec un maximum de 31000 cellules/ml le 20.6.89. Cet organisme ainsi que son pullulement (Tab. 2) n'est mentionné dans aucun des rapports antérieurs. Il est cependant possible que par sa taille inférieure à 10 µm, cette algue ait autrefois échappé aux prélèvements réalisés au filet.

Spirogyra sp. est déjà mentionnée par RIVIER (1936). Cette algue n'apparaît pas dans nos relevés 1988-1989, mais par contre s'est développée en grande quantité en juin 1992. Cette chlorophycée filamenteuse est généralement benthique. Elle peut cependant tellement proliférer qu'elle forme la masse principale du phytoplancton et recouvre d'une gelée verte les filets de fond des pêcheurs. Le développement massif d'espèces périphytiques ou benthiques dans le phytoplancton est un signe majeur d'eutrophie (KUHN *et al.* 1981).

L'état trophique du lac de Morat

Les auteurs qui ont étudié le lac de Morat au siècle passé, et pendant la première moitié de ce siècle, en particulier RIVIER (1936), ont qualifié son état d'eutrophie, sur la base de la zone hypolimnique désoxygénée ou sur la base des fleurs d'eau régulières à *Oscillatoria rubescens*. Cette eutrophie est d'origine géomorphologique, elle correspond à la définition de THIENEMANN (1925) et NAUMANN (1932): lac de plaine à fond plat, qui reçoit beaucoup de nutriments d'un grand bassin versant et dont le volume de la zone trophogène est grande par rapport à celui de la zone tropholytique. Plus récemment, une étude de l'EAWAG (1960) montre sa richesse en phosphore, propose des mesures d'assainissement, puis NOËL & FASEL (1989), LIECHTI (1989), signalent une diminution de sa charge phosphatée, mais le qualifient encore d'eutrophe à cause des excès de ce fertilisant majeur (VOLLENWEIDER 1976). Malgré cette diminution du taux de phosphore, LANG & REYMOND (1993) montrent que les communautés benthiques d'oligochètes n'ont pas changé pendant la période 1980 à 1991, elles sont toujours formées d'espèces adaptées à l'eutrophie, c'est-à-dire à de fortes teneurs en matières organiques et à de fortes dépressions d'oxygène dissous.

La succession phytoplanctonique annuelle présentée ici témoigne de cette richesse nutritive par la dominance de *Stephanodiscus neoastraea*, l'impor-

tance du nannoplancton à *Rhodomonas* sp., *Cryptomonas* sp. et *Oocystis* sp., les développements massifs de *Spirogyra* sp. et le fait que plusieurs développements massifs d'algues se suivent pendant l'été (POURRIOT *et al.* 1982). D'autre part les fleurs d'eau à *Aphanizomenon flos-aquae* font penser que la charge phosphatée est encore excessive, que même l'azote peut être parfois limitant. Cela correspond à une eutrophie non seulement typologique mais aussi à un déséquilibre qu'on peut attribuer à l'impact humain. La disparition de *Tabellaria fenestrata* confirme cette interprétation, ainsi que l'essentiel du cortège d'espèces observées (Tab. 1), qui sont plutôt caractéristiques de milieux mésotrophes à eutrophes. Il est à remarquer que le maxima de *Cyclotella radiosa* (espèce rencontrée plutôt dans des conditions oligo-mésotrophes) est estival, c'est-à-dire qu'il apparaît lorsque l'épilimnion a perdu la plus grande part de ses fertilisants.

Ces interprétations quant à la richesse nutritive des eaux du lac confirment les mesures chimiques et les observations algologiques faites sur le littoral (STRAUB 1982, 1989). Ses eaux sont les plus riches en fertilisants des quatre lacs subjurassiens (dans l'ordre décroissant: Morat, Loclat, Bienne et Neuchâtel). Le périphyton épilithique est très développé, envahi par *Cladophora* sp. et par les petites diatomées à grande amplitude écologique et à fort pouvoir de multiplication telles *Amphora pediculus* (Kütz.) Grun., *Achnanthes minutissima* Kütz., *Fragilaria construens* fo. *venter* (Ehr.) Hust., *Navicula reichardtiana* Lange-Bertalot et *Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot.

En conclusion, on peut constater que l'abaissement du taux de phosphore ne semble pas encore suffisant pour contrôler les populations d'algues. A moyen terme, on peut espérer que la tendance se poursuive, effet de l'interdiction des phosphates dans les lessives, malgré la vocation maraîchère d'une grande partie du bassin versant du lac. Cela devrait limiter les fleurs d'eau et permettre au lac de retrouver son état d'eutrophie équilibrée propre à son statut géographique et géologique.

Remerciements

C. Lang de St-Sulpice nous a encouragés à réaliser ce travail. P. Schaer, pêcheur à Guévaux, a réalisé les prélèvements. J.-C. Druart de Thonon, J. Popovsky de Prague, F. Kouwets de Leiden, G. Tell de Buenos Aires et A. Couté de Paris nous ont aidés pour les déterminations.

Résumé

Pendant une année (12.1988-11.1989), 13 prélèvements d'eau ont été réalisés à intervalle d'un mois environ. L'examen du phytoplancton a permis d'établir une liste de 68 taxa. *Stephanodiscus neoastraea*, *Rhodomonas* sp. et *Oocystis* sp. constituent les taxa les plus abondants, les deux premiers en mars, et le troisième en juin.

Aphanizomenon flos-aquae ainsi que *Spirogyra* sp. peuvent également être très abondants. *Oscillatoria rubescens*, très abondante autrefois n'a pas été observée présentement. La liste du phytoplancton est accompagnée de celles réalisées antérieurement par CHODAT (1897), BACHMANN (1901) et RIVIER (1936). Une interprétation de l'état trophique du lac est proposée.

Zusammenfassung

Das Phytoplankton vom Murtensee zwischen 1988-1989: Vergleich mit früheren Angaben. Während eines Jahres (12. 1988 bis 11. 1989) wurden 13 Proben von Phytoplankton monatlich erhoben, in welchen 68 Taxa erkannt wurden. *Stephanodiscus neoastraea*, *Rhodomonas* sp. und *Oocystis* sp. sind die reichhaltigsten Taxa, die beiden ersten im März und das dritte in Juni. *Aphanizomenon flos-aquae* und sogar *Spirogyra* sp. können auch sehr reichhaltig sein. *Oscillatoria rubescens*, die früher sehr reichhaltig war, wurde hier nicht mehr beobachtet. Die Phytoplanktonliste wird mit jenen früheren von CHODAT (1897), BACHMANN (1901) und RIVIER (1936) verglichen. Eine Erläuterung des trophischen Status des Sees ist vorgeschlagen.

Summary

The phytoplankton of the Lake Morat in 1988-1989: comparison with previous records. During about one year (12.1988-11.1989), 13 samples of phytoplankton have been monthly collected and 68 taxa have been identified. *Stephanodiscus neoastraea*, *Rhodomonas* sp. and *Oocystis* sp. were the most abundant taxa in March, March and June respectively. It is also noted that *Aphanizomenon flos-aquae* and *Spirogyra* sp. can also be very abundant. The previously abundant *Oscillatoria rubescens* was no more observed. The list of the present taxa is compared to previous records by CHODAT (1897), BACHMANN (1901) and RIVIER (1936). An interpretation of the trophic state of the lake is proposed.

BIBLIOGRAPHIE

- BACHMANN, H. — (1901). Beitrag zur Kenntnis der Schwebeflora der Schweizer Seen. *Biol. Centralbl.* 21: 193-209, 225-247.
- BOSSET, E. — (1981). Evolution de l'état sanitaire du lac de Joux de 1953/57 à 1978/79. *Bulletin de l' A.R.P.E.A.* 108: 41-64.
- BUERGI, H. R. — (1976). Die Phytoplanktonentwicklung im Bodensee in den Jahren 1961 bis 1963. *Ber. Int. Gewässerschutzkomm. Bodensee* 18: 1-87.
- BURCKHARDT, G. — (1899). Faunistische und systematische Studien über das zooplankton der grösseren Seen der Schweiz und ihrer Grenzgebiete. *Rev. Suisse Zool.* 7: 353-714.
- CHODAT, R. — (1897). Recherches sur les algues pélagiques de quelques lacs suisses et français. *Bull. de l'herbier Boissier, Genève* 5: 289-314.
- DAVAUD, E. — (1976). Contribution à l'étude géochimique et sédimentologique de dépôts lacustres récents (Lac de Morat, Suisse). Université de Genève, thèse N° 1745.
- DE CANDOLLE, A.-P. — (1825). Notice sur la matière qui a coloré en rouge le lac de Morat au printemps de 1825. *Mém. Soc. Phys. Hist. nat. de Genève* 3: 29-42.
- DE GANDOLFI, — (1910/11). Les larves de *Corethra plumicornis* dans le lac de Morat. *Bull. Soc. Fribourg. Sci. Nat.* 19: 79.

- EAWAG, — (1960). Der Murtensee; sein gegenwärtiger chemisch-biologischer Zustand; Die Herkunft der eutrophierenden Stoffe; Seesäuerungen; Schutz vor Verunreinigung. Gesamtbericht 1954/1955.
- ENNIS, G. L., NORTHCOTE, T. G. & STOCKNER, J. G. — (1983). Recent trophic changes in Kootenay lake, British Columbia, as recorded by fossil diatoms. *Can. J. Bot.* 61 (7): 1983-1992.
- FAVRE, J. — (1941). Les *Pisidium* du canton de Neuchâtel. *Bull. Soc. Neuchâtel. Sci. Nat.* 66: 55-112.
- FEUILLADE, J. (ed.) — (1985). Caractérisation et essais de restauration d'un écosystème dégradé: le lac de Nantua. INRA, Paris: 1-165.
- HÅKANSSON, H. — (1989). Diatom succession during Middle and Late Holocene time in Lake Krageholmssjön, southern Sweden. *Nova Hedwigia* 48 (1-2): 143-166.
- HIRSIG, P. — (1983). Wind- und Zuflussbedingte Strömung im Murtensee (Schweiz). Inauguraldissertation. Universität Bern.
- JAAG, O. — (1948). Die neuere Entwicklungen und der heutige Zustand der Schweizer Seen. Verhandlungen der Internationalen Vereinigungen für theoretische und angewandte Limnologie. 10: 192-209.
- KOHL, J. G. & NICKLISCH, A. — (1988). Ökophysiologie der Algen. Wachstum und Ressourcennutzung. Akademie-Verlag, Berlin: 1-253.
- KRAMMER, K. et LANGE-BERTALOT, H. — (1991). *Bacillariophyceae*, Teil. 3: *Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae*. In: Ettl, H. et al. (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa 2 (3). G. Fischer, Stuttgart: 1-576.
- KUHN, D.L., PLAFKIN, J.L., CAIRNS, J. et LOWE, R.L. — (1981). Quantitative characterization of aquatic environments using diatom life-form strategies. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 100 (2): 165-182.
- KLEE, R. & STEINBERG, C. — (1987). Kieselalgen bayerischer Gewässer. *Informationsberichte Bayer. Landesamt für Wasserwirtschaft* 4/87, Loseblattsammlung.
- LACHAVANNE, J.-B. — (1979). Les macrophytes du lac de Morat. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 114: 114-132.
- LANG, C. & REYMOND, O. — (1993). Eutrophisation du lac de Morat indiquée par les communautés d'oligochètes: tendance 1980-1991. *Rev. Suisse Zool.* 100: 11-18.
- LIECHTI, P. — (1989). L'état du lac de Morat. *Bulletin de l'OFEPF, Berne.* 2/89: 32-36.
- NAUMANN, E. — (1932). Grundzüge der regionalen Limnologie. In: Thienemann, A. (ed.). *Die Binnengewässer* 11: 1-176.
- NOËL, F. & FASEL, D. — (1989). Etude du lac de Morat et de ses affluents, 1986-1988. Canton de Fribourg, Office de la protection de l'environnement, Section analytique. Rapport 98 pp.
- POURRIOT, R., CAPBLANCQ, J., CHAMP, P. & MEYER, J.-A. — (1982). Ecologie du plancton des eaux continentales. Collection d'écologie 16, Masson, Paris: 1-198.
- QUARTIER, A. — (1948). Sur le comportement de *Tabellaria fenestrata* (Lyngb.) Ktz. dans les trois lacs sub-jurassiens. *Schw. Z. Hydrol.* 10: 13-22.
- REYNOLDS, C.S. — (1986). Experimental manipulations of the phytoplankton periodicity in large limnetic enclosures in Blelham Tarn, English Lake District. In: Munawar, M. & Talling, J. F. (eds.) *Seasonality of Freshwater Phytoplankton*: 43-64.

- RIVIER, O. — (1936). Recherches hydrobiologiques sur le lac de Morat. *Bull. Soc. Neuchâtel. Sc. Nat.* 61: 125-181.
- ROBERT, H. — (1923). Note sur le plancton des lacs de Neuchâtel, Bienne et Morat. *Bull. Soc. Neuchâtel. Sc. Nat.* 48: 17-24.
- ROUND, F. E. — (1981). The ecology of algae. Cambridge University Press, Cambridge: 1-629.
- SCHROEDER, R. — (1969). Ein summierender Wasserschöpfer. *Arch. Hydrobiol.* 66: 241-243.
- SOMMER, U. — (1986). The periodicity of phytoplankton in Lake Constance (Bodensee) in comparison to other deep lakes of central Europe. *In: Munawar, M. & Talling, J. F. (eds.) Seasonality of Freshwater Phytoplankton: 1-7.*
- STRAUB, F. — (1976). Préliminaires à l'étude du phytoplancton du Loclat (canton de Neuchâtel). Travail de licence, Université de Neuchâtel: 1-41.
- (1982). Diatomées épilithiques de six lacs du Jura suisse: premiers résultats. *Cryptogamie: Algol.* 3: 339-348.
- (1989). Application de l'écologie des diatomées littorales de lacs carbonatés à la reconstitution des environnements préhistoriques d'un site archéologique. Hauterive-Champréveyres (lac de Neuchâtel). Thèse, Université de Neuchâtel, première partie: 1-88.
- THIENEMANN, A. — (1925). Die Binnengewässer Mitteleuropas. *In: Thienemann, A. (ed.) Die Binnengewässer 1: 1-255.*
- ÜHLINGER, U. — (1981). Experimentelle Untersuchungen zur Autökologie von *Aphanizomenon flos-aquae*. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 60: 260-288.
- VOLLENWEIDER, R. A. — (1976). Advances in defining critical loading levels for phosphorus in lake eutrophication. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* 33: 53-83.
- WUTHRICH, M. — (1962). Note sur l'apparition d'*Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs dans le lac de Neuchâtel. *Bull. Soc. Neuchât. Sci. Nat.* 85: 103-108.
- (1965). Le phytoplancton du lac de Neuchâtel. *Schweiz. Z. Hydrol.* 27: 1-75.

Adresse des auteurs:

Olivier Reymond, Laboratoire d'hydrobiologie, Conservation de la faune, ch. du Marquisat 1, CH-1025 St-Sulpice, Suisse.

François Straub, Laboratoire d'algologie, Gymnase cantonal, CH-2300 La Chaux-de-Fonds, Suisse.

KARYOLOGICAL STUDIES ON *GENTIANA* SECT.
FRIGIDA S. L. AND SECT. *STENOGYNE*
(*GENTIANACEAE*) FROM CHINA

by

YONG-MING YUAN AND PHILIPPE KÜPFER

WITH 19 FIGURES AND 3 TABLES

INTRODUCTION

Section *Frigida* Kusn. s. l. refers to the circumscription of the section by SMITH (1961) and PRINGLE (1978). They lumped section *Isomeria* Kusn. with the section *Frigida* Kusn. both of which were recognized by KUSNEZOW (1895) in his first comprehensive monograph of the genus. But some other authors split the group into several sections or even genera; for examples, LÖVE & LÖVE (1972) established two genera for this group, mainly according to the basic chromosome numbers (see below): the monotypic *Favargera* Löve et Löve based on *Favargera froelichii* (Jan ex Reichenb.) Löve et Löve (= *Gentiana froelichii* Jan ex Reichenb.) and *Gentianodes* Löve et Löve which included all the other members of this group. But, in their very recent revision of the classification of *Gentiana* L., HO (1985) and HO & LIU (1990) adopted a rather narrower concept for the section and rejected the splitting of the group into different genera. They recognized the sections *Isomeria* and *Frigida* of KUSNEZOW (1895) and established three additional sections: *Monopodiae* T. N. Ho and *Phyllocalyx* T. N. Ho, split from the section *Frigida* sensu Kusnezow, and *Microsperma* T. N. Ho split from *Isomeria* sensu Kusnezow. The diagnostic characters of these newly established sections were mainly the branching patterns, habits and seed characters. For the sake of convenience, we follow their narrower sections in the following discussion.

According to HO & LIU (1990), the section *Frigida* sensu Ho & Liu consists of eighteen species distributed in the northern temperate area, from Europe to Asia and North America, with a high concentration in the mountainous regions of Southwestern China and Northeastern Burma (15 species). Two species, *G. frigida* Haenke and *G. froelichii*, are endemic to the Alps, Carpathians and Southwestern Bulgaria. North America shares 2 species, *G. algida* Pallas and *G. glauca* Pallas with Northeastern and Eastern Asia. The sections *Monopodiae* and *Microsperma*, consisting of 37 and 10 species respectively, are restricted to Eastern and Southeastern Asia and the

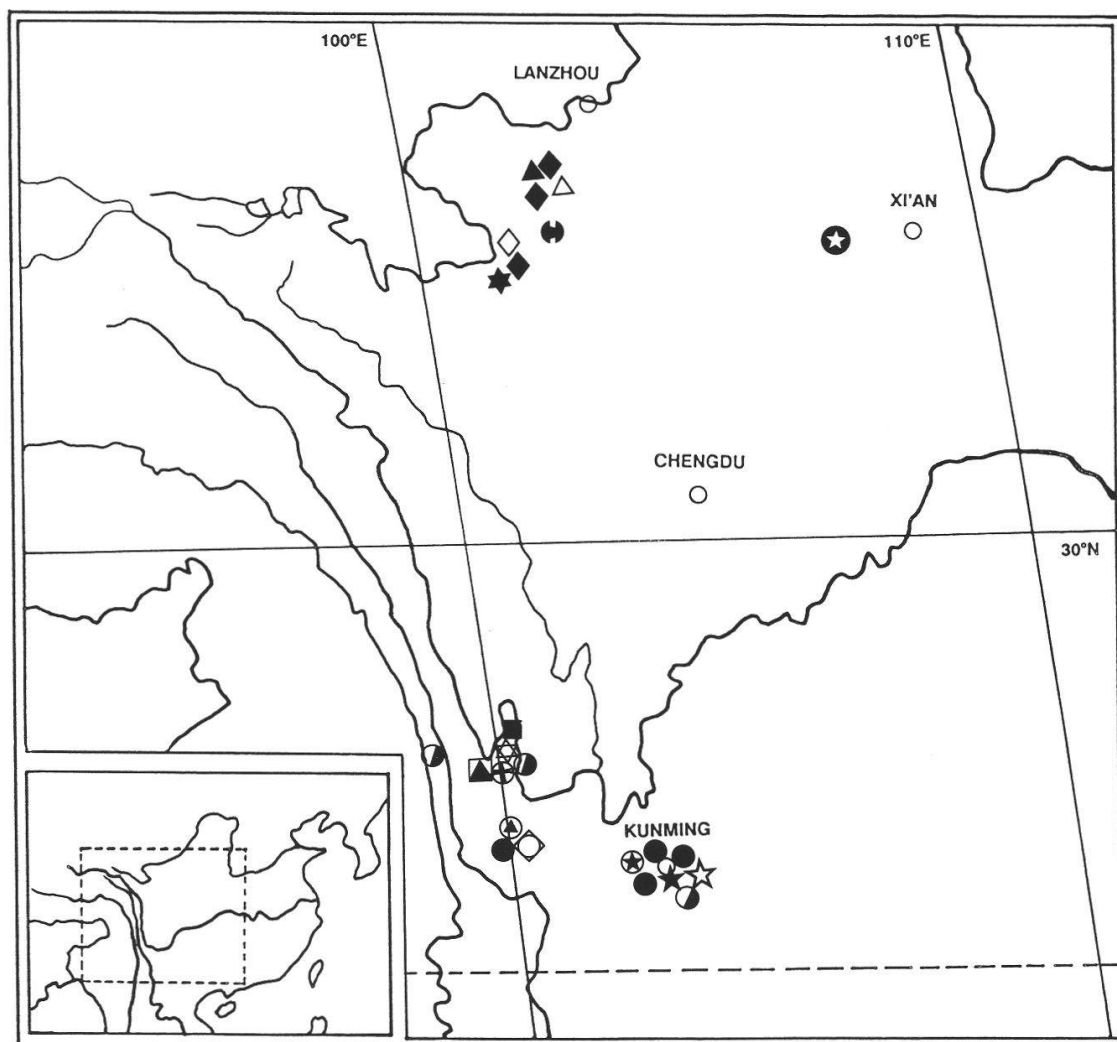


Fig. 1. The sampling sites of the populations of *Gentiana* species examined and their corresponding chromosome numbers.

- | | | |
|-----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| ▲ <i>G. callistantha</i> 2n = 26; | ● <i>G. cephalantha</i> 2n = 24; | ★ <i>G. duclouxii</i> 2n = 24; |
| ◆ <i>G. farreri</i> 2n = 48; | ○ <i>G. melandrifolia</i> 2n = 24; | ● <i>G. regescens</i> 2n = 24; |
| ◇ <i>G. sino-ornata</i> 2n = 48; | △ <i>G. veitchiorum</i> 2n = 24; | ☆ <i>G. delavayi</i> 2n = 26; |
| ⊕ <i>G. yunnanensis</i> 2n = 24; | ⊙ <i>G. apiata</i> 2n = 24; | ★ <i>G. nubigena</i> 2n = 24; |
| ■ <i>G. expansa</i> 2n = 34; | ★ <i>G. gentilis</i> 2n = 42; | ▲ <i>G. pterocalyx</i> 2n = 34; |
| ☆ <i>G. primuliflora</i> 2n = 42; | ○ <i>G. rhodantha</i> 2n = 46; | ● <i>G. striata</i> 2n = 46. |

adjacent Himalayan area. The highest diversity occurs in the southwestern provinces of China and the eastern Himalayan region. The monotypic section *Phyllocalyx* includes only *G. phyllocalyx* C. B. Clarke found in the Himalaya and Southwestern China.

Chromosome numbers have been reported for seven species and one variety of this group, from Europe, Northeastern and Eastern Asia, and North America (cf. Table 1). Among them, *G. algida*, the most widespread species of this group, and *G. glauca* have been well studied. The numbers reported for the whole group are of $2n = 24$ for most species. Nevertheless, a few species differ. Thus *G. froelichii* was always counted as having $2n = 42$ chromosomes (FAVARGER 1965; LOVKA *et al.* 1971, 1972). It is precisely based on this distinct number that LÖVE & LÖVE (1972) esta-

TABLE 1.

The previous reports of chromosome numbers on *Gentiana* sect. *Frigida* s.l.

<i>Taxon</i>	<i>Origin</i>	<i>Chrom. no. (2n)</i>	<i>Reference</i>
sect. <i>Frigida</i> s.s. <i>G. algida</i>	Siberia	24	KRASNOBOROV & ROSTOVTSEVA (1975)
	Siberia	24	KRASNOBOROV <i>et al.</i> (1980)
	Tunkinsky Mt.	24	KROGULEVICH (1976)
	Sayanskiy Mt.	24	KROGULEVICH (1978)
	Colorado	24	LÖVE & LÖVE (1975)
	Japan	24	SHIGENOBU (1984)
	Altai	26	SOKOLOVSKAYA & STRELKOVA (1938)
	NE Yakutsk	24	YURTSEV & ZHUKOVA (1982)
	W Chukotka	24	ZHUKOVA (1967a)
	unkown	26	ZHUKOVA (1967b)
	Anyuy Mt.	24	ZHUKOVA (1980)
W Chukotskiy	24	ZHUKOVA & PETROVSKY (1976)	
<i>G. algida</i> var. <i>igaraskii</i>	Japan	24	SHIGENOBU (1984)
<i>G. frigida</i>	Czechoslovakia	24	MURIN (1974)
	Tatry Mt.	24	SKALINSKA (1951)
<i>G. froelichii</i>	Slovenia	42	FAVARGER (1965)
	Slovenia	42	LOVKA <i>et al.</i> (1971, 1972)
<i>G. glauca</i>	Alaska	24	DAWE & MURRAY (1979)
	Alaska	24	JOHNSON & PACKER (1968)
	Yukon	24	MULLIGAN & PORSILD (1969)
	Kamchatka	24	SOKOLOVSKAYA (1963, 1968)
	W Chukotskiy	24	ZHUKOVA (1966)
	Chukotskiy	24	ZHUKOVA (1969)
	Yuzhnyy		
	Anyuyskiy Mt.	24	ZHUKOVA (1980)
	Chukotka	24	ZHUKOVA (1982)
	Chukotskiy	24	ZHUKOVA & TIKHONOVA (1971)
<i>G. romanzowii</i>	Kamchatka	24-26	SOKOLOVSKAYA (1963)
sect. <i>Monopodiae</i>			
<i>G. formosana</i>	Taiwan	26	HSU (1968)
<i>G. yakushimensis</i>	Japan	26	SHIGENOBU (1984)

blished the genus *Favargeria* typified on *G. froelichii*. In addition, *G. formosana* Hayata (= *G. davidii* Franchet var. *formosana* (Hayata) T. N. Ho) from Taiwan and *G. yakushimensis* Makino from Japan were found to have $2n = 26$ chromosomes (HSU 1968; SHINGENOBU 1984). Although there is a high diversity of species, no observation has been made on the

Chinese and the Himalayan species, not even on some of the beautiful ornamental species such as *G. sino-ornata* Balf. f. and *G. farreri* Balf. f. which were introduced in Europe more than 50 years ago.

Stenogyne Franchet is a poorly known section both taxonomically and cytologically; nevertheless it has often been accepted (PRINGLE 1978; HO & LIU 1990). According to the current circumscription of HO & LIU (1990), the section contains fourteen species: ten are completely restricted to Southwestern China, two are relatively widespread in Northwestern and Central China, one is extending to Eastern Burma from Southwestern China and one is endemic to Thailand. None of them has been studied cytologically. Chromosome numbers are completely unknown for this section.

Following our reports on sections *Cruciata* Gaudin (YUAN, in press) and *Chondrophyllae* Bunge (KÜPFER & YUAN, submitted), this paper contributes additional chromosome data from China on the genus *Gentiana*.

MATERIALS AND METHODS

25 populations of 18 species were observed in this investigation. The species names and populations, along with their origins and chromosome numbers are listed in Table 2. The sampling sites are shown in Fig. 1. All the voucher specimens were deposited in the herbaria of the University of Neuchâtel, Switzerland (NEU) and of Lanzhou University, China (LZU). Seeds and flower buds were collected in the field and the flower buds were fixed with Carnoy. Chromosomes were observed either from mitosis in young ovaries and root tips germinated from seeds, or from meiosis of pollen mother cells, as indicated in Table 2. For observations on mitosis of root tips, the aceto-orcein squashing method was used and the procedure is the same as in our previous reports (YUAN, in press). SNOW's (1963) method was employed for the observations of meiosis and ovary mitosis.

The terminologies for centromeric positions introduced by LEVAN *et al.* (1964), the karyotype classification of STEBBINS (1971) and the karyotype asymmetry indices defined by ROMERO ZARCO (1986) were followed.

RESULTS

1. Sect. *Frigida* s.l.

Most species of the section *Frigida* s. l. have $2n = 24$ or $n = 12$ chromosomes. This confirms their diploid level and the basic number of $x = 12$ (Table 2). This, for example, is the case for *G. cephalantha* Franchet ex Hemsley, *G. duclouxii* Franchet, *G. melandrifolia* Franchet ex Hemsley, *G. regescens* Franchet ex Hemsley, *G. veitchiorum* Hemsley, *G. yunnanensis* Franchet, *G. apiata* N. E. Br. and *G. nubigena* Edgew. (Fig. 3-4, 6-7, 9 and 11-13). Tetraploid numbers were found for the first time for *G. farreri* and *G. sino-ornata* with $n = 24$ (Fig. 5) and $2n = 48$ (Fig. 8). Furthermore, the basic number of $x = 13$ was also found in this group, in *G. callistantha* Diels et Gilg and in *G. delavayi* Franchet, which were diploid with $2n = 26$ (Fig. 2 and 10). According to Ho (1988), these two species belong respectively to the sections *Monopodiae* and *Microsperma* (cf. Table 2).

TABLE 2.
Origins of the materials examined and their chromosome numbers

<i>Taxon</i>	<i>Collection number</i>	<i>Locality and altitude</i>	<i>Examined organs</i>	<i>Chromosome number</i>
sect. <i>Monopodiae</i>				
<i>G. callistantha</i>	G173	Xiahe, Gansu, 2950m	root	2n = 26
<i>G. cephalantha</i>	G135	Dali, Yunnan, 2800m	ovary	2n = 24
<i>G. duclouxii</i>	G142	Kunming, Yunnan, 2050m	ovary	2n = 24
<i>G. farreri</i>	G045	Xiahe, Gansu, 2950m	anther	n = 24
	G156	Xiahe, Gansu, 2950m	root	2n = 48
	G194	Maqü, Gansu, 3200m	root	2n = 48
<i>G. melandrifolia</i>	G137	Dali, Yunnan, 2100m	anther	n = 12
<i>G. regescens</i>	G090	Kunming, Yunnan, 2000m	anther	n = 12
	G136	Dali, Yunnan, 2300m	anther	n = 12
	G144	Kunming, Yunnan, 2150m	anther	n = 12
	G150	Kunming, Yunnan, 2200m	ovary	2n = 24
<i>G. sino-ornata</i>	G177	Maqü, Gansu, 3500m	root	2n = 48
<i>G. veitchiorum</i>	G200	Xiahe, Gansu, 2950m	root	2n = 24
sect. <i>Microsperma</i>				
<i>G. delavayi</i>	G112	Lijiang, Yunnan, 2850m	anther ovary	n = 13 2n = 26
<i>G. yunnanensis</i>	G107	Lijiang, Yunnan, 2500m	anther	n = 12
sect. <i>Frigida</i> s.s.				
<i>G. apiata</i>	G077	Taibaishan, Shaanxi, 3700m	root	2n = 24
<i>G. nubigena</i>	G030	Maqü, Gansu, 3800m	ovary	2n = 24
sect. <i>Stenogyne</i>				
<i>G. expansa</i>	G117	Lijiang, Yunnan, 2850m	root	2n = 34
<i>G. gentilis</i>	G152	Kunming, Yunnan, 2200m	anther	n = 21
<i>G. pterocalyx</i>	G106	Lijiang, Yunnan, 2500m	anther	n = 17
<i>G. primuliflora</i>	G151	Kunming, Yunnan, 2200m	root	2n = 42
<i>G. rhodantha</i>	G091	Bijiang, Yunnan, 1500m	ovary	2n = 46
	G098	Lijiang, Yunnan, 2500m	ovary	2n = 46
	G143	Kunming, Yunnan, 2200m	ovary	2n = 46
<i>G. striata</i>	G188	Lüqu, Gansu, 3050m	root	2n = 46

Observations on meiosis in some species (cf. Table 2) indicated that both the diploid species, e.g. *G. yunnanensis*, *G. regescens*, and the tetraploid species such as *G. farreri* have regular pairing and segregation of homologous chromosomes. Only bivalents were observed in the diakinesis of these species. However, the meiosis of some species such as *G. melandrifolia* and *G. cephalantha* are not synchronous, contrary to *G. regescens* and *G. yunnanensis* where the meiosis are fairly synchronous.

Karyotype analysis of selected species indicated that their chromosomes were dominantly metacentric and therefore the karyotypes were rather symmetrical, which can be seen from both the karyotype classification (1A or 2A) and the asymmetry indices (A_1 and A_2). The sizes of chromosomes were small to medium (Table 3).

2. Sect. *Stenogyne*

In section *Stenogyne*, three different numbers were discovered (Table 2). *G. expansa* H. Sm. and *G. pterocalyx* Franchet ex Hemsley had $2n = 34$ and $n = 17$ chromosomes (Fig. 14 and 16); their basic number therefore should be $x = 17$. *G. gentilis* Franchet and *G. primuliflora* Franchet had $n = 21$ and $2n = 42$ chromosomes respectively (Fig. 15 and 17); their basic number is therefore probably $x = 21$. Whereas *G. rhodantha* Franchet ex Hemsley and *G. striata* Maxim. had $2n = 46$ and $x = 23$ (Fig. 18 and 19). All these numbers are new for the section. Among them, $x = 17$ and 23 are also recorded for the first time for the genus *Gentiana*. In addition, *G. rhodantha* shows very specific heteropycnosis. Its chromosomes form very obvious chromocentres which scatter in late prophase nuclei (Fig. 18).

The karyotypes of the section were more asymmetrical with a higher proportion of submetacentric and acrocentric chromosomes. The classification of karyotype was of 2A and 3A types. The karyotype asymmetry indices further indicated that the asymmetry was mainly intrachromosomal, that is, due to the difference between the arms of each individual chromosome. The intrachromosomal asymmetry indices (A_1) of *G. expansa* and *G. primuliflora* were as high as 0.459 and 0.503 respectively, while their interchromosomal asymmetry indices (A_2) were equal to or even slightly lower than those of the members of other sections. Chromosome sizes of the species of this section were smaller (Table 3).

DISCUSSION

Our results have documented chromosome numbers for the first time for all the 18 species of *Gentiana* investigated and revealed two new basic numbers, $x = 17$ and 23, for the genus. These two newly found numbers fill the only gaps of the spectrum of chromosome numbers of *Gentiana* (YUAN, in press; KÜPFER & YUAN, submitted); thus a continuous series of gametic chromosome numbers from 6 to 26 can be found in the genus, which suggests rather complicated and reticulate relationships among the different cytotypes. Both dysploidization and polyploidization were probably important processes in the chromosome evolution of this genus. There is no simple relationship between the chromosome numbers and classification, because each basic chromosome number is not simply confined to a single infrageneric group.

Referring to the section *Frigida* s.s., the basic number is dominantly $x = 12$, with the exception of *G. froelichii* with $x = 21$ or $x = 7$ ($2n = 42$). Moreover, *G. algida* was generally found to have $2n = 24$ chromosomes in North America, Northeastern and Eastern Asia (cf. Table 1), except for the two reports of $2n = 26$ by SOKOLOVSKAYA & STRELKOVA (1938) and

TABLE 3.

Karyotype structures of some species of *Gentiana* sect. *Frigida* s.l. and sect. *Stenogyne*

Taxon	Coll. No.	Karyotype	Length range (μm)	L/S	P	Type	A ₁	A ₂
<i>G. callistantha</i>	G173	$2n = 2m(\text{SAT}) + 24m$	1.8-3.1	1.70	0.00	1A	0.176	0.143
<i>G. sino-ornata</i>	G177	$2n = 40m + 8sm$	2.0-3.1	1.52	0.13	2A	0.298	0.130
<i>G. veitchiorum</i>	G200	$2n = 18m + 6sm$	2.7-4.4	1.63	0.00	1A	0.306	0.131
<i>G. apiata</i>	G077	$2n = 20m + 4sm$	2.1-3.0	1.40	0.00	1A	0.282	0.103
<i>G. expansa</i>	G117	$2n = 2m(\text{SAT}) + 8m + 24sm$	1.7-2.8	1.69	0.29	2A	0.459	0.134
<i>G. primuliflora</i>	G151	$2n = 12m + 24sm + 6st$	1.4-1.9	1.40	0.71	3A	0.503	0.095

L: length of the longest chromosome in a karyotype.

S: length of the shortest chromosome in a karyotype.

P: proportion of the chromosomes of which the arm ratio is higher than two in a karyotype.

Type: referring to the classification of karyotype of STEBBINS (1971).

A₁: the intrachromosomal asymmetry index defined by ROMERO ZARCO (1986).

A₂: the interchromosomal asymmetry index defined by ROMERO ZARCO l.c.

ZHUKOVA (1967b). In section *Monopodiae*, in addition to the common number for many species of $2n = 24$ that was revealed by our investigation, $2n = 26$ was also reported for *G. formosana* from Taiwan (HSU 1968), *G. yakushimensis* from Japan (SHIGENOBU 1984) and *G. callistantha* from Western China by our present investigation. So, both the basic number $x = 12$ and 13 are present and their relationships and taxonomic implications need to be confirmed by more studies. The situation in section *Microsperma* seems similar to that in section *Monopodiae*: the only two chromosome reports on this section contributed by our present study show that both $x = 12$ and 13 exist. Therefore, at least three different basic numbers, $x = 12$ (6?), 13 , 21 (7?), exist in section *Frigida* s.l.

LÖVE & LÖVE (1972) simply divided this group into two genera according to their basic chromosome numbers: the monotypic *Favargera* with a basic number of $x = 7$ (21?) based on *G. froelichii*, and *Gentianodes* with a basic number of $x = 6$ (12?) including all the other members of sect. *Frigida* s.l. However, some species such as *G. delavayi* which they included in their $x = 6$ genus have in fact another basic number ($x = 13$). Additional careful and critical reconsiderations of these groups are therefore necessary.

Furthermore, HO (1985) recognized smaller sections in this group. The present investigation shows that these sections are also chromosomally polybasic. In particular, she recognized the section *Microsperma* mainly by its

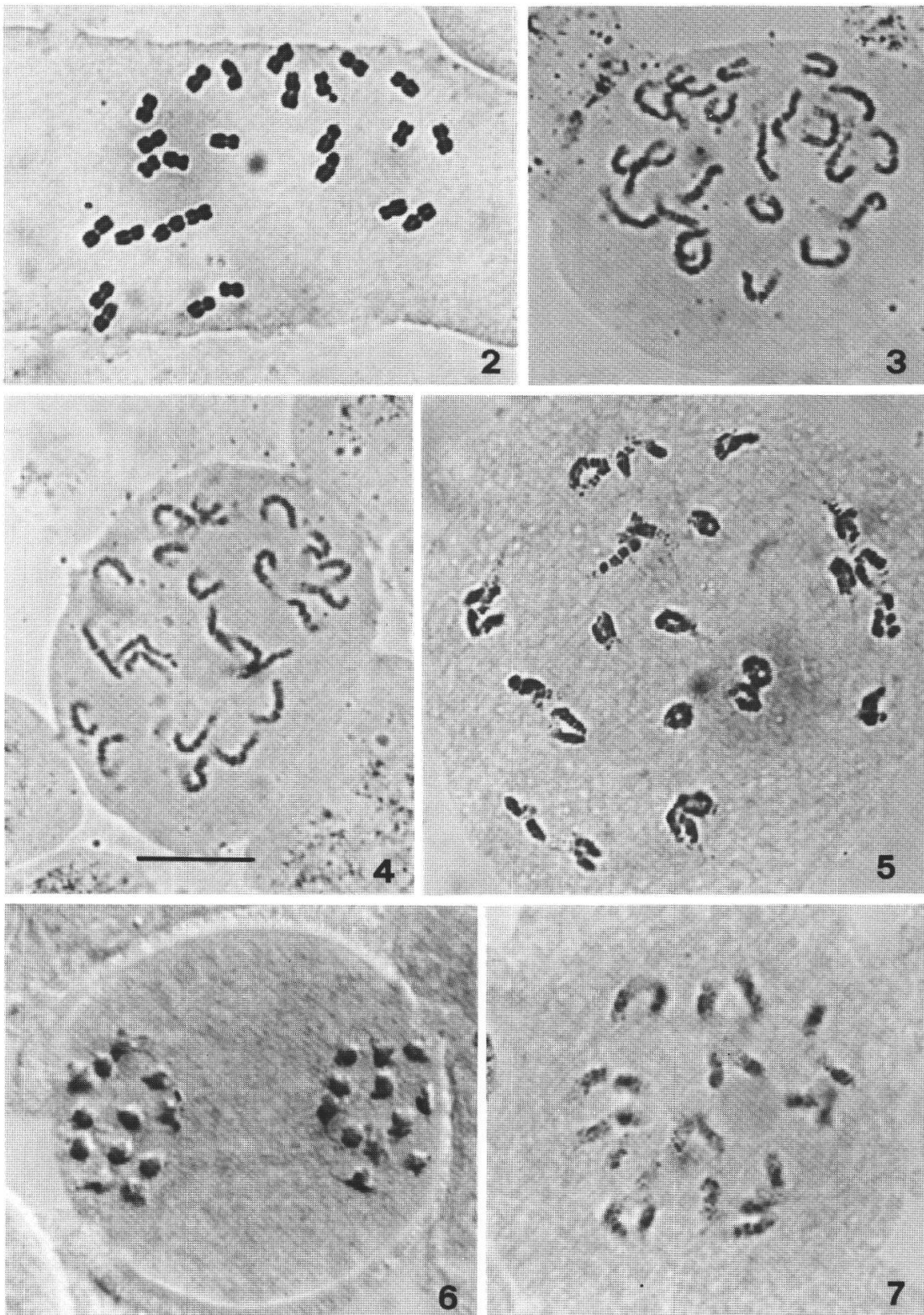
annual (or rather biennial) habit, but as demonstrated in section *Chondrophyllae* (KÜPFER & YUAN, submitted), plant habits are not congruent with chromosome numbers in the genus. The two annual species belonging to the section *Microsperma*, *G. delavayi* and *G. yunnanensis*, also have different basic numbers ($x = 13$ and 12 respectively).

Stenogyne is a poorly known section. Our present investigation took its chromosome number into account for the first time and revealed numbers very distinct from those of other members of the genus. In addition to the numbers $2n = 42$ and $n = 21$ of *G. gentilis* and *G. primuliflora* which have been reported for the European *G. froelichii* of the section *Frigida*, the other numbers of $2n = 34$ or $n = 17$ of *G. expansa*, *G. pterocalyx* and $2n = 46$ of *G. rhodantha* and *G. striata* have not been recorded in the genus *Gentiana* before. The higher and obviously secondary basic numbers $x = 17, 21$ and 23 suggest a specialized and isolated position of this section in the genus. The karyotype data also supports that: all the species of the section analyzed have rather small chromosomes and more asymmetrical karyotypes; their intrachromosomal karyotype asymmetry indices are much higher than that of others (Table 3). According to STEBBINS (1971, p. 90), there is a predominant trend in flowering plants toward increasing asymmetry of the karyotype. Therefore, from the point of view of chromosome number and karyotype asymmetry, the section *Stenogyne* is a more advanced group than the other sections of the genus.

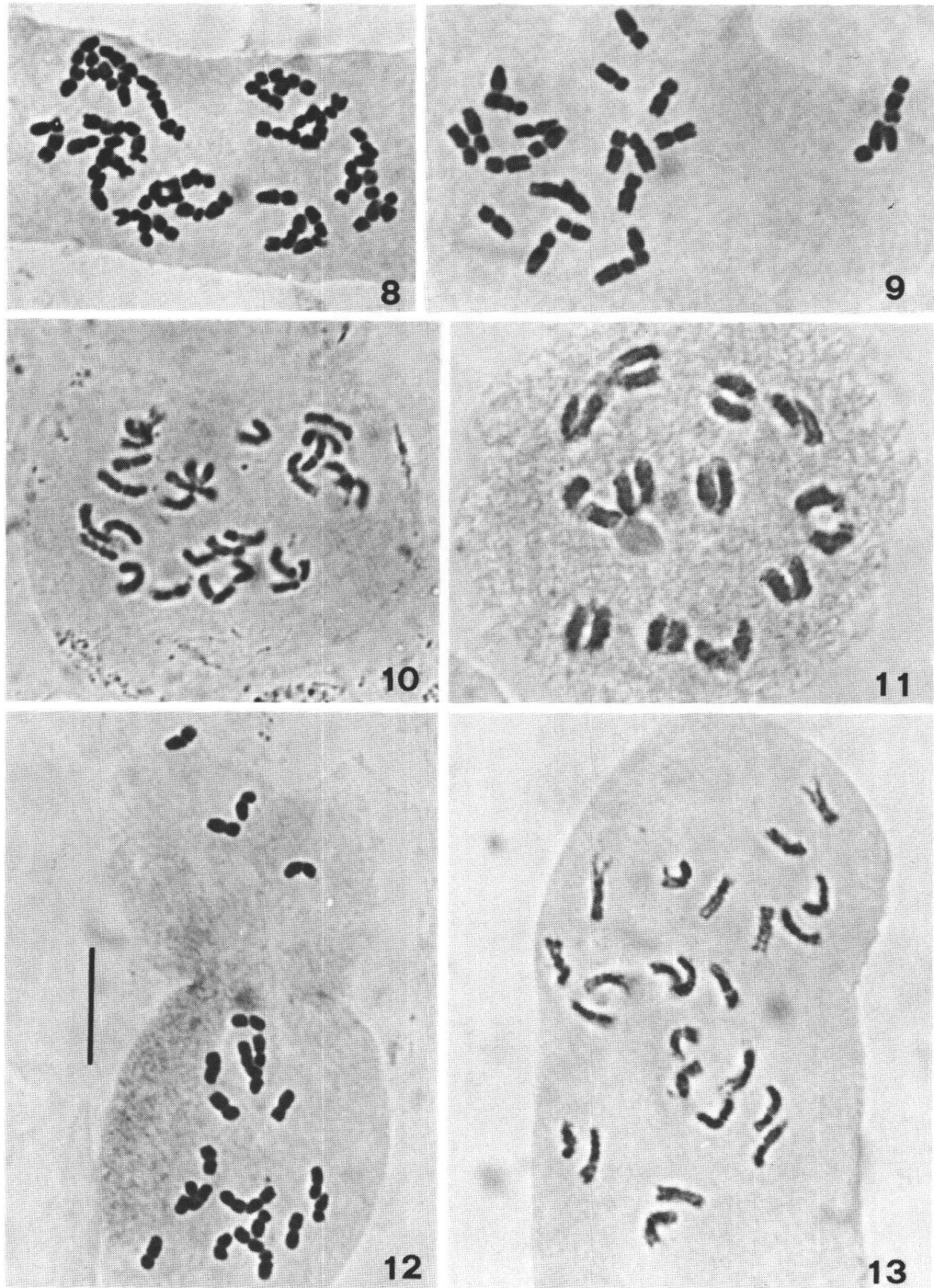
In addition, we demonstrated previously that the common chromosome numbers of *G. aristata* Maxim. and *G. nivalis* L. ($2n = 14$), *G. squarrosa* Ledeb. and *G. terglouensis* Hacq. ($2n = 38$) of sections *Chondrophyllae* and *Calathianae* Froelich may have derived independently (KÜPFER & YUAN, submitted). This could also be the case for the $2n = 42$ of *G. primuliflora* and *G. gentilis* of the section *Stenogyne* revealed here and *G. froelichii* of section *Frigida* reported previously (FAVARGER 1968; LOVKA et al. 1971, 1972), because the former two species are very isolated both morphologically and geographically from the latter. These phenomena suggest that the same basic number may not necessarily indicate a monophyletic origin and therefore, chromosome number cannot become a good criterion for classification until the cytogenetic mechanism influencing the variation of chromosome numbers in the genus *Gentiana* is well understood.

Acknowledgement

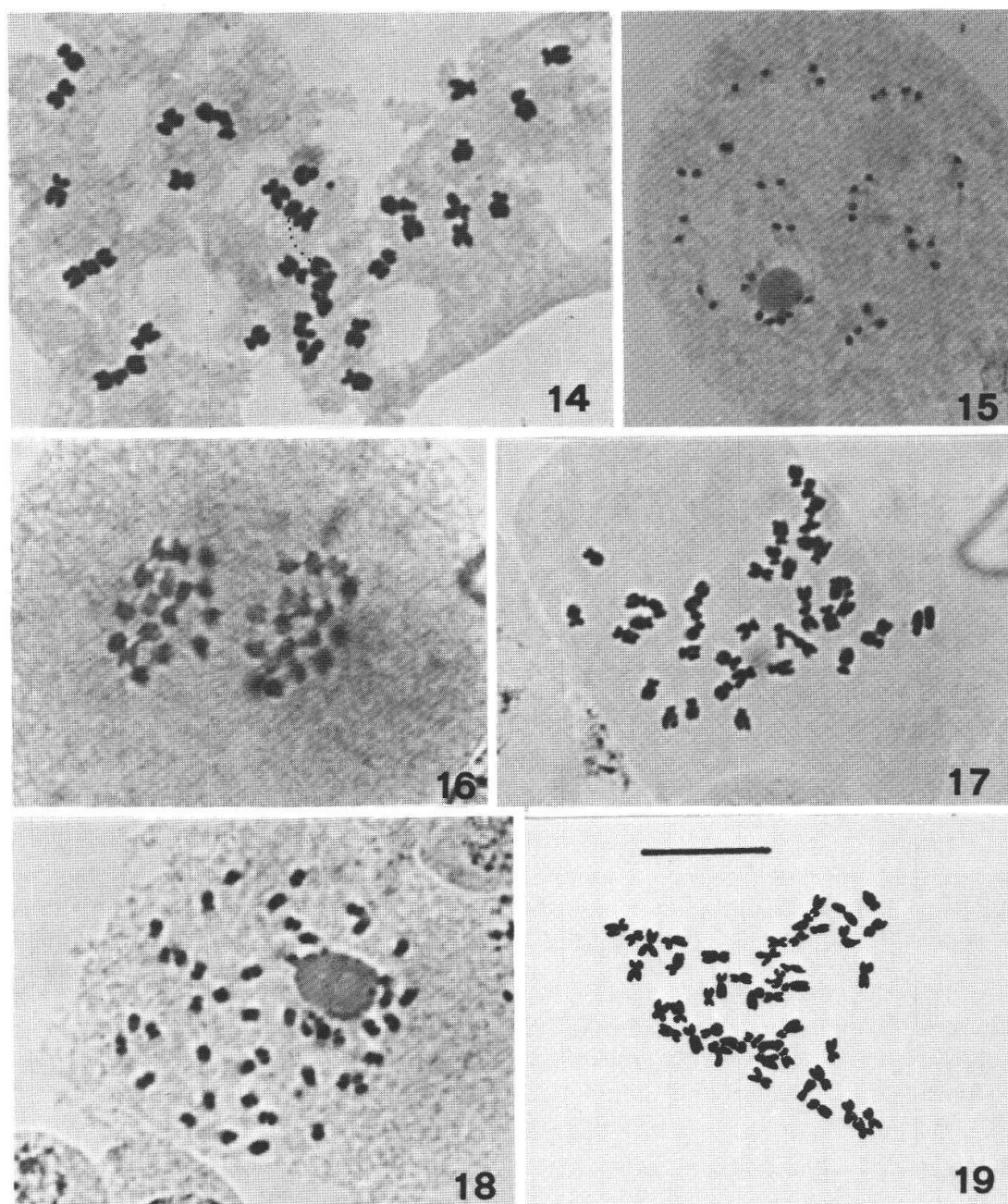
We thank Prof. Xun-Ling Wang, Mr. Xun Pu, Mr. Ji-Zhou Sun and Ms. Hui Ma for their kind help in collecting materials and Mr. E. Fortis for preparing the photographs. Our appreciation is also due to Dr. F. Felber for his critical reading of the manuscript and Ms. E. Boss and C. Fischer for correcting its English.



Figs. 2-7. Chromosomes of *Gentiana* sect. *Frigida* s.l. 2. *G. callistantha*, mitotic metaphase of root-tip, $2n = 26$; 3. *G. cephalantha*, mitotic prophase of ovary, $2n = 24$; 4. *G. duclouxii*, mitotic prophase of ovary, $2n = 24$; 5. *G. farreri*, diakinesis, $n = 24$; 6. *G. melandrifolia*, meiotic anaphase I, $n = 12$; 7. *G. regescens*, diakinesis, $n = 12$. — bar = 10 μ m.



Figs. 8-13. Chromosomes of *Gentiana* sect. *Frigida* s.l. 8. *G. sino-ornata*, mitotic metaphase of root-tip, $2n = 48$; 9. *G. veitchiorum*, mitotic metaphase of root-tip, $2n = 24$; 10. *G. delavayi*, mitotic prophase of ovary, $2n = 26$; 11. *G. yunnanensis*, diakinesis, $n = 12$; 12. *G. apiata*, mitotic metaphase of root-tip, $2n = 24$; 13. *G. nubigena*, mitotic prophase of ovary, $2n = 24$. — bar = 10 μ m.



Figs. 14-19. Chromosomes of *Gentiana* sect. *Stenogyne*. 14. *G. expansa*, mitotic metaphase of root-tip, $2n = 34$ (the dotted line indicates the chromosome which was broken by squashing); 15. *G. gentilis*, diakinesis, $n = 21$; 16. *G. pterocalyx*, meiotic anaphase I, $n = 17$; 17. *G. primuliflora*, mitotic metaphase of root-tip, $2n = 42$; 18. *G. rhodantha*, mitotic prophase of ovary, $2n = 46$; 19. *G. striata*, mitotic metaphase of root-tip, $2n = 46$; — bar = 10 μm except that in Fig. 15 the bar represents 20 μm .

Résumé

Les nombres chromosomiques de 18 espèces appartenant aux sections *Frigida* Kusn. s.l. (sect. *Monopodiae* T.N. Ho et sect. *Microsperma* T.N. Ho inclus) et *Stenogyne* Kusn. du genre *Gentiana* sont mentionnés pour la première fois. Les 25 populations étudiées proviennent des montagnes de l'ouest et du sud-ouest de la Chine. Dans la section *Frigida* s.l., *G. apiata* N. E. Br., *G. cephalantha* Hemsley, *G. duclouxii* Franchet, *G. melandrifolia* Hemsley, *G. nubigena* Edgew., *G. regescens* Hemsley, *G. veitchiorum* Hemsley et *G. yunnanensis* Franchet offrent toutes la même valence chromosomique à $2n = 24$ chromosomes; en revanche, *G. callistantha* Diels et Gilg and *G. delavayi* Franchet possèdent $2n = 26$ chromosomes; enfin, *G. farreri* Balf. f. et *G. sino-ornata* Balf. f. se sont révélés tétraploïdes à $2n = 48$ chromosomes. La polyploïdie est signalée pour la première fois dans la section. Le découpage de la section *Frigida* s.l. par HO & LIU (1990) n'a pas conduit à une meilleure adéquation des données caryologiques et morphologiques; chacune des petites sections reste polybasique. Le sect. *Frigida* s.s. paraît le plus homogène, toutes les espèces offrant $2n = 24$, à l'exception de l'espèce européenne *G. froehlichii* à $2n = 42$.

Les données relatives au sect. *Stenogyne* sont fragmentaires et hétérogènes. *G. expansa* H. Sm. et *G. pterocalyx* Hemsley ont $2n = 34$ chromosomes; *G. gentilis* Franchet et *G. primuliflora* Franchet offrent $2n = 42$ chromosomes alors que *G. rhodantha* Hemsley et *G. striata* Maxim. partagent un troisième nombre somatique, $2n = 46$. Tous ces nombres sont nouveaux pour la section, les nombres $2n = 34$ et $2n = 46$ sont même inédits pour le genre. Sur la base des données caryologiques, la section *Stenogyne* paraît relativement isolée au sein du genre. Elle contraste non seulement par ses nombres chromosomiques somatiques relativement élevés, aux relations phylétiques incertaines, mais aussi par ses chromosomes relativement petits et ses caryotypes particulièrement asymétriques.

L'ensemble de nos données récentes (YUAN, in press; KÜPFER & YUAN, submitted) ont montré que le genre *Gentiana* possédait une série continue de nombres gamétiques de $n = 6$ à $n = 26$. La polyploïdie et la dysploïdie ont donc participé d'une manière particulièrement intense à l'évolution du genre. D'une manière générale, l'identité de nombres chromosomiques entre deux espèces du genre *Gentiana* n'indique pas nécessairement une parenté étroite mais relève sans doute, dans plusieurs cas, d'homoplasies. L'interprétation des données caryologiques nécessite donc une extrême prudence et implique l'étude parallèle des caractères morphologiques, biochimiques et phytochimiques.

Summary

Chromosome numbers are documented here for the first time for 18 species including 25 populations of *Gentiana* sect. *Frigida* Kusn. s.l. and sect. *Stenogyne* Kusn. from the high altitude regions of Western and Southwestern China. In the sect. *Frigida* s.l., *G. apiata* N. E. Br., *G. cephalantha* Hemsley, *G. duclouxii* Franchet, *G. melandrifolia* Hemsley, *G. nubigena* Edgew., *G. regescens* Hemsley, *G. veitchiorum* Hemsley and *G. yunnanensis* Franchet all had $2n = 24$ chromosomes; whereas *G. callistantha* Diels et Gilg and *G. delavayi* Franchet had $2n = 26$ chromosomes; *G. farreri* Balf. f. and *G. sino-ornata* Balf. f. were tetraploids with $2n = 48$ chromosomes. The tetraploid number $2n = 48$ was found for the first time for the section. In sect. *Stenogyne*, *G. expansa* H. Sm. and *G. pterocalyx* Hemsley had $2n = 34$ chromosomes; *G. gentilis* Franchet and *G. primuliflora* Franchet had $2n = 42$ chromosomes; *G. rhodantha* Hemsley and *G. striata* Maxim. had $2n = 46$ chromosomes. All these chromosome numbers were found for the first time for the section, among them $2n = 34$ and $2n = 46$ were new numbers for the genus. Systematic relationships of these species are discussed on the basis of their chromosome numbers.

REFERENCES

- DAWE, J. C. & MURRAY, D. F. — (1979). IOPB chromosome number reports CXIII. *Taxon* 28: 265-268.
- FAVARGER, C. — (1965). Notes de caryologie alpine. IV. *Bull. Soc. Neuchâtel. Sci. Nat.* 88: 5-60.
- HO, T.-N. — (1985). A study on the genus *Gentiana* of China. IV. *Bull. Bot. Res. (Harbin)* 5(4): 1-22.
- (1988). Gentianaceae. Flora Reipublicae Popularis Sinicae. Vol. 62. *Beijing* (Science Press).
- & LIU, S.-W. — (1990). The infrageneric classification of *Gentiana* (Gentianaceae). *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.), Bot.* 20: 169-192.
- HSU, C.-C. — (1968). Preliminary chromosome studies on the vascular plants of Taiwan. II. *Taiwania* 14: 11-27.
- JOHNSON, A. W. & PACKER, J. G. — (1968). Chromosome numbers in the flora of Ogoturuk Creek, N. W. Alaska. *Bot. Not.* 121: 403-456.
- KRASNOBOROV, J. M. & ROSTOVTSEVA, T. S. — (1975). Chromosome number of some plant species from the south of Siberia. *Bot. Zurn.* 60: 853-860.
- , ROSTOVTSEVA, T. S. & LIGUS, S. A. — (1980). Chromosome numbers of some plant species of South Siberia and the Far East. *Bot. Zurn.* 65: 659-668.
- KROGULEVICH, R. E. — (1976). Chromosome numbers of plant species from Tunkinsky Alpes (East Sayan). *News Siber. Dept. Acad. Sci. USSR. ser. Biol.* 15, 3: 64-52.
- (1978). Karyological analysis of the species of the flora of eastern Sayana. In: MALYSHEV, L. I. & PESHLKOVA, G. A. (eds.), *Flora of the Prebaikal. Novosibirsk.* pp. 19-48.
- KÜPFER, Ph. & YUAN, Y.-M. Karyological studies on *Gentiana* L. sect. *Chondrophyllae* Bunge (*Gentianaceae*) from China. (submitted)
- KUSNEZOW, N. I. — (1895). *Gentiana* Tourn. In: ENGLER, A. & PRANTL, K. (eds.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien* 4(2): 80-86. *Leipzig*.
- LEVAN, A., FREDGA, K., & SANDBERG, A. A. — (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- LÖVE, A. & LÖVE, D. — (1972). *Favargera* and *Gentianodes*, two new genera of alpine Gentianaceae. *Bot. Not.* 125: 255-258.
- & — (1975). IOPB chromosome number reports L. *Taxon* 24: 671-678.
- LOVKA, M., SUSNIK, F., LÖVE, A. & LÖVE, D. — (1971). IOPB chromosome number reports XXXIV. *Taxon* 20: 785-797.
- , SUSNIK, F., LÖVE, A. & LÖVE, D. — (1972). IOPB chromosome number reports XXXVI. *Taxon* 21: 333-346.
- MULLIGAN, G. A. & PORSILD, A. E. — (1969). Chromosome numbers of some plants from the unglaciated central Yukon plateau, Canada. *Canad. J. Bot.* 47: 655-662.
- MURIN, A. — (1974). Index of chromosome numbers of Slovakian flora, part 4. *Acta Fac. Rerum Nat. Univ. Comeniana, Bot.* 23: 1-23.
- PRINGLE, J. S. — (1978). Sectional and subgeneric names in *Gentiana* (Gentianaceae). *Sida* 7: 232-247.
- ROMERO ZARCO, C. — (1986). A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-530.
- SHIGENOBU, Y. — (1984). Karyomorphological studies in some genera of Gen-

- tianaceae II. *Gentiana* and its allied four genera. *Bull. Coll. Child Developm., Kochi Womens Univ.* 8: 55-104.
- SKALINSKA, M. — (1951). Cytological studies in *Gentiana* species from the Tatra and Pieniny Mts. *Bull. Acad. Polonaise Sci. et Lettres, Cl. Sci. Mat. et Nat., ser. B Sci. Nat.*, 1-3: 119-136.
- SMITH, H. — (1961). Problems relating to the *Gentiana cachemirica* of the 'Flora of British India'. *Kew Bull.* 15: 43-55.
- SNOW, R. — (1963). Alcoholic hydrochloric acid-carmin as a stain for chromosomes in squash preparations. *Stain Technol.* 38: 9-13.
- SOKOLOVSKAYA, A. P. — (1963). Cited from AGAPOVA, N. D. (ed.) 1990. Numeri Chromosomatum Magnoliophytorum Florae URSS. *Leninopoli.* pp. 426-428.
- (1968). A karyological investigation of the flora of the Korjakian Land. *Bot. Zurn.* 53: 99-105.
- & STRELKOVA, O. S. — (1938). Polyploidy in the high mountain regions of Pamir and Altai. *Compt. Rend (Doklady) Acad. Sci. URSS.* 21: 68-71.
- STEBBINS, G. L. — (1971). Chromosomal evolution in higher plants. *London* (Edward Arnold Ltd.).
- YUAN, Y.-M. — (1993). Karyological studies on *Gentiana* sect. *Cruciata* Gaudin (*Gentianaceae*) from China. *Caryologia* (in press).
- YURTSEV, B. A. & ZHUKOVA, P. G. — (1982). Chromosome numbers of some plants of the northeastern Yakutia (the drainage of the Indigirka River in its middle reaches). *Bot. Zurn.* 67: 778-787.
- ZHUKOVA, P. G. — (1966). Chromosome numbers in some species of plant of the northeastern part of the USSR. *Bot. Zurn.* 51: 1511-1516.
- (1967a). Chromosome numbers in some species of plant of the northeastern part of the USSR. II. *Bot. Zurn.* 52: 983-987.
- (1967b). Karyology of some plants cultivated in the Arctic-Alpine Botanical Garden. In: AVRORIN, N. A. (ed.), *Plantarum in Zonam Polareum Transportatio.* II. *Leningrad.* pp. 139-149.
- (1969). Chromosome numbers in certain plant species indigenous to the northeast of the USSR. IV. *Bot. Zurn.* 54: 1985-1990.
- (1980). Chromosome numbers and taxonomy of some species of the Anyui Mts. *Bot. Zurn.* 65: 651-659.
- (1982). Chromosome numbers of some plant species of northeastern Asia. *Bot. Zurn.* 67: 360-365.
- & PETROVSKY, V. V. — (1976). Chromosome numbers of some Western Chukotka plant species. II. *Bot. Zurn.* 61: 963-969.
- & TIKHONOVA, A. D. — (1971). Chromosome numbers of certain plant species indigenous to the Chukotsky Province. *Bot. Zurn.* 56: 868-875.

Address of the authors:

Yong-Ming Yuan* and Philippe Küpfer, Laboratoire de Phanérogamie, Institut de Botanique, Chantemerle 22, CH-2007 Neuchâtel, Switzerland.

* Permanent address: Department of Biology, Lanzhou University, Lanzhou, 730000, China.

ÉTUDE DE LA RÉACTIVITÉ DES THIOURÉES DANS LA SPHÈRE DE COORDINATION DE COMPLEXES OLIGONUCLÉAIRES DE RUTHÉNIUM

par

ULF BODENSIECK, HELEN STOECKLI-EVANS ET GEORG SÜSS-FINK

AVEC 6 FIGURES

AVANT-PROPOS

Le présent article est un condensé de chapitres choisis de la thèse de doctorat de l'un des auteurs (BODENSIECK 1992). Ce travail a été effectué au Laboratoire de chimie des organométalliques et de catalyse homogène de l'Institut de chimie de l'Université de Neuchâtel.

INTRODUCTION

Les thiourées englobent une famille de composés qui dérivent par substitution des atomes d'hydrogène du composé de base $\text{SC}(\text{NH}_2)_2$. Les thiourées présentent un effet anticorrosif et quelques-unes de ces substances peuvent être employées pour protéger des surfaces métalliques (OZA *et al.* 1985, AGRAWAL et NAMBOODHIRI 1990, FONDA et SKAWAGFEH 1991). L'inhibition de corrosion exercée par les thiourées a été attribuée à l'adsorption de ces molécules à la surface métallique, mais les modes d'interaction sont encore inconnus (OZA *et al.* 1985).

Dans le but d'étudier le mécanisme de coordination des thiourées à plusieurs atomes métalliques, nous avons choisi, en tant que modèle moléculaire d'une surface métallique, le dodécacarbonyltriruthénium. Les résultats d'une étude de réactivité des thiourées $\text{SC}(\text{NH}_2)_2$, $\text{SC}(\text{NHR})_2$ ($\text{R} = \text{Me}$, Et , ^iPr , ^tBu) et $\text{SC}[\text{N}(\text{CH}_3)_2]_2$ vis-à-vis du complexe $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ et les modes de fragmentation de ces molécules dans la sphère de coordination multicentre sont présentés.

Activation N-H

La réaction de $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ avec la thiourée et ses dérivés N,N'-diméthylrique et N,N'-diphénylique se déroule déjà à température ambiante: dans les clusters $(\mu_2\text{-H})\text{Ru}_3(\text{CO})_9(\mu\text{-}\eta_2\text{-R}^1\text{NCSNHR}^2)$ (fig. 2, composé 1: $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$,

fig. 2, composé **2**: $R^1=R^2=Me$, fig. 2, composé **3**: $R^1=R^2=Ph$) formés, un ligand $\mu_3\text{-}\eta^2$ -thiouréato ponté une ossature métallique triangulaire; l'atome de soufre lie deux atomes métalliques alors que l'un des deux atomes d'azote est coordonné d'une manière terminale au troisième atome de ruthénium. Un ligand hydrure, qui a été séparé de la thiourée par activation N-H, ponté les atomes métalliques coordonnés au soufre (BODENSIECK *et al.* 1990a).

Activation C-S

En faisant réagir le $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ avec du $\text{SC}(\text{NH}Et)_2$ et du $\text{SC}(\text{NHPr})_2$, on n'obtient pas seulement le complexe trinuéculaire analogue $(\mu_2\text{-H})\text{Ru}_3(\text{CO})_9\text{-}(\mu\text{-}\eta^2\text{-EtNCONH}Et)$ (fig. 2, composé **4**), mais aussi les clusters tétranucléaires (fig. 3) $\text{Ru}_4(\text{CO})_6(\mu_2\text{-CO})_3(\mu_4\text{-S})_2[\text{C}(\text{NHR})_2]^2$ (**5**: $R=Et$, **7**: $R=iPr$) et $\text{Ru}_4(\text{CO})_7(\mu_2\text{-CO})_3(\mu_4\text{-S})_2[\text{C}(\text{NH}Et)_2]$ (**6**: $R=Et$, **8**: $R=iPr$). De plus, le cluster hexanucléaire $\text{Ru}_6(\text{CO})_{14}(\mu_2\text{-CO})_2(\mu_4\text{-S})(\mu_3\text{-}\eta^2\text{-EtNCNH}Et)(\mu\text{-}\eta^2\text{-EtNCSNH}Et)$ (**9**) est formé en petites quantités par la réaction avec la diéthylthiourée. Les atomes de soufre, comme des ligands dialkyldiamino-carbéniques, résultent d'une rupture de la liaison C-S de la thiourée employée.

Les clusters tétranucléaires **5-8** (fig. 3) ont une ossature métallique presque plan-carré, rattachée par deux ponts μ_4 -soufre. L'arrangement de ces ligands carbéniques dans **5** et **7** est étonnant: ils ne sont pas seulement coordonnés à des atomes de ruthénium voisins, mais ils sont aussi alignés dans la même direction. Pour **6** et **8** (fig. 3), un ligand carbénique est remplacé formellement par un ligand carbonyle (BODENSIECK *et al.* 1992b).

Dans le complexe **9**, les six atomes de ruthénium sont arrangés en forme de bateau: les deux arêtes opposées d'un trapèze presque plan formé par quatre atomes métalliques sont pontées par des atomes de ruthénium. Ces atomes sont alignés du même côté du trapèze. Les bords pontés de cette manière ont des distances métal-métal remarquablement longues [3.081(3) Å, 3.231(3) Å]. Du côté tourné vers les ponts de ruthénium, le trapèze est coiffé par un ligand de μ_4 -soufre. De l'autre côté, l'ossature métallique est pontée par un ligand $\mu_3\text{-}\eta^2$ -diéthylthiouréato et par un ligand $\mu_3\text{-}\eta^2$ -diéthyldiaminocarbénique. L'atome de soufre du ligand thiourée lie une arête du trapèze sous forme de pont, alors qu'un atome d'azote est coordonné à l'atome de ruthénium qui recouvre ce bord. Le ligand diaminocarbénique est coordonné d'une manière semblable: un atome d'azote est μ_3 -ponté au bord opposé et l'atome de carbone du ligand carbénique est μ_2 -ponté au ruthénium restant (BODENSIECK *et al.* 1993).

La réaction du $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ avec la tétraméthylthiourée dans le THF à reflux conduit aux complexes tétranucléaires $\text{Ru}_4(\mu_2\text{-CO})_2(\text{CO})_7(\mu_4\text{-S})_2\text{-}[\text{C}(\text{NMe}_2)_2]_2$ (fig. 3, composé **10**) et $\text{Ru}_4(\mu_2\text{-CO})_2(\text{CO})_8(\mu_4\text{-S})_2[\text{C}(\text{NMe}_2)_2]$ (**11**), analogues à **5-8** (BODENSIECK *et al.* 1992d).

Sous pression de méthane et en utilisant le $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ en excès, on obtient, par contre, le cluster pentanucléaire anionique $[(\mu_2\text{-H})\text{Ru}^5(\mu_2\text{-CO})_3\text{-}(\text{CO})_{11}(\mu_4\text{-S})]^-$ (fig. 4, composé **12**). L'anion est facilement précipité sous forme de sel de tétraméthylformamidinium dans une solution concentrée de dichlorométhane du mélange réactionnel. En essayant de cristalliser **12** en présence de $[\text{N}(\text{PPh}_3)_2]\text{Cl}$, le complexe se déprotone pour former le dia-

nion $[\text{Ru}_5(\mu_2\text{-CO})_2(\text{CO})_{12}(\mu_4\text{-S})]^{2-}$ (**13**). Le composé neutre $(\mu_2\text{-H})_2\text{Ru}_5(\mu_2\text{-CO})_2(\text{CO})_{12}(\mu_4\text{-S})$ (**14**) peut être obtenu par protonation: en ajoutant HBF_4 à une solution diluée de **12**, le cluster neutre **14** précipite quantitativement. Dans des solvants apolaires, la solubilité de **14** est faible. Dans des solvants polaires comme le THF, par contre, **14** est dissous en formant spontanément **12**. Tous les trois clusters possèdent la même ossature: L'analyse aux rayons X de **13** montre un arrangement pyramidal carré de cinq atomes de ruthénium. Le côté ouvert de la pyramide est coiffé par un atome de soufre, ce qui conduit ainsi à une géométrie pseudo-octaédrique (BODENSIECK *et al.* 1992a).

Si la réaction du $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ avec le $\text{SC}(\text{NMe}_2)_2$ sous pression de méthane est exécutée en utilisant un excès de thiourée, elle ne conduit pas à **12**, mais à l'anion hexanucléaire $[(\mu_3\text{-H})\text{Ru}_6(\text{CO})_{15}(\mu_3\text{-S})_3]^-$ (fig. 4, composé **15**). Comme **12**, l'anion **15** cristallise sous forme de sel de tétraméthylformamminium dans une solution concentrée de dichlorométhane. L'anion **15** comporte une ossature métallique hexanucléaire presque planaire formant un grand triangle. Celui-ci est composé de quatre petits triangles. Quant à eux, les trois triangles périphériques sont pontés par des ligands μ_3 -soufre, le triangle central est coiffé par un ligand $\mu_3\text{-H}$. Tous les trois atomes de soufre se trouvent du même côté du plan métallique, tandis que l'hydrure est coordonné de l'autre côté du cœur métallique (BODENSIECK *et al.* 1991).

Activation C-H

D'autres types de clusters sont formés dans la réaction de $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ avec la N,N'-ditertiobutylthiourée (fig. 5): dans les produits $(\mu_2\text{-H})\text{Ru}_3(\text{CO})_9(\mu_3\text{-S})(\eta^2\text{-CH}_2\text{CMe}_2\text{NHCNH}^t\text{Bu})$ (**16**) et $(\mu_2\text{-H})\text{Ru}_3(\text{CO})_9[\mu_3\text{-SRu}(\text{CO})_3(\eta^2\text{-CH}_2\text{CMe}_2\text{NHCNH}^t\text{Bu})]$ (**17**) non seulement une rupture de la liaison C-S de la thiourée est observée, mais en plus, la liaison C-H d'un groupe tertio-butyle est additionnée de manière oxydante à un atome de ruthénium. Cette activation C-H a lieu dans l'obscurité et à température ambiante. L'ossature métallique de **16** consiste en un triangle de ruthénium qui lie les fragments de la thiourée employée: l'atome de soufre coiffe le triangle, pendant que l'atome de carbone du groupe carbénique et l'atome de carbone d'un groupe tertio-butyle sont coordonnés à un des atomes de ruthénium. Dans **17**, l'ossature du cluster consiste aussi en un triangle de ruthénium qui est coiffé par un atome de soufre. Contrairement à **16**, le ligand η^2 -diaminocarbenique est attaché à un quatrième atome de ruthénium coordonné au ligand soufre, qui est ainsi coordonné à quatre atomes de ruthénium de manière pseudo-tétraédrique (BODENSIECK *et al.* 1990b).

L'irradiation UV d'une solution de $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ et $\text{SC}(\text{NMe}_2)_2$ dans le THF à température ambiante conduit à la formation de $(\mu_2\text{-H})\text{Ru}_3(\text{CO})_9[\mu_3\text{-SRu}(\text{CO})_3(\eta^2\text{-CH}_2\text{NMeCNMe}_2)]$ (**18**). Le complexe **18** est un dérivé de **17** et contient un métallacycle à quatre atomes, $\text{Ru-CH}_2\text{-NMe-CNMe}_2$ (BODENSIECK *et al.* 1992d).

Dans les conditions thermiques modérées (THF, reflux), la réaction du $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ avec du $\text{SC}(\text{NMe}_2)_2$ donne non seulement des traces de **18** mais aussi les complexes $(\mu_2\text{-H})\text{Ru}_3(\text{CO})_8(\mu_3\text{-S})(\eta^2\text{-CH}_2\text{NMeCNMe}_2)$ (**19**) et $(\mu_2\text{-H})\text{Ru}_3(\text{CO})_8(\mu_3\text{-S})(\mu_2\text{-}\eta^2\text{-CH}_2\text{NMeCNMe}_2)$ (**20**). Le complexe **19**, sensible

à la lumière, est un dérivé de **16**; il est seulement isolé si la réaction est réalisée dans l'obscurité. Son isomère **20**, par contre, est stable à la lumière. Dans le cas de **20**, un ligand méthylènetriméthylidiaminocarbène relie deux atomes de ruthénium (BODENSIECK *et al.* 1992d).

Activation C-N

En augmentant la température à 140°C, la réaction du $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ avec le $\text{SC}(\text{NMe}_2)_2$ produit les nouveaux clusters (fig. 6) $\text{Ru}_4(\text{CO})_{10}-(\mu_2\text{-CNMe}_2)(\mu_3\text{-S})[\mu_3\text{-SRu}(\text{CO})_3(\eta^2\text{-CH}_2\text{NMeCNMe}_2)]$ (**21**), $\text{Ru}_5(\text{CO})_{11}(\mu_2\text{-CNMe}_2)_2-(\mu_4\text{-S})_2$ (**22**) et $\text{Ru}_4(\mu_2\text{-CO})_3(\text{CO})_6(\mu_4\text{-S})_2(\eta^2\text{-Me}_2\text{NCNMeCH}_2\text{CNMe}_2)$ (**23**). Ces composés résultent entre autres de la rupture d'une liaison C-N de la thiourée employée.

L'ossature de **21** consiste en quatre atomes de ruthénium arrangés d'une manière «papillon». Les côtés ouverts de ce cluster sont pontés par deux atomes de μ_3 -soufre. La base de l'ossature du cluster porte un ligand diméthylaminocarbynique pontant. Comme dans **18**, un atome de ruthénium supplémentaire, portant un ligand $\eta^2\text{-CH}_2\text{NMeCNMe}_2$, est coordonné à l'un des deux atomes de soufre. Dans le composé **22**, cinq atomes de ruthénium constituent un squelette métallique qui est complété par deux ligands μ_3 -soufre pour donner une bipyramide pentagonale déformée. Deux arêtes de l'ossature métallique sont pontées par des ligands μ_2 -diméthylaminocarbynique. Dans le cas **23**, quatre atomes de ruthénium forment une ossature presque plan-carré, pontée des deux côtés par des ligands μ_4 -soufre. Contrairement aux autres clusters de ce type présentés jusqu'ici, un ligand dicarbénique bidenté est lié à un des atomes métalliques (BODENSIECK *et al.* 1992c).

CONCLUSION

La réaction d'une série de thiourées sur le dodécarbonyltriruthénium a conduit à une diversité déconcertante de produits, dont la caractérisation structurale n'a pas seulement révélé différents modes de fragmentation des thiourées sur une surface métallique, mais aussi de nouvelles structures de l'ossature métallique de complexes oligonucléaires. Notamment les nouveaux complexes hexanucléaires qui ont été synthétisés dans le cadre de cette étude séduisent par l'esthétique de leurs architectures moléculaires.

Résumé

La fragmentation des thiourées sous l'influence de plusieurs atomes métalliques a été démontrée. Réagissant avec le dodécarbonyltriruthénium, les molécules de thiourées se désintègrent par activation des liaisons N-H, C-S, C-H ou C-N; les fragments résultant sont fixés à des atomes de ruthénium, ce qui donne naissance à de nouveaux complexes oligonucléaires comprenant des cœurs métalliques intéressants.

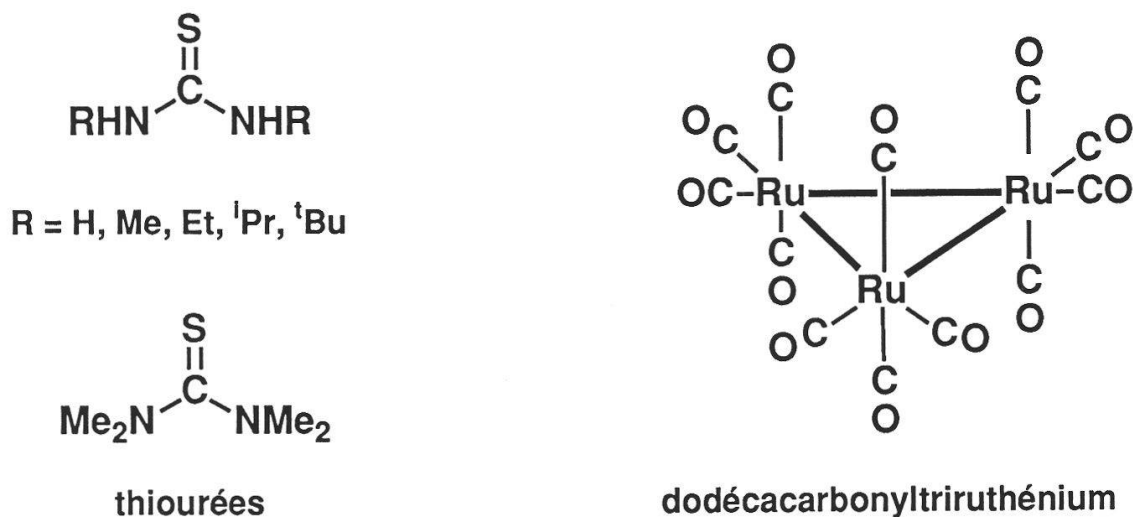


Fig. 1 — Système réactionnel de l'étude de réactivité des thiourées vis-à-vis d'un cluster métallique trinucéaire carbonylé



R	Composé
H	1
Me	2
Ph	3
Et	4

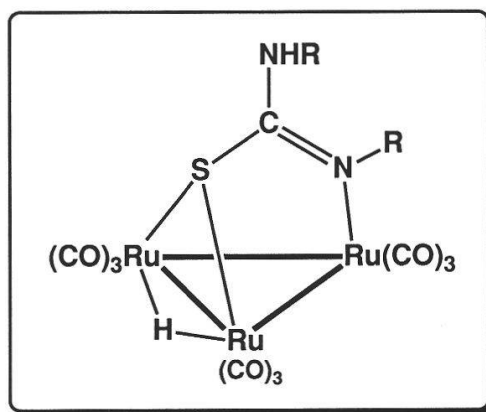
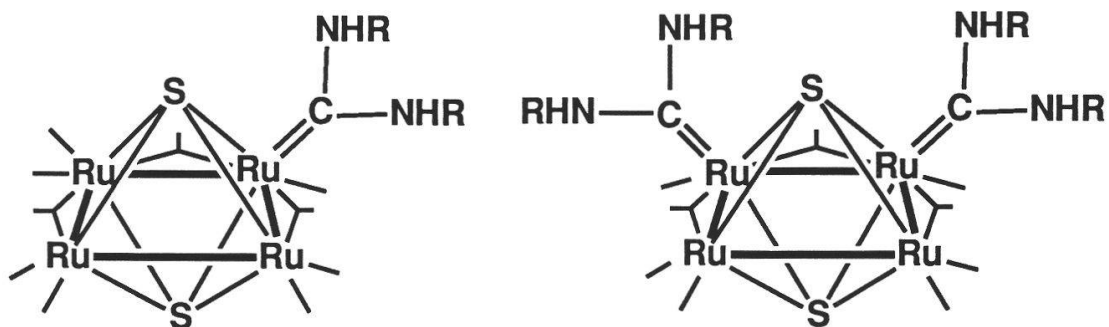
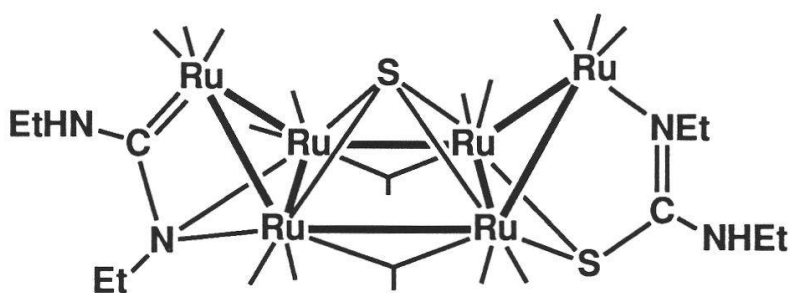


Fig. 2 — Activation N-H de la thiourée et des dérivés diméthylque, diphénylique et diéthylique sur le dodécacarbonyltriruthénium

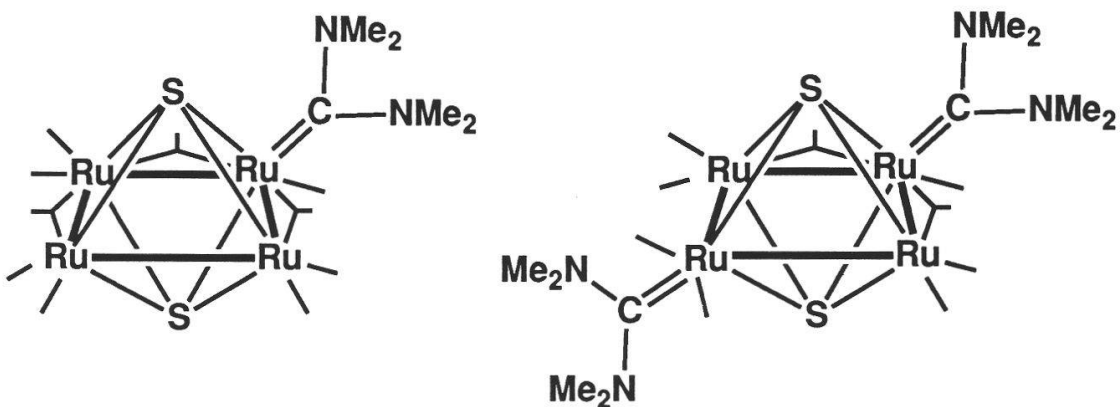


R = Et: 6, R = ⁱPr: 8

R = Et: 5, R = ⁱPr: 7



9



11

10

Fig. 3 — Produits d'activation C-S de la réaction des thiourées diéthylique, diisopropylique et tétraméthylque sur le dodécacarbonyltriruthénium

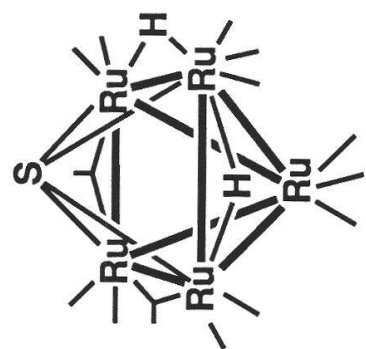
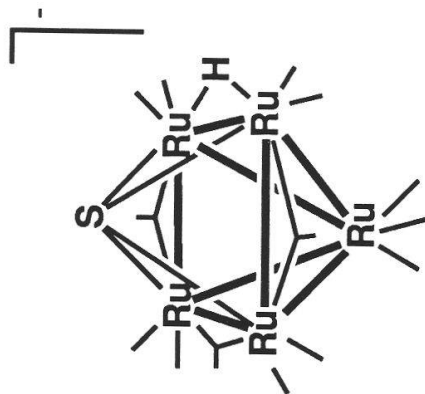
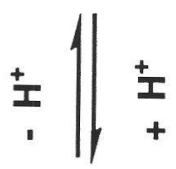
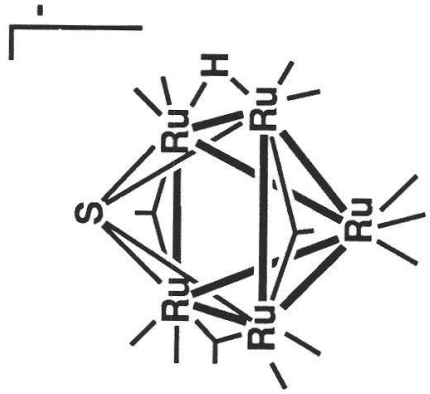
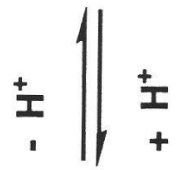
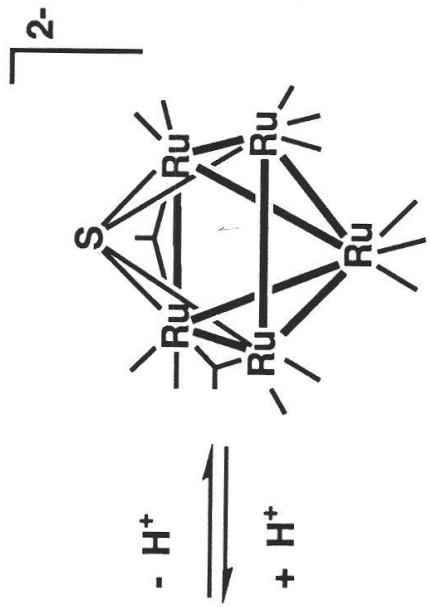
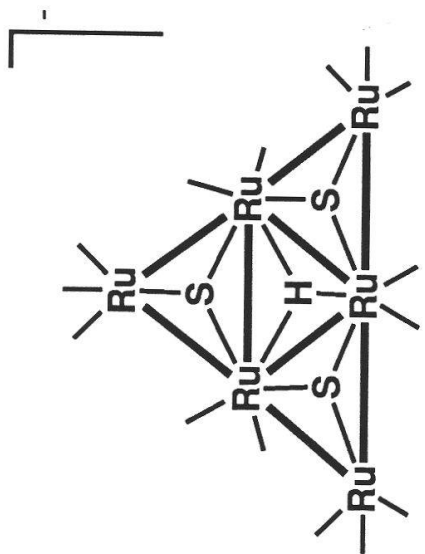


Fig. 4 — Composés isolés de la réaction d'activation C-S de la tétraméthylthiourée sur le dodécarbonyltriruthénium

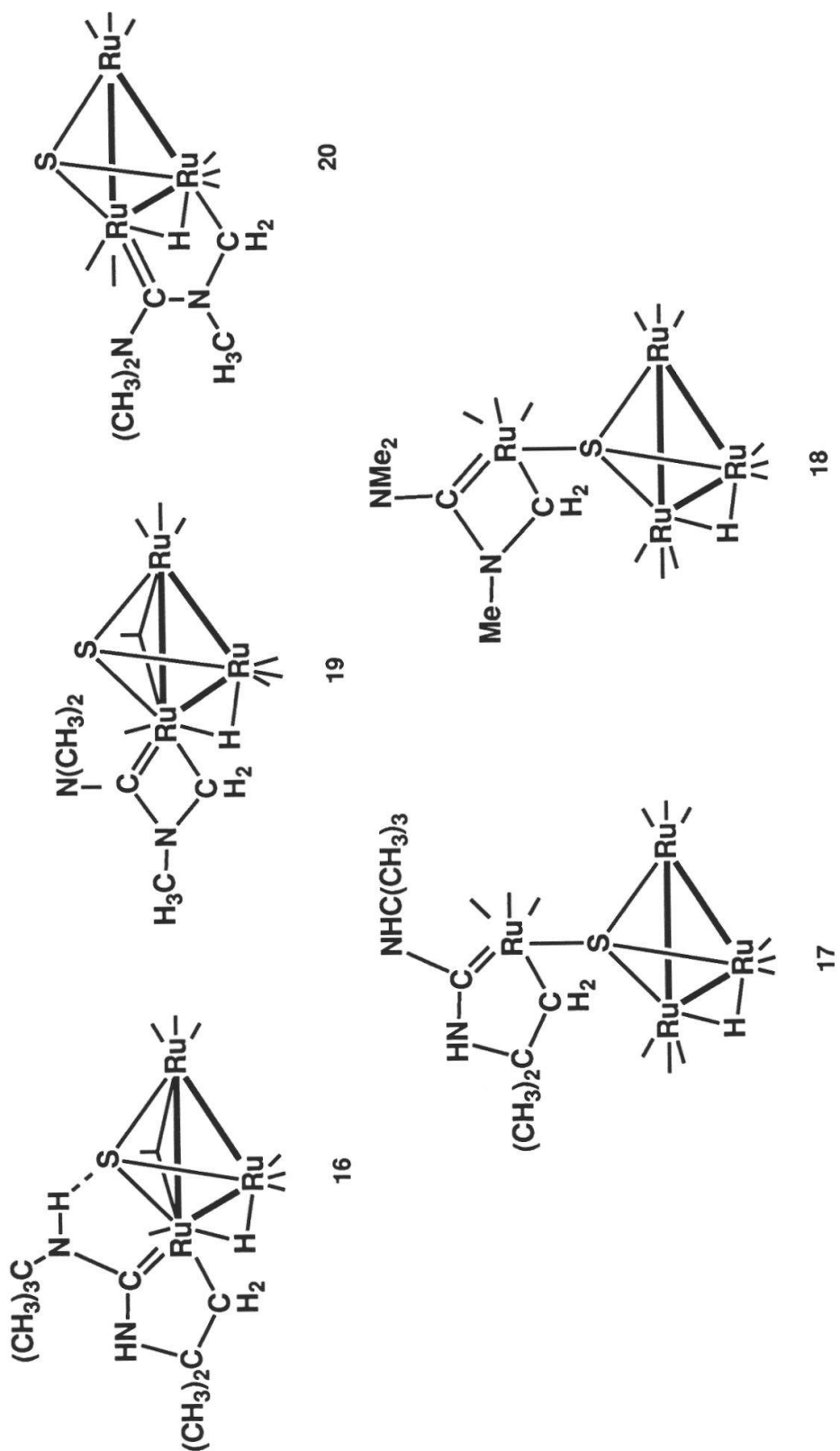


Fig. 5 – Produits isolés résultant de la réaction d'activation C-H des thiourées ditertiobutylique et tétraméthilique sur le dodécacarbonyltriruthénium

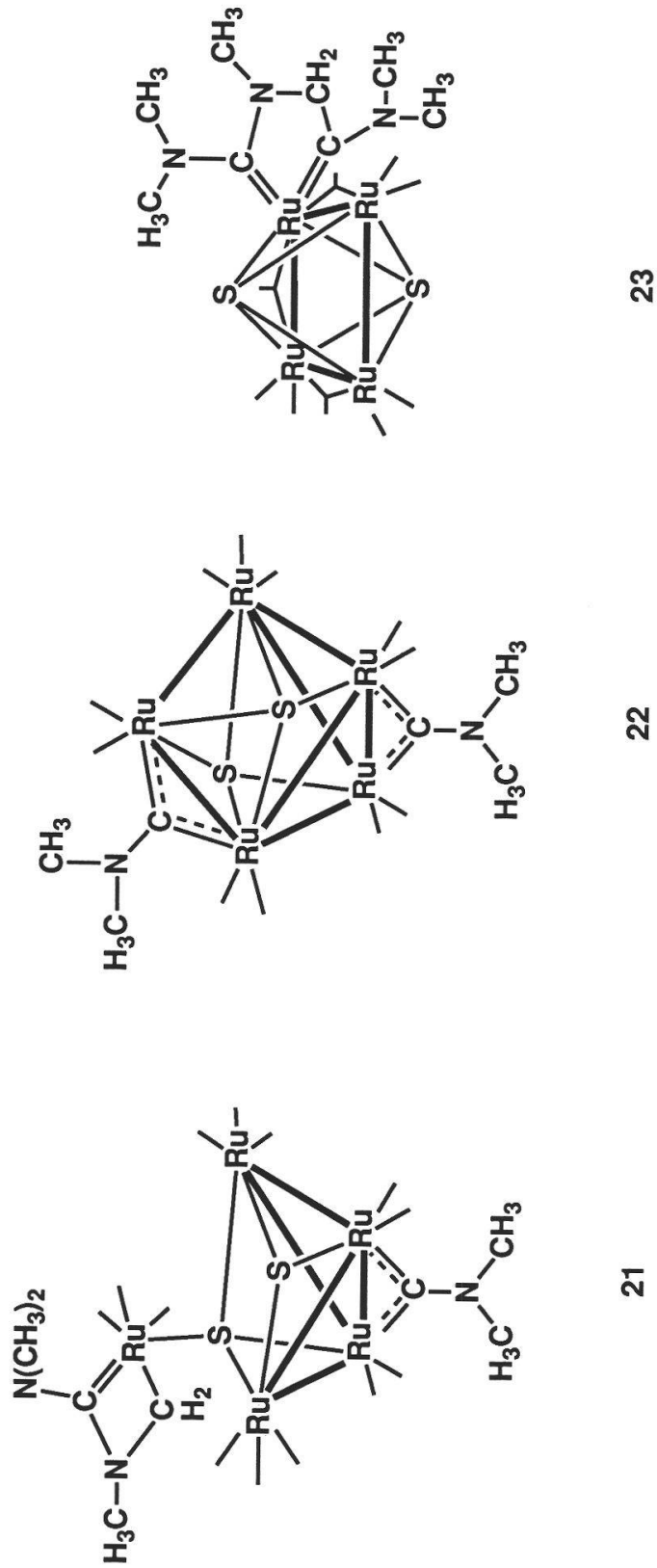


Fig. 6 — Produits isolés de la réaction d'activation C-N de la tétraméthylthiourée sur le dodécacarbonyltriruthénium

Summary

It has been shown that thioureas decompose in the reaction with dodecacarbonyl-triruthenium under the influence of several metal atoms. This fragmentation occurs under activation of N-H, C-S, C-H or C-N bonds; the resulting fragments are fixed to ruthenium atoms and give rise to the formation of novel oligonuclear complexes containing interesting metal cores.

Zusammenfassung

Es wurde gezeigt, dass Thioharnstoffe bei der Umsetzung mit Triruthenium-dodecacarbonyl unter dem Einfluss mehrerer Metallatome in verschiedenartige Bruchstücke zerfallen. Diese Fragmentierung verläuft unter Aktivierung von N-H-, C-S-, C-H- oder C-N-Bindungen des Thioharnstoffmoleküls; die Bruchstücke werden an Rutheniumatomen fixiert und geben Anlass zur Bildung überraschend neuartiger Mehrkernkomplexe mit interessanten Metallgerüststrukturen.

BIBLIOGRAPHIE

- AGRAWAL, R. et NAMBOODHIRI, T. K. G. — (1990). *Corros. Sci.* 30: 37.
- BODENSIECK, U. — (1992). Beiträge zur Koordinationschemie von Thioharnstoffen: Reaktionen mit Carbonylkomplexen des Rutheniums sowie des Chroms und Wolframs. *Thèse doctorat sci. Inst. Chim. Univ. Neuchâtel.*
- BODENSIECK, U., HOFERKAMP, H., STOECKLI-EVANS, H. et SÜSS-FINK, G. — (1993). *J. Chem. Soc. Dalton Transact.*, 127.
- BODENSIECK, U., MEISTER, G., STOECKLI-EVANS, H. et SÜSS-FINK, G. — (1992a). *J. Chem. Soc. Dalton Transact.*, 2131.
- BODENSIECK, U., SANTIAGO, J., STOECKLI-EVANS, H. et SÜSS-FINK, G. — (1992b). *J. Chem. Soc. Dalton Transact.* 255.
- BODENSIECK, U., STOECKLI-EVANS, H., RHEINWALD, G. et SÜSS-FINK, G. — (1992c). *J. Organomet. Chem.* 433: 167.
- BODENSIECK, U., STOECKLI-EVANS, H. et SÜSS-FINK, G. — (1990a). *Chem. Ber.* 123: 1603.
- BODENSIECK, U., STOECKLI-EVANS, H. et SÜSS-FINK, G. — (1990b). *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 267.
- BODENSIECK, U., STOECKLI-EVANS, H. et SÜSS-FINK, G. — (1991). *Angew. Chem.* 103: 1147, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30: 1126.
- BODENSIECK, U., STOECKLI-EVANS, H. et SÜSS-FINK, G. — (1992b). *J. Organomet. Chem.* 433: 149.
- FOUDA, A. S. et SKAWAGFEH, S. T. — (1991). *Bull. Soc. Chim. Fr.* 127: 30.
- OZA, R. M., VADHER, P. C., PATEI, A. B. et VORA, J. C. — (1985). *J. Electrochem. Soc. India* 34: 143.

Adresse des auteurs:

Institut de Chimie, Université de Neuchâtel, avenue de Bellevaux 51,
CH-2000 Neuchâtel, Suisse.

ANALYSE AÉROPALYNOLOGIQUE À NEUCHÂTEL ET À LA CHAUX-DE-FONDS EN 1992

par

BERNARD CLOT

AVEC 2 DIAGRAMMES ET 1 TABLEAU

INTRODUCTION

Cet article présente les résultats des analyses aéropalynologiques effectuées à Neuchâtel et à La Chaux-de-Fonds en 1992, au cours desquelles le pollen de 45 taxons et les spores de 3 genres de deutéromycètes ont été reconnus et comptés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La méthode de travail et l'emplacement des capteurs sont identiques à ceux de 1990 (CLOT B., 1991, Analyse aéropalynologique à Neuchâtel et à La Chaux-de-Fonds en 1990, *Bull. Soc. Neuchâtel. Sci. Nat.* 114:139-144).

Les analyses ont été effectuées:

- à Neuchâtel du 10 février au 11 octobre (pannes: 17-18.2 et 19.7),
- à La Chaux-de-Fonds du 2 mars au 4 octobre (pannes: 21.6, 20.9 et 24-30.8).

M.-L. Thossy, V. Pierlot et Y.-M. Yuan ont collaboré au travail d'analyse en 1992.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La synthèse des résultats journaliers est présentée au moyen d'un diagramme pour chaque station (Neuchâtel et La Chaux-de-Fonds).

Un tableau présente les dates d'apparition, ainsi que la date et la densité maximale dans l'air, du pollen des principaux taxons sources d'allergies.

La floraison des différentes espèces a eu lieu à des dates moyennes par rapport à nos 14 années de mesures.

La densité dans l'air du pollen de bouleau a atteint des valeurs exceptionnellement élevées du 13 au 27 avril. L'intense pollinisation du pin et de l'épicéa a été remarquée par tous, puisque du 14 au 19 mai tout le pays était

recouvert d'une fine poussière jaune. Le pollen des chênes était également très abondant aux mêmes dates. Les graminées ont par contre été assez discrètes cette année. Le pollen d'ambrosie, taxon d'origine américaine qui se répand rapidement en Europe, est chaque année plus abondant dans notre air. Cette situation est inquiétante, car les allergènes qu'il contient sont très actifs, et de nombreuses personnes y sont déjà sensibles dans la région neuchâteloise (Dr M. JAKUS, comm.pers.). Un individu d'*Ambrosia elatior* a d'ailleurs été trouvé près de Neuchâtel en 1992 par Mme DUCKERT-HENRIOD, alors que cette plante n'était plus mentionnée dans le canton depuis plusieurs années.

L'organisation des recherches aérobiologiques en Suisse sera modifiée dès 1993. L'analyse des données sera réalisée dans deux centres, à Zurich et Neuchâtel (à l'Institut de Botanique), sous l'égide de l'Institut Suisse de Météorologie.

TABLEAU
Dates d'apparition et densité maximale dans l'air du pollen des principaux taxons sources d'allergies

Taxon		Date de la première apparition	Date de la dernière apparition	Densité maximale dans l'air	
				Date	Grains par m ³ d'air
Alnus	NEU	??	14 avril +	7 mars	130
	CDF	??	27 avril	—	—
Corylus	NEU	??	9 avril +	1 ^{er} mars	260
	CDF	??	10 avril	3 mars	75
Fraxinus	NEU	24 mars	28 mai	22 avril	228
	CDF	30 mars	14 mai	12 avril	60
Betula	NEU	9 avril	24 mai +	22 avril	1750
	CDF	8 avril	23 mai	22 avril	65
Carpinus	NEU	11 avril	8 mai	20 avril	73
	CDF	8 avril	3 mai	—	—
Gramineae	NEU	25 avril	4 oct.	16 juin	140
	CDF	18 mai	25 sept.	28 juin	120
Quercus	NEU	4 mai	11 juin	10 mai	520
	CDF	8 mai	29 mai	16 mai	185
Urtica	NEU	4 mai	15 août	plusieurs dates	75
	CDF	15 juin	13 sept.		45
Artemisia	NEU	23 juil.	18 sept.	—	abondant localement
	CDF	—	—	—	
Ambrosia	NEU	21 août	14 sept.	28 août	60
	CDF	2 sept.	14 sept.	—	—

NEU = Neuchâtel

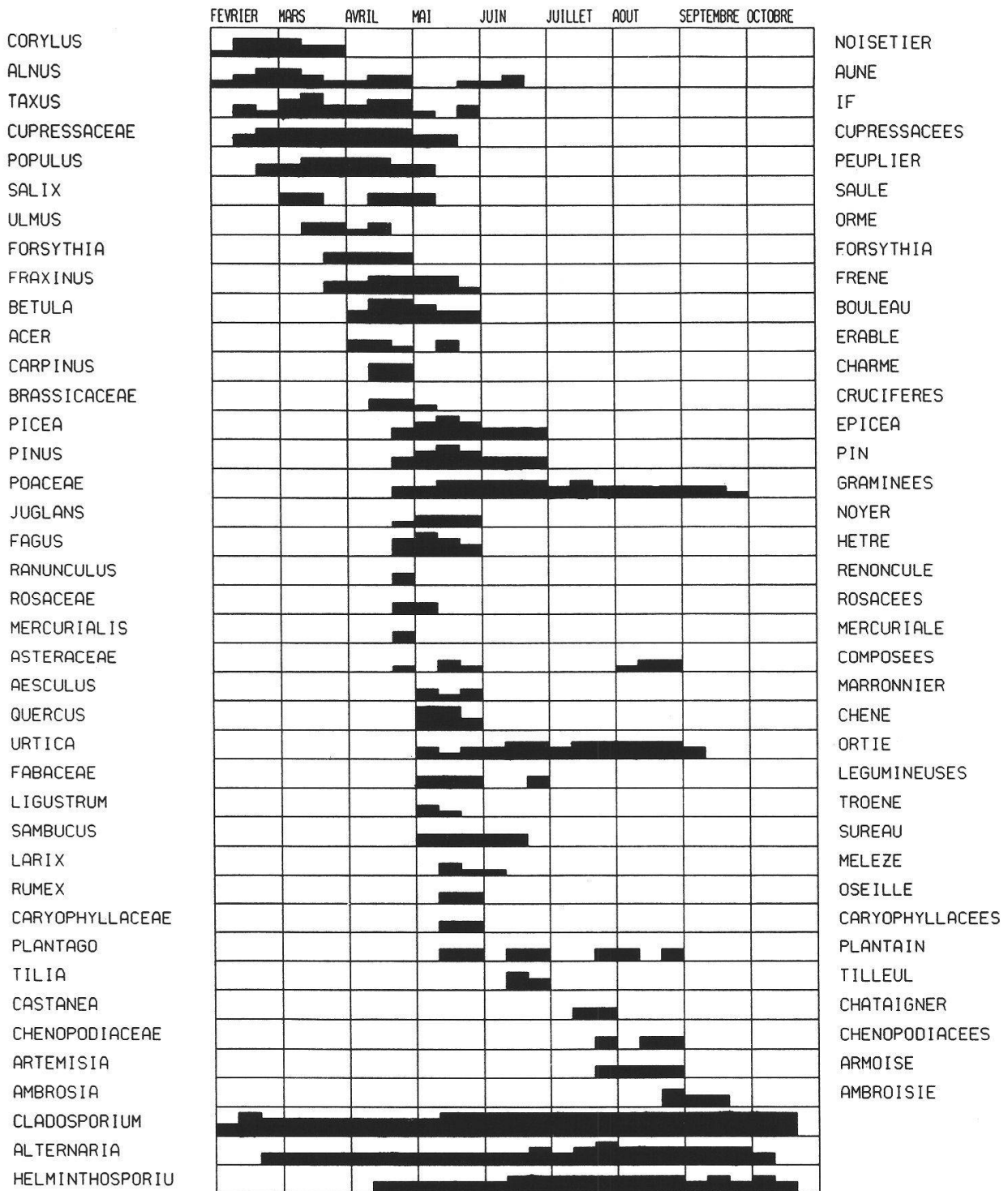
CDF = La Chaux-de-Fonds

+ = quelques apparitions tardives

?? = déjà présent au début des analyses

— = peu fréquent et peu abondant

DIAGRAMME POLLINIQUE DE NEUCHÂTEL (1992)



Grains par mètre cube d'air pendant 10 jours :

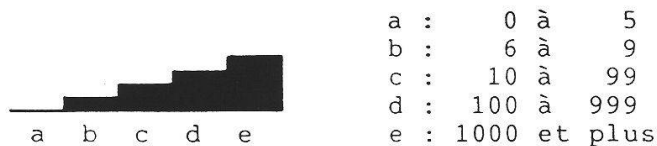
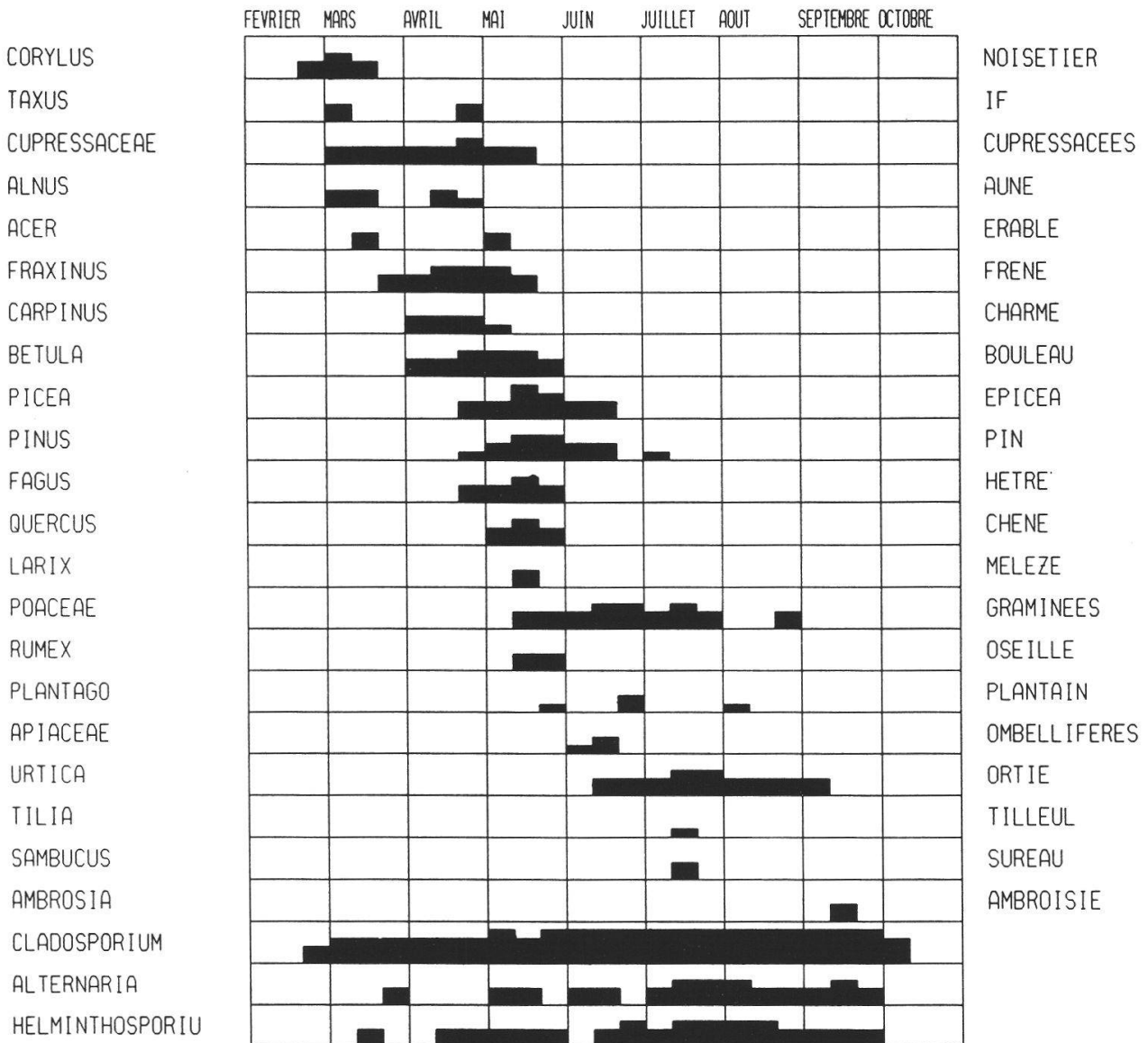
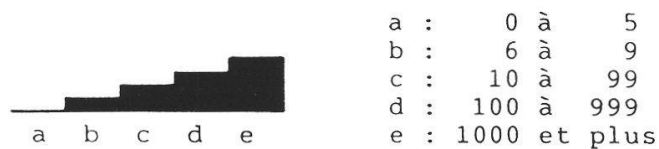


DIAGRAMME POLLINIQUE DE LA CHAUX-DE-FONDS (1992)



Grains par mètre cube d'air pendant 10 jours :



Adresse de l'auteur:
 Laboratoire de Phanérogamie, 22, chemin de Chantemerle, CH-2007 Neuchâtel

LE DIAGNOSTIC PARASITAIRE DANS LE CANTON DE NEUCHÂTEL RAPPORT D'ACTIVITÉ 1992

par

MICHEL BROSSARD, ADRIEN KINDLER, RETO LIENHARD, YVES MOOSMANN,
BERNARD RUTTI ET HARALD MODDE

AVEC 5 TABLEAUX

INTRODUCTION

Les résultats des examens de l'année 1992 du Laboratoire de diagnostic parasitaire de l'Institut de zoologie de l'Université de Neuchâtel, ainsi que les examens coprologiques de l'Institut neuchâtelois de microbiologie de La Chaux-de-Fonds sont présentés dans ce rapport. Des examens parasitologiques directs ont été effectués chez 1100 patients à Neuchâtel, 480 à La Chaux-de-Fonds et des sérologies chez 4320 personnes.

La sérologie de la borréliose de Lyme (qui représente toujours la majorité des analyses) s'est affinée avec le test de capture des IgM et le Western blot.

RÉSULTATS ET COMMENTAIRES

Examens directs

Sans tenir compte des infections à *Blastocystis hominis* qui sont courantes (212) et généralement sans répercussion clinique, 216 patients ont présenté une parasitose simple ou multiple en 1992; ce qui représente 16,4% des 1580 personnes examinées (tabl. 1 et 2).

22 espèces de parasites ont été diagnostiquées, principalement chez des personnes ayant séjourné sur d'autres continents. (Les voyages à l'étranger ne sont pas toujours signalés au laboratoire, ce qui explique le grand nombre de parasites de provenance inconnue.) Parmi les protozoaires (tabl. 1), relevons ceux provoquant des signes cliniques: *Plasmodium faciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium sp.* Les helminthes signalés (tabl. 2) peuvent tous provoquer des troubles cliniques plus ou moins prononcés. Une exception à signaler: *Dicrocoelium dendriticum* (petite douve) n'effectue le plus souvent qu'un transit intestinal après ingestion de foie parasité. La mise en évidence de cryptosporidies chez 2 patients souligne l'importance prise par ce dépistage depuis l'augmentation du nombre de personnes immunodéprimées.

Tableau 1

	Europe	Afrique	Amérique Sud/Centre	Asie	Provenance Inconnue	Total
Plasmodium falciparum		1				1
Plasmodium vivax					1	1
Plasmodium ovale		1				1
Cryptosporidium sp.					2	2
Entamoeba histolytica	2	5	1	3	13	24
Entamoeba coli	9	10	4	5	44	72
Entamoeba hartmanni		1	1			2
Endolimax nana	8	7	3	4	27	40
Pseudolimax bütschlii		1			4	5
Chilomastix mesnili	1	1			1	3
Giardia lamblia	5	3	2	8	25	43
Blastocystis hominis	18	12	10	21	162	223
Total	43	42	21	41		426

Tableau 2

	Europe	Afrique	Amérique Sud/Centre	Asie	Provenance Inconnue	Total
Ancylostoma sp.		2	1	1	2	6
Strongyloides stercoralis	1					1
Ascaris lumbricoides		2	1	1	1	5
Trichuris trichiura	3	5		4	14	26
Enterobius vermicularis	1				5	6
Dicrocoelium dendriticum					2	2
Taenia sp.					3	3
Hymenolepis nana				2	1	3
Schistosoma mansoni		1			2	3
Schistosoma haematobium					1	1
Total	5	10	2	8	31	56

Examens sérologiques

Pour la borréliose de Lyme (provoquée par *Borrelia burgdorferi*), la recherche d'anticorps (IgG & IgM) par ELISA et IFAT a été demandée pour 4045 personnes (tabl. 3); 571 patients (14,1%) se sont révélés positifs, 904 avaient une sérologie douteuse et 2570 étaient négatifs. Pour les 803 personnes testées au niveau du LCR, seules 66 (8,2%) présentaient un résultat positif. L'introduction du Western blot, technique rendant possible une analyse plus fine des résultats sérologiques positifs ou douteux, a déjà permis dans un certain nombre de cas d'exclure ou de confirmer le diagnostic sérologique de la borréliose.

La mise en évidence des IgM avec le test de capture augmente fortement la sensibilité du diagnostic sérologique (tabl. 4). En 1992, parmi 30 patients présentant un érythème migrant (EM), 65% présentaient des anticorps avec le test de capture contre 30% seulement avec le test d'immunofluorescence; chez ces mêmes patients, seuls 20% présentent des IgG sur le test ELISA.

Tableau 3

	Sérum	LCR
Positifs	571(14,1%)	66(8,2%)
Douteux	904(22,4%)	-
Négatifs	2570(63,5%)	737(91,8%)
Total	4045(100%)	803(100%)

Tableau 4

Test	Sensibilité
IFAT IgM	30%
Capt. IgM	65%
ELISA IgG	20%

Tableau 5

Serum	Spécificité
EBV IgM+	62%
Toxo IgM+	85%
Donneurs de sang	98%

La recherche des IgM s'avère utile lors d'un autre signe clinique précoce de la borréliose: la parésie faciale (PF). La sensibilité du test ne peut être définie pour ce groupe de patients car aucun signe clinique ne permet de déterminer l'étiologie d'une PF avec certitude. Toutefois l'évaluation du test nous permet d'affirmer que la mise en évidence des IgM est très utile pour la détermination des PF. Sur 36 patients présentant cette paralysie, 8 (22%) avaient une sérologie IgM positive. Dans ce groupe, 4 personnes mentionnaient une piqûre de tique ou un EM et 5 présentaient un liquide céphalorachidien (LCR) pathologique. Aucun des 28 autres patients (séro-négatifs en IgM) ne mentionnait de piqûre ou d'EM, et les LCR prélevés ($n=4$) étaient normaux. La sérologie IgG est généralement négative lors d'une PF.

Des résultats IgM faussement positifs sont observés avec des sérums présentant des IgM spécifiques du virus d'Epstein-Barr (EBV) ou de *Toxoplasma gondii* (tabl. 5). Les facteurs rhumatoïdes n'interfèrent par contre pas dans le test de capture.

Lors des phases chroniques de la borréliose, le dosage des IgM spécifiques n'est plus d'une grande valeur diagnostique; par contre le profil antigénique obtenu par immunoblot des IgG constitue une aide intéressante. Ce test permet d'une part d'évaluer le stade de la maladie et d'autre part de préciser la spécificité d'un test ELISA positif. Pour des valeurs ELISA limites, l'immunoblot peut augmenter la sensibilité. Il est par contre en général inutile en cas de sérologie ELISA négative.

Parmi les autres sérologies pratiquées pour 275 patients, 41 (14,9%) étaient positives: 12 helminthiases (1 toxocarose, 4 échinococcoses à *Echinococcus granulosus* et 1 à *E. multilocularis*, 1 schistosomiase, 3 ascaridioses et 2 strongyloïdoses). Pour les protozooses, ce sont principalement des cica-

trices sérologiques qui ont été mises en évidence (malaria et toxoplasmoses). Signalons encore parmi les sérologies de l'encéphalite à tiques (FSME), 15 personnes positives en IgG et 6 en IgM.

CONCLUSIONS

Durant 1992, 5900 personnes ont subi un examen parasitologique. Par examen direct, des parasites ont été détectés chez 238 patients. Par sérologie, 612 personnes présentaient des anticorps spécifiques d'une parasitose ou d'une maladie transmise par les tiques.

BIBLIOGRAPHIE

BROSSARD, M., KINDLER A., MODDE, H. — (1991). Le diagnostic parasitaire dans le canton de Neuchâtel. Rapport d'activité 1991. *Bull. Soc. Neuchâtel. Sci. Nat.* 115: 121-124.

Adresses des auteurs:

Michel Brossard, Adrien Kindler, Reto Lienhard, Yves Moosmann et Bernard Rutti: Institut de zoologie, Chantemerle 22, CH-2007 Neuchâtel.

Harald Modde: Institut neuchâtelois de microbiologie, Sophie-Mairet 17, CH-2300 La Chaux-de-Fonds.

OBSERVATIONS MÉTÉOROLOGIQUES FAITES EN 1992 À L'OBSERVATOIRE CANTONAL DE NEUCHÂTEL

par

GILBERT JORNOD

AVEC DIAGRAMME

L'année 1992 a été, en moyenne, chaude, légèrement déficitaire en insolation et quelque peu pluvieuse. Ces remarques appellent quelques commentaires d'ordre général: à l'exception de juin et octobre, tous les mois ont été thermiquement supérieurs à leur moyenne normale, bonne insolation et peu de précipitations en début d'année, tandis que les 3 derniers mois sont très pluvieux et très peu ensoleillés. Plus spécifiquement, les précipitations d'octobre, novembre et avril atteignent des hauteurs inhabituellement élevées, octobre n'a reçu que très peu de soleil et août et novembre ont été très chauds.

TEMPÉRATURE

La moyenne de la température de l'air est élevée: 10.3° (1991: 9.9°, normale: 9.2°); les moyennes saisonnières ont les valeurs suivantes: hiver: 1.1°, printemps: 10.5°, été: 19.1° et automne: 10.3°. Le mois d'août possède l'écart positif le plus important: + 3.5°, octobre concédant le plus grand déficit: - 0.7°. Les moyennes mensuelles sont comprises entre 0° en janvier et 21.5° en août et les moyennes journalières entre - 6.6° le 22 janvier et 27.1° le 9 août. L'amplitude absolue de la température de l'air, 42.6 (normale) est donnée par les extrêmes du thermomètre de - 9.3° le 23 janvier et 33.3° le 9 août. L'année compte 48 jours d'été, 37 de gel et 13 d'hiver, le dernier gel de printemps ayant eu lieu le 24 février et le premier gel de fin d'année datant du 19 octobre.

INSOLATION

L'insolation de 1529 heures (1991: 1707 h, normale: 1673 h) accuse un déficit de 144 h ou 9%; l'ensoleillement par saison est le suivant: hiver: 220 h (normale: 146 h), printemps: 527 h (515 h), été: 607 h (701 h) et automne: 205 h (311 h). Les mois de mars, juin, juillet, septembre, octobre, novembre et décembre sont déficitaires, avec un écart relatif maximal de - 67% (- 67 h) en octobre, le mois de janvier ayant bénéficié du meilleur ensoleillement relatif, + 58% (+ 22 h). L'ensoleillement mensuel est compris entre 23 h en décembre et 233 h en juillet (232 h en mai). L'insolation journalière maximale est de 13.6 h le 28 juin, 106 jours n'ont pas été

ensoleillés et 53 autres l'ont été par moins de 1 h. Les jours clairs sont au nombre de 55 tandis que 163 jours sont considérés comme étant très nuageux à couverts.

PRÉCIPITATIONS

Les précipitations qui s'élèvent à 1060 mm (1991: 853 mm) sont excédentaires de 84 mm, 9%, par rapport à leur valeur normale (976 mm); par saison, elles sont de 165 mm (normale: 229 mm) en hiver, 219 mm (211 mm) au printemps, 271 mm (290 mm) en été et 412 mm (246 mm) en automne. En plus d'octobre, novembre et avril, les mois de juin, juillet et décembre ont reçu plus de pluie que la normale, le maximum étant de +136% (99 mm) en octobre; le déficit relatif minimal est de -80% (62 mm) en janvier. Les précipitations mensuelles oscillent entre 15 mm en janvier et 178 mm en novembre (octobre: 172 mm). La hauteur journalière maximale récoltée est de 45.5 mm le 15 novembre. Il a plu au cours de 140 jours, neigé à 8 reprises et 12 orages proches de la station ont été observés. Avec une couche maximale de 4 cm le 17 février, le sol a été recouvert par la neige pendant 5 jours, 1 en janvier et 4 en février. La dernière neige de printemps date du 18 avril et, fait assez rare, aucun flocon n'est apparu en fin d'année.

PRESSION ATMOSPHÉRIQUE

La moyenne de la pression atmosphérique est assez élevée: 960.9 hPa (normale: 959.6 hPa); les extrêmes enregistrés par le baromètre de la station, 980.2 hPa le 2 janvier et 928.3 hPa le 31 mars, donnent une amplitude absolue de la pression de 51.9 hPa (normale: 46.9 hPa). Les moyennes mensuelles s'échelonnent de 956.2 hPa en avril à 970.4 hPa en janvier.

HUMIDITÉ DE L'AIR

L'humidité relative moyenne de l'air, 75%, est pratiquement normale; les moyennes mensuelles sont comprises entre 65% en août et 87% en décembre et les moyennes journalières entre 97% le 30 novembre et 43% le 25 avril. La lecture minimale faite le 25 avril est de 27%. Les jours de brouillard au sol sont au nombre de 24, soit 4 en janvier et février, 1 en avril, 2 en septembre, 5 en novembre et 12 en décembre.

VENT

A la vitesse moyenne de 1.9 mètre/seconde, les vents ont accompli un parcours total de 59 120 km; les parcours d'avril, 6810 km, et septembre, 3011 km, sont les extrêmes mensuels, tandis que le parcours journalier maximal est de 682 km (28 km/h de vitesse moyenne) le 13 mai, du sud-ouest; le 21 décembre, avec 6 km, fut le jour le plus calme de l'année. La répartition des vents selon la rose du même nom est la suivante: nord-est et ouest: 23% chacun, sud-ouest: 19%, est: 12%, nord et sud: 8% chacun, nord-ouest: 5% et sud-est: 2%. La vitesse de pointe maximale atteinte par le vent à Neuchâtel-Observatoire est de 110 km/h les 15 avril et 25 octobre,

du sud-ouest, suivie de 90 km/h en juillet, 85 km/h en août, novembre et décembre, 80 km/h en juin et septembre et 75 km/h en février. Le vent n'a pas dépassé 65 à 70 km/h en janvier, mars et mai.

I. Températures moyennes

des stations météorologiques du canton de Neuchâtel

Altitude	Neuchâtel 487 m		Chaumont 1132 m	La Ch.-de-Fonds 1018 m	La Brévine 1042 m
	Moyenne 1901-1980	1992	1992	1992	1992
Décembre 1991 ..	°	°	°	°	°
Janvier 1992.....	0.0	0.0	-1.3	-2.7	-6.7
Février	1.2	2.6	0.0	-0.4	-2.6
HIVER	0.8	1.1	-0.9	-1.6	-4.4
Mars	4.8	6.6	2.6	2.3	1.8
Avril	8.8	9.3	5.1	5.0	4.7
Mai	13.3	15.5	11.4	11.0	10.0
PRINTEMPS ...	9.0	10.5	6.4	6.1	5.5
Juin	16.6	16.3	12.1	12.1	11.9
Juillet	18.6	19.6	15.4	15.5	15.6
Août	18.0	21.5	17.2	16.9	16.5
ÉTÉ.....	17.7	19.1	14.9	14.8	14.7
Septembre	14.7	15.2	11.3	11.5	11.1
Octobre.....	9.4	8.7	4.2	4.9	4.5
Novembre.....	4.4	7.1	4.2	4.7	3.2
AUTOMNE	9.5	10.3	6.6	7.0	6.3
Décembre	1.2	1.7	-0.4	0.2	-0.7
ANNÉE	9.2	10.3	6.8	6.8	5.8

La température moyenne est calculée de la façon suivante:

$$T_m = n - k(n - \text{Min})$$

T_m = Température moyenne journalière.

n = Moyenne des trois lectures journalières de 6 h 45, 12 h 45 et 18 h 45

k = Facteur variant selon le mois et la position de la station.

Min = Minimum de la température enregistrée entre l'observation du soir précédent et celle du soir du jour considéré.

II. Observatoire de Neuchâtel

Tableau annuel

	Décembre 1991	Janvier 1992	Février	HIVER	Mars	Avril	Mai	PRINTEMPS	Jun	Juillet	Août	ÉTÉ	Septembre	Octobre	Novembre	AUTOMNE	Décembre	ANNÉE	
1	Température maximale, en °C ..	9.3	9.4	12.0	12.0	15.2	24.4	27.9	27.9	26.9	31.5	33.3	33.3	23.9	18.0	15.3	23.9	10.6	33.3
	minimale	-5.2	-9.3	-7.2	-9.3	1.0	0.7	3.5	0.7	8.5	11.7	11.1	8.5	6.0	-0.8	-1.5	-1.5	-5.6	-9.3
	amplitude	14.5	18.7	19.2	21.3	14.2	23.7	24.4	27.2	18.4	19.8	22.2	24.8	17.9	18.8	16.8	25.4	16.2	42.6
	variation diurne moyenne ..	3.5	4.2	6.4	4.7	7.4	8.2	8.7	8.1	8.8	9.4	10.7	9.6	8.2	4.6	4.3	5.7	2.8	7.0
2	Insolation, moy. 1931-1980, en h		38	77	146	138	173	204	515	228	249	224	701	166	100	45	311	31	1673
	1992	53	60	107	220	120	175	232	527	148	233	226	607	147	33	25	205	23	1529
	(La Chaux-de-Fonds)	141	149	134	424	98	165	193	456	127	183	223	533	150	50	80	280	93	1645
3	Précipitations, en mm																		
	plus forte chute en 24 h	49.4	12.6	16.6	49.4	12.8	43.5	18.0	43.5	24.8	16.6	29.2	29.2	22.4	20.3	45.5	45.5	35.5	45.5
4	Pression atmosph., en mm Hg																		
	moyenne 1901-1980		960.6	959.0	959.7	957.9	957.1	958.6	957.9	960.3	961.0	960.7	960.7	961.6	960.4	959.2	960.4	959.5	959.6
	1992	970.5	970.4	967.8	969.6	959.7	956.2	960.5	958.8	956.5	960.9	959.6	959.0	962.7	952.6	961.9	959.1	961.7	960.9
	lecture maximale	981.1	980.2	975.2	980.2	976.3	968.6	970.3	976.3	965.1	968.8	967.5	968.8	968.3	965.8	976.3	976.3	974.0	980.2
	lecture minimale	951.1	951.0	953.6	951.0	928.3	933.2	949.5	928.3	948.7	951.9	945.9	945.9	953.9	937.6	943.9	937.6	936.0	928.3
	amplitude	30.0	29.2	21.6	29.2	48.0	35.4	20.8	48.0	16.4	16.9	21.6	22.9	14.4	28.2	32.4	38.7	38.0	51.9
	Humidité relative, en %																		
	moyenne 1901-1980		86	81	84	75	70	70	72	70	69	72	70	77	83	85	82	86	77
	1992	79	79	76	78	71	66	67	68	74	71	65	70	77	82	86	82	87	75
	lecture minimale	45	54	49	45	39	27	35	27	32	42	32	32	45	51	55	45	49	27
5	Vent, chemin parcouru, en km ..	6820	5150	4960	16 930	6400	6810	4750	17 960	3590	3710	4280	11 580	3010	5750	6350	15 110	4360	59 120
	direction dominante	NE	NE	SW+NE	NE	SW	W+NE	NE	W+NE	NE	S	W	W+NE	W	W+NE	W	W	NE+E	W+NE
	pointe maximale, en km/h ..	75	65	75	75	70	110	70	110	80	90	85	90	80	110	85	110	85	110
	direction	W	NE	SW	W+SW	W	W	W	W	N	NW	NW	NW	SW	W	W	W	W	W
	Nombre de:																		
6	jours d'été	—	—	—	—	—	4	—	4	6	6	16	22	44	—	—	—	—	48
7	jours clairs	5	2	9	16	5	7	9	21	7	4	4	7	15	5	—	5	3	55
8	jours très nuageux ou																		
	couverts	21	15	11	47	14	9	8	31	13	9	5	27	9	23	20	52	27	163
	jours sans soleil	16	10	8	34	6	5	2	13	3	1	1	5	16	14	14	44	26	106
9	jours de pluie	9	2	9	20	12	12	9	33	3	1	1	5	16	14	14	44	26	106
10	jours d'orages	—	—	—	—	—	3	1	4	15	12	8	35	12	19	21	52	9	140
11	jours de brouillard	3	1	3	7	—	1	—	1	3	1	1	5	2	—	—	2	1	12
12	jours de gel	14	15	11	40	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	5	7	12	24
13	jours d'hiver	9	8	2	19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	2	9	37
14	jours de neige	2	2	2	6	2	2	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8
15	jours avec sol enneigé	2	1	4	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5
	Neige, couche maximale, en cm	4	2	4	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4

Dernier gel de printemps: 24 février
Dernière neige de printemps: 18 avril

Premier gel d'automne: 19 octobre
Première neige de fin d'année: —

Cote maximale du lac: 429,82 m le 28 novembre
Cote minimale du lac: 428,90 m le 4 février

¹ Température moyenne, voir tableau I.

² Insolation. Moyenne 1931-1980: Valeurs adoptées pour la station de Neuchâtel.

³ Précipitations. Hauteur totale, voir tableau III.

⁴ Pression atmosphérique réduite à 0°. Moyennes et extrêmes des trois lectures journalières.

⁵ Répartition du parcours du vent suivant les différentes directions, voir tableau IV.

⁶ Jour d'été: Température maximale $\geq 25^\circ$.

⁷ Jour clair: Somme des trois estimations journalières de la nébulosité ≤ 5 . La nébulosité est exprimée en huitièmes de la voûte céleste couverts.

⁸ Jour très nuageux ou couvert: Somme précipitée ≤ 19 .

⁹ Jour de pluie: Pluie ou pluie mêlée de neige ≤ 0.3 mm d'eau.

¹⁰ Jour d'orages: Ne sont pris en considération que les orages proches à une distance ≥ 3 km de la station.

¹¹ Jour de brouillard: Brouillard à la station à l'exclusion de brouillard élevé.

¹² Jour de gel: Température maximale $\leq 0^\circ$, température minimale $< 0^\circ$.

¹³ Jour d'hiver: Température maximale $< 0^\circ$.

¹⁴ Jour de neige: Précipitations en neige ou neige mêlée de pluie ≤ 0.3 mm d'eau.

¹⁵ Jour avec sol enneigé: Le sol est recouvert de neige à plus de 50%.

III. Précipitations des stations pluviométriques du canton de Neuchâtel
en millimètres d'eau

Stations	Altitudes m	Janv.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Année	Plus forte chute en 24 heures		Nombre de jours ≥ 1.0 mm
Neuchâtel (Observ.) .	487																
moyenne 1901-1980		77	69	68	64	79	97	89	104	84	73	89	83	976			
1992		15	45	45	117	57	116	93	62	62	172	178	98	1060	46	15.11	127
Saint-Sulpice	760	26	148	175	185	92	130	143	108	108	235	346	105	1801	56	3.4	152
Couvet.....	750	23	91	118	128	82	104	134	89	79	159	246	93	1346	49	31.8	138
Combe-Garot.....	532	25	76	84	131	56	137	106	78	84	174	214	122	1287	41	4.12	132
La Brévine	1042	23	135	174	179	93	150	142	104	100	200	289	90	1679	53	31.8	152
Les Ponts-de-Martel .	1060	22	117	172	151	102	153	232	97	112	189	313	111	1771	73	2.7	142
Chaumont.....	1132	26	97	92	122	65	146	128	82	69	177	231	108	1343	43	3.4	135
Les Brenets	875	27	119	128	138	86	145	134	101	94	216	271	100	1559	52	31.8	144
Le Locle	920	26	145	149	143	76	160	190	114	96	187	294	110	1690	51	31.8	142
La Chaux-de-Fonds .	1018	21	101	150	124	81	132	126	108	96	196	270	85	1490	49	31.8	150
Boudevilliers.....	760	13	76	106	76	57	136	99	70	67	172	223	95	1190	43	3.4	126

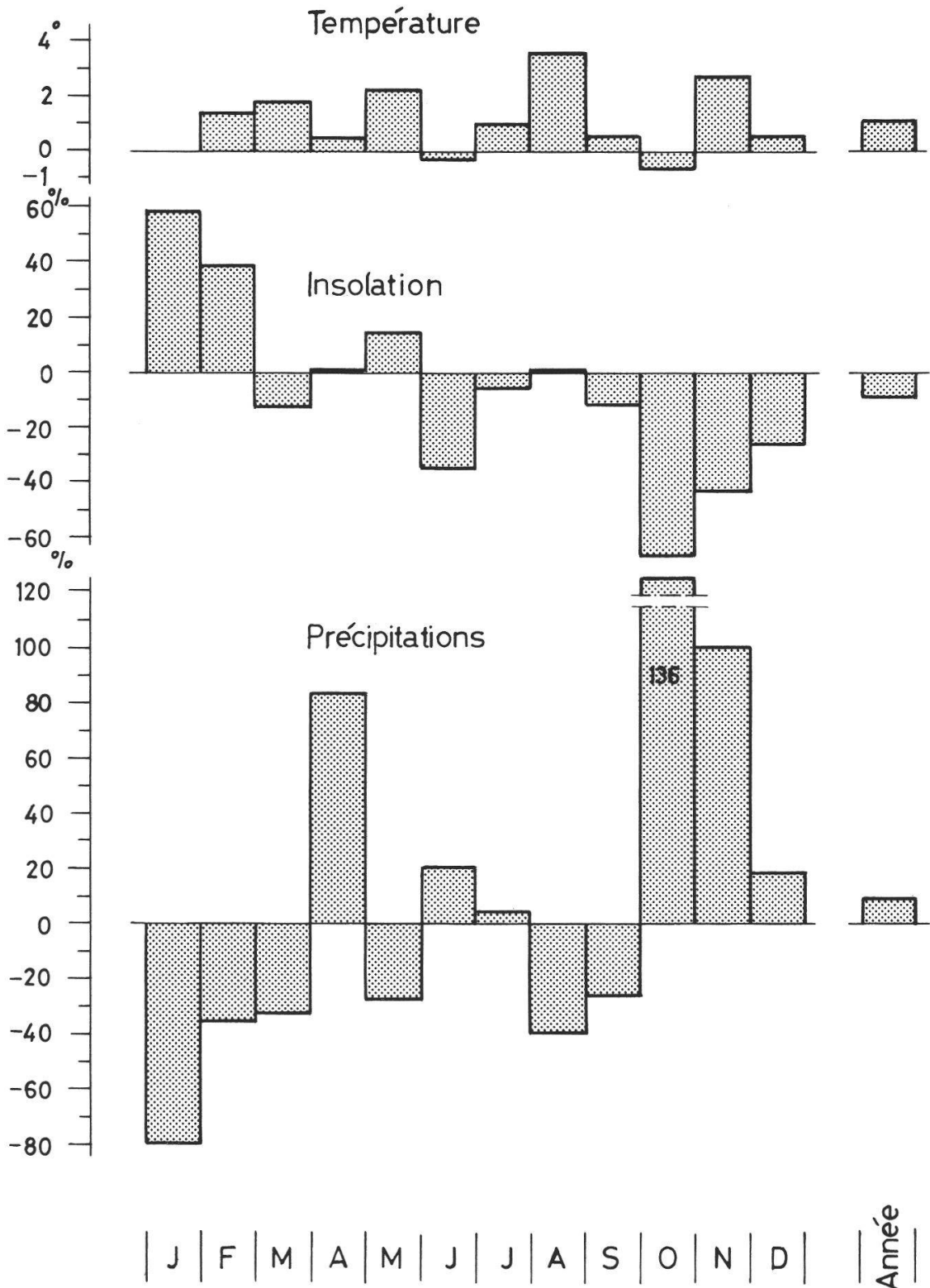
IV. Répartition du parcours total du vent suivant les huit directions principales à Neuchâtel (Observatoire)

en km

	N	NE	E	SE	S	SW	W	NW	Total
Décembre 1991	409	2 182	1 023	136	273	1 364	1 023	411	6 821
Janvier 1992 ..	149	2 578	773	161	412	619	309	154	5 155
Février	288	1 494	289	105	315	1 521	760	183	4 955
HIVER	846	6 254	2 085	402	1 000	3 504	2 092	748	16 931
Mars	576	640	384	193	512	2 048	1 728	320	6 401
Avril	136	1 634	885	204	409	1 090	1 771	681	6 810
Mai	561	1 496	636	112	524	374	710	337	4 750
PRINTEMPS	1 273	3 770	1 905	509	1 445	3 512	4 209	1 338	17 961
Juin	677	813	745	102	339	406	372	135	3 589
Juillet.....	333	630	556	111	815	446	482	333	3 706
Août	342	514	257	171	728	856	1 156	257	4 281
ÉTÉ	1 352	1 957	1 558	384	1 882	1 708	2 010	725	11 576
Septembre....	336	450	507	141	338	422	619	168	3 011
Octobre	453	1 721	272	45	226	1 132	1 766	136	5 751
Novembre	313	208	416	104	156	1 821	3 174	156	6 348
AUTOMNE ..	1 132	2 379	1 195	290	720	3 375	5 559	460	15 110
Décembre	314	1 257	1 217	78	118	628	668	79	4 359
ANNÉE.....	4 508	13 435	6 937	1 527	4 892	11 363	13 515	2 939	59 116
	8%	23%	12%	2%	8%	19%	23%	5%	

1992

Ecart par rapport aux valeurs normales



PROCÈS-VERBAUX DES SÉANCES

ANNÉE 1992

**Séance du 8 janvier 1992, tenue à 20 h 15
à l'Auditoire du Musée d'histoire naturelle
sous la présidence de M. Imre Müller, président**

Le Dr Alexandre Buttler, Institut de botanique de l'Université de Neuchâtel, présente un exposé sur l'*Etude d'impact de la régulation des lacs subjurassiens sur la végétation et les milieux de la rive sud du lac de Neuchâtel*.

A l'occasion de la mise en application du règlement 1980/82 de régulation des lacs de Neuchâtel, Bienne et Morat, le Conseil fédéral a invité les cinq cantons riverains à étudier les effets de ce règlement dans tous les domaines potentiellement sensibles. Les marais de la rive sud du lac de Neuchâtel constituent précisément un de ces milieux sensibles puisqu'ils sont, en partie du moins, liés aux fluctuations des eaux du lac. Depuis la seconde correction des eaux du Jura, des signes inquiétants de rupture d'équilibre écologique entre lac et marais y sont perceptibles, menaçant les communautés animales et végétales spécialisées.

Le but de l'étude d'impact est de mettre en évidence le jeu d'influence entre la nappe lacustre, la nature du substrat, la topographie et la pluviométrie.

A partir des observations de terrain, notamment dans les zones à altitude critique où le décalage fonctionnel entre le type de végétation ou de sol et le fonctionnement hydrique pourrait se faire jour, un modèle hydrodynamique sera mis au point. Celui-ci permettra de tester différents scénarios de régulation des eaux du lac et d'évaluer plus précisément leur impact écologique.

**Séance du 22 janvier 1992, tenue à 20 h 15
à l'Auditoire du Musée d'histoire naturelle
sous la présidence de M. Imre Müller, président**

Le Dr Gaston Fischer, Observatoire cantonal de Neuchâtel, présente un exposé sur les *Aspects méconnus du phénomène de gravité*.

La gravité nous semble à tous bien familière. Notre équilibre à la surface du sol et celui de tout ce qui nous entoure en dépendent. Mais au-delà de cette perception instinctive, la force de la gravité est bien mal connue. Pas plus que l'origine des forces électriques, nous ne connaissons celle de la gravitation. Notre propos n'est pas de lever ce mystère, peut-être à jamais insondable, mais d'étudier quelques-unes de ses conséquences. La forme du globe terrestre en est un, de même que celle du système solaire et des galaxies.

Bien que notre perception de la gravité soit celle d'un phénomène purement statique, nous verrons que son existence même nous oblige à concevoir l'existence d'ondes gravitationnelles, et une suite d'autres phénomènes insoupçonnés.

**Séance du 12 février 1992, tenue à 20 h 15
à l'Auditoire du Musée d'histoire naturelle
sous la présidence de M. Imre Müller, président**

Le Dr Lise Gern, Institut de zoologie de l'Université de Neuchâtel, présente un exposé sur *La maladie de Lyme: 1982-1992. Le dixième anniversaire d'une découverte.*

Willy Burgdorfer, un chercheur suisse établi aux USA, observe dans la tique *Ixodes dammini* une bactérie spiralée que l'on appellera *Borrelia burgdorferi* en son honneur. Il vient de découvrir l'agent infectieux responsable de la maladie de Lyme. Ceci se passe en 1982. Quelques mois plus tard, les chercheurs neuchâtelois participent à l'isolement de ce microorganisme à partir de tiques *Ixodes ricinus* récoltées en Suisse.

Ces découvertes apportaient enfin une réponse aux nombreuses questions soulevées à propos de l'origine de diverses manifestations de la peau, du système nerveux et des articulations observées chez l'homme, en Europe, depuis près d'un siècle déjà. Que sait-on de cette maladie aujourd'hui?

**Séance du 26 février 1992, tenue à 20 h 15
à l'Auditoire du Musée d'histoire naturelle
sous la présidence de M. Christophe Dufour, président**

Le Dr François Nyffeler, Institut de géologie de l'Université de Neuchâtel, présente un exposé sur *L'océanographie, mythe et réalité.*

Pour plusieurs générations encore, le Commandant Cousteau restera le portedrapeau des passionnés de plongée sous-marine. Images inoubliables et teintées de futurisme de «Monde Sans Soleil», feuilleton inépuisable des aventures de la CALYPSO...

Le principal mérite de cet homme hors du commun est sans aucun doute d'avoir sensibilisé l'opinion publique (et politique) aux choses de la mer. Son épopée n'est toutefois qu'une étape dans cette longue histoire des Sciences de la Mer, dont l'Iliade et l'Odyssée sont en fait les premiers prémices.

Nous allons donc passer quelques instants à faire abstraction des images et du merveilleux, pour nous plonger dans la réalité quotidienne de la recherche marine, pour essayer de mieux comprendre ses tenants et ses aboutissants, pour expliquer le rôle que peut jouer pour nous l'Océan, même si nous sommes confortablement installés entre le Jura et les Alpes. Car aujourd'hui, à l'échelle de la planète, il n'est plus mise de dire, comme Pagnol: «Surtout ne te penche pas trop et laisse un peu mesurer les autres...»

**Séance du 4 mars 1992, tenue à 20 h 15
à l'Auditoire du Musée d'histoire naturelle
sous la présidence de M. Christophe Dufour, président**

M. Willy Matthey, Institut de zoologie, Université de Neuchâtel, présente un exposé sur *Le sol, milieu vivant, milieu fragile*.

Pour le biologiste, le sol est un système complexe, abritant une grande variété d'êtres vivants, et jouant un rôle important dans la nature, puisque, d'une part, il constitue le support de la végétation terrestre, et que, d'autre part, c'est l'endroit où s'effectue la décomposition et le recyclage des déchets dans la plupart des écosystèmes.

Pour faire le point sur la santé de ce milieu vital, le Fonds national suisse de la Recherche scientifique a lancé en 1985 un vaste programme intitulé «Utilisation du sol en Suisse». Durant six ans, de nombreuses études ont eu lieu dans notre pays, toutes abordant l'un ou l'autre aspect de la connaissance des sols: aménagement du territoire, biologie, droit foncier, méthodes agricoles, pédologie, urbanisme, etc. Les résultats sont regroupés dans les quelque 8200 pages de 75 rapports.

**Séance du 11 novembre 1992, tenue à 20 h 15,
à l'Auditoire du Musée d'histoire naturelle,
sous la présidence de M. Christophe Dufour, président**

M. Jean-Claude Monney, Institut de zoologie, Université de Neuchâtel, présente un exposé sur *Nos vipères aspic et péliade*.

La vipère aspic et la vipère péliade sont nos deux espèces de serpents venimeux indigènes. On peut les distinguer en examinant leur écaillure céphalique et la forme de leur museau. L'étude de leur biologie dans la nature nécessite une reconnaissance individuelle des serpents, donc un marquage, et parfois également la radiotélé-métrie. Les vipères se nourrissent essentiellement de petits mammifères, de lézards et parfois de grenouilles. En montagne, en raison de la rigueur du climat, les femelles sont incapables de se reproduire chaque année. La péliade, qui peut vivre jusqu'au voisinage du cercle polaire, est l'espèce la mieux adaptée aux conditions les plus rudes. Dans l'Oberland bernois par exemple, dans une même station et à altitude égale, elle se reproduit en moyenne tous les deux ou trois ans et met au monde ses jeunes en septembre, alors que l'Aspic semble être à la limite de ses possibilités, ne se reproduisant que tous les trois ou quatre ans et donnant naissance aux vipéreaux en octobre. Pour leur nutrition, leur gestation et leur hivernage, les vipères sont souvent étroitement liées à des habitats particuliers. Si le milieu est hétérogène, on peut observer des migrations saisonnières entre ces différents habitats. Parmi les principales activités humaines contribuant à la raréfaction, voire à la disparition totale dans certaines régions de nos vipères, on peut citer l'enrésinement des forêts claires de feuillus, la destruction des murgiers, des lisières et des haies buissonnantes, le drainage des zones humides, le morcellement des grandes tourbières, l'emploi d'herbicides et la densification du réseau des routes de montagne.

**Séance du 25 novembre 1992, tenue à 20 h 15,
à l'Auditoire du Musée d'histoire naturelle,
sous la présidence de M. Christophe Dufour, président**

Le Dr André Langaney, Département d'anthropologie et d'écologie, Université de Genève; Musée de l'Homme, Paris, présente un exposé sur *Tous Parents, tous Différents: l'évolution humaine et le temps*.

La réunion des archives fossiles et des données de la génétique moléculaire permet aujourd'hui de mieux comprendre la chronologie et les modalités de l'évolution et de la diversification des populations humaines.

L'évolution des Primates supérieurs se superpose, dans le temps, à celle des Insectes de l'ambre, mais, alors que les genres actuels d'Insectes sont déjà présents parmi ces fossiles, le genre humain, lui, a été démontré beaucoup plus récent par les travaux des biochimistes.

Quant à notre espèce, sous sa forme actuelle, elle n'apparaît qu'il y a mille siècles, à partir d'une population unique dont, malgré quelques annonces prématurées, on n'est pas en mesure de localiser l'origine. Par contre, la confrontation de la répartition des gènes et de l'histoire des langues permet, de mieux en mieux, de reconstituer l'histoire récente et l'apparement des populations actuelles, avec des perspectives d'applications en épidémiologie et économie de la santé.

Les grands programmes internationaux d'étude de l'histocompatibilité et de la diversité du génome humain permettent ainsi d'espérer, pour bientôt, tant des applications utiles que de nouveaux progrès significatifs dans la connaissance de l'histoire des Hommes modernes.

**Séance du 9 décembre 1992, tenue à 20 h 15,
à l'Auditoire du Musée d'histoire naturelle,
sous la présidence de M. Christophe Dufour, président**

Le Dr Jean-Pierre Berger, Institut de géologie, Université de Fribourg, présente un exposé sur *Les différents visages de l'Europe depuis 50 millions d'années: données géologiques et paléontologiques*.

Durant l'ère Tertiaire, l'Europe a connu une succession d'événements tectoniques et sédimentaires (surrection des Alpes et des Carpates, effondrement et comblement du fossé rhénan, remplissage de bassins comme le plateau molassique, le bassin panonique ou la plaine du Pô) qui ont profondément bouleversé son cadre écologique et climatique (déplacement des mers, déplacement des masses d'air dû aux nouveaux reliefs, etc.). Certaines conditions extrêmes ont même parfois prévalu, tel l'assèchement de la Méditerranée il y a 10 millions d'années, ou l'avancée des glaces sur la majorité du continent il y a 100 000 ans. Il est évident que la composition de la faune et de la flore en a été fortement perturbée: ses changements ont été enregistrés et transmis jusqu'à nous grâce aux fossiles et aux sédiments qui les contiennent. C'est l'un des rôles de la Géologie et de la Paléontologie que de nous raconter les 50 derniers millions d'années d'histoire de notre continent, avec ses périodes tropicales et glaciaires, ses volcans et ses ouragans, ses invasions marines et ses déserts, bref tout ce qui, lentement, a façonné les paysages que nous habitons et la vie que nous y rencontrons.

Rapport sur l'activité de la Société en 1992

Comité — A la fin de 1992, la composition du comité est la suivante: MM. Ch. Dufour (président), I. Müller (vice-président sortant), Y. Delamadeleine (trésorier), Ph. Küpfer (rédacteur), A. Rawyler (secrétaire aux verbaux), R. Tabacchi (délégué ASSN), J.-C. Pedroli, P. Schürmann, E. Schwarz (assesseurs). Le poste de vice-président entrant est vacant.

Effectifs — Au 31 décembre 1992, la SNSN comptait 424 membres, dont 280 actifs, 6 membres à vie, 2 membres d'honneur, 66 membres comptant plus de quarante ans de sociétariat et 35 membres collectifs et divers (presse, bacheliers ayant reçu un prix de la SNSN).

Conférences —

- 8 janvier A. Buttler *Etude d'impact de la régulation des lacs subjurassiens sur la végétation et les milieux de la rive sud du lac de Neuchâtel;*
22 janvier G. Fischer *Aspects méconnus du phénomène de la gravité;*
12 février L. Gern *La maladie de Lyme: 1982-1992. Le dixième anniversaire d'une découverte;*
26 février F. Nyffeler *L'océanographie: mythe et réalité;*
4 mars W. Matthey *Le sol, milieu vivant, milieu fragile;*
18 mars M. Aragno *Le compostage: avantages et risques pour la santé humaine;*
29 avril D. Decrouez *Les marbres blancs d'Italie;*
27 juin Sortie d'été: «sur les traces des dinosaures»; visite de la carrière de Lommiswil (Soleure) et visite de la carrière de Liesberg.
11 novembre J.-Cl. Monney *Nos vipères aspic et péliade;*
25 novembre A. Langaney *Tous parents, tous différents: l'évolution humaine et le temps;*
9 décembre J.-P. Berger *Les différents visages de l'Europe depuis 50 millions d'années: données géologiques et paléontologiques.*

Bulletin — Le tome 115 comprend 147 pages et contient 11 articles, le rapport du Laboratoire de diagnostic parasitaire, l'analyse aéropalynologique à Neuchâtel et à La Chaux-de-Fonds, les observations météorologiques effectuées à l'Observatoire cantonal de Neuchâtel, les procès-verbaux des séances et les rapports statutaires.

Echanges — Etant donné la parution tardive du *Bulletin*, en décembre seulement, les échanges n'ont été effectués qu'en janvier 1993.

Prix aux gymnasiens — Section A: Catherine Perret, Section B: Katherine Tschopp, Section C: Mirko Nagel, Section D: Christine Rodeschini, Section G: Sylvain Muster.

Subventions et dons — Les subventions de l'Etat de Neuchâtel, de la ville de Neuchâtel et de l'Académie suisse des sciences naturelles permettent la publication de notre *Bulletin*. Nous leur en sommes très reconnaissants. Nous remercions vivement les Câbleries de Cortaillod et la Société de géographie de leurs dons. Nous leur exprimons ici toute notre gratitude.

Le président:
(signé) Christophe DUFOUR

COMPTE DE PROFITS ET PERTES 1992

<i>Libellé</i>	<i>Doit</i>	<i>Avoir</i>
	<i>Fr.</i>	<i>Fr.</i>
Subvention ASSN		18.000.—
Subventions		10.000.—
Taxes, ports, banque.....	229.20	
Frais d'administration	1.607.35	
Impôts	20.—	
Bulletin annuel.....	34.053.40	
Cycle de conférences.....	2.969.40	
Sortie d'été	986.80	
Cotisations à payer	606.—	
Prix baccalauréat.....	500.—	
Rétrocession FNRS	231.—	
Frais divers	35.—	
Pertes sur débiteurs.....	107.40	
Cotisations des membres		10.360.—
Dons		1.130.—
Contribution des auteurs		7.399.25
Vente de Bulletins		572.75
Vente de Mémoires		150.40
Produit des capitaux.....		3.093.80
Affectation aux provisions.....	7.600.—	
Reprise PP 1991		1.610.11
Totaux.....	48.945.55	52.316.31
Bénéfice de l'exercice	3.370.76	

BILAN DE CLÔTURE 1992

<i>Libellé</i>	<i>Doit</i>	<i>Avoir</i>
	<i>Fr.</i>	<i>Fr.</i>
CCP 20-1719-9.....	293.66	
UBS, 709.307.M1E	44.408.10	
CFN, 9030	2.798.15	
Titres	10.000.—	
Correctif sur titres.....		235.—
IA à récupérer	939.70	
Editions.....	1.—	
Produits à recevoir	12.554.95	
Charges à payer		34.460.80
Capital		15.000.—
Fonds Matthey-Dupraz		1.129.—
Fonds F. & S. Kunz		10.000.—
Provision Prix quinquennal.....		300.—
Provision publicité		2.000.—
Provision Musée		2.000.—
Provision numéro spécial 1992		2.500.—
Pertes et profits		3.370.76
Totaux.....	70.995.56	70.995.56

Les vérificateurs des comptes,
(signé) Pierre GUINAND, Claude MERMOD

Le trésorier,
(signé) Yves DELAMADELEINE

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
<i>Lise Gern, Suzanne Leuba-Garcia and Ellen Frossard</i> — Characterization and follow-up of the IgG antibody response against <i>Borrelia Burgdorferi</i> using western blot in a seropositive (Elisa) population from an endemic area	5
<i>Zhenqin Zhu, Lise Gern and André Aeschlimann</i> — A preliminary observation on the peritrophic membrane atrophy in engorged nymphal <i>Ixodes Ricinus</i> (Acari: Ixodidae) using light and electron microscopes	15
<i>Yves Gonseth</i> — Les lépidoptères diurnes (Rhopalocera) des milieux humides du canton de Neuchâtel I, les milieux à <i>Maculinea Nausithous</i> (Bergstr.), Lep. Lycaenidae	25
<i>Jean-Steve Meia, Sandrine Meyer et Stéphane Aubry</i> — Renards et lièvres dans le Jura suisse: ignorance réciproque	41
<i>Stéphane Plante, Camille Gervais, Norman Dignard et Gabriel Roy</i> — Examen chromosomique d'individus sains ou déprimés d' <i>Acer saccharum</i>	47
<i>Olivier Reymond et François Straub</i> — Phytoplancton du lac de Morat en 1988-1989: comparaison avec les données antérieures	55
<i>Yong-Ming Yuan and Philippe Küpfer</i> — Karyological studies on <i>Gentiana</i> sect. <i>Frigida</i> s.l. and sect. <i>Stenogyne</i> (<i>Gentianaceae</i>) from China	65
<i>Ulf Bodensieck, Helen Stoeckli-Evans et Georg Süss-Fink</i> — Etude de la réactivité des thiourées dans la sphère de coordination de complexes oligonucléaires de Ruthénium	79
<i>Bernard Clot</i> — Analyse aéropalynologique à Neuchâtel et à La Chaux-de-Fonds en 1992	89
<i>Michel Brossard, Adrien Kindler et Harald Modde</i> — Le diagnostic parasitaire dans le canton de Neuchâtel, rapport d'activité 1992	93
<i>Gilbert Jornod</i> — Observations météorologiques faites en 1992 à l'Observatoire cantonal de Neuchâtel	97
Procès-verbaux des séances, année 1992 et rapport sur l'activité de la Société en 1992	105