

Gaucher, Louis. - La membrane cellulaire chez les végétaux. Thèse présentée au concours d'agrégation (Section d'histoire naturelle et de pharmacie).

1904.

Montpellier : impr. Gustave Firmin, Montane et Sicardi

Cote : P30908

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

(1904) 13

THÈSE

Présentée au Concours d'Agrégation du 16 Avril 1904

SECTION D'HISTOIRE NATURELLE ET DE PHARMACIE

LA

MEMBRANE CELLULAIRE

CHEZ LES VÉGÉTAUX

PAR

LOUIS GAUCHER

DOCTEUR ÈS-SCIENCES
PHARMACIEN SUPÉRIEUR
LICENCIÉ ÈS-SCIENCES PHYSIQUES
LICENCIÉ ÈS-SCIENCES NATURELLES
CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ ET DU COURS DE BOTANIQUE
CRYPTOGAMIQUE A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER



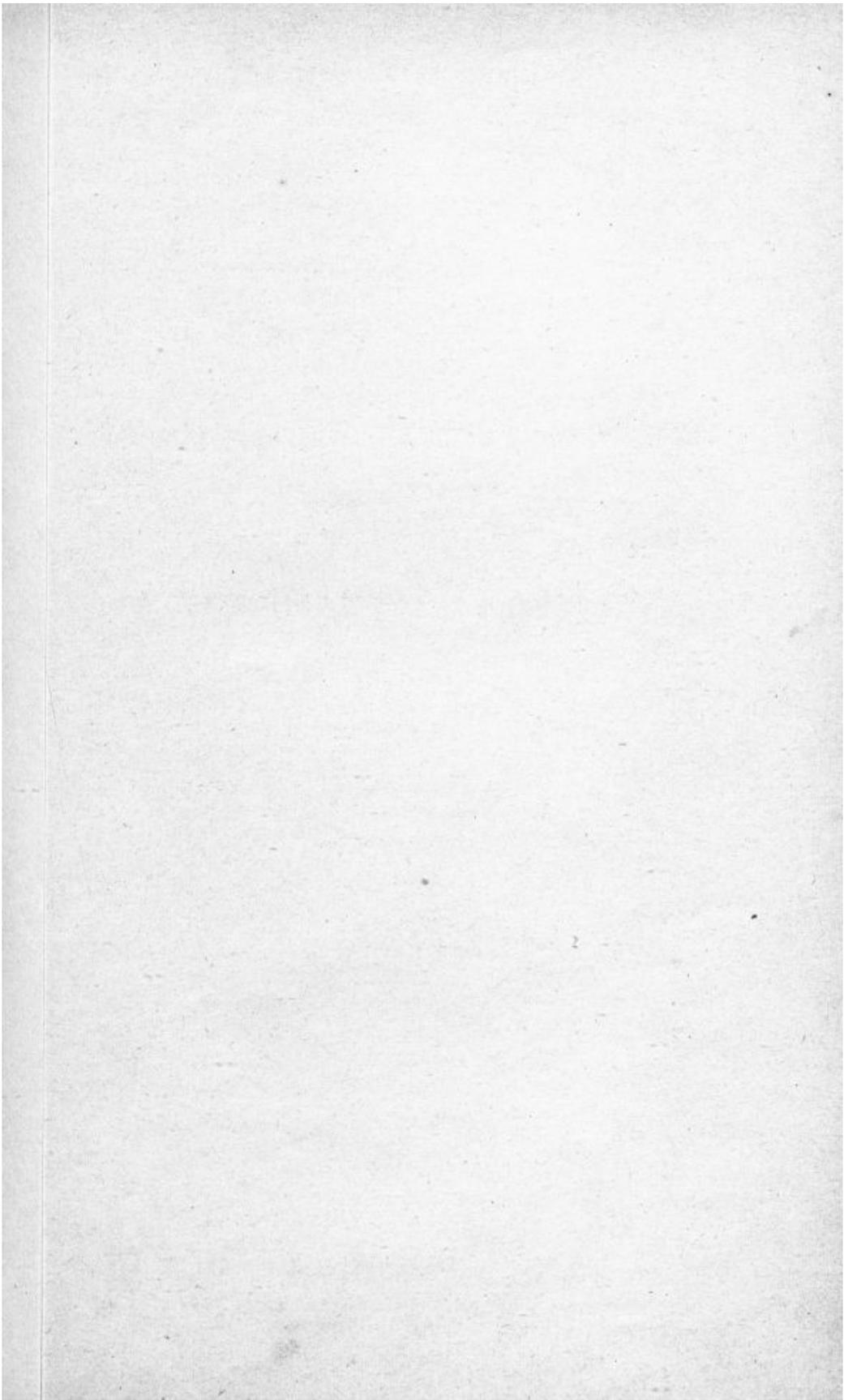
MONTPELLIER

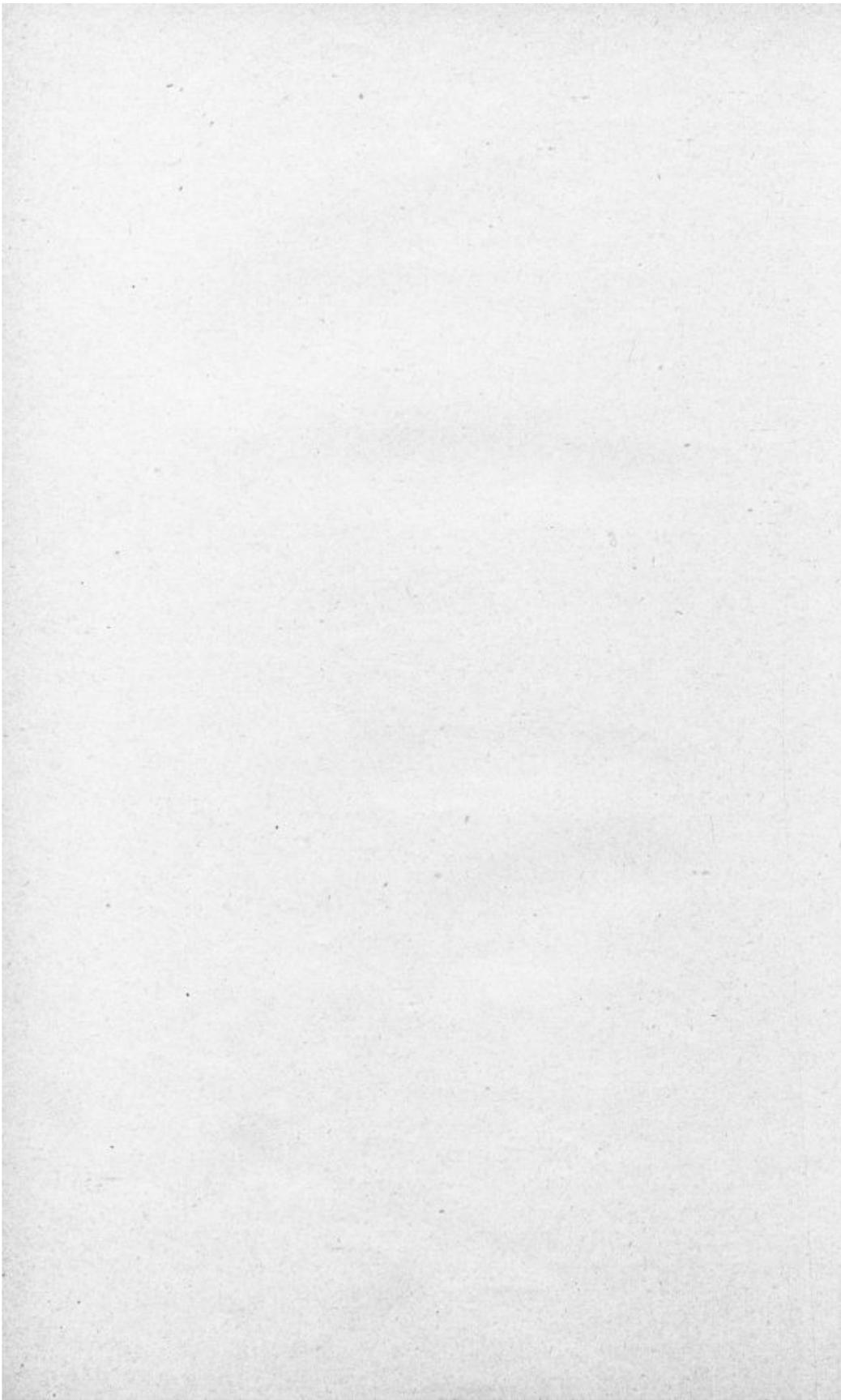
IMPRIMERIE GUSTAVE FIRMIN, MONTANE ET SICARDI

Rue Ferdinand-Fabre et quai du Verdanson

1904

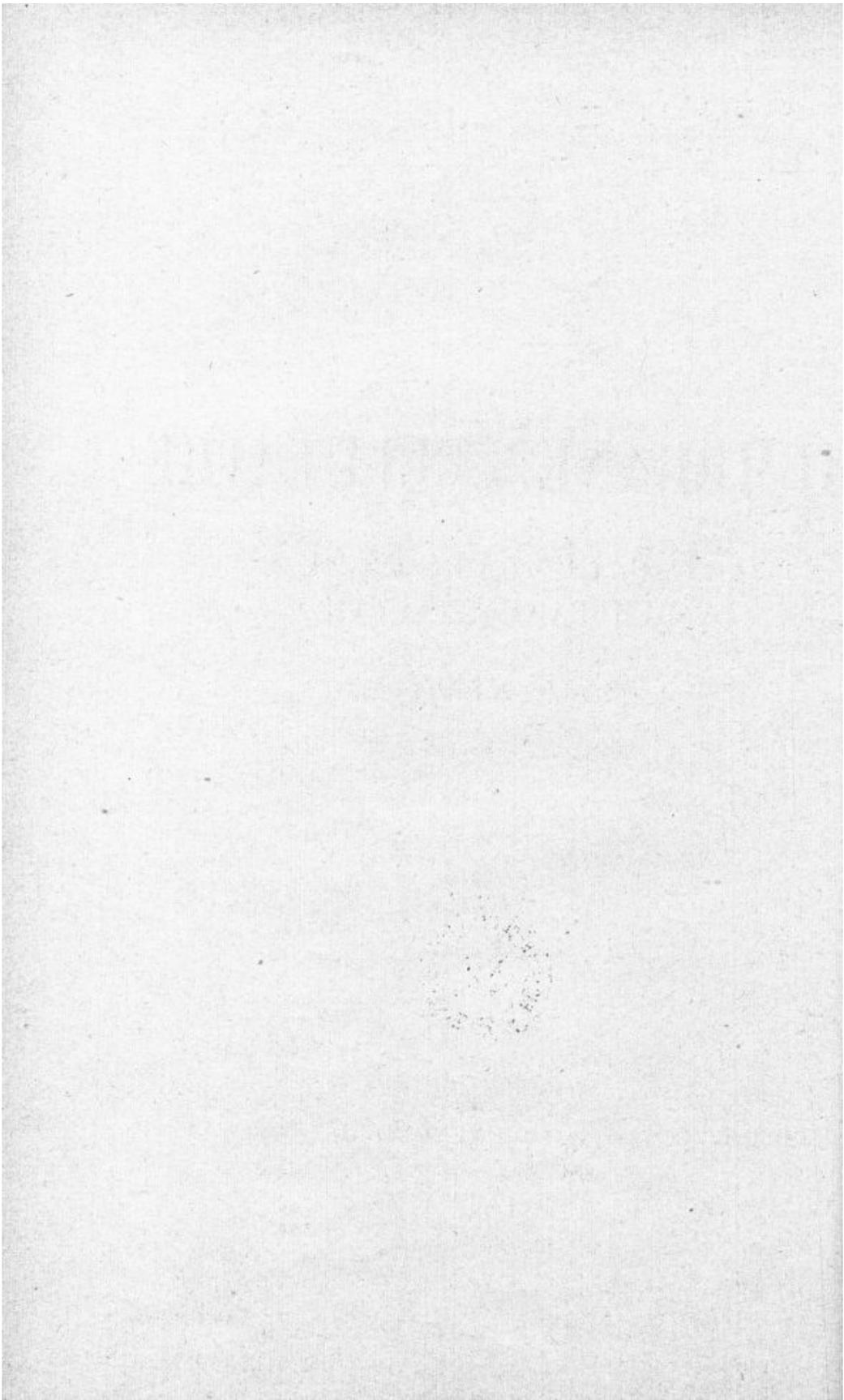






LA MEMBRANE CELLULAIRE

CHEZ LES VÉGÉTAUX



ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

THÈSE

Présentée au Concours d'Agrégation du 16 Avril 1904

SECTION D'HISTOIRE NATURELLE ET DE PHARMACIE

LA

MEMBRANE CELLULAIRE CHEZ LES VÉGÉTAUX

PAR

LOUIS GAUCHER

DOCTEUR ÈS-SCIENCES

PHARMACIEN SUPÉRIEUR

LICENCIÉ ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

LICENCIÉ ÈS-SCIENCES NATURELLES

CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ ET DU COURS DE BOTANIQUE

CRYPTOGAMIQUE A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER



MONTPELLIER

IMPRIMERIE GUSTAVE FIRMIN, MONTANE ET SICARDI

Rue Ferdinand-Fabre et quai du Verdanson

1904

CHAPITRE III

Accroissement de la membrane

	Pages
§ I. — ACCROISSEMENT EN SURFACE	36
BIBLIOGRAPHIE	39
§ II. — ACCROISSEMENT EN ÉPAISSEUR	39
Stratification de la membrane. — Lamelles d'accroissement	39
Les diverses couches de la membrane	43
Substance intercellulaire ou lamelle moyenne	45
Couche secondaire	47
Couche tertiaire	47
Marche de l'épaississement à la surface de la membrane	47
BIBLIOGRAPHIE	50
§ III. — ROLE DU NOYAU DANS LE DÉVELOPPEMENT DE LA MEMBRANE	52
A. Le noyau et la formation de la membrane	52
B. Le noyau et l'accroissement de la membrane	57
BIBLIOGRAPHIE	60

CHAPITRE IV

Pores et Ponctuations

§ I. — PORES	63
§ II. — PONCTUATIONS	64
§ III. — PLASMODESMES.	67
<i>Origine et développement des plasmodesmes</i>	68
<i>Répartition</i>	69
<i>Rôles physiologiques des plasmodesmes</i>	70
Transmission des sensations	70
Transport des matériaux nutritifs	71
Les plasmodesmes conducteurs des ferments	72

Conséquences de l'existence des plasmodesmes. . .	74
La membrane est-elle perforée ?	75
BIBLIOGRAPHIE	78

CHAPITRE V

Striation

§ I. — STRIATION PROPREMENT DITE.	80
§ II. — "LAMELLATION" TRANSVERSALE	88
§ III. — LIGNES DE DÉPLACEMENT.	90
BIBLIOGRAPHIE	91

CHAPITRE VI

Les théories sur la constitution et le développement de la membrane

§ I. — FORMATION DE LA MEMBRANE	93
Membrane du grain de pollen	98
§ II. — ACCROISSEMENT DE LA MEMBRANE	99
<i>Théorie de l'apposition</i>	99
La Turgescence	99
<i>Théorie de l'intussusception</i>	108
<i>Théorie de Wiesner</i>	110
<i>Travaux de Strasburger</i>	111
CONCLUSIONS	115
BIBLIOGRAPHIE	116

DEUXIÈME PARTIE

CONSTITUTION CHIMIQUE DE LA MEMBRANE

CHAPITRE PREMIER

Généralités sur la constitution chimique de la membrane

	Pages
A. PHANÉROGAMES ET CRYPTOGAMES VASCULAIRES.	119
Constitution de la jeune membrane. — Processus chimique de son développement	119
Membrane des cellules mères et des grains de pollen	121
B. — MOUSSES	122
C. — ALGUES	122
D. — CHAMPIGNONS	123
<i>Mucorinées</i>	123
<i>Péronosporées</i>	124
<i>Urédinées, Ustilaginées</i>	124
<i>Ascomycètes</i>	124
<i>Basidiomycètes</i>	125

CHAPITRE II

Substances fondamentales de la Membrane

§ I. — CELLULOSE ET SES HOMOLOGUES	127
CELLULOSE PROPREMENT DITE	129
<i>Cristallisation de la Cellulose</i>	130
RÉACTIONS COLORANTES DE LA CELLULOSE	132
A. Réactifs iodés.	133
B. Matières colorantes artificielles	134
TECHNIQUE	134

CHAPITRE III

Substances incrustantes de la membrane

	Pages
§ I. — LIGNINE	170
Répartition de la lignine chez les végétaux . . .	170
Sa localisation dans la paroi cellulaire	173
Epoque de l'apparition de la lignine	174
CONSTITUTION CHIMIQUE DE LA MEMBRANE LIGNIFIÉE	175
a) <i>Substances fondamentales</i>	175
b) <i>Principe lignifiant.</i>	176
Hadromal	179
c) <i>Substances accessoires</i>	182
RÉACTIONS COLORANTES DES MEMBRANES LIGNIFIÉES	184
TECHNIQUE.	189
Phloroglucine chlorhydrique	189
Sulfate d'aniline	189
Réactif de Maule	189
Fuchsine ammoniacale	189
Carmino-vert	189
BIBLIOGRAPHIE	191
§ II. — SUBÉRINE	194
Répartition de la subérine chez les végétaux . .	194
Constitution de la membrane subérifiée	195
Composition chimique de la subérine	196
Réactions de la subérine	197
TECHNIQUE	198
a) Réaction de HÖHNEL.	198
b) Réaction de GILSON	198
c) Emploi de la teinture d' <i>Alkanna</i>	198
Triple coloration de la subérine, des parois ligni- fiées et des membranes pecto-cellulosiques . .	198
§ III. — CUTINE	199
Constitution et caractères chimiques de la cutine.	199
§ IV. — CIRE.	200
Constitution et caractères chimiques	200
Structure du revêtement cireux	201

	Pages
§ V. — AUTRES SUBSTANCES INCRUSTANTES DE LA MEMBRANE .	202
<i>Sphagnol.</i>	202
<i>Tanins</i>	202
<i>Matières colorantes</i>	202
<i>Résine.</i>	203
<i>Chitine</i>	203
<i>Matières minérales.</i>	204
Le vert d'anthracène, réactif de l'oxalate de calcium	204
BIBLIOGRAPHIE	205

TROISIÈME PARTIE

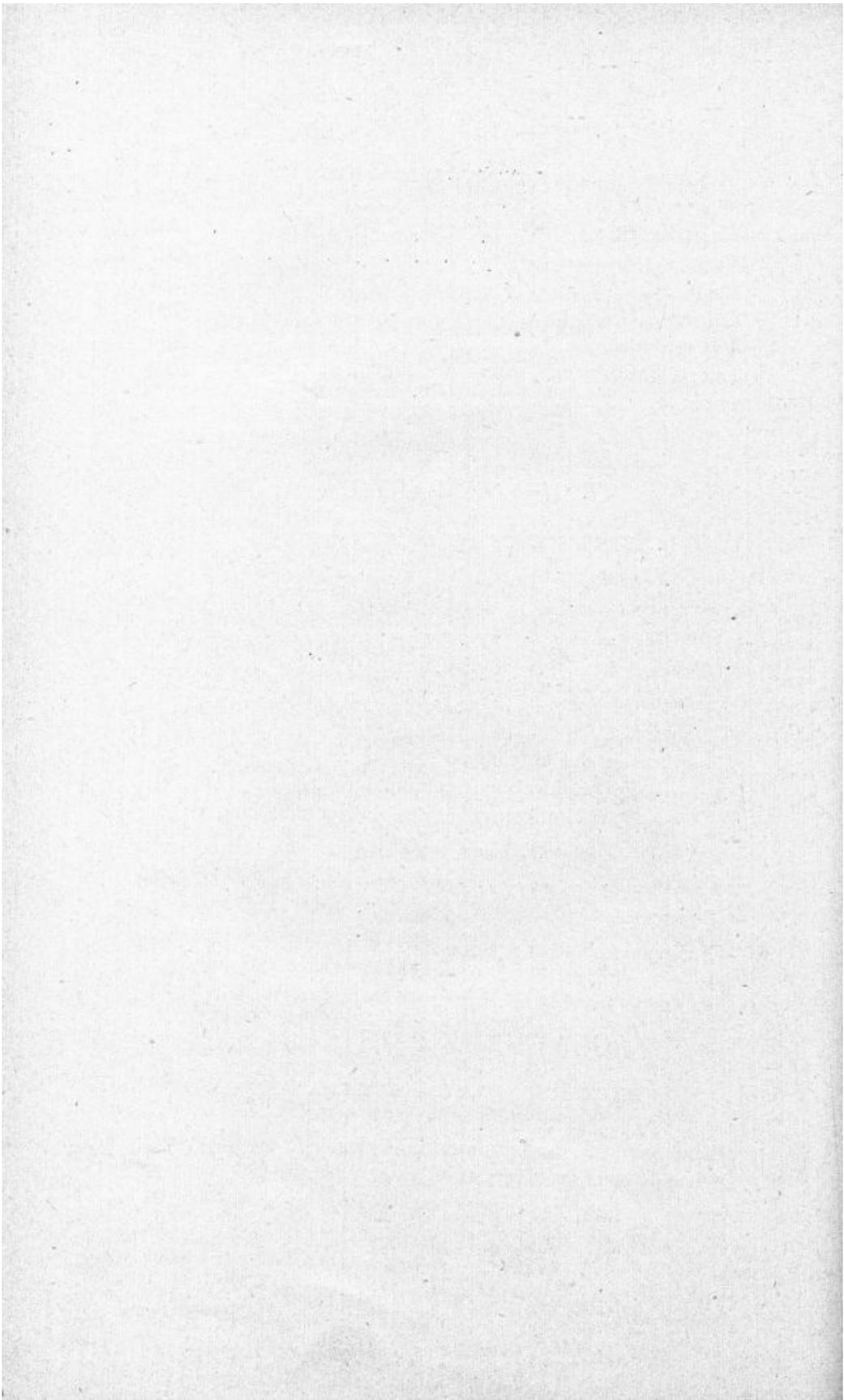
DÉGÉNÉRESCENCE DE LA MEMBRANE

Généralités	207
§ I. — THYLLES	208
§ II. — GOMMES	209
TECHNIQUE	212
§ III. — MUCILAGES.	213
Classification des mucilages	214
TECHNIQUE : a) Coloration des mucilages	215
b) Gonflement et dissolution consécu- tive des mucilages.	215
§ IV. — RÉSINE	216
§ V. — ESSENCES	216
§ VI. — FERMENTATION DE LA MEMBRANE	217

QUATRIÈME PARTIE

FONCTIONS DE LA MEMBRANE

Étude générale des fonctions multiples de la mem- brane, sous ses divers états.	221
CONCLUSIONS	227





INTRODUCTION

La définition même de la membrane cellulaire indiquera les limites de ce travail.

On sait que le protoplasma cellulaire est revêtu d'une couche albuminoïde ou couche membraneuse périphérique (Hautschicht), enveloppée à son tour par une membrane dite « cellulosique », à cause de certains caractères qu'elle présente, au moins pendant une partie de son développement. C'est à cette dernière que s'applique le terme de membrane cellulaire, et c'est d'elle seule qu'il sera question dans ce mémoire.

La membrane cellulaire a fait, dans ces derniers temps, l'objet d'un grand nombre de travaux, et l'idée qu'on s'en fait, à l'heure actuelle, est tout à fait différente de celle qui avait cours il y a une dizaine d'années. Elle n'est plus le revêtement cellulaire uniquement constitué par de la cellulose dans le début de sa formation, comme on l'admettait avant les travaux de MANGIN, mais un tout, dans la constitution duquel entrent des substances variables, suivant les tissus et suivant les plantes examinées.

Il n'est pas jusqu'à la cellulose elle-même, que l'on considérait comme une substance unique, et chez laquelle l'analyse chimique a révélé des variations profondes suivant les organes où on l'étudie.

Cette question, comme beaucoup d'autres en biologie, s'est

donc montrée de plus en plus complexe à mesure qu'on l'a approfondie, et ce n'est pas sans quelque appréhension que je l'ai abordée.

Il est vrai qu'elle est, en revanche, de celles qui intéressent et qui captivent. C'est, en somme, sur l'étude de la membrane que repose l'anatomie végétale, et l'on sait quelle est l'importance qu'on accorde — à juste raison, il faut le reconnaître — aux caractères anatomiques, dans l'étude générale des plantes et surtout dans la recherche de leurs affinités. Aucun travail d'ensemble n'a cependant jamais été fait sur ce sujet.

C'est ce travail que j'ai essayé d'entreprendre. Mais, pour le mener à bien, et pour faire, dans ce qui va suivre, un exposé aussi exact que possible de nos connaissances actuelles sur la membrane cellulaire, j'ai pensé que le mieux était de recourir aux savants qui, dans leurs recherches, se sont plus spécialement occupés de ce sujet, et de leur demander, soit des mémoires que je n'avais pas sous la main, soit des avis sur quelques-uns des points qui seront traités ici. Les uns et les autres m'ont répondu avec un empressement que je me plais à reconnaître, et dont je tiens à les remercier. Que MM. STRASBURGER, DE SOLMS-LAUBACH, ZACHARIAS, GILSON, CORRENS, MANGIN, SAUVAGEAU, DEVAUX et PETIT veuillent donc bien accepter l'expression de ma vive gratitude.

En terminant, mes remerciements vont aussi aux deux maîtres qui m'ont toujours soutenu de leurs encouragements et aidé de leurs conseils éclairés : MM. FLAHAULT et COURCHET. C'est toujours avec un nouveau plaisir que je me souviens de toute leur bienveillance à mon égard.

LA

MEMBRANE CELLULAIRE

CHEZ LES VÉGÉTAUX

PREMIÈRE PARTIE

MORPHOLOGIE GÉNÉRALE

CHAPITRE PREMIER

FORMATION DE LA MEMBRANE

D'une manière générale, la cellule des végétaux s'entoure d'une membrane dès le début de sa formation. Il est pourtant des cas où le protoplasme demeure, pendant un temps plus ou moins long, pour ainsi dire nu et simplement entouré par la couche membraneuse, de nature albuminoïde. C'est ce que l'on observe chez les anthérozoïdes et les zoospores des Algues, les zoospores ne se revêtant d'une membrane cellulosique (1) qu'à partir du moment où elles se sont fixées ; c'est encore ce que montrent les plasmodes des Myxomycètes de même que leurs zoospores et leurs myxamibes.

(1) J'emploie l'expression de *membrane cellulosique*, parce qu'elle est courante. Elle est prise ici dans le sens étroit du mot et indique simplement qu'il y a de la cellulose dans la paroi cellulaire, sans préjudice des autres substances qui peuvent y être contenues, et sur lesquelles nous aurons à revenir.

L'oosphère des plantes supérieures est aussi une cellule nue, jusqu'à ce que, la fécondation intervenant, elle détermine à sa surface la formation d'une enveloppe de cellulose.

Mais, qu'elle soit tardive ou précoce, la membrane peut faire son apparition autour de la cellule suivant des modes divers, fort analogues toutefois les uns aux autres et qui se rattachent à un seul et même processus essentiel. Il existe les rapports les plus étroits entre ce mode fondamental et la division de la cellule. Il importe donc de décrire ce phénomène dans tous ses détails, afin de pouvoir y rattacher ensuite les autres modes, suivant lesquels la membrane peut aussi prendre naissance.

§ 1^{er}. — FORMATION DE LA MEMBRANE LORS DE LA DIVISION NUCLÉAIRE

A. FORMATION PRÉCOCE. — a) *Formation simultanée.*

C'est vers la fin de la karyokinèse, à la période du tonnelet, que débute l'histoire de la membrane. On sait qu'à cette phase de la division cellulaire, les deux jeunes noyaux nouvellement formés occupent les deux pôles de la cellule en train



Fig. 1. — Cellule mère pollinique de *Lilium Martagon*. Formation de la plaque cellulaire. Phase du tonnelet (GUIGNARD).

de se diviser. Ils sont réunis l'un à l'autre par un certain nombre de fils achromatiques, disposés de telle sorte que l'ensemble de ces fils et des deux noyaux affecte la forme d'un tonnelet (fig. 1). Le nombre de ces *fils connectifs* est considérable à ce moment, car, outre ceux qui formaient le fuseau primitif et se trouvaient en rapport immédiat avec les anses chromatiques, il s'en est formé de nouveaux. Ceux-ci, comme l'a montré GUIGNARD (1, 185) [1] se distinguent parfois des premiers par leur délicatesse beaucoup plus grande. Pour cet auteur (2, 332) comme pour BERTHOLD (4, 207) les fils connectifs nouveaux naissent toujours après la séparation des deux noyaux-filles, ils se forment aux

(1) Le premier chiffre donne l'indication bibliographique, le second la page du mémoire cité.

dépens du cytoplasma, et n'ont par conséquent aucun rapport génétique avec les fils préexistants du fuseau. Les recherches de STRASBURGER l'amènent à interpréter ce phénomène d'une façon un peu différente : il émet, quoique avec doute, (5, 512), l'opinion que la multiplication des fils connectifs se fait par leur division longitudinale (fig. 2).

C'est dans le plan équatorial de ces fils que va se produire l'ébauche de la membrane. Il apparaît dans cette région et sur chaque fil connectif, des nodosités (fig. 3) qui, en se gonflant, s'unissent latéralement les unes aux autres de façon à constituer une lamelle homo-



Fig. 3. — Cellule mère pollinique de *Lilium Martagon*. — Formation de la plaque cellulaire (STRASBURGER).



Fig. 2. — Cellule mère pollinique de *Lilium Martagon*. — Multiplication des fils connectifs (STRASBURGER).

gène et de même nature que les filaments qui lui ont donné naissance, albuminoïde par conséquent. C'est la *plaque cellulaire*. Les éléments en forme de bâtonnets qui ont produit cette lamelle y sont encore visibles dans le début de sa transformation ; mais ils ne tardent pas à diminuer de hauteur et à disparaître, ainsi que l'ont montré

divers auteurs, et KIENITZ-GERLOFF en particulier (7).

Quant à la façon dont va prendre naissance la cloison cellulosique aux dépens de la plaque cellulaire, on a admis pendant longtemps qu'il y avait métamorphose directe, et qu'aux lieu et place de la lamelle albuminoïde se formait la nouvelle membrane cellulaire.

En réalité, le phénomène est plus complexe, et c'est à STRASBURGER (*l. c.*, 514) qu'on doit de le connaître dans ses principaux détails. Peu de temps après sa formation, la lamelle primitive se partage en deux lamelles nouvelles, qui deviennent l'une et l'autre la *couche albuminoïde* ou *couche membraneuse* limitante (Hautschicht) de chaque cellule-fille. Elles s'écartent ensuite et c'est dans l'espace laissé entre elles que prend naissance la cloison cellulosique (fig. 4).

Or, l'apparition de la cellulose entre ces deux couches membra-

neuses peut se faire suivant deux modes : ou bien la région moyenne de la lamelle primitive *se transforme* en membrane cellulosique, en isolant ainsi les deux couches membraneuses primitives, qui naissent sur ses deux faces, ou bien le cytoplasme *sécrète* la substance constitutive de la membrane, et celle-ci vient se déposer entre les

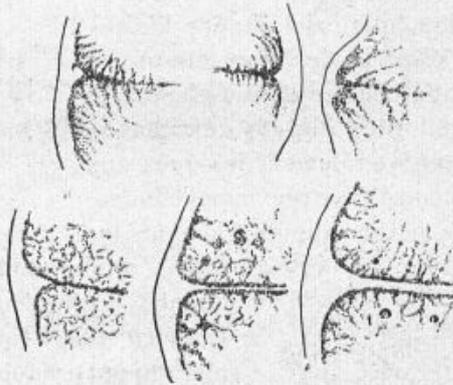


Fig. 4. — Cellule mère pollinique de *Lilium Martagon*. — Division de la plaque cellulaire ; ébauche de la cloison de séparation (STRASBURGER).

deux moitiés de la plaque cellulaire, en train de se séparer. C'est le second mode qui est le plus probable.

Un fait qui paraît montrer, en effet, que la membrane de séparation entre les deux couches membraneuses filles est réellement *sécrétée*, c'est que ces deux couches membraneuses prises ensemble représentent la même épaisseur que celle de la lamelle albuminoïde primitive. Si une couche moyenne de cette lamelle s'était transformée pour produire la nouvelle membrane cellulaire, le fait se serait traduit par une diminution dans l'épaisseur de chaque couche membraneuse fille.

D'autre part, des considérations théoriques dans lesquelles nous ne pourrions entrer que dans la partie que nous consacrerons spécialement aux diverses théories sur la membrane, viennent également à l'appui de cette manière de voir.

b) *Formation progressive*

Quand les fils connectifs s'étendent à l'équateur du tonnelet jusqu'à toucher de toutes parts les parois latérales de la cellule, la nouvelle membrane se constitue simultanément en ses divers points: c'est là le mode de formation le plus répandu chez les végétaux supérieurs; mais ailleurs, ainsi que TREUB (8) l'a constaté sur des organes vivants, les deux noyaux-filles en voie de formation, au lieu d'occuper l'axe de la cellule-mère, se rapprochent d'un des côtés, et c'est de ce côté seulement que les fils connectifs s'établissent (fig. 5); c'est également dans cette région que la jeune membrane fait son apparition; puis, tout l'appareil nucléaire, noyaux et fils connectifs, gagne le côté opposé de la cellule, la formation de la membrane suit ce mouvement, jusqu'à ce qu'elle se soit tendue d'une extrémité à l'autre.

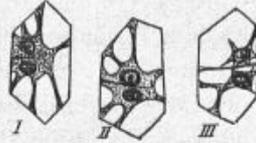


Fig. 5. — Cellule du tégument de l'ovule en voie de croissance, dans *Epipactis palustris* (entre I et II il s'est écoulé 45 minutes et entre II et III, 3 h. 17 (TREUB).

Parfois encore, tout en étant moins large que le diamètre de la cellule, le tonnelet en occupe tout d'abord l'axe; la lamelle commence alors par se restreindre à l'espace circonscrit par les fils connectifs; puis, comme le tonnelet gagne la périphérie, elle s'ajuste progressivement aux parois latérales.

Les choses se passent d'une façon analogue chez les *Spirogyra*, avec cette différence que la formation progressive de la membrane y est centripète au lieu d'être centrifuge. Après l'achèvement de la division nucléaire, les fils connectifs s'étendent tout autour de la cellule mère, jusqu'au contact des parois latérales. Ils y déterminent tout d'abord un épaississement annulaire qui, par suite d'un mouvement correspondant des fils connectifs, s'avance vers l'intérieur et finalement amène la séparation complète des deux cellules-filles.

B. — FORMATION TARDIVE DE LA MEMBRANE

S'il n'y a en somme que migration des fils connectifs, dans les divers cas précédents, ailleurs ces filaments sont entièrement reconstitués pour la production de la membrane qui ne se forme que tardivement, après la cessation des phénomènes karyokinétiques. C'est ce qu'on observe, en particulier, ainsi que l'a montré GUIGNARD (3,33), lors de la formation du pollen des Orchidées.

Quand, par suite de la division du noyau de la cellule-mère du pollen, deux noyaux secondaires ont pris naissance, il ne se fait pas, comme à l'habitude, de plaque cellulaire à l'équateur de leurs fils connectifs, ceux-ci ne tardent pas à disparaître, tandis que chacun des deux noyaux s'arrondit et se prépare de suite à entrer de nouveau en division. Cette absence de plaque cellulaire marque ici une différence très nette entre les Orchidées et les autres Monocotylédones où le phénomène suit, au contraire, la règle ordinaire.

Les deux noyaux se divisent ensuite de façon à former quatre noyaux tertiaires. C'est alors qu'il naît entre tous ces nouveaux noyaux et aux dépens du cytoplasme environnant, de nombreux fils connectifs chargés d'assurer la formation des membranes de séparation (fig. 6). Des plaques cellulaires granuleuses ne tardent pas

en effet à apparaître ; elles prennent contact avec la paroi de la cellule-mère qui se trouve ainsi partagée en quatre. C'est la naissance des quatre grains de pollen.

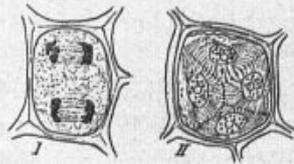


Fig. 6. — Cellules mères polliniques de *Neottia ovata*. — I. Formation des noyaux tertiaires. — II. Les quatre noyaux adultes ; les filaments connectifs et les plaques cellulaires en contact avec la paroi cellulaire (GUIGNARD).

Dans le cas qui vient d'être décrit, la formation de la membrane est relativement indépendante, comme on l'a vu, de la division nucléaire. Cette indépendance à l'égard du noyau est encore plus marquée lors de la formation de l'albumen, dans le sac embryonnaire

de beaucoup de Phanérogames. Lorsque ce sac embryonnaire est large, son noyau se divise, par des bipartitions successives, en un grand nombre de noyaux nouveaux qui viennent se ranger, en une

seule assise, contre la paroi du sac, où ils se trouvent plongés dans une couche de protoplasme.

C'est alors seulement, quand aucun noyau ne se divise plus, qu'apparaissent, entre eux, des filaments connectifs nouveaux, les reliant les uns aux autres, par des tonnelets à l'équateur desquels se produit une cloison tout d'abord albuminoïde et qui, bientôt, est dédoublée par une lame mitoyenne cellulosique. On sait que les alvéoles ainsi façonnées ne tardent pas à se fermer par une cloison latérale interne qui active la formation de la cellule. Chez certaines espèces, l'apparition des cloisons est plus tardive encore ; c'est ce qui arrive, par exemple, chez les *Leucoium* et les *Galanthus* étudiés par GUIGNARD (1,207). Leur sac embryonnaire s'agrandit considérablement après la fécondation, et les noyaux libres sont très rapprochés les uns des autres surtout à la base du sac. Les cloisons s'y forment d'une façon très irrégulière et peuvent englober jusqu'à dix ou douze noyaux dans une seule cellule. Les recherches auxquelles nous venons de faire allusion montrent, de plus, qu'il n'existe aucun rapport, entre les sphères directrices et l'apparition des nouveaux fils connectifs qui sont souvent très éloignés d'elles.

Il y a bien encore indépendance de la membrane par rapport au noyau dans le cas de l'*Anthoceros* signalé par STRASBURGER (6,158) ; mais, ici, le phénomène est tout autre, puisque les fils connectifs se forment avant la division du noyau. Lors de la formation des spores de l'*Anthoceros*, comme d'ailleurs aussi, lors de la naissance des macrospores des *Isoetes*, les faisceaux biconvexes des filets cytoplasmiques sont déjà constitués en tonnelets, reliant entre elles quatre masses condensées de protoplasme, avant que le noyau situé par côté ait commencé à se diviser. La division s'effectue ensuite à deux reprises, et chacun des nouveaux noyaux pénètre dans une des quatre masses protoplasmiques. Sitôt après, se forment simultanément, comme dans la cellule du pollen, les cloisons de séparation.

Cloisonnement des cellules âgées. — Aux différents cas les plus intéressants du cloisonnement cellulaire que nous venons de passer en revue, il convient d'ajouter celui de la formation d'une nouvelle cloison, dans des cellules âgées. Il s'est agi jusqu'à maintenant, comme on l'a vu, de cellules jeunes et en pleine activité protoplasmique. Mais il est intéressant de se demander si des cellules déjà

vieilles, des éléments lignifiés par exemple, sont capables aussi de se diviser. Plusieurs auteurs, et SCHELLENBERG (9,262) entre autres, répondent par la négative; STRASBURGER (5,568) par contre, a récemment montré qu'il en est tout autrement et qu'il n'est pas rare de voir, chez les *Clematis* par exemple, de vieilles cellules des rayons médullaires, déjà fortement épaissies et complètement lignifiées, se segmenter à nouveau.

§ II. — FORMATION DE LA MEMBRANE EN DEHORS DE LA DIVISION
NUCLÉAIRE

Le processus de la formation de la membrane, décrit plus haut à propos de l'*Anthoceros*, forme le passage au cas où ce phénomène et la division du noyau sont tout à fait indépendants l'un de l'autre. C'est ce qu'on observe dans la division de cellules à plusieurs noyaux, ou encore, lors de la formation de la membrane à la surface de cellules isolées. Ainsi, chez les *Cladophora*, algues vertes filamenteuses formées d'articles successifs, chaque cellule contient un grand nombre de petits noyaux. La division cellulaire commence comme chez les *Spirogyra*, par la formation d'une bandelette annulaire qui, ensuite, par accroissement centripète, s'achève par la formation d'un disque complet. Mais ici, aucun fil connectif n'a pu être mis en évidence, et la formation de la membrane paraît simplement précédée d'un étranglement dans la couche des chloroleucites, d'une accumulation du protoplasme incolore et du suc cellulaire, au point où, plus tard, apparaît la nouvelle cloison. STRASBURGER (6,208) a d'ailleurs observé dans cette région un courant très actif des microsomes au moment où la membrane va se former.

Les rapports entre la formation de la membrane et le noyau n'apparaissent pas davantage dans les cellules isolées qui s'entourent d'une enveloppe cellulosique, comme par exemple les zoospores arrivant à l'état de repos. Toutefois certaines observations de KLEBS (10,194) à ce sujet, tendent à montrer que, dans les phénomènes dont il s'agit, le noyau ne resterait pas aussi étranger qu'on est porté à le croire.

BIBLIOGRAPHIE

1. L. GUIGNARD. — *Nouvelles études sur la fécondation*. Ann. Sc. Nat. 7^e s. T. XIV, 1891.
2. — *Nouvelles recherches sur le noyau cellulaire*. Ann. Sc. Nat. 6^e s. T. XX, 1885.
3. — *Recherches sur le développement de l'anthère et du pollen des Orchidées*. Ann. Sc. Nat., 6^e série. T. XIV, 1882.
4. BERTHOLD. — *Studien über protoplasmamechanik*. Leipzig, 1886.
5. STRASBURGER. — *Die pflanzlichen Zellhäute*. Jahrb. für wissenschaft. Botanik. Bd. XXXI. Heft. 4.
6. — *Zellbildung und Zelltheilung*. 3. Aufl. Jena, 1880.
7. KIENITZ-GERLOFF. — *Die protoplasmaverbindungen zwischen benachbarten Gewebeselementen in der Pflanze*. Bot. Zeit., 1891, p. 1.
8. TREUB. — *Quelques recherches sur le rôle du noyau dans la division des cellules végétales*. Amsterdam, 1878.
9. SCHELLENBERG. — *Beiträge zur Kenntniss der verholzten zellmembran*. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXIX, 1896.
10. KLEBS. — *Ueber das Wachstum plasmolysirter Zellen*. Tagebl. d. 59. Vers. Deutsch. Naturf. u. Aerzte. Berlin, 1886.

CHAPITRE II

INFLUENCE DES AGENTS EXTÉRIEURS SUR LA FORMATION ET LA DIRECTION DE LA MEMBRANE

Le cloisonnement plus ou moins actif de la cellule et la direction suivant laquelle il s'effectue donnent aux tissus, comme on le sait, leurs premiers et plus importants caractères, déterminent la croissance des organes suivant des modes divers, et donnent finalement à la plante tout entière son port spécial.

Or, en dehors de l'influence propre du noyau et sans doute aussi du cytoplasme, qui impriment chez l'individu les caractères héréditaires, d'autres influences, extérieures celles-là, interviennent dans la formation de la cloison, et nous devons maintenant les étudier en détail.

Les unes favorisent la formation de la membrane et amènent le cloisonnement plus rapide des tissus ; les autres déterminent la direction du système karyokinétique et, par suite, celle de la membrane qui en dérive.

INFLUENCES FAVORISANTES

La pression qui s'exerce sur une cellule active d'une façon manifeste son cloisonnement, ainsi qu'on peut s'en faire une idée par une très vieille expérience de KNIGHT.

KNIGHT, ayant fixé la lige d'un jeune pommier de telle façon qu'il ne pût être remué par le vent que du Nord au Sud, constata plus tard que l'arbre s'épaississait précisément dans cette direction. L'arbre ne se ployant que du côté Sud, la pression exercée sur cette face avait déterminé un développement plus actif des

tissus. Plus tard HARTIG (1, 40) constata que chez tous les arbres exposés aux vents d'Ouest, l'anneau libéro-ligneux qui se forme annuellement est excentrique. L'arbre produit des anneaux plus larges sur la partie Est, alors même qu'il n'y a presque pas de branches de ce côté. Pour ce botaniste, la pression exercée par la flexion de l'organe détermine, sur le protoplasme de la couche cambiale, une irritation contre laquelle réagissent les cellules, par une croissance plus rapide et un épaissement consécutif des organes.

Sur les conseils de WIESNER, A. CIESLAR (2, 103) entreprit des recherches dans cette voie. Il provoqua la flexion de jeunes pins, de telle façon que la partie supérieure était maintenue horizontale et obtint des résultats tout à fait concordants.

FRANK SCHWARZ (3) attribue à la pression longitudinale une grande influence, dans la croissance en épaisseur des troncs et branches de Conifères, en se basant sur de nombreuses expériences.

Enfin KNY (4), qui a serré de plus près encore cette question, a récemment observé qu'en comprimant latéralement, au moyen de pinces, la tige d'*Impatiens Balsamina*, on fait réapparaître dans la moelle la division cellulaire, à des endroits où elle était complètement achevée. Il a ainsi nettement établi l'action favorisante de la pression sur la formation de la membrane.

Mais, si le cloisonnement peut avoir lieu d'une façon plus rapide dans les conditions que nous venons d'indiquer, l'influence inverse, c'est-à-dire l'absence totale de pression, ou bien encore une *pression négative*, ce qui correspond évidemment à une *traction* exercée sur la cellule, peuvent avoir les mêmes conséquences.

En plaçant dans l'eau des branches de différents arbres, ROBERT HOFFMANN (5) constata que les cellules cambiales de la surface de coupe qui, en ce point, ne subissaient aucune pression, se divisaient si rapidement qu'elles formaient un bourrelet annulaire le long de l'anneau cambial et proéminaient ainsi sur le plan de la section. La coupe transversale de ce bourrelet (coupe longitudinale par rapport à la branche elle-même) était un demi-cercle dans lequel les rangées de cellules s'étendaient radialement.

De même, lorsque en certains points de la surface d'un arbre la pression est devenue tellement faible qu'elle a non seulement disparu, mais est même devenue négative, dans les cas, par exemple, de dépressions situées à la surface d'un tronc et provoquées par une

traction de l'écorce sous-jacente, les divisions cellulaires paraissent s'effectuer plus fréquemment que sous la pression normale de l'écorce (pression qui peut être évaluée à 1/2 atm.). C'est ainsi que de jeunes troncs, qui presque toujours sont plus ou moins anguleux, deviennent, petit à petit, circulaires, par suite d'une croissance plus active, dans les endroits en retrait.

La forme circulaire de la coupe transversale correspond alors à l'état d'équilibre des forces agissant dans la croissance de la tige.

Dans les pommes, il arrive souvent que les parois sclérifiées des loges se crevassent sous l'action de la croissance. Les cellules parenchymateuses, situées au-dessous, prolifèrent alors et viennent former, dans les loges, des filaments parfois très longs et enchevêtrés (fig. 7.)

La présence d'un espace vide, de quelque nature qu'il soit, à côté d'un tissu, peut provoquer aussi son cloisonnement rapide.

C'est ce qui a permis à EUG. BERTRAND (6, 3) d'énoncer sa

« loi des surfaces libres ». Suivant cet auteur, lorsque des productions secondaires se forment dans un organe, elles sont toujours dues à l'activité d'une zone génératrice à cloisonnements tangentiels et qui dépend d'une surface libre naturelle ou accidentelle, réelle ou virtuelle. Ce qu'il faut entendre par surfaces libres réelles, c'est la surface du corps de la plante, la surface limite de ses cavités intérieures, lacunes, déchirures, méats, etc. Les surfaces libres virtuelles, sont au contraire, celles des tissus modifiés ou écrasés ; c'est aussi la surface d'un sclérite ou d'un vaisseau plein d'air, de gomme ou de résine, une paroi cuticularisée, bref, un tissu quelconque, fût-il réduit à une seule cellule, à une paroi cellulaire, où la vie se ralentit, tandis que les tissus voisins continuent à être très actifs.

C'est un fait bien connu que lorsque des éléments où la vie est ralentie ou éteinte, sont en contact avec un tissu où la vie est, au

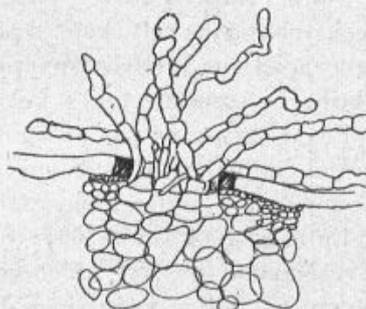


Fig. 7. — Coupe transversale d'une plaie spontanée, sur la paroi des loges d'une pomme ; prolifération des cellules qui ont traversé la fissure, pour s'engager dans la cavité de la loge (MASSART).

contraire, très active, ces derniers tendent à s'isoler des premiers. Il se forme alors entre les deux tissus une zone génératrice qui entoure les éléments où la vie s'éteint, pour les séparer des autres.

La production des « tissus cicatriciels » rentre dans le même ordre des phénomènes. Lorsqu'une lésion se produit à la surface d'un organe quelconque, il se forme, immédiatement, par une réaction de tissu sous-jacent, un système cellulaire subérifié qui ferme et cicatrise la blessure ainsi faite. On a remarqué depuis longtemps que, dans ce cas, la division cellulaire se fait suivant un mode uniforme, dans les conditions ordinaires tout au moins.

HUGO VON MOHL (7), le premier, reconnut que le cloisonnement se fait d'abord parallèlement à la surface blessée et qu'ensuite naissent des cloisons obliques ou perpendiculaires aux premières. H. CRÜGER (8) décrit comment, dans les boutures des feuilles de *Sap-seviera*, il apparaît, dans les grandes cellules parenchymateuses, chargées de suc, de nombreuses cloisons délicates parallèles à la surface blessée. STOLL (9), DE BARY (10) et d'autres ont augmenté nos connaissances sur ce sujet ; et, plus récemment, MASSART (11), dans un fort intéressant travail, considère le tissu cicatriciel comme répondant à une excitation de la surface lésée. Selon lui, la réaction qui s'accomplit, en réponse à cette excitation, est caractérisée par la division amitotique de la cellule et par l'orientation strictement définie des cellules-filles. Il y a certainement une grande analogie entre cette réaction et les réactions héliotropiques, chimiotaxiques produites par les végétaux, sous d'autres influences externes comme celle ci.

TISON (12) arrive à des résultats à peu près semblables par l'étude du phénomène de cicatrisation, se produisant après la chute des feuilles. Il résulte de ses recherches que les feuilles tombent par suite de la formation d'une « couche de séparation » à la base du pétiole, c'est-à-dire par une gélification de la lame moyenne des cellules dans cette zone. Après ce décollement, la chute de la feuille est fatale. Cette couche de séparation est déjà un foyer d'excitation pour les tissus voisins à partir du moment où elle commence à se produire, et son action sera prolongée plus tard par celle de la surface blessée. Aussi les cellules se mettent-elles à proliférer avant même que la feuille ne soit tombée, de sorte qu'après sa chute, la cicatrisation est très rapidement achevée.

INFLUENCES DIRECTRICES

Jusqu'à ces dernières années, les causes qui peuvent influencer sur la direction des membranes cellulaires avaient peu préoccupé les botanistes. Elles ne sont, dans tous les cas, visées que d'une façon très secondaire, dans les divers travaux relatifs à la formation des tissus. W. HOFMEISTER (13) remarque néanmoins que la position de la membrane qui s'établit est intimement liée au sens suivant lequel s'est fait l'accroissement de la cellule-mère ; elle est toujours perpendiculaire à la direction du plus fort accroissement. Cela ne veut pas dire qu'elle soit perpendiculaire au plus grand diamètre de la cellule, celui-ci, en effet, n'étant pas forcément dirigé dans le sens où la croissance est la plus active.

DE BARY (10, 550) fait ressortir que, chez beaucoup de plantes (*Viscum, Ilex, Aristolochia*), l'épiderme n'est pas exfolié de bonne heure par la formation du périderme et peut persister parfois même au delà de quarante ans, comme dans *Acer striatum*, en suivant l'épaississement du tronc par une croissance tangentielle. Entre les cloisons existantes, il s'en fait de nouvelles, qui sont posées perpendiculairement à la surface. Comme lui, H. DEVAUX (14, 47) décrit, dans un grand nombre de plantes ligneuses, la croissance tangentielle consécutive à l'épaississement du cylindre central, et le cloisonnement radial actif, dans les tissus situés soit vers le péricycle, soit plus à l'extérieur dans l'écorce. C'est MULLER (15, 497), E. KUSTER (16) et surtout KOPPEN (17, 23) qui, les premiers, remarquent les relations existant entre certaines influences mécaniques et la direction des cellules, sans viser toutefois dans leurs travaux la membrane elle-même.

KNY (4), au contraire, prend à tâche de rechercher les causes qui déterminent le sens de la division nucléaire et fixent, par suite, la nouvelle cloison. Il met en lumière le rôle important qu'on doit attribuer à la *traction* et à la *pression* s'exerçant sur les cellules. Depuis longtemps, en effet, HOFMEISTER (*l. c.*) a montré que des actions mécaniques de cette nature existent dans les organes dont le développement n'est pas encore achevé. Il était intéressant de s'assurer des rapports immédiats de cause à effet, entre ces forces

et la direction du cloisonnement. KNY, pour atteindre ce but, soumet des organes très divers à des pressions ou des tractions artificielles et peut ainsi contrôler ses expériences les unes par les autres. Il montre que les forces qui agissent sur les cellules, dans des organes en voie de développement, qu'il s'agisse de tractions ou de pressions, ont une influence considérable sur la direction suivant laquelle se fait l'accroissement et sur l'orientation des parois de division. La croissance se fait dans le sens de la traction, tant que d'autres forces ne viennent évidemment pas la contre-carrer, et elle est perpendiculaire à la direction de la pression. Lors de la division cellulaire, les *cloisons de séparation* tendent à se placer *dans la direction de la pression et perpendiculairement au sens de la traction*.

D'après cette loi, si, comme l'a fait KNY, on comprime, entre deux lames de verre, des œufs de *Fucus vesiculosus*, sur le point de germer ou des spores d'*Equisetum*, on voit la première membrane s'établir toujours perpendiculairement aux lames de verre, c'est-à-dire dans le sens de la pression (fig. 8). Par contre, que l'anneau de sclérenchyme d'une tige vienne à éclater en un point quelconque, les deux bords de la fente exercent, en s'écartant, une traction sur les cellules parenchymateuses voisines qui, de l'extérieur ou de l'intérieur, s'engagent dans l'espace laissé vide pour le combler. Il doit donc se former, dans les cellules ainsi distendues, des cloisons radiales, perpendiculaires à la traction et c'est, en effet, ce qu'on constate toujours (fig. 9). Les travaux d'OLGA TCHOUPROFF (18,326) et de B. NÉMEC (19,216 et 220) confirment d'ailleurs pleinement les conclusions de KNY.

Ce n'est pas à dire que ces causes soient les seules qui interviennent ici. D'autres influences peuvent aussi contribuer à cette action directrice de la membrane et modifier plus ou moins les premières. Les unes viennent de l'extérieur, les autres ont, au contraire, une origine interne.

Parmi les « influences externes », il faut citer, en première ligne, les résistances mécaniques que certains tissus ou organes ont à



Fig. 8. — Œuf des *Fucus vesiculosus* sur le point de germer. — La première cloison formée est parallèle à la pression à laquelle l'œuf est soumis (KNY).

surmonter, dans leur croissance en longueur ou en épaisseur, comme par exemple les lianes, dans leur contact avec leurs supports, les racines, dans l'effort à vaincre pour pénétrer dans le sol.

C'est un fait qui vient aussi tout de suite à l'esprit que la lumière

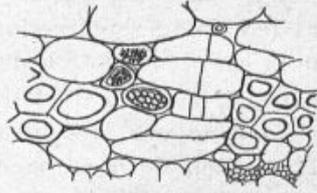


Fig. 9. — Anneau scléreux rompu, dans un entre-nœud de *Pelargonium zonale*. — Le tissu de remplissage, à parois minces, a sans doute proliféré de l'extérieur, c'est-à-dire de la partie supérieure de la figure. On aperçoit les nouvelles parois radiales formées, par suite de la traction tangentielle que l'anneau rompu exerce sur ces éléments (KNY).

doit jouer un rôle important. KOLDERUP ROSENINGE (20), FARNIER et WILLIAMS (21), HANS WINKLER (22) ont montré que lorsque des rayons lumineux tombent sur des cellules, des œufs fécondés de certaines Fucacées par exemple, la première membrane qui se forme est toujours perpendiculaire au faisceau lumineux. La cellule supérieure donne toujours l'axe végétatif et la cellule inférieure les rhizoïdes, tandis que c'est l'inverse qui se produit si on fait arriver la lumière par le bas au lieu de la faire tomber par le haut.

Si les mêmes cellules sont placées à l'obscurité, la position de la membrane est tout à fait indifférente. Le résultat est donc manifeste.

Mais, tout en confirmant les résultats de ses devanciers, KNY (18) nous a appris quelque chose de plus. Il a constaté que lorsque la pression et la lumière agissent de concert, c'est la pression qui a l'action prépondérante. Quand des œufs de *Fucus*, des spores d'*Equisetum* ou d'*Osmonda* sont comprimés, tout en subissant l'action de la lumière, les figures karyokinétiques se placent conformément à la loi des pressions, c'est-à-dire que les parois en formation sont perpendiculaires aux lames de verre.

La pesanteur ne doit pas être non plus à négliger dans cet ensemble de phénomènes ; mais c'est une partie du problème qui a été jusqu'à maintenant laissée à peu près de côté.

Quant aux « influences internes » pouvant s'opposer aux actions mécaniques dont il a été parlé plus haut, elles sont surtout représentées par le processus de développement prescrit par l'hérédité aux diverses espèces de plantes.

L'hérédité intervient d'une façon manifeste lorsque l'assise géné-

matrice du périoderme à ses débuts continue son cloisonnement tangentiel malgré la poussée croissante et progressive de la masse libéro-ligneuse. L'hérédité se manifeste encore, lorsqu'on comprime latéralement une tige à rayons médullaires unisériés. Il devrait se produire dans ces rayons des cloisons parallèles à la pression, des cloisons radiales par conséquent, qui dédoubleraient les séries

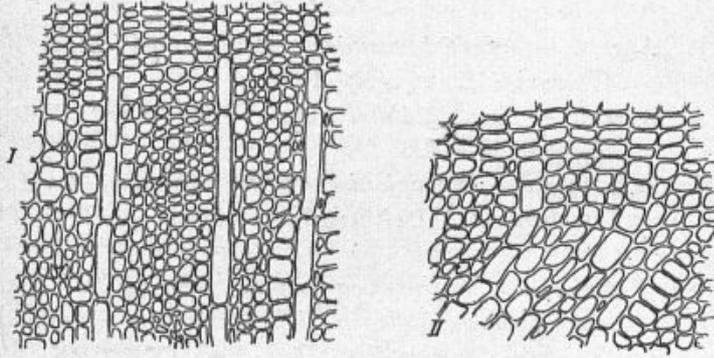


Fig. 10. — Fragment d'une coupe à travers le deuxième anneau de l'année d'un petit tronc normal âgé de deux ans, d'*Æsculus Hippocastanum*. — I. Tous les rayons médullaires sont unisériés. — II. La tige, après avoir été comprimée latéralement, montre des rayons médullaires courbés aux endroits où s'est exercée la pression. Le rayon du milieu est dédoublé (Kny).

cellulaires, dans la région intéressée. Or, ce n'est qu'exceptionnellement que le dédoublement se produit (fig. 10).

Toutes les actions que nous venons de passer en revue combinent donc leurs effets pour déterminer la position de la membrane qui est, comme on le voit, la résultante d'une série de phénomènes fort complexes.

BIBLIOGRAPHIE

1. R. HARTIG. — *Wachstumsuntersuchungen an Fichten*. Forst.-Naturwiss. Zeitschr. V. 1896.
2. A. CIESLAR. — *Das Rothholz der Fichte*. Forst. Naturwiss. Zeitschr. V. 1896.
3. FRANK SCHWARZ. — *Physiologische Untersuchungen über Dickenwachstum und Holzqualität von Pinus sylvestris*. Berlin, 1899.
4. KNY. — *Ueber den Einfluss von Zug und Druck auf die Richtung der Scheidewände in sich theilenden Pflanzenzellen*. Ber. d. deutsch Bot. Ges. Bd. XIV., 1896, p. 388. *Id.* — Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXXVII, Heft I. 1901.
5. ROBERT HOFFMANN. — *Untersuchungen über die Wirkung mechanischer Kräfte auf die Theilung, Anordnung, und Ausbildung der Zellen, beim Aufbau des Stammes der Laub- und Nadelhölzer*. Inaugural. Dissertation, 1885.
6. C. EUG. BERTRAND. — *Loi des surfaces libres*. Bull. Soc. bot. de France. XXXI, 1884.
7. HUGO VON MOHL. — *Ueber den Vernarbungsprocess bei der Pflanze*. Bot. Zeit. 1849, p. 641.
8. H. CRÜGER. — *Einiges über die Gewebsveränderungen bei der Fortpflanzung durch Stecklinge*. Bot. Zeitung. 1860, p. 369.
9. STOLL. — *Ueber die Bildung des Callus bei Stecklingen*. Bot. Zeit. 1874, p. 737.
10. DE BARY. — *Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane*, 1877.
11. Jules MASSART. — *La cicutrisation chez les végétaux*. Mém. de l'Ac. royale de Belgique. T. LVII. 1898.
12. Adrien TISON. — *Recherches sur la chute des feuilles chez les Dicotylédones*. Thèse. Caen, 1900.

13. HOFMEISTER. — *Zuzätze und Berichtungen zu den 1851 veröffentlichten Untersuchungen der Entwicklung höherer Kryptogamen.* Jahrb. f. wiss. Botanik., III, 1862, p. 272. *Die Pflanzenzelle*, 1867, p. 127-132.
14. H. DEVAUX. — *Accroissement tangentiel des tissus situés à l'extérieur du cambium.* Mém. Soc. des Sc. phys. et nat. de Bordeaux, 5^e série, t. V, 1899.
15. C. MÜLLER. — *Ueber den Bau der Commissuren der Equisetenscheiden.* Jahrb. für wiss. Botanik XIX, 1888.
16. E. KÜSTER. — *Ueber Gewebespannungen und passives Wachstum bei Meeresalgen.* Sitz. d. Berl. Ak. d. Wiss. XLII 1899.
17. MARTIN KOPPEN. — *Ueber das Verhalten der Rinden unserer Laubbäume während der Thätigkeit des Verdickungsringen.* Nova Acta, etc. LIII, 1899.
18. OLGA TCHOUPROFF. — *Etudes sur les causes qui déterminent le fractionnement du bois axial chez Mendoncia Schomburgkiana Nees et sur l'origine et le développement des tissus cicatrisants.* Bull. de l'Herbier Boissier. V. 1897.
19. B. NÉMEC. — *Ueber Kern und Zelltheilung bei Solanum tuberosum.* Flora, 86, 1899.
20. KOLDERUP ROSENINGE. — *Influence des agents extérieurs sur l'organisation polaire et dorsiventrals des plantes.* Mém. gén. de Bot. 1, 1889, p. 53.
21. FARNIER ET WILLIAMS. — *Contributions to our Knowledge of the Fucaceae, their life, History and Cytology.* Philos. Transact. of the Royal Soc. Série B, vol. 190, 1893, p. 823.
22. HANS WINKLER. — *Ueber den Einfluss äusserer Factoren auf die Theilung der Eier von Cystosira barbata.* Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XVIII, 1900, p. 297.

CHAPITRE III

CROISSANCE DE LA MEMBRANE

Dès que la jeune cellule est formée, le protoplasme continuant à se nourrir, augmente de volume et la membrane qui l'enveloppe doit le suivre dans cet accroissement. Elle doit alors non seulement augmenter sa surface pour suivre le protoplasme dans son développement, mais aussi accroître son épaisseur d'une façon correspondante, pour acquérir une résistance suffisante et remplir par la suite les différents rôles qui lui sont dévolus dans l'économie de la plante. Il y a donc à distinguer dans l'étude de la croissance de la membrane, l'accroissement en surface et l'accroissement en épaisseur.

§ I. — ACCROISSEMENT EN SURFACE

L'accroissement en surface précède généralement l'accroissement en épaisseur ; quelquefois même le second n'entre en jeu que quand le premier est complètement achevé. C'est ce qui arrive notamment, comme le fait remarquer SRASBURGER (1,55), pour les parties d'un organe croissant loin du point végétatif ; les cellules s'allongent en conservant leurs parois très minces, et ce n'est que lorsque cet allongement est terminé que la membrane commence à s'épaissir.

Cet accroissement de la surface de la membrane reconnaît certainement plusieurs causes ; mais la première en ligne est l'augmentation même de la masse protoplasmique qui, au fur et à mesure qu'elle croît, exerce sur la membrane une pression qu'on ne saurait méconnaître. La turgescence vient ensuite ajouter son effet

à celui du protoplasme, et sous l'influence de ces deux pressions venant de l'intérieur de la cellule, la paroi suffisamment extensible augmente ainsi sa surface par un *accroissement passif*.

Cette interprétation de la croissance en surface, qui avait paru suffisante à des auteurs comme WORTMANN, est loin d'être satisfaisante, dans tous les cas.

La pression interne, et la turgescence en particulier, sont impuissantes à expliquer certains phénomènes en présence desquels on se trouve bien souvent, et les recherches de ROLL, de ZACHARIAS, de REINHARDT, qui seront relatées plus loin, les recherches plus récentes de STRASBURGER tendent à montrer qu'à côté de cet accroissement passif la membrane serait aussi le siège d'un *accroissement actif*.

Entre les molécules écartées par les actions mécaniques auxquelles on vient de faire allusion, de nouvelles molécules émanées du protoplasme viennent prendre place, jusqu'à ce que l'équilibre se rétablisse entre l'enveloppe et son contenu. Puis, celui-ci s'accroissant encore, la turgescence se fait sentir à nouveau sur la paroi ; il en résulte une nouvelle interposition de particules et le phénomène continue.

Compris de cette façon, l'accroissement en surface de la membrane a donc la turgescence pour cause initiale, celle-ci n'intervenant toutefois que pour permettre l'intussusception, c'est-à-dire l'inclusion de substances nouvelles. C'est là la conception de NAEGELI, idée qui, attaquée plus tard par plusieurs botanistes, eut surtout SACHS et H. DE VRIES pour défenseurs et semble encore prévaloir à l'heure actuelle.

Tant que la croissance se fait d'une façon régulière autour du protoplasme, la forme de la cellule reste toujours semblable à elle-même, mais le plus souvent c'est par un *accroissement localisé* que la cellule se développe. Elle peut prendre alors les formes les plus variables, depuis la forme sphérique du grain de pollen ou de la spore jusqu'à la forme extrêmement ramifiée d'un thalle de *Mucor*. Je n'insisterai pas davantage sur les formes multiples de la cellule, pour ne pas sortir des limites de ce travail.

Un des cas les plus intéressants de croissance locale est celui où la membrane ne s'accroît que par un seul point de sa surface. Il en résulte alors un élément de forme tubuleuse qui peut être parfois

très long. Les laticifères, les filaments des champignons, les tubes polliniques se forment de cette façon. C'est par l'allongement constant de sa partie terminale que se développe, par exemple, le filament d'un *Mucor*, terminé, comme on sait, par une sorte de calotte arrondie. Il était intéressant de savoir si c'est la calotte elle-même qui s'allonge ou bien si l'accroissement porte sur la partie du tube située immédiatement après elle. REINHARDT (2) a répondu à cette question par une expérience très ingénieuse, qui consistait à enduire de minium la calotte d'un filament en train de se développer. Il constata que le minium quittait peu à peu l'extrémité convexe du tube pour venir former un anneau immédiatement au-dessous. Cette observation montre bien que c'est seulement par sa partie extrême que s'accroît le filament. La poussière de minium resterait à la surface de la calotte si la zone d'allongement était située au-dessous de l'extrémité.

Il en va de même pour le développement du tube pollinique en germination. Nous aurons, d'ailleurs, l'occasion de revenir plus loin sur ce sujet.

C'est encore par un accroissement local, mais portant sur divers points de la cellule, que se produisent les ondulations de certains parois cellulaires ou les replis qu'on aperçoit dans les cellules du mésophylle de certains Conifères et que ZIMMERMANN et KNY, notamment, ont très bien étudiés.

Quelquefois enfin l'accroissement local affecte un caractère particulier qui mérite d'être décrit. Je veux parler du cas si curieux observé chez les *OEdogoniées* par PRINGSHEIM (3), HOFMEISTER (4, 154), NÆGELI et SCHWENDENER (5, 549).

Ces auteurs ont montré que sous les cloisons transversales de ces algues filamenteuses, il se produit, contre la face interne des parois longitudinales, un bourrelet membraneux qui fait saillie dans la cellule. Bientôt ce bourrelet se fend, suivant une ligne circulaire et se sépare en deux portions, qui s'écartent progressivement l'une de l'autre, en demeurant reliées par une zone membraneuse produite par l'étirement du bourrelet. Le même phénomène se renouvelant plusieurs fois et à de courtes distances, les bords des anneaux ainsi étirés forment des sortes de chapes emboîtées les unes dans les autres.

BIBLIOGRAPHIE

1. STRASBURGER. — *Lehrbuch der Botanik*, 1904.
2. REINHARDT. — *Das Wachstum der Pilzhyphe. Ein Beitrag zur Kenntniss des Flächenwachstums vegetabilischer Zellmembranen*. Jahrb. f. wiss. Botanik, 1892.
3. PRINGSHEIM. — Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. I. 1858.
4. HOFMEISTER. — *Handbuch der phys. Bot.* I.
5. NAEGELI ET SCHWENDENER. — *Das Mikroskop*, II.

§ II. — ACCROISSEMENT EN ÉPAISSEUR

En général, la membrane ne commence à s'épaissir que lorsque sa croissance en surface est entièrement terminée.

Quand la membrane, en tout ou en partie, est en contact avec l'extérieur, comme c'est le cas pour les cellules épidermiques, pour les spores ou les grains de pollen, son épaissement peut se faire par addition de nouvelles substances du côté externe de la membrane, et l'accroissement est centrifuge. Nous reviendrons avec plus de détails sur ce mode particulier de croissance.

STRATIFICATION DE LA MEMBRANE

Lamelles d'accroissement

Dans l'intérieur de la plante, au contraire, l'accroissement est toujours centripète. Il se produit alors, par dépôt de particules, sur la face interne de la cloison initiale ; c'est une croissance par *apposition*. Les substances ainsi apposées sont le produit de la sécrétion protoplasmique, et, ce travail se faisant d'une façon

alternative, il en résulte le dépôt de lamelles successives qui donnent à la membrane un aspect *stratifié*. Ces lamelles sont alternativement denses et épaisses, moins denses et moins épaisses ; les lamelles les plus denses se distinguant toujours par leur plus grande réfringence. Elles sont très claires, tandis que les autres sont sombres.

Dans la plupart des cas, les lamelles formées par apposition s'accroissent ensuite par *intussusception* (1), tandis que leur structure se différencie pendant ce temps.

Certaines membranes, même assez épaisses et qui sont en apparence homogènes, ont en réalité une structure lamelleuse qui n'apparaît qu'au moyen de réactifs gonflant la membrane. Telles sont, par exemple, les membranes épaissies de l'endosperme de beaucoup de Monocotylédones ; chez d'autres, la membrane se trouve partagée en strates ou zones différentes dont les unes montrent nettement leurs lamelles constituantes, tandis que rien de semblable n'apparaît chez les autres. C'est le cas de certaines fibres libériennes décrites par KRABBE (1). Ailleurs enfin, les lamelles sont au contraire partout très visibles et se succèdent avec une grande régularité, comme on le voit dans les cellules bien connues de la moelle des *Clematis*.

Mais, d'une manière générale, une membrane ayant une certaine épaisseur ne saurait être considérée comme formée d'une couche unique, alors même qu'elle en aurait toutes les apparences. Un exemple à l'appui de ceci nous est fourni par les fibres de sclérenchymes des Asclépiadées et des Apocynées. Ces fibres portent sur leur longueur des étranglements et des renflements successifs ; les parties renflées sont constituées par apposition de strates qui englobent entre elles, lorsqu'elles se déposent, des masses plus ou moins abondantes de protoplasme. Les zones superposées sont donc très visibles par ce fait, tandis que dans les parties étroites elles se prolongent, en se confondant peu à peu les unes les autres. Elles forment finalement une membrane qui, très homogène en apparence, est bien cependant constituée par des lamelles successives (KRABBE, *l. c.*).

Suivant STRASBURGER (2,563), pour que, dans une membrane, une zone ayant une certaine épaisseur soit véritablement homogène,

(1) Voir plus loin l'exposé et la discussion de ces deux théories.

c'est-à-dire nullement décomposable en lamelles simples, il faut que, née d'une lamelle simple, elle se soit accrue ultérieurement par intussusception. C'est ce qui se produit dans l'exine du pollen dont nous étudierons plus loin le développement. Ainsi donc, partout où une intussusception ultérieure ne se produit pas, les différentes lamelles de la membrane demeurent constamment minces. Les choses se passent, pour la membrane, de la même façon que pour les grains d'amidon : l'épaississement se poursuit avec des interruptions répétées dans le travail protoplasmique qui, à chaque nouvelle reprise ne dure qu'un temps relativement court. Chaque lamelle, formée dans l'une de ces périodes, représente un dépôt ininterrompu de substances sécrétées par le protoplasme et apposées en direction centripète.

Si ces périodes se succèdent avec régularité et avec une égale durée, les lamelles de même nature, qu'elles soient claires ou sombres, auront toujours la même épaisseur. C'est surtout dans ces cas de stratification très régulière que se distingue, avec une grande netteté, l'alternance des lamelles, tantôt minces et sombres, tantôt plus épaisses et plus claires, dont il convient maintenant de rechercher la véritable constitution.

LA VRAIE NATURE DES LAMELLES. — « La lamelle de jonction »

La première explication qui ait été donnée de l'alternance des lamelles est due à HOFMEISTER (4, 189), qui, assimilant la stratification de la membrane à celle des grains d'amidon, la considéra comme formée de couches alternativement plus riches et moins riches en eau. Plus tard, STRASBURGER (3, 65) avait émis l'idée que la membrane épaissie consistait non pas en lamelles se recouvrant les unes les autres, mais en bandes qui s'enrouleraient en spires très serrées, et du même coup il expliquait, comme on le verra, la stratification et la striation. C'est à l'hypothèse d'HOFMEISTER qu'on paraît se ranger encore à l'heure actuelle, bien qu'elle ne soit pas applicable dans tous les cas.

Il est certain en effet que, parfois, la stratification ne saurait pas être due à une différence, dans la teneur en eau, des diverses parties de la membrane. ZIMMERMANN (5, 643) a signalé ce fait à propos des cellules scléreuses de la moelle de *Podocarpus latifolius*, et

CORRENS (6, 329) fait remarquer qu'il en est absolument de même pour les fibres libériennes du Quinquina.

Lorsque l'eau détermine l'apparition des strates, celles-ci doivent disparaître par la dessiccation. C'est ce qui arrive notamment pour les grains d'amidon. Mais il en est tout autrement avec les éléments scléreux d'un Quinquina ou d'un *Podocarpus*, si on vient à les déshydrater par l'alcool. Dans ce cas la stratification persiste dans toute sa netteté.

On ne peut guère attribuer ce résultat à une contraction des strates les plus riches en eau, contraction telle, qu'une fois les strates déshydratées, elles apparaîtraient comme une série de sillons concentriques. Les oppositions de lumière sont trop marquées pour qu'il en soit ainsi.

Une autre raison qu'on pourrait invoquer, c'est la présence de fentes entre les strates. Ces fentes contiendraient de l'eau, tant que la membrane est imbibée et de l'air, lorsque elle est desséchée, et, dans les deux cas, on s'expliquerait que la stratification fût toujours visible. Mais il est un cas, pourtant, où elle devrait disparaître, c'est lorsqu'on monte les coupes dans un milieu dont l'indice de réfraction est voisin de celui de la membrane, et, dans ce cas, comme dans les précédents, l'aspect de la préparation est toujours le même.

Il ne reste donc qu'une seule hypothèse possible : admettre que les strates minces et sombres diffèrent des strates épaisses et claires par leur constitution chimique. STRASBURGER (2, 566), qui a cherché à vérifier cette hypothèse en se servant des cellules de la moelle de *Clematis Vitalba*, a éclairé d'un jour tout nouveau cette question intéressante. Dans ces cellules, l'alternance des strates est des plus régulières et en même temps facile à observer, comme on l'a déjà fait remarquer. En les gonflant par l'acide sulfurique, on constate que les strates plus épaisses et plus denses sont formées d'un certain nombre de lamelles qu'on n'aurait pas pu distinguer sans réactif.

Les zones les plus minces ne sont, au contraire, formées que d'une seule lamelle, et cette lamelle est constituée par de petits bâtonnets disposés à côté les uns des autres (fig. 11) : c'est la *lamelle de jonction* [1] (Anschlusslamelle), chargée d'unir deux

(1) Je traduis le mot d'après les indications que M. Strasburger lui-même a bien voulu me donner (Lettre du 3 janvier 1904).

strates voisines. Ces lamelles peuvent être contenues, en un certain nombre, dans l'épaisseur de la membrane.

Toutefois, jamais celle-ci ne montre de lamelle de jonction sur son côté interne, ce qui prouve que chaque nouvelle strate d'épaississement ne se termine pas par elle, mais qu'au contraire c'est par une assise à bâtonnets qu'elle débute.

La zone la plus interne, ou *pellicule limitante* (*Grenzhaütchen*), la dernière formée, est toujours aussi la plus réfringente. Il ne s'agit pas ici de la dernière lamelle, mais de la dernière strate limitée vers l'extérieur par sa lamelle de jonction, vers l'intérieur par le protoplasme et constituée, comme on l'a déjà dit, par plusieurs lamelles.

Quant à la nature chimique de la lamelle de jonction, l'emploi de réactifs comme la phloroglucine et l'acide chlorhydrique ou le chlorure de zinc iodé, montrent qu'elle est un peu différente de celle des autres strates. Avec la phloroglucine par exemple, elle se colore plus fortement en rouge, ce qui indique une lignification plus prononcée.

Ces recherches montrent, par conséquent, que ces différences, dans la constitution chimique, peuvent jouer un certain rôle dans le phénomène de la stratification.

En résumé, nous reconnaissons, avec CORRENS (*l. c.*), deux causes possibles à la structure stratifiée de la membrane :

1° Elle est due à des différences d'hydratation et disparaît alors par dessiccation ; c'est le type représenté par le grain d'amidon ;

2° Elle tient à des différences dans la constitution chimique. Les strates persistent par dessiccation. C'est le type *Podocarpus*.

Il est certain qu'entre ces deux types, il y a une foule d'intermédiaires.

LES DIVERSES COUCHES DE LA MEMBRANE

Lorsqu'on examine avec soin, en coupe transversale, une membrane cellulaire, épaissie, une fibre lignifiée, par exemple, on aperçoit, entre deux cellules voisines, une substance qui paraît, tout



Fig. 11. — Un fragment de la paroi d'une cellule de la moelle d'une tige déjà assez âgée de *Clematis Vitalba*. On aperçoit les diverses lamelles de jonction. En *a* les bâtonnets de l'une d'elles sont développés d'une façon peu commune (SRASBURGER).

d'abord, homogène (fig. 12). Cette substance entoure tous les éléments d'un même tissu et ne s'interrompt par places que pour former ces petits polygones bien connus, remplis aussi d'une matière spéciale et que l'on trouve entre les sommets angulaires de trois ou quatre cellules contiguës. Si maintenant, comme l'a

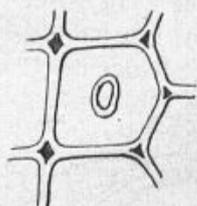


Fig. 12. — Une fibre lignifiée (DIPPEL).

fait DIPPEL (7), on examine la même coupe transversale, en lumière polarisée, avec nicols croisés, l'aspect de la préparation change totalement. Les bords de la substance très réfringents, brillent avec éclat, tandis que, dans la région médiane se distingue une ligne noire très fine, reliant entre eux les petits polygones dont il vient d'être parlé (fig. 13, *c. m.*). En réalité, la partie comprise entre deux cellules est donc divisée

en trois bandes, dont une, très claire, appartient à chaque cellule voisine, tandis que la bande médiane sombre leur est commune.

La bande médiane représente le ciment qui unit les cellules, et nous l'appellerons, de suite, pour plus de clarté, *couche mitoyenne*. Uniréfringente, elle a donc une constitution moléculaire spéciale. Sa nature chimique est différente aussi de celle des bandes latérales biréfringentes, que nous nommerons *couches primaires* (*c. p.*). Celles-ci sont, dans le début surtout, de nature cellulosique, tandis que la couche mitoyenne est de nature pectique.

Dans une membrane épaisse comme celle de la fibre que nous considérons, lorsque la couche primaire s'est formée, de nouvelles lamelles se juxtaposent sur celle-ci, forment un ensemble ayant des caractères propres, représentant généralement la partie la plus épaisse de la membrane : c'est la *couche secondaire* (*c. s.*). Enfin, en dernier lieu se produit une enveloppe plus mince que la précédente et qui bordera intérieurement la cellule : c'est la *couche tertiaire* (*c. t.*).

Il était nécessaire d'établir nettement, tout d'abord, les distinctions à faire, entre les différentes parties de la paroi cellulaire, car

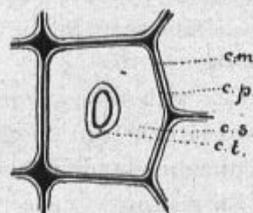


Fig. 13. — Fibre ligneuse examinée au microscope polarisant (DIPPEL).

c'est là peut-être un des points les plus diffus de l'histoire de la membrane ; sans doute parce que, comme le fait remarquer GILSON, des choses identiques ont été désignées sous des noms différents, et des choses différentes sous des noms identiques.

SURSTANCE INTERCELLULAIRE. — LAMELLE MOYENNE

Comme la couche mitoyenne n'apparaît qu'en se servant d'une technique spéciale, et que le seul moyen, et le plus sûr, de la mettre en évidence est d'employer la lumière polarisée, cette partie de la membrane est souvent passée inaperçue aux observateurs.

D'autre part, dès le début de l'accroissement de la paroi, la partie externe de la membrane que nous avons appelée couche primaire, prend généralement les caractères chimiques de la couche mitoyenne. Elles sont formées l'une et l'autre de composés pectiques qui, ainsi que l'a montré MANGIN (8,83), s'accumulent de plus en plus vers l'extérieur de la cellule, au fur et à mesure qu'elle s'accroît. Aussi, a-t-on très souvent considéré, comme homogène et autonome, cette partie des tissus comprise entre deux cellules voisines, et ce que l'on a bien des fois appelé *substance intercellulaire* est en réalité formé, comme on vient de le voir, des couches primaires comprenant entre elles la couche mitoyenne.

C'est MOHL (9) qui le premier signala l'existence de cette sorte de gangue dans laquelle sont contenues les cellules et lui donna le nom de substance intercellulaire (Intercellularsubstanz). SCHACHT (10) confirme plus tard les recherches de MOHL et reconnaît que l'existence de cette matière unissante ne fait aucun doute.

Mais bientôt la présence de cette substance, entre les cellules, reçoit des interprétations différentes et l'on ne tarde pas à la méconnaître, comme partie indépendante de la membrane cellulaire. Tandis que des histologistes comme UNGER (11) la considèrent comme préexistante, dans la cloison cellulaire, et en font dériver les parois propres de la cellule, d'autres, comme SCHLEIDEN (12), HARTING (13) et SCHACHT lui-même, admettent qu'elle ne se forme qu'après coup et par une sécrétion du protoplasme à travers la membrane. On fut donc conduit à supposer que la substance en litige faisait partie intégrante de la paroi, qu'elle représentait l'as-

sisé primaire plus ou moins modifiée, et le nom de *membrane primaire* fut substitué à celui de substance intercellulaire. C'est ainsi que l'appelle BARANETZKI (14,173).

Par une conception à peu près semblable, WIESNER (15,288) est amené à lui donner le nom de *membrane externe* (Aussenhaut), parce que dans les premiers stades du développement cette zone se séparerait, suivant lui, en deux couches, dont chacune forme la nouvelle membrane d'une des cellules contiguës.

Il est de fait que lorsqu'on isole certaines cellules, les unes des autres, aucune substance ne paraît rester entre elles, et tout ce qui constitue l'enveloppe externe de chaque élément, paraît faire partie intégrante de sa membrane.

Mais ces désignations avaient le tort de supposer résolue l'origine de la région mitoyenne des cellules. Et on est loin d'être fixé sur ce point, même à l'heure actuelle.

Appeler membrane primaire ou membrane externe la partie mitoyenne de deux cellules faisait présager que, dans le début, chaque membrane prend naissance par le simple clivage de la cloison primitive, ce qui n'est rien moins que prouvé. Aussi, l'expression de *lamelle moyenne*, qui désigne simplement une région de la paroi cellulaire, sans impliquer rien de plus sur son origine et son mode de formation, fut-elle préférée et est-elle couramment employée aujourd'hui encore. GILSON (16,401) l'adopte récemment.

Il est à peine besoin de faire remarquer une fois de plus que, suivant les auteurs, ce terme peut être pris dans deux acceptions différentes.

Avec ceux qui considèrent la substance intercellulaire comme homogène (NAEGELI, HOFMEISTER, SACHS, GILSON), *lamelle moyenne* désignera cet ensemble formé de ce que nous avons nommé les couches primaires et la couche mitoyenne. Toute cette partie de la membrane est le plus souvent, comme nous l'avons dit, de nature pectique. Avec ceux qui ne voient, au contraire, dans la substance intercellulaire que ce que nous avons appelé couche mitoyenne (DIPPEL, SCHACHT), le même terme ne s'applique donc qu'à la région médiane de la lamelle moyenne (Mittelplatte der Mittellamelle).

Dans ce qui suivra, nous nous servirons de ce terme, dans le sens

de NAEGELI, pour désigner toute la substance comprise entre deux cellules, et nous emploierons l'expression de couche mitoyenne lorsqu'il s'agira de la région médiane de la lamelle moyenne.

Couche secondaire.

C'est la couche secondaire qui représente généralement, comme épaisseur, la partie prépondérante de la membrane ; c'est elle aussi qui en possède les caractères distinctifs. La membrane est-elle lignifiée ou subérifiée, c'est sur la couche secondaire que portera la lignification ou la subérification. Les réactions chimiques de cette partie de la membrane changent donc avec la nature des tissus.

Couche tertiaire.

C'est la membrane ou pellicule limitante (Grenzhaütchen) de STRASBURGER (3,6). Elle limite, en effet, la cavité cellulaire et, par conséquent, se trouve être la partie de la membrane la dernière formée. Aussi est-elle fort peu différenciée et présente-t-elle la réaction de la cellulose soit instantanément, soit après l'action peu prolongée des réactifs. Elle est, en général, très mince.

La couche tertiaire existe notamment dans les tissus lignifiés, dans le liège, dans certaines cellules à membrane mucilagineuse.

MARCHE DE L'ÉPAISSISSEMENT A LA SURFACE DE LA MEMBRANE

Après avoir étudié, dans ses traits les plus saillants, l'accroissement en épaisseur de la membrane vue en coupe transversale, il est nécessaire de suivre le même phénomène, sur la membrane vue de face.

On a considéré pendant longtemps l'épaississement comme se faisant d'une façon très régulière à la surface de la membrane, sauf en des places arrondies ou elliptiques restées minces, qu'on a appelées *ponctuations*.

C'est de cette façon que SACHS (17), DE BARY (18), VAN THIEGEM (19) décrivent la marche de l'accroissement, à la surface des jeunes parois.

Outre quelques exemples connus, comme le voile des racines aériennes des Orchidées, l'écorce interne de la racine des Conifères, où les places mêmes des ponctuations sont parcourues par un

réseau de lignes épaissies et entrecroisées, certaines observations isolées ont montré que la structure des ponctuations était loin d'être aussi simple qu'on l'admettait généralement.

G. KRAUS (20) observait, dans le parenchyme des feuilles de *Cycas* et d'*Encephalartos*, des places minces divisées, par des fils épaissis, en petits espaces percés à leur tour de canaux extrêmement étroits. BORSTCHOW (21) avait retrouvé quelque chose de tout à fait analogue, dans l'écorce primaire de *Ceropegia aphylla* et de quelques autres plantes.

VESQUE (22) constatait également dans le parenchyme cortical de beaucoup de Dicotylédones cette structure finement réticulée des ponctuations et remarquait les pores très petits qu'on aperçoit dans les mailles du réseau. RUSOW (23), à l'occasion de ses recherches sur le liber, arrivait à des conclusions semblables au sujet des éléments du parenchyme non ligneux.

Mais c'est à BARANETZKI (14) qu'on doit des détails aussi intéressants que précis, sur la façon dont se fait l'accroissement en épaisseur, sur les divers aspects qu'il revêt ensuite, et sur l'interprétation à donner à certaines particularités fort curieuses de la membrane.



Fig. 14. — *Hoya carnosa*. Cellule parenchymateuse de l'écorce primaire de la tige (BARANETZKI).

En étudiant les parenchymes mous, c'est-à-dire non lignifiés, de tiges, racines et feuilles diverses, il a montré que, le plus souvent, sur la fine cloison, d'abord lisse à sa surface, apparaissent des saillies, sous forme de fils extrêmement fins (fig. 14) qui se croisent dans tous les sens mais s'orientent surtout vers le centre de la paroi. Ces lignes prennent une teinte d'autant plus bleue, par le chlorure de zinc, qu'elles sont plus épaissies. Elles tranchent ainsi

sur le fond de la membrane, qui devient, par contre, de plus en plus clair, au fur et à mesure que progresse la formation du réseau. Comme à l'intersection de deux fils la teinte paraît plus sombre, BARANETZKI en conclut qu'ils sont superposés et doivent par suite se former successivement.

KIENITZ-GERLOFF (24, 35) émet pourtant des doutes à ce sujet. Suivant lui, les épaississements se trouveraient parfois dans un même plan et naîtraient d'une façon simultanée.

Dans tous les cas, et c'est là un point qu'il importe de préciser, les lignes d'épaississement de deux membranes juxtaposées et appartenant par conséquent à deux cellules voisines, se correspondent exactement.

Le réseau primitivement formé est le plus souvent composé de fils toujours très fins. Souvent, les choses en restent là ; mais parfois aussi les fils s'élargissent de plus en plus, et font place à des bandes qui, en se rejoignant, oblitèrent un certain nombre des mailles du réseau. Seules les places les plus larges persisteront alors pour donner des ponctuations de forme très irrégulières et irrégulièrement réparties aussi, à la surface de la membrane.

C'est par les mêmes stades de développement que passe le parenchyme lignifié, celui de la moelle de beaucoup de plantes, par exemple, dont les ponctuations rondes ou elliptiques comme on sait se trouvent creusées dans une membrane assez épaisse.

Dès le début de l'épaississement la membrane se montre parcourue, à la surface, par un réseau touffu, c'est l'*épaississement secondaire*, puis la coloration bleue que donne la membrane, avec le chlorure de zinc iodé, se fonce de plus en plus ; en s'épaississant, les filaments du réseau finissent par se confondre, sauf en certains points restés clairs et qui conservent leur structure première (*épaississement tertiaire*). Ce sont les futures ponctuations. A ce moment, les réactifs indiquent un changement profond dans la nature chimique de la membrane en train de se lignifier ; elle trahit de plus en plus difficilement la présence de la cellulose, et, lorsque la lignification est complète, les ponctuations apparaissent avec leur contour très net et très régulier ; mais la fine sculpture réticulée de leur mince paroi ne peut plus être aperçue. Elles ont alors l'aspect de ponctuations simples.

Ce n'est que lorsque se sont déposées les couches formant l'épaississement secondaire, que la membrane commence à se lignifier. La lignification paraît n'avoir jamais lieu avant ce moment.

Les ponctuations croisées qui se traduisent à l'œil de l'observateur comme deux fentes superposées et perpendiculaires l'une à l'autre, doivent leur origine à la direction des premières bandes d'épaississement. Dans le réseau primitif il existe deux systèmes de filaments superposés l'un à l'autre et en direction à peu près perpendiculaire. Les bandes du système inférieur en s'élargissant

finissent, comme toujours, par se toucher et se confondre, en laissant entre elles toutefois de longues fentes qui, toutes, ont une direction semblable. Il en est de même du système supérieur dont les bandes croisent les premières, d'où l'aspect si singulier des punctuations ainsi formées.

L'épaississement, qui se prolonge toujours davantage sur les parois lignifiées des parenchymes, peut revêtir, aux derniers stades, des caractères différents de ceux qu'il a présentés au début. Si tout d'abord les bandes du réseau, plus ou moins fusionnées, laissent entre elles des punctuations, par la suite, de nouvelles bandes peuvent apparaître, qui s'étendront sur les premières et passeront même sur les punctuations qu'elles peuvent recouvrir plus ou moins complètement.

BIBLIOGRAPHIE

1. KRABBE. — *Ein Beitrag zur Kenntniss der Structur und des Wachstums vegetabilischer Zellhäute*. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XVIII, 1887, p. 375.
2. STRASBURGER. — *Die pflanzenlichen Zellhäute*. Jahrb. f. wiss. bot. Bd. XXXI. Heft. IV, 1898.
3. — *Ueber den Bau und das Wachstum der Zellhäute*. Jena, 1882.
4. HOFMEISTER. — *Die Lehre von der Pflanzenzelle*. Leipzig, 1867.
5. ZIMMERMANN. — *Die Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle*. Encyklop. der Naturwiss., 1887.
6. CORRENS. — *Zur Kenntniss der inneren Structur der vegetabilischen Zellmembranen*. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXIII, 1891.
7. DIPPEL. — *Die Structur der sogenannten « Mittellamelle »*, 1876. Différents mémoires publiés dans les Abhandl. der Senckenbergischen Ges. Bd. X et XI. Francf.-a-Mein, 1878.

7. DIPPEL. — *Die Anwendung des polarisirten Lichtes in der Pflanzenhistologie*. Zeitschrift. f. wiss. Mikroskopie. Bd. I, 1884, p. 220.
 8. L. MANGIN. — *Recherches anatomiques sur la distribution des composés pectiques, chez les végétaux*. Ext. du J. de Bot., 1893.
 9. H. v. MOHL. — *Ueber die Verbindung der Zellen untereinander*. Dissertation, 1835.
 10. HERM. SCHACHT. — *Die Pflanzenzelle*. Paragr. V. *Die Pflanzenzelle mit einander verbunden*. Berlin, 1852, p. 74.
 11. UNGER. — *Ueber die Lenticellen*. Flora, 1836. p. 577-604.
Idem Bot. Zeit., 1847, p. 289.
 12. SCHLEIDEN. — Botanik. Ed. II. Bd. 1, p. 316.
Ed. III. Bd. 1, p. 328.
 13. HARTING. — Ann. Sc. Nat. 3^e s. t. v., 1846, p. 326.
 14. BARANETZKI. — *Epaississement des parois des éléments parenchymateux*. Ann. Sc. Nat. 7^e s. T. 4, 1886.
 15. WIESNER. — *Elemente der Anatomie und Physiologie der Pflanzen*. 2. Aufl.
 16. GILSON. — *La cristallisation de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale*. « La cellule ». T. IX, 1893.
 17. SACHS. — *Lehrbuch der Botanik*, 1874.
 18. DE BARY. — *Vergleichende Anatomie*, 1877.
 19. VAN THIEGEN. — *Traité de Botanique*, 1891.
 20. G. KRAUS. — Jahrb. f. wiss. Botanik. t. IV, p. 326.
 21. BORSTCHOW. — Id. t. VII, p. 344.
 22. VESQUE. — Ann. Sc. Nat. 6^e série, t. II, p. 101 et 109.
 23. RUSSOW. — Sitz. der Dorpater Naturf. Ges., t. VI (1881-1882), p. 350 et 359.
 24. KIENITZ-GERLOFF. — *Die Protoplasmaverbindungen zwischen benachbarten Gewebeelementen in der Pflanze*. Bot. Zeit. 1891, p. 1.
-

§ III. — RÔLE DU NOYAU DANS LE DÉVELOPPEMENT DE LA MEMBRANE

Nous avons déjà montré les relations étroites existant entre la division du noyau et le cloisonnement cellulaire. Il importe de se demander maintenant si la présence du noyau est toujours nécessaire, dans la formation de la membrane, et quel concours il lui prête pendant son accroissement.

On s'est préoccupé depuis longtemps des fonctions du noyau dans la cellule ; ses rapports avec le protoplasma ont retenu tout d'abord l'attention des histologistes. Ce n'est que plus tard qu'on a songé à la membrane et à l'influence que le noyau pouvait avoir sur son développement.

Comme on va le voir, le noyau paraît régler l'accroissement de la paroi cellulaire depuis le moment de sa formation jusqu'à la mort de la cellule ; c'est lui qui semble donner l'impulsion aux modifications diverses dont elle est le siège. Nous aurons donc à étudier son intervention d'abord dans la formation de la membrane, puis, dans son accroissement.

A. — LE NOYAU ET LA FORMATION DE LA MEMBRANE

Un des premiers, KLEBS (1) a montré la nécessité du noyau, pour qu'une masse de protoplasma puisse se revêtir d'une membrane. Si on divise en plusieurs fragments le protoplasme d'une cellule de *Spirogyra*, de *Zygnema* ou d'*Œdogonium*, les amas protoplasmiques contenant le noyau s'entourent d'une nouvelle membrane, régénèrent la cellule et pourront s'allonger par la suite ; ceux qui n'en renferment pas, ne tardent pas à périr. Quant à cette fragmentation du protoplasme, elle est obtenue facilement, en plasmolysant les cellules au moyen d'une solution de sucre à 15 ou 25 %.

HABERLANDT (2,23) a fait une observation du même genre sur des poils de certaines Cucurbitacées. Le protoplasma des cellules s'y divise souvent en deux parties par suite d'un épaissement localisé des parois latérales (fig. 15). Après cette division, si la formation

de la membrane continue, c'est la partie contenant le noyau qui produit les couches nouvelles.

Lorsqu'il y a plusieurs noyaux dans une cellule, comme dans les *Vaucheria*, les *Siphonocladus*, les *Vatonia*, il était intéressant de savoir s'il suffit d'un seul de ces petits noyaux pour produire la membrane ou s'il est nécessaire qu'il y en ait une certaine quantité. SCHMITZ (4) répond à la question en montrant qu'un seul noyau suffit, dans ces conditions, pour que la membrane prenne naissance.

A côté des résultats que nous venons d'énoncer, ceux de PALLA (5) paraissent en contradiction complète ; mais nous verrons plus loin que cette contradiction n'est qu'apparente. En plasmolysant des feuilles d'*Elodea Canadensis*, des poils radicaux de *Sinapis alba*, des rhizoïdes de *Marchantia polymorpha* ou des filaments d'*Œdogonium*, on obtient, comme nous l'avons vu déjà, la fragmentation du protoplasme. PALLA a vu chacun de ces fragments s'entourer d'une membrane, qu'il soit ou non pourvu d'un noyau. Les grains de pollen donnent des résultats tout à fait analogues. Si on en place quelques uns dans une solution de saccharose, une rupture se produit, au moins en un point du grain de pollen, et le protoplasme, entraînant les deux noyaux, fait saillie au dehors. Il arrive alors très souvent que la masse protoplasmique restée dans le grain se sépare de celle qui a fait hernie par une plaque de cellulose ; elle se divise ensuite en nombreux globules, et chacun d'eux, malgré l'absence de noyau, s'entoure d'une membrane.

Pour expliquer la formation de la membrane sur des masses protoplasmiques sans noyau, dans les expériences de PALLA en particulier, on a donné plusieurs raisons. On a supposé d'abord que la portion de protoplasme dépourvue de noyau et séparée de la masse protoplasmique primitive conservait néanmoins l'influence du noyau ; on a admis également que cette influence pouvait se transporter d'une cellule à l'autre ; que dès lors si un amas de protoplasme non nucléé et contenu dans une cellule se revêt d'une mem-



Fig. 15. — Cellule d'un poil de *Sicyos angulatus*. — Le protoplasme s'est divisé en deux moitiés dont l'une, celle qui contient le noyau, s'est enkystée (HABERLANDT).

brane, c'est grâce à l'influence du noyau demeuré non loin de lui, dans la même cellule, ou encore à l'action des noyaux des cellules voisines.

TOWNSEND (9), dans une série de recherches fort bien conduites, a donné, depuis peu, l'explication de ces phénomènes et montré leur véritable nature.

Dès les premiers essais entrepris sur ce sujet, on avait remarqué, sans y ajouter une grande importance, que la séparation complète des fragments de protoplasme obtenue par plasmolyse n'était qu'apparente. Les masses protoplasmiques, qui paraissent isolées, au premier coup d'œil, sont en réalité reliées les unes aux autres par des filaments très délicats et presque invisibles (fig. 16), qu'HOFMEISTER (10, 71) observa le premier en 1867.

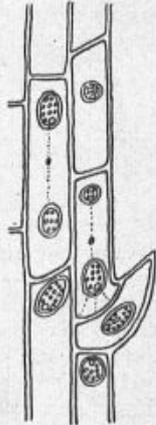


Fig. 16. — *Elodea Canadensis*. — Cellules montrant les filaments qui relient entre elles les sphères protoplasmiques séparées (TOWNSEND).

En plasmolysant même fortement, on ne détruit pas les fils de communication, et, à la condition que le protoplasme reste vivant, il se forme, à sa surface, une membrane dans les fragments contenant le noyau comme dans ceux qui n'en renferment pas. Ce qui se passe entre les fragments d'une même cellule peut se passer aussi entre deux cellules voisines, et ici, ce sont les liaisons protoplasmiques, dont il sera question plus loin, qui maintiendront la communication. Il y a, par conséquent, influence de cellule à cellule.

On ne pouvait la mettre en évidence qu'en rompant les communications et montrant qu'alors cette influence ne s'exerce plus.

C'est ce qu'a fait TOWNSEND, qui provoquait la rupture des filaments protoplasmiques, soit en les soumettant à une certaine pression, soit, plus simplement, en les sectionnant.

Il a d'abord bien établi que si on soustrait une masse de protoplasme à l'influence de tout noyau, même des noyaux environnants, elle ne forme jamais de membrane. Il suffit pour cela de détruire autour d'elle les protoplasmes et les noyaux des cellules

voisines. On la voit, dans ces conditions, vivre encore pendant un certain temps, mais ne jamais donner de membrane.

Dans ce même ordre d'idée, les essais sur des cellules disposées en série sont particulièrement instructifs. Avec des rhizoïdes, par exemple, dans lesquels le protoplasme a été fragmenté et le noyau éliminé, s'il se forme parfois autour de certains fragments une nouvelle membrane, c'est à la base du rhizoïde en communication avec les cellules voisines (fig. 17, II).

La membrane ne se forme jamais si cette communication est interrompue.

Si de même, dans une cellule, on sépare en deux parties le protoplasme, en rompant toute liaison entre les fragments isolés, il peut néanmoins se former une membrane sur la portion sans noyau ; mais on s'aperçoit qu'elle est reliée à la cellule voisine par des filaments protoplasmiques (fig. 17, I).

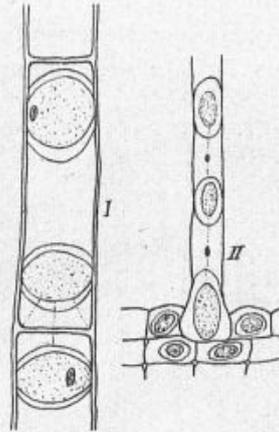


Fig. 17. — Rhizoïde de *Marchantia polymorpha* (TOWNSEND).

On obtient des résultats analogues par une expérience un peu différente. En plasmolysant certains organes, des prothalles de Fougère, des poils de tiges ou de feuilles, on en fait souvent sortir, après déchirure des membranes, des masses de protoplasme qui s'arrondissent bientôt et deviennent sphériques. Les unes ont entraîné un noyau avec elles, les autres en sont complètement dépourvues. Or, les premières vivent durant des semaines et forment une nouvelle membrane facile à distinguer ; les autres, au contraire, n'en forment généralement pas et l'observation attentive montre qu'elles n'ont alors de liaison avec aucun des noyaux voisins, les noyaux sortis des cellules, comme ceux qui y sont restés. On peut, même rompre ces liaisons, si elles étaient parfois constatées, et invariablement aucune membrane ne se forme.



Fig. 18. — Extrémité libre d'un tube pollinique d'*Hyacinthus orientalis* (TOWNSEND).

Enfin l'influence du noyau est telle, même à distance, que des sphères de protoplasme, sans noyau et déjà enveloppées d'une membrane, peuvent, à condition d'être en communication avec une sphère nucléée voisine, donner une deuxième enveloppe dans la première (fig. 18).

Ainsi donc, l'intervention du noyau est évidente même à distance ; mais l'utilité des communications protoplasmiques ne l'est pas moins et les résultats contradictoires de PALLA trouvent dès lors leur explication toute naturelle.

Mais, si les liaisons protoplasmiques sont nécessaires pour transporter à une certaine distance l'influence du noyau, elles sont indispensables, même pour deux masses de protoplasme en contact, comme on peut s'en rendre compte par l'expérience suivante.

Si après avoir isolé complètement, c'est-à-dire sans laisser entre elles aucun fil de communication ; si après avoir isolé des portions de protoplasme on leur laisse absorber de l'eau distillée, ces masses se dilatent et se touchent sans se fusionner. Dans ces conditions, seule

la portion munie d'un noyau forme une membrane, la séparant du restant de la cellule (fig. 19, I). C'est bien cette partie-là seulement qui donne la membrane, quoique cette membrane paraisse appartenir, dans la figure, aussi bien à la masse protoplasmique inférieure qu'à la masse moyenne. Il suffit, en effet, que les trois parties ne soient plus en contact, et on y arrive facilement par une nouvelle plasmolyse, pour bien se rendre compte qu'aucune des masses sans noyau ne donne de membrane (II).

Les recherches de TOWNSEND montrent encore ce fait important, que la membrane peut prendre naissance, quelle que soit la nature du noyau qui préside à sa formation. Dans le tube pollinique, le noyau générateur, comme le noyau végétatif, peuvent déterminer son apparition (fig. 20).

Au cours de ses observations, sur les communications protoplas-

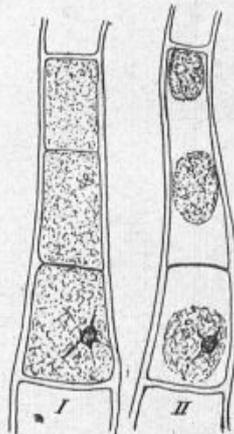


Fig. 19. — Cellule d'un poil de *Cucurbita Pepo* (TOWNSEND).

miques, STRASBURGER (11, 541), tout en sanctionnant les résultats de TOWNSEND, fait faire un pas de plus à la question et montre que la formation de la membrane dépend surtout des substances contenues dans le noyau, et en particulier du liquide nucléolaire. Ce serait donc en définitive le nucléole qui intervient dans le phénomène et dont l'action peut se faire, à distance, par le concours des liaisons protoplasmiques.

L'influence du noyau étant un fait bien posé maintenant, ainsi que les conditions dans lesquelles elle s'exerce, il reste à se demander de quelle façon cette influence intervient et quelle est sa nature.

Est-ce une forme de l'énergie qui se transporte ainsi, en suivant les filaments protoplasmiques ou bien y a-t-il apport de substances aux endroits où vase former la membrane? Il est certain qu'on ne saurait préciser pour le moment. Pour PFEFFER (12, 97), les peptones, les matières azotées et leurs enzymes, les liquides nourriciers peuvent passer avec une grande facilité d'une cellule à l'autre par la voie des liaisons protoplasmiques; peut-être alors, serait-ce par le concours des filaments protoplasmiques que les substances nécessaires pour l'édification de la membrane, formées dans le voisinage du noyau et par son intervention, pourraient être ensuite transportées à l'endroit où elles doivent être employées.

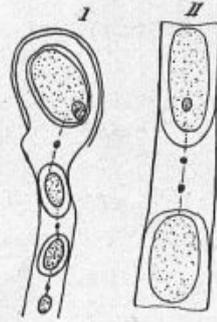


Fig. 20. — Tubes polliniques en germination. — En I, noyau reproducteur seul; en II, noyau végétatif seul (TOWNSEND).

B. — LE NOYAU ET L'ACCROISSEMENT DE LA MEMBRANE.

Au cours du développement de la membrane, si l'accroissement prend une importance plus grande en un point qu'à un autre; si elle s'épaissit ou augmente sa surface dans une région déterminée, on voit le noyau se porter de ce côté et y demeurer, tant que continue le développement.

Parfois même, des cordons protoplasmiques réunissent le noyau à l'endroit qui est le siège de cette croissance active. HABERLANDT (3)

a, le premier, attiré l'attention sur ces faits intéressants et montré qu'au contraire, lorsque ce développement suit son cours normal, les noyaux passent fréquemment sur les diverses faces de la cellule.

Dans *Aloe verrucosa*, chaque cellule épidermique se prolonge en une papille courte et rigide, dont la formation montre très bien les phénomènes dont il s'agit. Chez les jeunes cellules il se produit, tout d'abord, un épaississement en forme de coussinet, sur la paroi

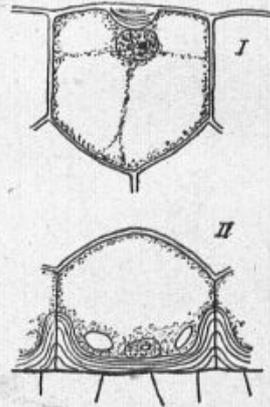


Fig. 21. — Positions du noyau :
I. Dans le développement des papilles de la cloison des cellules épidermiques d'*Aloe verrucosa*. II. Pendant l'épaississement de la membrane épidermique des graines de *Scopolina atropoides* (HABERLANDT).

externe (fig. 21). Le noyau s'accôle contre ce coussinet et reste dans cette position jusqu'à la fin de l'épaississement, après quoi, on le voit se retirer le plus souvent. Dans les téguments de certains fruits ou graines, les cellules épidermiques ont fréquemment aussi leur paroi interne épaissie. Dans un *Carex*, par exemple, ou dans un *Scopolina*, on verra toujours les noyaux, dans le voisinage de ces parois, tant qu'elles seront en cours de développement (fig. 21, II).

Ce qui se produit pour l'accroissement en épaisseur, s'observe de même dans la croissance en surface localisée, en un point quelconque de la membrane. Ainsi, lorsque se forme, à la surface de la racine de *Pisum sativum*, la hernie qui donnera naissance à un poil absorbant, c'est tout près du

noyau que la membrane commence à proéminer vers l'extérieur ; puis, le noyau s'engage dans le poil, dont il ne quitte plus l'extrémité, tant que celle-ci continue à proliférer (fig. 22). Au sujet de ces dernières observations d'HABERLANDT, POIRAULT (6,117) fait cependant quelques réserves. La relation entre le noyau et les poils des racines ne serait pas toujours aussi nette. Ainsi, dans l'*Equisetum hiemale*, le poil a déjà atteint une longueur assez notable que le noyau est encore à la partie basale, et aux divers degrés de son développement, le noyau reste toujours assez

loin de l'extrémité du poil. Les *Marsilia* et quelques Fougères donnent des résultats semblables.

Tandis que HABERLANDT et POIRAULT étudient l'influence de chaque noyau cellulaire sur le développement de la membrane, GERASSIMOFF (7), qui est arrivé, par des moyens détournés, à faire pénétrer plusieurs noyaux dans une même cellule de *Spirogyra*, cherche quelles peuvent être les conséquences de ces conditions anormales de la cellule et constate une augmentation plus rapide de son volume. La membrane s'accroît à peu près aussi rapidement en longueur qu'en largeur, et, dans l'ensemble, sa croissance étant plus rapide que celle des rubans chlorophylliens, il en résulte que la coloration verte de la cellule est plus faible que d'ordinaire.

Pas plus qu'à l'accroissement, le noyau ne paraît rester étranger aux diverses modifications

de la membrane. Il paraît même jouer un rôle actif, dans les phénomènes de dégénérescence dont la paroi cellulaire est quelquefois le siège. Lorsque chez certaines plantes aromatiques les membranes se gélifient pour former l'huile

essentielle, les noyaux se tiennent, avec une grande constance, au voisinage de l'endroit où ce travail s'effectue. VAN TIEGHEM et Mlle LEBLOIS, qui ont les premiers constaté ce fait, n'en donnent aucune raison. BRIQUET (8, 112), a eu maintes fois l'occasion de faire cette observation, et a reconnu que le gonflement de la membrane et sa gélification, par conséquent,

commençaient toujours à l'endroit près duquel le noyau avait déjà pris place (fig. 23). C'est donc là un exemple de plus, des rapports étroits qui lient le noyau au développement de la membrane.



Fig. 23. — Formation d'une calotte localisée avec juxtaposition du noyau, dans une cellule de *Myoporium acuminatum* (J. BRIQUET).



Fig. 22. — Développement des poils radicaux du *Pisum sativum* : Position du noyau dans les cellules (HABERLANDT).

En résumé, le noyau préside à la formation comme à l'accroissement de la membrane et à ses principales modifications. En ce qui concerne la production de la paroi cellulaire, son influence peut se transmettre à distance, soit dans la même cellule, soit à travers des cellules différentes, et se faire sentir parfois même à une distance de plusieurs millimètres. Il est indispensable, dans tous les cas, que le noyau soit relié par des filaments protoplasmiques, aux points où son influence doit s'exercer. Enfin, dans cette action du noyau sur la membrane, ce sont les nucléoles qui paraissent avoir le rôle prépondérant.

BIBLIOGRAPHIE

1. KLEBS. — *Ueber den Einfluss des Kerns in der Zelle*. Biol. Centralbl. Bd. VII, 1887.
— *Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle*. Untersuchungen aus dem bot. Inst. in Tübingen. Bd. 11, p. 489.
2. G. HABERLANDT. — *Physiologische Pflanzenanatomie*. Leipzig, 1896.
3. — *Ueber die Beziehungen zwischen Funktion und Lage des Zellkerns bei den Pflanzen*. Jena, 1887.
4. F. SCHMITZ. — *Beobachtungen ueber die vielkernigen der Siphonocladaceen*. Festschr. der Naturf. Ges. in Halle, 1879.
5. PALLA. — *Beobachtungen ueber Zellhautbildung an des Zellkernes beraubten Protoplasten*. Flora, 1890.
6. POIRAULT. — *Recherches anatomiques sur les Cryptogames vasculaires*. Ann. Sc. Nat. 7^e s. T. XVIII, 113. 1893.
7. GERASSIMOFF (J.-J.). — *Ueber den Einfluss des Kerns auf das Wachstum der Zelle*. Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou. 8^e, 185, 220 2 pl.

8. JOHN BRIQUET. — *Recherches anatomiques sur l'appareil végétatif des Phrymacées, Stilboïdées, Chloanthoïdées et Myoporacées*. Mém. Soc. Phys. et Hist. Nat. de Genève. T. XXXII, 2^e part. N^o 8.
 9. CH. O. TOWNSEND. — *Der Einfluss des Zellkernes auf die Bildung der Zellhaut*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXX, 1897, p. 484.
 10. HOFMEISTER. — *Handbuch der Physiologischen Botanik*. Bd I.
 11. STRASBURGER. — *Ueber Plasmaverbindungen pflanzenlicher Zellen*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXVI. Heft. 3., 1901.
 12. PFEFFER. — *Pflanzenphysiologie*. II. Aufl. Bd. I, p. 97.
-

CHAPITRE IV

PORES ET PONCTUATIONS

Loin de se faire d'une façon régulière, l'épaississement de la membrane se produit avec la plus grande irrégularité. Les matériaux sécrétés par le protoplasme s'accumulent en certains endroits, tandis que d'autres restent minces; il en résulte des parties en relief, à côté de parties creuses, c'est-à-dire une véritable sculpture qui peut revêtir, comme on sait, les formes les plus variables. On comprendra que dans un travail comme celui-ci, je ne m'attarde pas à l'étude de toutes ces particularités de la membrane, si bien décrites dans plusieurs traités de botanique. Je m'en tiendrai donc aux faits généraux les plus saillants.

La sculpture de l'enveloppe cellulaire, qu'on peut toujours observer sur la face interne des cellules, n'existe, à la face externe, que sur les cellules libres, comme le pollen ou les spores (épines, crêtes, etc.) ou sur celles dont une partie seulement de la membrane est en contact avec l'extérieur (cellules épidermiques). Or, si l'on s'explique facilement comment, par apposition, peut se faire l'*accroissement centripète* de la membrane, il est moins aisé d'expliquer l'*accroissement centrifuge*. Je reviendrai, plus loin, sur les hypothèses mises en avant à ce sujet. Pour le moment, je rappellerai que, suivant SCHUTT (1), il y aurait du protoplasme à la surface de certaines cellules libres et c'est grâce à ce protoplasme, en communication avec la masse plasmique interne, que se ferait l'accroissement centrifuge. Les recherches de cet histologiste ont porté sur certaines Péridiniées (*Ceratium* et *Podolampas*), Diatomées (*Cyclotella Socialis*) et Desmidiacées.

Les bandes, les épines, les ailes qu'on trouve à la surface de la

membrane des Périidiniées ne peuvent provenir, suivant lui, de l'action du protoplasme interne et ne pourraient être expliqués ni par l'apposition ni par l'intussusception. Les formations auraient, au contraire, leur origine dans l'activité d'une couche protoplasmique externe, sortie de la cellule par les pores nombreux qui en percent la membrane, comme les mailles d'un crible.

Ce protoplasme extramembraneux est doué de mouvements amiboïdes et émet des pseudopodes. Ce que montre surtout l'observation, ce sont les filaments très délicats sortant, en effet, des pores et qui, chez les formes coloniales, relie entre eux les divers individus (fig. 24).

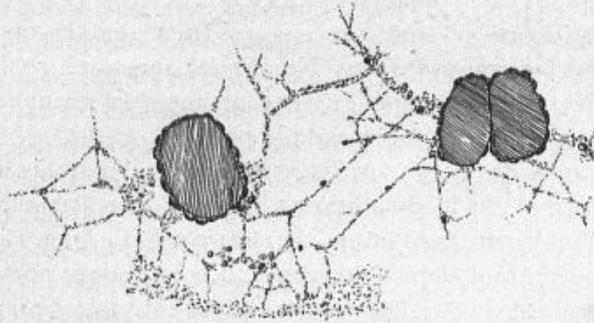


Fig. 24. — *Cyclotella socialis*: colonie avec ses liaisons protoplasmiques (SCHUTT).

Vient-on à irriter mécaniquement ces cellules, on provoque la formation de pustules de même nature que les filaments. SCHUTT leur accorde une grande importance et les considère, de même que l'enveloppe plasmique, comme le point de départ des ornements variés de la membrane.

§ I. — PORES

Les ornements en creux de la membrane, dans leur forme la plus simple, sont les pores. Ils peuvent exister sur des membranes en contact avec l'extérieur, ou sur les membranes internes des organes; mais, comme dans ce dernier cas ils sont intimement liés aux punctuations, nous ne nous occuperons, tout d'abord, que des

pores situés dans la membrane des cellules isolées, entièrement ou partiellement libres.

L'attention des histologistes s'est portée, durant ces dernières années, sur les pores de certaines algues unicellulaires, et les travaux de HAUPTFLEISCH (2), de SCHUTT (1), de O. MULLER (3) ont montré l'existence de *pores vrais*, c'est-à-dire d'orifices percés dans la membrane d'algues nombreuses : Desmidiacées, Diatomées, Périidiniées, Bacillariacées, etc. Ces pores sont traversés par de minces filaments protoplasmiques, en rapport avec les gaines gélatineuses revêtant les cellules, ce sont ces gaines que SCHUTT (*l. c.*) pense pouvoir être aussi de nature protoplasmique; les revêtements muqueux manquent toujours chez les espèces dépourvues de pores. Ailleurs ce sont des cils qui traversent la membrane, comme dans les zoospores des *Vaucheria*; mais ici, comme chez les Bactéries, les cils n'apparaissent qu'après la formation de la membrane, et sont donc obligés de la percer.

Il existe aussi des pores sur les grains de pollen, mais dans une partie seulement de la membrane; creusés dans l'exine, ils sont limités, à l'intérieur, par l'intine, de nature cellulosique. Celle-ci se renfle en pénétrant dans l'ouverture du pore et dans chaque pore ce renflement est revêtu d'une petite calotte cutinisée pour protéger d'une façon plus efficace encore le contenu du grain (STRASBURGER, 7); c'est par ces pores qu'au moment de la germination sort le tube pollinique enveloppé de la membrane de cellulose.

§ II. — PONCTUATIONS

Le mot de ponctuation, qui est réservé aux petites cavités creusées sur la face interne des cellules, n'implique nullement en lui-même l'idée d'une perforation de la membrane. Il peut cependant s'appliquer soit à des dépressions s'arrêtant à une certaine profondeur et qu'on pourrait nommer des *pores aveugles*, soit à des dépressions qui finissent par traverser la membrane en un ou plusieurs points et donnant par suite naissance à un ou plusieurs *pores vrais*. Nous étudierons d'abord les premières.

On trouve souvent dans la membrane externe de certains épider-

mes, des sortes de puits creusés depuis la cavité cellulaire jusqu'à la cuticule, mais sans la dépasser jamais. Ils ont été très bien étudiés par GARDINER (4,108) dans *Lilium Martagon* et *Tamus communis* (fig. 25) et par STRASBURGER (6,493) dans *Cycas revoluta*, dans les graines de Bambou, dans les rameaux de *Pinus balsamea*, etc. Mais tandis que GARDINER pense que les cavités contiennent des filaments protoplasmiques, les *plasmodesmes* dont on parlera plus loin, STRASBURGER les considère comme entièrement dépourvues de ces expansions du protoplasme. Des ponctuations du même genre se trouvent dans les vrilles de certaines plantes.

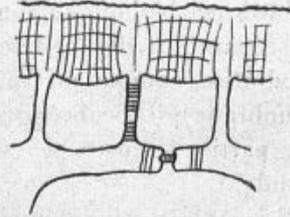


Fig. 25. — Cellules épidermiques de *Lilium Martagon* (GARDINER).

Ces vrilles, sensibles au contact des supports autour desquels elles s'enroulent et qui, suivant certains auteurs, doivent même cet enroulement aux impressions de contact reçues par elles, portent, dans leur membrane épidermique externe, de petites cavités renflées à leur base et remplies de cytoplasme (fig. 26). HABERLANDT (9,126) y a, en outre, constaté la présence de petits cristaux, rappelant

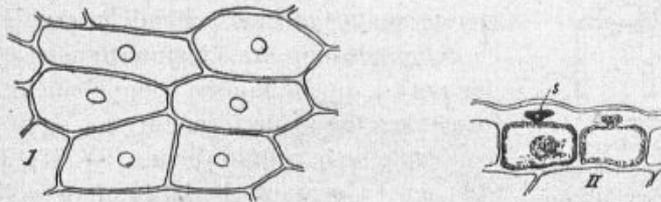


Fig. 26. — Epiderme de *Cucurbita Pepo*. Ponctuations sensibles. — I. Epiderme examiné à plat. — II. Coupe transversale, *s* petit cristal (HABERLANDT).

tout à fait ces cristaux à mouvement brownien qu'on trouve aux deux extrémités des Clostéries mobiles, et considère ces ponctuations comme de véritables organes des sens; aussi les a-t-il nommées *ponctuations sensibles*.

PONCTUATIONS INTERCELLULAIRES

Les ponctuations les plus répandues et les plus importantes, au point de vue biologique, sont celles qui sont contenues dans les parois de séparation des cellules, à l'intérieur des organes. Elles sont produites, comme on sait, par l'épaississement centripète de la membrane qui, localisé en certaines régions, laisse, en d'autres points, des parties creuses se correspondant exactement, dans chaque cellule.

Pendant très longtemps, les cavités qui se font face, et partant, les deux cellules auxquelles elles appartiennent, ont été considérées comme séparées par une mince paroi, à travers laquelle se seraient faits les échanges, par osmose.

Pour H. VON MOHL, SCHLEIDEN, la cloison de séparation est constituée par les *couches primaires* accolées au fond de chaque dépression, tandis que les autres strates se déposent sur celles-ci en respectant la future ponctuation, qui apparaît, dès lors, comme un puits creusé dans l'épaisseur des lamelles successives.

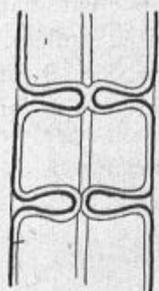


Fig. 27. — Pores tapissés par la couche tertiaire (d'après DIPPEL).

Telle n'est pas l'opinion de THÉODOR HARTIG, qui admet, au contraire, que la *couche tertiaire*, membrane tertiaire ou pellicule interne (Innenhäutchen) des auteurs, s'insinue dans les canaux des pores, qu'elle tapisse complètement, et en forme la cloison de fermeture en se soudant avec celle de la cellule voisine (fig. 27). DIPPEL (11), en se servant de la lumière polarisée comme moyen d'investigation, confirme les vues de HARTIG, avec cette restriction toutefois

qu'entre les couches primaires, on peut souvent apercevoir la substance intercellulaire ou couche mitoyenne, déjà découverte par lui ; et cette structure de la ponctuation paraît définitivement admise jusqu'au moment où, à la suite de recherches plus étendues et plus approfondies sans doute, les histologistes reviennent à l'interprétation de H. VON MOHL.

VAN TIEGHEM (13, 16, 550) considère la fine cloison de séparation

comme cellulosique, sauf en certains points, où de véritables pores sont ménagés dans la plaque de cellulose. Il admet toutefois qu'entre les deux cellules voisines, les communications directes sont interrompues par la couche membraneuse albuminoïde de chacune d'elles, qui vient s'appliquer sur le grillage ainsi formé. De son côté, STRASBURGER (6, 571), grâce à une technique très rigoureuse, infirme d'une façon complète l'opinion de DIPPEL au sujet de la couche tertiaire, et constate qu'elle s'arrête au bord du canal de la ponctuation, tout aussi bien que les lamelles secondaires (fig. 28).

Les recherches approfondies de BARANETZKI nous ont appris que l'épaississement de la membrane se faisait, dès le début, sous forme d'un réseau, dont les mailles représentent les places restées minces. Or, ce sont des membranes ainsi partiellement épaissies, qui forment le fond des ponctuations proprement dites. En d'autres termes, on peut distinguer, au fond d'une ponctuation, telle que la concevaient les anciens auteurs, des ponctuations plus petites, qui, à leur tour alors, ne se laissent plus diviser en d'autres places creuses. Il ne serait peut-être pas inutile, pour éviter la confusion, d'appeler celles-ci *microponctuations* pour les distinguer des premières.

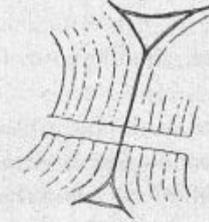


Fig. 28. — Fragment de paroi cellulaire de la moelle d'une tige assez âgée de *Climatis vitalba*. Disposition des couches d'épaississement autour d'une ponctuation (STRASBURGER).

§ III. — PLASMODESMES

Il existe les relations les plus étroites entre les ponctuations et les filaments protoplasmiques mettant en communication le protoplasme des diverses cellules ; aussi cette question est-elle intimement liée à celle de la membrane. Ces filaments de connexion ont donné lieu depuis une quinzaine d'années à un nombre considérable de travaux et ont reçu de STRASBURGER le nom de *plasmodesmes*.

Découvertes en 1878 par THURET et BORNET chez certaines Floridées, ces communications protoplasmiques furent retrouvées dans

un très grand nombre de plantes, par TANGL, GARDINER, STRASBURGER, KLEBS, KIENITZ-GERLOFF, W. HILL et bien d'autres.

Elles ont été rencontrées, avec tant de constance, dans toutes les recherches entreprises pour les étudier, et reconnues comme si généralement répandues, que GARDINER (4,111) a pu dire qu'elles existent « dans toutes les cellules de tous les tissus de toutes les plantes ».

ORIGINE ET DÉVELOPPEMENT

Les filaments protoplasmiques traversent souvent en grand nombre les membranes cellulaires, en passant d'une cellule à l'autre. Dans leur ensemble, ils affectent souvent aussi la disposition en tonnelet des fils connectifs, tendus dans la cellule, au moment de sa division ; de plus, comme chacun d'eux montre dans bien des cas une nodosité située au milieu de la membrane qu'il traverse, KIENITZ-GERLOFF (14) avait cru voir, dans ces épaissements, les restes de la plaque cellulaire. Il considérait les fils connectifs du noyau comme persistant, par la suite, et donnant les plasmodesmes, tandis que la nouvelle membrane prenait corps et se solidifiait entre eux. GARDINER (*l. c.*) interprète le phénomène d'une façon à peu près semblable, sans admettre toutefois l'origine nucléaire des plasmodesmes. Pour lui, ils n'ont aucun rapport avec le fuseau nucléaire lui-même, et leur disposition en tonnelet n'est qu'une ressemblance. Mais ils croissent de cette même partie du cytoplasma, qui, au moment de la formation de la plaque cellulaire, donne les fils du tonnelet et, formés dès l'apparition de la plaque cellulaire, leurs filaments seraient emprisonnés pendant sa solidification.

Il n'y a d'ailleurs rien d'étonnant à ce qu'ils prennent, par la suite, la forme en tonneau qui leur est si fréquente, obligés qu'ils sont de suivre la membrane dans sa croissance en surface. STRASBURGER (6) émet, récemment, un avis tout autre et montre que les plasmodesmes non seulement n'ont rien de commun avec le fuseau nucléaire, mais encore ne commencent à devenir visibles qu'au moment où se fait l'épaississement secondaire de la membrane. L'épiderme du Gui, par exemple, montre autant de plasmodesmes se dirigeant vers la couche cellulaire sous-jacente, qu'entre les cellules épidermiques voisines. Les connexions sont donc bien indépendantes de la karyokinèse, puisqu'il n'existe pas de division cellulaire, dans le sens

radial, pour engendrer la couche épidermique. La formation et la multiplication des plasmodesmes se font plutôt par des prolongements du protoplasme, qui vont au devant l'un de l'autre, dans deux cellules voisines, jusqu'à la membrane. Ce processus n'est d'ailleurs pas plus extraordinaire que la formation des ponctuations en correspondance dans les membranes, et ne voit-on pas, d'autre part, les filaments du cytoplasme se rencontrer, dans la formation du fuseau nucléaire, sans membrane à perforer c'est vrai, mais avec une distance bien plus grande à parcourir? Les plasmodesmes suivant GARDINER (*l. c.*) et STRASBURGER (6) sont des prolongements de la couche membraneuse périphérique et seraient parfois entourés d'une gaine mucilagineuse. De grosseur variable, ils atteignent leur plus grande dimension dans les tubes criblés qui, suivant TANGL (16) KIENITZ-GERLOFF (*l. c.*) ne sont qu'un cas particulier d'union protoplasmique, à plasmodesmes volumineux.

RÉPARTITION

Leur répartition dans les végétaux peut être considérée comme générale. On les rencontre dans toutes les cellules à membrane cellulosique. KIENITZ-GERLOFF a constaté leur présence dans de jeunes vaisseaux et même dans des fibres dont l'épaississement n'était pas terminé. GARDINER va même jusqu'à penser qu'on peut les rencontrer dans des tissus complètement subérifiés ou lignifiés

Dans les cellules prises isolément, chaque microponctuation est traversée par son plasmodesme, de sorte que la ponctuation tout entière est parcourue par un faisceau de filaments (fig. 29); ce sont là des plasmodesmes *agrégés*, suivant l'expression de KOHL (17).

Mais la membrane, même en des endroits où elle n'est pas ponctuée, peut être traversée aussi par des filaments plasmiques qui seront alors à une certaine distance les uns des autres. On les nommera plasmodesmes *solitaires* ou *isolés*.

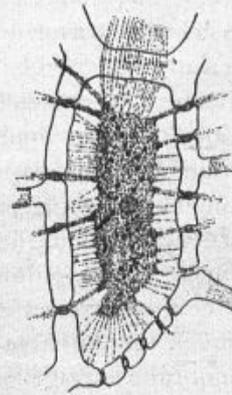


Fig. 29. — *Marattia Brongnartii*. Cellule de l'écorce du pétiole montrant le contenu cellulaire rétracté et les plasmodesmes agrégés et isolés traversant la membrane (POIRAULT).

ROLES PHYSIOLOGIQUES DES PLASMODESMES

Dès que l'existence des plasmodesmes fut reconnue comme à peu près générale, deux courants d'opinion se formèrent au sujet du rôle à leur attribuer. Pour les uns, ils servaient à transmettre, d'une cellule à l'autre, les sensations perçues par certains organes, dans le cas de la Sensitive, par exemple ; pour les autres, ils permettaient les échanges entre les cellules et représentaient les voies de communication, par lesquelles les matériaux de nutrition sont transportés d'un point à l'autre de la plante.

Les observations, au fur et à mesure qu'elles se sont multipliées, ont non-seulement permis d'admettre les hypothèses émises, mais encore d'attribuer à ces appareils plasmiques d'autres fonctions non moins importantes.

L'observation consacrait ainsi le rôle considérable qu'ils paraissent jouer dans l'économie de la plante tout entière.

Transmission des sensations

HANSTEIN, le premier, avait émis l'idée que les cordons protoplasmiques, traversant les plages criblées du liber, portent au loin les sensations reçues et il comparait les tubes criblés aux nerfs des animaux. GARDINER (5), SCHMITZ (23), PFEFFER (24), HABERLANDT (10) ne firent qu'appliquer aux plasmodesmes les vues de HANSTEIN. « Dans la transmission des sensations, dit PFEFFER (*l. c.* 528) les filaments protoplasmiques unissant les cellules sont, comme les nerfs des animaux, les voies de communication. Chaque excitation donnée à une cellule produit des actions déterminées, dans les cellules voisines, et il n'est pas impossible que différents fils plasmiques servent à la transmission d'excitations différentes. » La membrane aurait aussi sa part dans le phénomène, et son concours n'est pas à négliger, puisqu'elle pourrait « rentrer en vibrations et propager les impressions reçues du protoplasme qui la touche ».

Le dernier mode de transmission, comparable à celle du son, dans le téléphone, séduit KIENITZ-GERLOFF (14,51), et, tout en admettant le rôle des plasmodesmes, il pense que les sensations de contact reçues par les vrilles, sont transmises aux punctuations sensibles par les vibrations des parois épidermiques externes.

Cette fonction spéciale des plasmodesmes prend donc pied, de plus en plus, dans la physiologie et les travaux récents de GARDINER (4), de KIENITZ-GERLOFF (15) et de A. W. HILL (22), en lui donnant une nouvelle sanction, en élargissent encore l'idée qu'on s'en était faite. Ils transmettraient non seulement les impressions de sensibilité, à la façon du système nerveux périphérique, mais encore, comme le grand sympathique, transmettraient aux organes spéciaux des sensations relatives aux besoins divers de la plante. Les nombreux filets plasmiques qui, rencontrés par HILL (22) dans la coiffe de la racine, mettent l'intérieur de l'organe en relation avec l'extérieur, seraient en rapport étroit avec ses fonctions d'absorption et de progression à travers le sol.

Transport des matériaux nutritifs

Les difficultés que l'on rencontre lorsqu'on veut expliquer la circulation par la simple osmose à travers les tissus, ont amené les histologistes à faire jouer un autre rôle aux plasmodesmes. DE VRIES (25, 26) avait déjà attiré l'attention sur ce fait, que la rapidité de diffusion, même pour des substances très diffusibles, comme le sucre de canne ou le sel marin, est trop faible pour pouvoir expliquer leur migration rapide, à travers le corps de la plante. D'après lui, 1 milligr. de chlorure de sodium en solution, à 10 p. 100, exige 319 jours pour parcourir, par diffusion seule, une distance de un mètre, dans l'eau, et il faut 14 années à la même quantité d'albumine, pour effectuer le même parcours. Il est certain que si la rapidité de diffusion n'est pas suffisante, même si on suppose que le corps de la plante de la racine jusqu'aux branches, forme une masse de protoplasme ininterrompue, elle l'est encore moins si on ajoute à cela la résistance de plusieurs millions de parois cellulaires à traverser. Les difficultés sont, au contraire, levées en partie, si on fait intervenir les filaments plasmiques et les pores de la membrane comme la voie suivie par les liquides organiques en migration dans la plante. C'est dans ce sens, que laissent conclure les divers travaux auxquels nous venons de faire allusion. Leur grande abondance dans les albumens et les endospermes des plantes les plus diverses et dans les tissus à réserves nutritives, en est une preuve parmi tant d'autres qu'on pourrait citer. STRASBURGER (6) les considère aussi

comme liés à l'accroissement de la membrane elle-même. La plasmolyse qui fait rompre et rétracter les plasmodesmes, est nuisible au développement de la paroi cellulaire, surtout pour les membranes externes et sans contact avec d'autres cellules. C'est qu'il y a alors arrêt complet des rapports vitaux, entre la couche périphérique du protoplasme et la paroi, arrêt qui se traduit par la cessation de l'accroissement de la membrane et parfois même par la mort de la cellule.

Les plasmodesmes conducteurs des ferments.

Enfin, il n'est pas jusqu'à l'action des enzymes, dans la plante, qui ne soit liée aux plasmodesmes, comme l'ont montré les recherches très précises et entièrement concordantes de GARDINER (4), de KOHL (18), de STRASBURGER (5,17) et de W. HILL (21). Dans la germination du *Tamus communis*, la diastase chargée de dissoudre les membranes, suit le trajet des plasmodesmes et se trouve ainsi amenée



Fig. 30. — *Viscum album*. Un fragment de paroi entre deux cellules du parenchyme cortical d'une tige âgée. Les parties moyennes de la paroi sont transformées, autour des plasmodesmes (STRASBURGER).

jusqu'à la membrane. Dès qu'elle y a pénétré, son action corrosive se répand dès lors indépendamment des fils protoplasmiques et atteint son maximum d'intensité dans la région de la lamelle moyenne de nature mucilagineuse et moins résistante par conséquent. La pénétration du ferment commence en plusieurs points, à la fois, de la membrane et son aire d'extension s'élargit, depuis son point d'entrée, jusqu'au milieu de la membrane, prenant ainsi la forme d'un cône, dont le sommet est tourné vers le lumen de la cellule. L'action a lieu de cellule à cellule et de telle façon que les cônes formés sont opposés par la base (fig. 30). A ce stade, les filaments brillent encore au milieu du mucilage désorganisé des

aires affectées. Ces aires se confondent ensuite et la membrane se désorganise peu à peu en montrant une stratification très marquée de ses diverses couches. Fait très curieux : l'action du ferment est limitée et s'étend à peine au-delà du voisinage immédiat de l'extrémité absorbante du jeune embryon.

Les choses se passent d'une façon tout à fait analogue dans les membranes criblée du liber, à l'intérieur desquelles pénètre un ferment destiné à produire le cal.

DE JANCZEWSKI (27) et RUSROW (28) avaient montré autrefois que les plages criblées des Gymnospermes sont, dans le jeune âge, munies de fines ponctuations se correspondant exactement, comme toujours, et que chacune d'elles renferme un filament protoplasmique qu'ils nomment « filament calleux ».

D'après eux, chacun de ces filaments se transforme ensuite en un petit bâtonnet de nature calleuse, enchâssé dans la membrane au-dessus et au-dessous d'elle et dont l'extrémité libre, dans la cavité cellulaire, se renfle en une petite tête. C'est par la soudure de ces petits renflements que se constituerait le cal, de chaque côté de la plaque criblée (1).

STRASBURGER (l. c.) et surtout HILL (l. c.) ont récemment montré que dans la plaque criblée des Conifères et des *Pinus* en particulier, il ne s'agit pas de ponctuations, mais bien de pores traversant la membrane de part en part et contenant un filament plasmique continu. HILL nous renseigne sur la véritable nature de ces filaments et sur leur curieuse fonction. Ce sont, en réalité, des plasmodesmes qui persistent durant toute la période active du tube criblé. Il ne saurait donc être question ici et à aucun moment, de « fils calleux ».

C'est par la voie des plasmodesmes qu'un ferment, chargé de produire le cal, arrive au contact de la membrane. Celle-ci, constituée par une lamelle moyenne pecto-cellulosique, va commencer, dès ce moment, à se transformer.

(1) Pour tout ce qui concerne nos connaissances sur le liber, je renvoie le lecteur à l'excellente étude qu'en a faite M. le professeur PERROT : *Le Tissu criblé*, Paris, 1899.

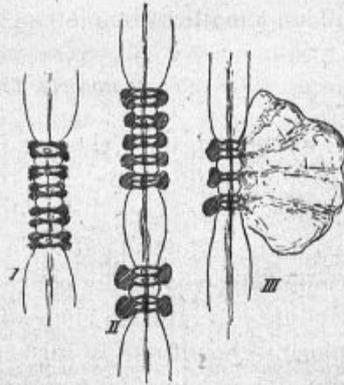


Fig. 31. — *Pinus sylvestris*: Divers stades de la formation du cal (STRASBURGER).

Les couches d'épaississement cellulosesiques se gonflent beaucoup pour donner le coussinet de callose, sur chaque plage criblée, tandis que les plasmodesmes conducteurs du ferment maintiennent encore les relations entre les deux cavités du tube (fig. 31).

Il est très intéressant de faire remarquer que Russow (*l. c.*, p. 212), qui considérait les cribles des Gymnospermes comme très probablement imperforés, admettait néanmoins qu'il y a « partout une communication certaine, entre les articles successifs des tubes cribreux » même après la formation du cal ; cette communication pouvant être établie, grâce aux filaments dont on a parlé. Il avait donc eu, vingt ans même avant les travaux de HILL, un sens très exact de la structure de ces appareils.

On sait que le fonctionnement du tube criblé cesse après l'achèvement complet du cal. Alors, cal et plasmodesmes se résorbent, frappés l'un et l'autre d'une dégénérescence mucilagineuse, et, dans le tube ainsi hors d'usage, chaque plage criblée devient un véritable grillage à mailles complètement perforées.

Conséquences de l'existence des plasmodesmes.

Les plasmodesmes, si répandus chez les végétaux comme on vient de le voir, ont de même été retrouvés, et à maintes reprises, chez les animaux. Si dès lors il est admis que le protoplasme communique ainsi d'une cellule à l'autre, on conçoit qu'il faille se faire une autre idée de l'être vivant. La conception de l'individualité cellulaire, de la cellule « organisme élémentaire » doit faire place à celle du protoplasme constituant à lui seul l'être vivant et formant un tout unique, dans lequel les membranes n'ont plus qu'un rôle secondaire. Dès lors disparaît aussi la différence fondamentale établie entre les êtres vivants unicellulaires et pluricellulaires. Le *Caularpa*, avec son thalle unicellulaire, mais si différencié morphologiquement, devient l'homologue de l'Angiosperme la plus élevée en organisation. L'élément essentiel et fondamental de l'un comme de l'autre, c'est la masse protoplasmique, circulant entre les travées ou poutrelles de l'un et les membranes de l'autre ; mais leur donnant à toutes deux une organisation commune.

La membrane est-elle réellement perforée ?

C'est là une question qui se pose d'elle-même, en terminant cette étude des plasmodesmes, et qui n'est pas résolue d'une façon définitive, quelque nombreuses qu'aient été les recherches faites dans ce sens ; question du plus haut intérêt, puisque d'elle dépendent toutes les théories édifiées sur l'existence des plasmodesmes, et on a vu qu'elles sont nombreuses et captivantes.

La grande majorité des auteurs penche cependant pour l'existence de pores véritables dans la membrane et pour la communication librement établie, entre deux cellules contiguës. Est-ce l'attrait de cette conception nouvelle de l'être vivant, est-ce l'impression laissée aux histologistes par leurs observations ? Il paraît plutôt que ce soit l'un et l'autre.

C'est surtout la grande analogie entre la structure de la membrane, telle que la laisse comprendre l'existence des plasmodesmes et les membranes criblées du liber, qui a servi de base à la théorie nouvelle. A propos des ponctuations de la paroi cellulaire, et tout en admettant leur fermeture par une lamelle moyenne, FRANCK, dans son *Lerbuch der Pflanzenphysiologie* (19) remarque qu'« on a déjà souvent constaté dans les cellules parenchymateuses des écorces de tiges et autres organes, des filaments délicats de protoplasme traversant les ponctuations et reliant directement le protoplasme des cellules voisines. On les a observés surtout dans les cellules des tubes criblés séparés par des plaques criblées ».

HABERLANDT (10) pense que les orifices des pores sont assez larges pour permettre le passage du suc cellulaire ainsi que des cristaux et des substances colloïdales qui y sont contenues ; il accorde à ces pores la valeur de conduits capillaires traversés par les courants protoplasmiques, « ce qui justifie pleinement la comparaison faite entre la paroi » (on dirait mieux le diaphragme), « qui termine les ponctuations et les plages criblées ».

Les nombreuses recherches de KIENITZ-GERLOFF l'amènent à conclure dans le même sens.

GARDINER appuie de toute son autorité les vues de ses devanciers, et les élargit même. Il ajoute cependant que si l'on peut constater presque partout des filaments plasmiques traversant les membranes,

nulle part celle-ci ne possède en dehors des plasmodesmes, « un système de ponctuations ouvertes ».

Mais STRASBURGER (*l. c.*), tient un langage différent, et fait des réserves très-nettes relativement à l'analogie qu'il faut voir entre les ponctuations ordinaires des membranes et les plages criblées. Les membranes criblées des Angiospermes sont seules perforées lorsqu'elles ont atteint leur développement complet. Ici la lamelle moyenne se résorbe sûrement et fait place à un crible largement perforé de nombreux pores, entre lesquels les matières plasmiques peuvent librement circuler.

Le phénomène est en tout semblable à ce qu'on observe chez certains laticifères, par exemple, et dans beaucoup d'autres cas. Une partie de la membrane transversale se résorbe, dans chaque maille du crible, comme elle se résorbe dans un laticifère de Chélidoine, dans un vaisseau ouvert quelconque ou dans ces tannifères que j'ai décrits chez les Euphorbiacées (20), ne laissant après sa disparition qu'un cadre transversal ou un anneau qui indique son existence passée. Ce cadre est l'homologue du grillage qui reste après achèvement du crible.

Il y a bien aussi perforation chez les Gymnospermes et chez le *Pinus* en particulier, comme l'a montré A. W. HILL (21) et comme l'atteste après lui STRASBURGER (8), mais perforation extrêmement étroite et fermée, pendant toute la période d'activité du crible, par les plasmodesmes qui, cependant, « mettent en communication les cellules séparées par la plage criblée ». C'est donc là, ce me semble, une forme de passage vers la ponctuation ordinaire, la ponctuation d'un parenchyme quelconque, pour laquelle, comme nous allons le voir, STRASBURGER n'admettrait pas la perforation.

Pour rechercher la nature des communications entre les cellules parenchymateuses, le cas de la greffe était particulièrement instructif. Si, pour que les matériaux de nutrition puissent passer d'une cellule à l'autre, ou d'un tissu à un autre, la perforation du « mur mitoyen » est nécessaire, l'étude d'un greffon et de son porte-greffe ne pouvait que fournir de précieux renseignements.

Malheureusement, tous les essais faits dans cette voie sont restés sans résultat, en raison même des difficultés de l'expérience. Tentés par ZIENITZ-GERLOFF, repris par quelques auteurs, et tout dernièrement par STRASBURGER, ils n'ont pas donné ce qu'on en attendait.

STRASBURGER est arrivé pourtant à saisir la limite entre le greffon et le sujet et à reconnaître que des plasmodesmes se montrent dans toute la zone frontière. Il a pu observer que les parois sont très minces au contact des deux tissus voisins et aussi faciles à percer par les plasmodesmes, que des parois provenant de la division cellulaire, mais sans pouvoir formuler des conclusions plus précises. Y-a-t-il réellement passage des filaments protoplasmiques à travers la membrane ou simplement contact entre leurs extrémités ? Nos procédés de technique sont encore trop imparfaits pour qu'on puisse répondre à cette question. Dans tous les cas, STRASBURGER penche plutôt à croire au simple contact *sans mélange matériel*.

Il n'y aurait donc pas de courant protoplasmique traversant la membrane. Les plasmodesmes proviennent de la couche externe du protoplasme et se dirigent vers la paroi. Ils se correspondraient là, exactement, d'une cellule à l'autre, comme se correspondent les punctuations ; c'est donc la question de l'individualité cellulaire qui reste en suspens. Elle est liée, comme on le voit, à celle de la communication des plasmodesmes et paraît toutefois devoir être maintenue dans la science, tant qu'on aura pas démontré la continuité du protoplasme entre deux cellules voisines.

En résumé, les plasmodesmes peuvent être considérés comme répandus chez tous les végétaux. Qu'ils se prolongent à travers la membrane ou communiquent simplement par contact, ils paraissent remplir diverses fonctions importantes. Ils servent à la transmission des sensations multiples perçues par l'organisme et, par leurs concours, on comprend comment les cellules les plus profondes peuvent, suivant l'expression de GARDINER, « télégraphier » leurs besoins aux cellules de la périphérie, « celles-ci prenant connaissance, l'une après l'autre, des termes du message, et comment, d'autre part, les cellules périphériques peuvent communiquer aux cellules internes leurs sensations de pesanteur, de lumière, de chaleur et de contact, sensations auxquelles l'organisme tout entier peut alors répondre, dans le sens voulu ». On a vu également quel rôle important ils paraissent jouer dans le transport des substances nutritives et même de certains ferments.

BIBLIOGRAPHIE

1. SCHUTT. — *Centrifugal Dickenwachstum und extramembranöses plasma*. Jahrb. f. wiss. Bot., 1899.
2. HAUPTFLEISCH. — *Zellmembran und Hullgallerte der Desmidiaceen*. Philos. mang. Dissert. Greifswald, 1888.
3. MULLER. — *Kammern und Poren in der Zellwand der Bacillariaceen*. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. XVI, p. 386.
4. W. GARDINER. — *The histology of the cell wall, with special reference to the mode of Connexion of Cells*. Proceed of the Roy. Soc. of London, 1898, p. 100.
5. — *On the continuity of the Protoplasm through the walls of vegetable cell*. Arb. des Bot. Inst. in Würzburg. Bd. III. Heft I. 1884, p. 52-88.
6. STRASBURGER. — *Ueber Plasmaverbindungen pflanzenlicher Zellen*. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXXVI Heft. 3, p. 493, 1901.
7. — *Die pflanzenlichen Zellhäute*. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXXI. Heft. 4, 1898.
8. — *Die Siebtüpfel der Coniferen, in Rücksicht auf Arthur W. Hill's eben erschienene Arbeit : « The histologie of the Sieve-Tubes of Pinus »*. Bot. Zeit., 1902, n° 4.
9. G. HABERLANDT. — *Sinnesorgane im Pflanzenreich*, 1901.
10. — *Das reizleitende Gewebesystem der Sinnpflanze*. Leipzig, 1890.
11. DIPPEL. — *Die Anwendung des polarisirten Lichtes in der Pflanzenhistologie*. Zeitschrift f. wiss. Mikroskopie. Bd. I. 1884, p. 210.
12. — *Anwendung des Mikroskops*. II. Aufl., I. Abth., 1896.
13. VAN TIEGHEM. — *Traité de Botanique*, 2^e édition.
14. KIENITZ-GERLOFF. — *Die Protoplasmaverbindungen zwischen benachbarten Gewebeselementen in der Pflanze*. Bot. Zeit., 1891, p. 1.

15. KIENITZ GERLOFF. — *Neue Studien über Plasmodemesmen*. Bot. Zeit., 1902, p. 324.
 16. TANGL. — *Zur Lehre von der Continuität des Protoplasmas im Pflanzenreiche*. Sitzb. d. math. phys. Kl. d. Wien. Ak. Bd. 90. Abth. I, p. 10-39.
 17. KOHL. — *Berichte d. deutsch. Bot. Ges.*, 1901.
 18. — *Bot. Centralblatt.*, t. LXXII. Beihefte, 1902.
 19. FRANK. — *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie mit bez. Berücks. Culturpflanzen*. Berlin, 1900.
 20. GAUCHER (Louis). — *Recherches anatomiques sur les Euphorbiacées*. Ann. Sc. Nat., 1902.
 21. A. W. HILL. — *The histologie of sieve Tubes of Pinus*. Ann. of Botany, p. 15-575.
 22. — *The histology of the cell wall. The distribution and character of connecting threads in the tissues of Pinus sylvestris and other allied species*. Proc. R. S. LXVII, p. 437-439.
 23. SCHMITZ. — *Untersuchungen über die Befruchtung der Florideen*. Sitz. d. Berl. Ak. d. Wiss., 1883.
 24. PFEFFER. — *Zur Kenntniss der Contactreize*. Untersuchungen a. d. bot. Inst. Tübingen. Bd. I, p. 483-535.
 25. DE VRIES. — *Over heet algemeen voorkomen van circulatie en rotatie in de wulpelzellen der planten*, Maandblad voor Naturwetenschappen, 1884, n° 6.
 26. — *Ueber die Bedeutung der Circulation und Rotation des Protoplasmas für den Stofftransport in der Pflanze*. Bot. Zeit., 1885, n° 1 et 2.
 27. DE JANCZEWSKI. — *Etudes comparées sur les tubes cribreux*. Mém. Soc. Sc. nat. et math. de Cherbourg, t. XXIII, 1882, et Ann. Sc. Nat., 6° s., t. XIV, 1882. Extrait très étendu, p. 50.
 28. RUSSOW. — *Sur la structure et le développement des tubes cribreux*. Sitz. der Dorp. Naturf. Ges. 1882. Traduction in Ann. Sc. Nat., 6° s., t. XIV, 1882, p. 167.
-

CHAPITRE V

STRIATION DE LA MEMBRANE

Je comprends sous ce titre, à défaut d'un titre plus exact et surtout plus général, des particularités de structure très fréquentes dans la membrane et dont il n'a pas encore été question ici.

On a vu combien apparaît complexe la structure de la paroi cellulaire quand on l'examine dans une coupe transversale faite à travers un organe, et combien il est difficile de s'expliquer alors la structure de la membrane : alternance de lamelles claires et sombres, constitution intime de chacune de ces lamelles.

D'autres particularités de structure apparaissent, quand on observe la membrane d'une autre façon, soit qu'on en examine la surface externe, soit qu'on en analyse la section longitudinale. La plus importante et la plus étudiée est la striation.

§ I. — STRIATION PROPREMENT DITE

Lorsqu'on examine la surface de certaines membranes, en particulier celle de fibres diverses (fibres du bois de Buis, de Vigne, de Méléze, d'*Epicea*, fibres péricycliques du Lin et du Chanvre, de la Pervenche et de l'Ortie), on remarque des stries alternativement claires et sombres, disposées obliquement par rapport au grand axe de la fibre et montrant deux directions différentes, s'entrecroisant par conséquent les unes les autres.

Les cellules à parois très épaisses ne sont pas d'ailleurs les seules à présenter cette striation, bien qu'elle soit moins visible dans des cellules à parois minces. Elle apparaît avec assez de netteté dans

les cellules de la moelle du *Dahlia variabilis*. La striation est très apparente si on gonfle la membrane par les acides forts ou les alcalis, ou encore si on la traite par l'action successive de l'acide sulfurique et de l'iode. L'observation attentive montre qu'en réalité, ces stries sont des spires orientées dans le même sens, pour une même assise de la membrane, mais qui, lorsqu'elles ont des sens, différents, appartiennent à des assises différentes. C'est leur superposition qui donne l'aspect de stries croisées.

Le phénomène dont il s'agit et qui réside forcément dans les propriétés optiques différentes des substances formant des stries, comporte diverses explications que l'on peut ainsi résumer : cette différence dans les caractères physiques de chaque strie peut se produire entre la membrane et le milieu d'inclusion, dans lequel elle est plongée, ou bien au sein même de la membrane et grâce à des variations alternatives dans sa constitution.

Le premier cas est celui où la membrane subit un épaissement localisé, suivant une ligne spiralée (fig. 32). Il en résultera, entre les parties en saillie disposées comme les tours d'une vis, des sillons dans lesquels pénétrera le liquide d'inclusion employé. Dans ce cas, la striation sera plus ou moins marquée suivant la profondeur du sillon et l'indice de réfraction du milieu. Si celui-ci est plus réfringent que la membrane, les sillons apparaîtront comme des saillies, et en supposant qu'on se serve de liquides de moins en moins réfringents, ces saillies s'atténueront progressivement, pour disparaître complètement, quand l'indice de réfraction du milieu sera égal à celui de la membrane. Toute striation s'efface donc, à ce moment-là. On peut rattacher à ce mode de striation, et comme un cas particulier, celui où le phénomène est dû à des fentes qui peuvent être pleines d'eau et traversent, dans toute son épaisseur, une des assises de la membrane. C'est ce qui se produirait si chaque assise était formée d'un ruban enroulé en spirale, autour de la cellule, mais dont les tours de spire ne se toucheraient pas.

Dans le deuxième cas, la striation tient à des différences optiques

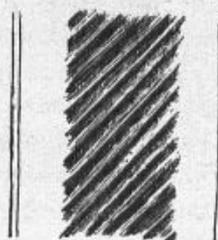


Fig. 32. — Striation (cannelures internes) d'un vaisseau d'une branche de *Pinus sylvestris* vu de face (CORRENS).

de la membrane elle-même. Ces différences peuvent reconnaître deux causes : il se peut que des stries formées d'une seule et même substance montrent, en alternance, des propriétés optiques différentes, par suite d'une teneur différente en eau ; ou bien, que deux stries voisines, renfermant autant d'eau l'une que l'autre, soient constituées par des substances très différentes, au point de vue de leur pouvoir réfringent.

En résumé, les causes de la striation peuvent être rangées sous deux chefs principaux :

1^o Striation due à une *sculpture de la membrane*, c'est-à-dire à des sillons ou cannelures ;

2^o Striation due à une *différenciation de la membrane*.

A. — Cette différenciation porte sur l'inégale teneur en eau des stries.

B. — Les stries renferment la même quantité d'eau, mais sont formées de substances ayant un indice de réfraction différent.

En réalité, ces divers cas peuvent se trouver combinés les uns avec les autres.

Il était nécessaire de poser tout d'abord ces notions, pour pouvoir suivre la série des recherches faites à ce sujet.

C'est MIRBEL (1) qui s'aperçut, le premier, de la striation de la membrane et la découvrit, en 1835, dans les fibres péricycliques du *Nerium Oleander*. Il comparait l'aspect de ces cellules à la peau écailleuse d'un poisson. MOUL (2) en fait, peu après, une description plus exacte et déjà se demande si les deux systèmes de stries à directions opposées se traversent réellement. AGARDE et CRUGER (4), cherchent à expliquer cette striation en admettant l'existence de ce qu'ils ont nommé des « fibres primitives », tandis que WIGAND (5) attribue le phénomène à un plissement de la membrane et explique ainsi la striation de la paroi, chez les cellules de beaucoup d'algues et des *Vinca*. SCHACHT (6) manque de clarté dans les explications qu'il essaye de donner. Il parle tantôt de régions épaissies de la membrane, tantôt de places condensées, entre lesquelles on ne sait ce qu'il faut choisir. C'est alors que NAEGELI (7), en émettant ses grandes théories sur la constitution de la membrane, rapporte la striation comme la stratification, à l'alternance de lamelles hydratées à divers degrés. Son hypothèse entraînait le fait, que des stries

de sens différents, se trouvaient dans une même lamelle et se croisaient donc mutuellement. Cette opinion prévalut pendant longtemps, lorsque DIPPEL (8) lui porta la première atteinte, dans un mémoire qui passa à peu près inaperçu. La façon dont DIPPEL explique la striation revient à peu près à l'hypothèse de WIGAND. Il avait constaté dans les vaisseaux aréolés des *Pinus* la présence certaine de saillies spiralées, séparées par des sillons. Le fait, vérifié plus tard à plusieurs reprises, fut donc définitivement admis. Au sujet de l'entrecroisement des stries, il se séparait encore de NÆGELI, le système défendu par cet auteur étant tout à fait incompatible avec le sien. Plus ingénieuse encore, mais aussi moins exacte, est l'hypothèse de STRASBURGER (10), qui donne du même coup, comme on l'a déjà vu, la raison de la stratification et de la striation. Strasburger admet que chaque assise de la membrane est formée d'un ruban enroulé en spirale. Les tours de spire se touchent en des « lignes de contact » (contactlinien) correspondant aux stries de la membrane. Il suppose que, d'une lamelle à l'autre, le sens de la spire peut changer, d'où le croisement des bandes, croisement qui n'est qu'apparent comme on le voit. WIESNER (14) fait concorder la striation avec ses vues toutes particulières sur la constitution de la membrane, et la rapporte à l'alternance de deux substances chimiquement différentes : les dermatosomes (v. chap. Théories) et leur substance d'union.

L'opinion de KRABBE (16), qui est un moyen terme entre celle de NÆGELI d'une part, et, d'autre part, celle de DIPPEL et STRASBURGER, n'apporte aucun éclaircissement à la question.

C'est à CORRENS (17) qu'il faut arriver, pour la voir étudiée de très près et pour trouver, dans la bibliographie du sujet, des documents de quelque importance.

CORRENS reprend, une à une, les hypothèses lancées au sujet de la striation, les discute et les juge au moyen de ses propres observations.

Dans certains cas, la striation est due, sans aucun doute, à des *spires d'épaississement* ; c'est ce qui arrive pour les vaisseaux du bois des Conifères, et, sur ce point, les vues de DIPPEL se montrent parfaitement exactes. C'est par un procédé fort semblable, par un plissement, que se produisent les stries qu'on observe si souvent sur la cuticule des feuilles.

Mais il est une autre forme de la striation qui ne saurait reconnaître la même cause ; c'est celle qu'on rencontre, en particulier, dans les fibres des Apocynées. L'explication de STRASBURGER (*l. c.*) à ce sujet est en tous points inadmissible.

Deux fragments d'un ruban enroulé en spirale, rapprochés jusqu'au contact, ne peuvent laisser entre eux aucune ligne de démarcation, s'ils sont aussi réfringents l'un que l'autre et si leur adhésion est complète.

Comme le fait remarquer CORRENS, les « lignes de contact » se comprendraient et on s'expliquerait qu'elles fussent visibles, si elles marquaient la limite entre deux substances de pouvoirs réfringents différents : mais tant que les bandes ou les lamelles en contact ont même indice de réfraction, on ne peut distinguer entre elles aucune ligne de séparation.

Une excellente preuve à l'appui de ceci a été fournie par KRABBE (16, 368), à l'occasion de ces mêmes fibres d'Apocynées, et nous avons déjà rapporté ses observations à ce sujet.

Les fibres des Apocynées, comme celles des Asclépiadées et de l'*Euphorbia palustris*, portent des renflements qui alternent avec des parties amincies. Aux endroits renflés, des amas de protoplasme se trouvent pris entre les lamelles convexes et il est très facile, comme cela a été dit, de décomposer, en ce point, la membrane, en ses strates constitutives ; mais, aux extrémités supérieure et inférieure de l'élargissement, les amas de protoplasme se terminent en coin, et forment finalement une ligne fine qui ne tarde pas à disparaître. A partir de ce moment, deux lamelles successives, auparavant très visibles, grâce à la substance intermédiaire, se confondent totalement, sans qu'il soit possible d'apercevoir entre elles aucune ligne de séparation. Cette ligne doit donc être formée par une substance spéciale, pour être vue.

Expérimentalement, la théorie de la « ligne de contact » de STRASBURGER peut être tout aussi facilement réfutée. On n'a qu'à sécher une fibre, l'examiner dans un liquide dont l'indice de réfraction soit voisin de celui de la substance qui constitue la membrane, et la striation disparaît complètement ou presque complètement.

C'est donc ailleurs que dans la raison donnée par STRASBURGER, qu'il faut chercher la cause du phénomène.

Si maintenant, comme l'a fait CORRENS, on observe dans l'alcool

absolu les fibres péricycliques desséchées au préalable, on voit la striation exister encore, même dans deux directions; elle paraît toutefois plus affaiblie que lorsqu'elle est imbibée d'eau. Il suffit, en effet, de plonger la préparation dans l'eau pour voir les stries beaucoup plus distinctement et pour assister — fait plus important encore — à l'apparition de stries nouvelles. L'imbibition au moyen de l'eau détermine donc la production de stries qu'on n'apercevait pas auparavant.

Que l'on compare alors les deux préparations en abaissant le tube du microscope pour rechercher si les stries aperçues sont dans un même plan, ou si, au contraire, elles appartiennent à des assises différentes.

Il est certain que si les stries inclinées de gauche à droite par exemple, sont à un niveau supérieur à celles inclinées de droite à

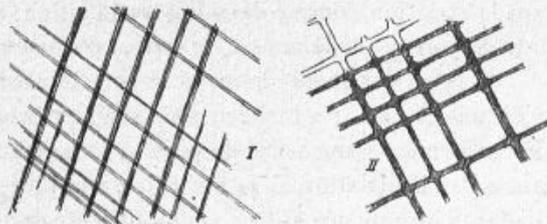


Fig. 33. — Striation de la membrane dans une partie élargie d'une fibre libérienne de *Vinca minor*. — I. La membrane imbibée d'eau. — II. La membrane desséchée et incluse dans l'alcool absolu (CORRENS).

gauche, ces stries étant sombres avec une telle mise au point, la teinte devra être plus sombre encore, à leur intersection. Or, cela arrive dans le deuxième cas, c'est-à-dire quand la membrane est imbibée d'eau (fig. 33, I), mais non pas quand elle est déshydratée (II).

Ainsi donc, lorsque la membrane est privée d'eau, la striation qui persiste ne peut être due qu'à des rainures que l'alcool, en les envahissant, permet d'apercevoir et qui paraissent se croiser à un même niveau.

Quand elle est plongée dans l'eau, des stries apparaissent à des niveaux différents; mais, au point de vue de leur nature, il est plus difficile de se prononcer, et on se trouve pris entre deux alternati-

ves : ou bien il y a, comme le veut DIPPÉL, des fentes spiralées se remplissant d'eau et apparaissant dès lors très nettement ; ou bien c'est une alternance de substances riches et pauvres en eau, celles-ci pouvant d'ailleurs représenter une seule individualité chimique ou deux composés différents. Dans tous les cas, cet exemple montre que la striation n'est pas toujours due, dans une même membrane, à une seule et même cause, mais, qu'au contraire, les causes probables, énoncées au commencement de cette étude, peuvent se trouver combinées de façons diverses.

Les vues nouvelles de STRASBURGER (11, 569) sur la constitution intime de la membrane, lui permettent d'expliquer, dans une certaine mesure, quelques observations de CORRENS et d'apporter une donnée de plus, au phénomène de la striation.

CORRENS, en se servant d'une technique spéciale, imprègne des fibres de nitrate d'argent et trouve que les lignes étroites et sombres qui, dans la striation comme dans la stratification, sont intercalées aux lignes épaisses et claires, absorbent et réduisent plus facilement ce sel. Elles se dessinent donc, avec une teinte brune plus ou moins accentuée et, à un très fort grossissement, se traduisent par des lignes noires formées d'une série de points. La parfaite concordance existant entre la striation et la stratification, fait songer aux bâtonnets, distants les uns des autres, qu'on observe dans certaines lamelles minces. Pour STRASBURGER, les stries sombres seraient dues à une structure semblable. Ce dépôt d'argent remplirait les intervalles laissés entre les bâtonnets.

Il se passerait ici quelque chose de tout à fait analogue à ce qu'on constate, dans la couche à bâtonnets du grain de pollen, lorsqu'on la soumet à l'action des colorants. Ceux-ci ne se fixent pas sur les bâtonnets, mais se localisent dans leurs intervalles, comme fait ici le sel d'argent.

Cette interprétation concorde tout à fait avec les vues de DIPPÉL (9, 169). Un des premiers, il a remarqué que l'inclusion des fibres dans un milieu très réfringent, a pour résultat le renversement de l'image. Les stries claires deviennent sombres et inversement. Le phénomène s'explique fort bien, si l'on admet la structure en bâtonnet des stries, car le liquide d'inclusion remplit leurs intervalles, et, s'il est très réfringent, c'est la strie primitivement sombre qui apparaît la plus brillante.

Quand on examine une fibre en coupe transversale, on peut s'assurer que les stries ne se correspondent pas dans les couches qui se suivent (fig. 34). Comme l'a montré KRABBE (16), ordinairement, elles sont plus ou moins obliques et non tout à fait radiales ; de plus, elles ne sont pas droites, mais, au contraire, plus ou moins courbées.

Lorsque, dans une même membrane, il y a deux systèmes de stries, l'examen de la membrane en surface, avec un grossissement suffisant, montre avec certitude que les stries des deux systèmes appartiennent à des couches différentes. C'est l'opinion de DIPPEL, STRASBURGER, KRABBE et CORRENS, qui concluent dans un sens tout à fait opposé à celui de NAEGELI.

On peut enfin, aussi, observer parfois que les stries d'un seul et même système, par exemple les stries obliques à gauche, ne sont pas toutes exactement parallèles. Elles forment parfois des angles de plusieurs degrés (5 degrés chez *Nerium Oleander*).



Fig. 34. — Coupe transversale d'une fibre libérienne de *Nerium* montrant la direction des stries (CORRENS).

En résumé, la striation reconnaît donc bien deux causes. Elle est produite soit par un épaissement localisé, soit par différenciation de la membrane. C'est dans ce cas seulement qu'il y a véritablement striation ; le premier n'est qu'une forme de l'épaississement en général.

Quant à la différenciation, elle provient de l'hydratation plus ou moins grande des stries et ne provient que de là. Jamais CORRENS ne l'a vue être indépendante de la quantité d'eau et tenir seulement à des propriétés optiques spéciales de la substance des stries.

Cette différence d'hydratation n'exclut pas une différence chimique de la substance des stries. L'une peut même être la conséquence de l'autre. Il n'est pas impossible que les stries claires et les stries foncées soient formées de deux matières distinctes, par leur composition chimique, et dont l'une est plus hygroscopique que l'autre. Cette dernière hypothèse est-elle la vraie, et dans ce cas, quelle est la nature chimique de cette substance constitutive des

stries sombres et s'hydratant si facilement ? Nous possédons quelques indications à ce sujet, mais elles sont loin d'être suffisantes pour qu'il soit possible de répondre à ces questions.

CORRENS observe que la macération de SCHULZE ou l'eau de Javel paraissent dissoudre une partie de la substance des stries foncées, tandis que l'autre persiste, comme une sorte de squelette unissant les deux stries claires voisines.

De son côté, STRASBURGER (*l. c.*) est fort porté, comme nous l'avons dit, à attribuer à ces stries foncées la même structure qu'aux « lamelles de jonction » ou lamelles sombres de la membrane. Ce seraient aussi des couches à bâtonnets, et entre ces bâtonnets se trouverait une substance fixant fortement les sels d'argent.

Les vues des deux histologistes concordent donc entièrement : les bâtonnets de STRASBURGER correspondent au squelette admis par CORRENS, et tous deux admettent, en outre, l'existence d'une substance intermédiaire moins dense et moins résistante.

Cette substance est l'homologue de celle des « lamelles de jonction ». Chez cette dernière, comme on l'a vu, elle montre une grande affinité pour les colorants, et lorsqu'il s'agit d'une fibre lignifiée, elle donne les réactions de la lignine avec plus d'intensité que le reste de la membrane. Elle témoigne, par conséquent, de caractères chimiques un peu spéciaux ; mais c'est tout ce qu'on sait sur sa nature, et c'est là aussi que se bornent nos connaissances sur la striation de la membrane.

§ II. — « LAMELLATION » TRANSVERSALE

On a donné ce nom (*Querlamellirung*) à l'aspect que présente la surface de certaines membranes et dont la figure 35 donnera une idée.

Ce caractère particulier de structure a d'abord été décrit par H. VON MOHL (3) et VALENTIN (18) comme une striation transversale de la membrane ; REINKE (19) qui l'avait observée dans le liber des feuilles de *Welwitschia*, la considérait comme une striation annulaire. STRASBURGER (10) décrit la lamellation transversale dans les fibres de *Vinca major* comme un troisième système d'épaississement au moyen de bandes réticulées. FAMINTZIN (20) l'explique,

dans le *Nerium Oleander*, comme des plissements de la couche tertiaire.

Plus récemment, STRASBURGER (13) pense pouvoir expliquer ce phénomène par un plissement des lamelles traversant toute l'épaisseur de la membrane.

L'aspect qui donne à la membrane ce caractère tout particulier de structure, est des plus élégants dans les fibres d'*Apocynum Androsæmifolium*, de *Vinca major* et *minor*, de *Nerium Oleander*, où CORRENS (*l. c*) l'a observé avec soin. On le rencontre plus rare-

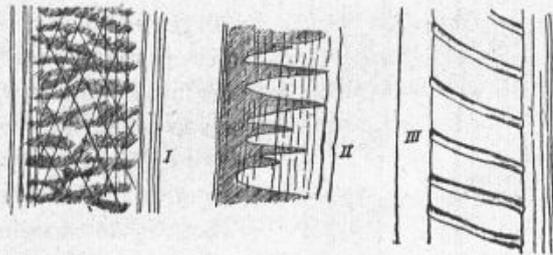


Fig. 35. — Lamellation transversale. — I. Fibre libérienne de *Nerium*, vue de face. — II. Membrane d'une fibre libérienne de *Vinca minor*, en coupe longitudinale. Le côté interne de la membrane est à droite. — III. Membrane d'une fibre libérienne de *Cynanchum Vincetoxicum*, en coupe longitudinale. Cas exceptionnel de lamellation spiralée (CORRENS).

ment dans *Asclepias Cornuti*, *Linum* ou *Welwitschia*. La fibre se montre coupée, dans sa hauteur, par de larges stries plus réfringentes que les autres parties de la membrane, avec un contour plus ou moins onduleux et une direction, en général, perpendiculaire au grand axe de la cellule (fig. 35, I, II).

En coupe longitudinale, ces stries traversent la membrane presque dans toute son épaisseur. Vers l'extérieur de la membrane, elles se coupent avec les stries proprement dites, dont la direction est généralement oblique comme on sait (I). Tandis que la vraie striation se traduit par des bandes foncées à contour très net, la « lamellation » offre des bandes claires à contour mal délimité. Dans la figure 35 elles apparaissent avec une teinte sombre, car elles sont vues, le tube du microscope étant abaissé.

§ III. — LIGNES DE DÉPLACEMENT

Chez beaucoup de fibres péricycliques lignifiées ou non (CORRENS), (*Nerium*, *Vinca*, etc.), dans les vaisseaux aréolés des Sapins, on aperçoit, avec un faible grossissement, des lignes ou des groupes de lignes, tantôt tout à fait transversales, tantôt plus ou moins obliques. A de plus forts grossissements, elles se montrent comme

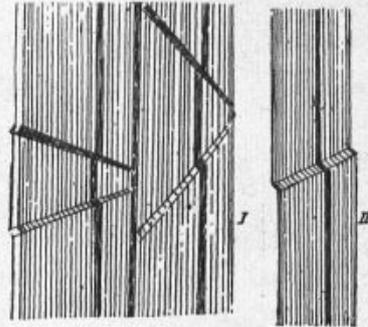


Fig. 36. — Lignes de déplacement des fibres libériennes de *Nerium* (CORRENS).

autant de petits plis qui traversent plus ou moins profondément la membrane (fig. 36). Leur aspect plissé et leur direction toujours rectiligne les fait distinguer facilement de la « lamellation ». Elles s'en distinguent aussi par la façon dont elles se comportent vis-à-vis de certains réactifs, caractères qui permettent également de ne pas les confondre avec la striation. Avec les réactifs iodés de la cellulose, elles prennent une teinte bleue plus accentuée que le reste de la membrane, et fixent de même avec plus d'intensité le rouge congo.

HORNEL (21), qui leur avait donné le nom de « lignes de déplacement » (Verschiebungslinien), crut devoir les attribuer à des fissures produites dans les lamelles externes des fibres, par la pression du parenchyme environnant. WIESNER (15) y voyait, au contraire, une ondulation de la surface externe, par le contact réciproque des fibres voisines. CORRENS (*l. c.*) s'est appliqué à étudier leurs réactions et pense que ces lignes sont dues à une différenciation chimique locale des lamelles, plutôt qu'à toute autre cause.

BIBLIOGRAPHIE

1. MIRBEL. — *Annales des Sciences nat.*, 1835, p. 145.
2. H. v. MOHL. — *Ueber den Bau der vegetab. Zellmembran in vermischten Schriften*, p. 314, 1837.
3. — *Erläuterung und Vertheidigung, etc.*, p. 23.
4. CRUGER et AGARDH. — *Botan. Zeitung*, 1854.
5. WIGAND. — *Ueber die feinste Structur der vegetabilischeu Zellmembranen*, in *Schriften der Marburger Gesellschaft*, 1856.
6. SCHACHT. — *Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Gewächse*, 1854, p. 221.
7. NAEGELI. — *Ueber den inneren Bau der vegetabilischen Zellmembran*. *Botanische Mittheilungen*, Bd. II, p. 144.
8. DIPPEL. — *Die neuere Theorie, etc.* in *Abhandl. der Senckenberg. nat. Gesellschaft*. Bd. XI, p. 154.
9. — *Auwendung des Mikroskops*, II. Auf I. Abth, 1896.
10. STRASBURGER. — *Ueber den Bau und das Wachst. der Zellhäute*, p. 65.
11. — *Die pflanzenlichen Zellhäute*. *Jahrb. f. wiss. Botanik*. Bd. XXXI. Heft, 4, 1898.
12. — *Bot. Practicum*. I. Aufl., p. 77 ; II. Aufl., p. 79.
13. — *Histologische Beiträge*, Heft II, p. 158.
14. WIESNER. — *Untersuchungen über die Organisation d. vegetab. Zellhaut*. *Sitzb. d. Kais. Akad. der Wissensch.* Bd. XCIII, I. Abth., p. 17, 1886.
15. — *Beiträge zur Kenntniss d. indischen Faserpflanzen, und der aus ihnen abgeschiedenen Fasern, nebst Beobacht. üb. d. feineren Bau der Bastzellen*. *Sitzb. d. K. Ak. d. W. zu Wien*. Bd. 62, I, p. 171.
16. KRABBE. — *Ein Beitrag zur Kenntniss der Structur, etc.* *Pringsheim's Jahrbücher für wissensch. Botanik*, Bd. XVIII, p. 346, f.

17. CORRENS. — *Ueber Kenntniss der feineren Structur der Zellmembranen.* Jahrb. f. wiss. Bot. 1891.
 18. VALENTIN — *Ueber den Bau der vegetabilischen Zellmembran.* Valentin's Repertorium für Anatomie und Physiologie, I, p. 88.
 19. REINKE. — *Lehrbuch der Bot.*, p. 24 et fig. 17.
 20. FAMINTZIN. — *Beitrag zur Entwicklung der Sclerenchymfasern von Nerium Oleander.* Bull. Ac. de St-Pétersbourg, T. 29, pp. 416 422. Just. Jahresb., 1884, I, p. 230.
 21. HÖHNEL. — *Ueber den Einfluss des Rindendruckes auf die Beschaffenheit der Bastfasern der Dicotylen.* Prings. Jahrb. Bd. XV, p. 311.
-

CHAPITRE VI

LES THÉORIES SUR LA CONSTITUTION ET LE DÉVELOPPEMENT DE LA MEMBRANE

§ I. — FORMATION DE LA MEMBRANE.

Deux théories sont en présence au sujet du mode de formation de la membrane cellulaire.

Pour les uns, et notamment pour NÆGELI et PRINGSHEIM elle résulte d'une *métamorphose* directe du protoplasma. La mince cloison albuminoïde qui se forme lors de la division cellulaire, ou la couche protoplasmique périphérique qui entoure une cellule encore nue, se transformeraient sur place en une membrane cellulosique.

Pour d'autres, comme HUGO VON MOHL et STRASBURGER, l'apparition de la membrane résulte d'un phénomène de sécrétion. Les recherches de STRASBURGER montrent, comme on l'a vu, que dans la division cellulaire, la cloison albuminoïde primitive se divise en deux lames entre lesquelles viennent se déposer les substances qui, sécrétées par le protoplasme, vont servir à la formation de la membrane pecto-cellulosique. Dans le cas de cellules nues, comme les zoospores des algues, les choses se passent d'une façon tout à fait analogue, et les matériaux destinés à la construction de la membrane traversent la couche protoplasmique périphérique pour aller se solidifier et s'unir en dehors.

Des considérations théoriques montrent, d'ailleurs, que dans la plus grande majorité des cas, c'est cette seconde manière de voir qui paraît la plus vraisemblable. Si la couche protoplasmique

périphérique se transformait en une membrane cellulosique, elle devrait évidemment se reformer ensuite. Or, sa formation se fait suivant un processus complexe qui a lieu quand la nouvelle cellule se constitue, mais qu'on n'observe plus dans la suite. La couche périphérique primitive paraît donc demeurer la même pendant toute la vie de la cellule.

C'est là l'opinion émise par STRASBURGER (1,516), qui admet, comme on sait, deux parties dans le cytoplasme cellulaire : le *kinoplasme* et le *trophoplasme* (2, 51). Ces deux parties, de constitution physique tout à fait différente, ont aussi, dans la cellule, des rôles distincts. Le kinoplasme a une structure filamenteuse, fibrillaire (filarplasma) et intervient dans le développement de la cellule. Lors de la division nucléaire notamment, c'est lui qui constitue les filaments du fuseau. Le trophoplasme est, au contraire, de nature alvéolaire, spongieuse en quelque sorte (alveolarplasma) ; il est riche en granulations et en inclusions diverses et préside aux phénomènes de nutrition. Or, comme on l'a vu plus haut, la cloison membraneuse albuminoïde, qui se forme pendant la division de la cellule, naît des filaments connectifs du fuseau et, par conséquent, du kinoplasme. Le phénomène se reproduisant à chaque nouvelle bipartition et dans les diverses directions d'un tissu, il en résulte que l'ensemble de l'enveloppe albuminoïde entourant le protoplasme doit être aussi de nature kinoplasmique. La couche protoplasmique qui revêt les cellules nues (zoospores des algues, avant leur fixation) est également de même nature, suivant STRASBURGER, et se forme d'une manière aussi complexe. Ces processus de formation ne s'observent qu'au moment où la cellule se constitue ; on ne peut plus les observer par la suite, comme nous l'avons déjà dit, et on est en droit de penser que la membrane albuminoïde, une fois établie autour de la cellule, ne saurait se reformer plus tard.

ÉTUDE DE QUELQUES CAS PARTICULIERS. — Il existe pourtant certains cas où la cellulose prend naissance par métamorphose directe du protoplasme, sans qu'on puisse émettre un doute à ce sujet ; on voit alors, non pas le protoplasme périphérique, mais le protoplasme interne lui-même, se transformer sur place en cellulose, pour donner lieu à des formations toutes particulières. Ce fait, qui est une exception à la règle générale, a été signalé par divers auteurs, et tout récemment, STRASBURGER (1,539) en a décrit quelques exemples très

intéressants. Dans le tégument des graines des *Cuphea*, se forment, dans les cellules de l'assise externe, de longs filaments creux, de véritables tubes par conséquent, entortillés sur eux-mêmes et destinés à être refoulés au dehors à maturité. Ces formations naissent par transformation directe du protoplasme.

Le protoplasme, creusé d'alvéoles, le trophoplasme par conséquent, forme tout d'abord un cordon suspendu à la paroi externe de la cellule. Ce cordon se revêt d'une sorte de ruban spiralé, formé par différenciation du protoplasme (fig. 37, I) Les spires se resserrent de plus en plus au fur et à mesure que le cordon s'allonge et forme

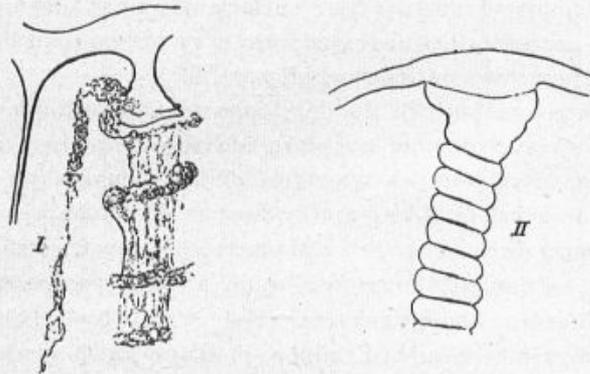


Fig. 37. — *Cuphea Zimapani*. Epiderme du tégument de la graine mûre. Deux stades de la formation du tube intracellulaire (STRASBURGER).

des circonvolutions dans la cellule ; elles arrivent à se toucher et constituent, au cordon protoplasmique, une véritable membrane de revêtement, qui bientôt se cutinise dans toute son épaisseur (II). Pendant que cette cutinisation a lieu, le protoplasme intérieur à la membrane se transforme lui-même en une matière mucilagineuse, que le contact de l'eau fera gonfler facilement. Il en est de même de la partie du protoplasme de la cellule qui n'a pris part, ni à la formation du cordon, ni à celle de sa membrane. Ce restant de substance, en se gonflant sous l'influence de l'humidité, lorsque la graine est mûre, provoque la sortie du tube qui jusqu'à ce moment remplit la cellule de ses circonvolutions. La membrane externe se détache au-dessus de lui, comme un opercule, et le tube sort de la

cellule en se retournant en doigt de gant, tandis que son contenu s'écoule en un mucus abondant.

Cet exemple est à rapprocher de ceux fournis par plusieurs Cryptogames vasculaires. Dans le développement du microsporange des *Azolla* et des *Salvinia*, on observe des faits absolument semblables (1,543). Chez les *Azolla*, chaque microsporange possède, à un moment donné, vers sa périphérie une zone de protoplasma pourvue de nombreuses vacuoles. Il est divisé, à sa partie centrale, en vésicules renfermant chacune un certain nombre de spores, les vésicules et leurs spores constitueront plus tard les massules qui se séparent les unes des autres, lors de la rupture du microsporange et montrent alors, à leur surface, des tiges appendiculées, sortes de baguettes cutinisées et terminées par un petit organe en forme d'ancre. Ce sont les glochidies.

A une certaine période du développement, le protoplasme périphérique s'avance comme un plasmode vers le centre du microsporange, pénètre dans les vésicules, et, les vacuoles, prenant des proportions considérables, vont y former des chambres plus ou moins nombreuses. Puis ce protoplasme se prend, sans changer de forme, en une substance voisine de la cutine par ses réactions, et les parois des chambres se trouvent ainsi constituées. Les glochidies se forment ensuite d'emblée, et d'une façon analogue. La transformation du protoplasma, pour donner les parois de ces chambres ou pour produire les glochidies, s'effectue sans résidu et la métamorphose est donc complète.

Signification de la formation de la cellulose dans les divers cas précédents. — De par leurs fonctions tout à fait différentes, dans la cellule, le kinoplasme et le trophoplasme doivent y occuper des régions distinctes. Le kinoplasme se trouverait à l'extérieur de la cellule, tandis que le trophoplasme en occuperait la partie centrale. Dans le cas général de formation de la cellulose, lorsque, par exemple, elle se dépose tout autour d'une zoospore d'algue ou de l'œuf fécondé d'une plante supérieure, pour en constituer la membrane, c'est le kinoplasme qui lui donne naissance sans intervention du trophoplasme. Le kinoplasme sécrète les particules destinées à la membrane, et celles-ci vont se solidifier à l'extérieur de la cellule.

S'il en est ainsi dans le cas général, TISCHLER (5), dans un récent

mémoire où il commente les divers modes de formation de la cellulose, admet qu'au contraire dans les cas particuliers signalés plus haut, c'est aux dépens du trophoplasme qu'elle se produit. C'est bien, en effet, le protoplasme central et alvéolaire qui, dans la graine de *Cuphea*, donne naissance à de la cellulose cutinisée; c'est un protoplasme de même nature qui, chez les massules d'*Azolla*, forme les parois des chambres. A moins d'admettre qu'il n'y ait que du kinoplasme dans ces organes, il faut bien reconnaître que le trophoplasme peut aussi donner de la cellulose.

De plus, comme le fait remarquer TISCHLER, avec juste raison, la métamorphose, dans ces derniers cas, n'est pas aussi absolue que le pense STRASBURGER. Le protoplasme est un composé au moins quaternaire, et la cellulose, y adjoindrait-on les composés pectiques, est une substance ternaire. Le protoplasme ne cède par conséquent, pour former la cellulose, que du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, et cela revient en somme à une sécrétion, sécrétion dont les produits sont utilisés sur place, dans les cas exceptionnels dont il s'agit, tandis que d'ordinaire ils sont transportés plus loin, pour former la membrane. TISCHLER distingue les deux phénomènes en donnant au premier le nom d'*émission* (Abspaltung) et gardant pour le second celui de *sécrétion*. Dans le *Cuphea*, le trophoplasme *émet* de la cellulose qui produit sur place la membrane du cordon intracellulaire; dans une cellule quelconque, le kinoplasme *sécrète* de la cellulose qui, transportée au delà de la couche albuminoïde périphérique, va former la membrane de la cellule.

Mais, dans tous les cas, si le protoplasme ne cède que la partie de sa substance formée de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, que devient la partie azotée? Deux hypothèses peuvent être formulées à ce sujet: ou bien, lorsque tout le contenu cellulaire disparaît, elle devient soluble et passe dans une cellule voisine en pleine vitalité, ou bien, suivant l'opinion de STRASBURGER (*l. c.*), elle devient peut-être une substance d'incrustation pour la membrane.

Enfin, il est intéressant de remarquer que lorsque c'est le kinoplasme qui sécrète la cellulose, les cellules restent vivantes et ont même besoin de cette cellulose, pour accomplir le rôle qui leur est dévolu, dans la division du travail. Au contraire, lorsque c'est le trophoplasme qui la produit, les cellules ne tardent pas à être frappées de mort, et tout leur contenu disparaît, y compris le noyau.

C'est ce qui se produit pour les émergences du sac embryonnaire de *Pedicularis*, émergences qui sont rejetées par la plante ; c'est encore ce qu'on observe dans les *Cuphea*, où tout ce qui reste du protoplasme se transforme en mucilage, tandis que le noyau est, lui aussi, frappé de dégénérescence et disparaît.

La formation de la cellulose, dans ces conditions, est donc un acte purement sénile.

MEMBRANE DU GRAIN DE POLLEN

Les auteurs qui ont suivi le développement des grains de pollen dans leur cellule mère, ont émis des opinions un peu divergentes sur l'origine de leur membrane. On sait qu'après la division en quatre, des cellules mères, les jeunes grains de pollen ainsi constitués s'entourent d'une nouvelle membrane qui persistera, tandis que la paroi de la cellule mère se détruira, pour les mettre en liberté.

Comment se forme cette membrane ? Selon TREUB (6) le phénomène, chez *Ceratozamia* tout au moins, ne consiste pas dans l'apparition d'une nouvelle paroi, mais simplement dans le décollement ou dédoublement de celle de la cellule mère. SACHS (7,44), STRASBURGER (2) et les partisans de l'intussusception sont d'un avis tout différent et pensent que chaque nouvelle cellule produit une membrane propre, tout à fait indépendante de celle qui existe déjà.

C'est ce qu'on a appelé le « rajeunissement » de la cellule, bien qu'en réalité la néoformation n'intéresse que la membrane, et que les autres parties de la cellule restent les mêmes.

GUIGNARD (8,39), amené à s'occuper de cette question, dans ses recherches sur le pollen des Orchidées, considère la membrane « comme formée par apposition, à la surface interne de la paroi de la cellule mère, dont elle constituerait alors la dernière couche ». Ses propriétés chimiques présentent, il est vrai, des différences assez marquées avec celles de la membrane primitive ; mais ces différences s'expliquent facilement, si l'on tient compte du temps qui s'écoule entre la formation de la couche interne de la paroi de la cellule mère, et le moment où apparaît la membrane du grain de pollen.

§ II. — L'ACCROISSEMENT DE LA MEMBRANE

THÉORIE DE L'APPOSITION

L'hypothèse la plus simple sur le mode de croissance de la membrane, est d'admettre que l'accroissement en épaisseur se fait par *aposition* de couches nouvelles sur les couches anciennes, tandis que la paroi cellulaire, très extensible, croît en surface par l'action de la turgescence. Ainsi donc, au fur et à mesure qu'en augmentant sa surface elle s'amincit, de nouvelles couches, en se déposant sur elle, accroissent son épaisseur.

Cette théorie, admise par tous les anciens botanistes, s'est maintenue jusqu'en 1858, époque à laquelle elle fut remplacée par la théorie de l'intussusception de NAEGELI.

Dans l'hypothèse de l'aposition, la turgescence apparaît comme un facteur important de ce mode de croissance. Il convient d'en faire une étude spéciale et de rechercher si elle a bien toute l'importance qu'on lui accorde.

La Turgescence

Si on admet l'extensibilité de la membrane, on peut admettre aussi que l'eau qui pénètre dans la cellule, attirée par sa force osmotique, exerce sur les parois une certaine pression, et les force à se détendre. WORTMANN (9), pour mettre en évidence ce rôle de la turgescence, s'attache à montrer que l'accroissement de la cellule est fonction de l'extensibilité de la membrane d'une part, et d'autre part, de la force osmotique. Il suit, dans des organes en voie d'accroissement, les variations de ces deux facteurs et essaie de saisir leur rapport avec la croissance elle-même.

Ses divers essais, dans ce sens, lui montrent tout d'abord que dans des organes en train de croître activement, comme les bourgeons, l'extensibilité des membranes atteint son maximum à la pointe de ces organes, pour diminuer de plus en plus vers la base. On ne trouve aucun parallélisme entre les régions présentant le maximum d'extensibilité et celles où la croissance est aussi maximum.

Pour étudier les variations de la force osmotique, WORTMANN



recherche le point de la région de croissance où cette force atteint son maximum et constate que, depuis la pointe du bourgeon jusqu'à la zone d'accroissement maximum, la force osmotique croît progressivement. Elle atteint, elle aussi, son maximum, à l'endroit où la croissance est la plus active et reste constante à partir de ce moment, jusque dans la région où toute croissance est achevée. Si donc on déduit la force de turgescence de ces deux variables, en tenant compte des variations qui viennent d'être indiquées, on voit que cette force, nulle au sommet d'un organe, augmente ensuite et passe par un maximum, qui correspond précisément au maximum d'accroissement, puis elle diminue pour s'annuler encore. Ainsi donc, au sommet de la tige, les cellules du méristème croissent à peine parce que, bien qu'extensibles, elles n'ont pas de force osmotique. Dans les cellules âgées, par contre, la force osmotique est devenue très grande, mais comme les membranes n'ont plus aucune extensibilité, tout accroissement doit cesser forcément.

Il est, avec cela, une cause perturbatrice dont il faut tenir grand compte : c'est la plus ou moins grande quantité d'eau contenue dans la cellule. Si cette quantité d'eau diminue, soit par le fait de la transpiration, soit encore parce que la cellule se trouvera en face d'une solution nutritive trop concentrée, une partie de sa force osmotique sera inutilisée et les matériaux fournis par le protoplasma au lieu d'être employés pour l'accroissement en surface, permettront alors à la membrane de s'épaissir davantage.

En somme, par conséquent, l'accroissement de la membrane en surface est dû à la turgescence. Cette turgescence est fonction de trois facteurs : le degré de la force osmotique, l'extensibilité de la membrane, la quantité d'eau extérieure plus ou moins grande.

Cette conception de l'accroissement permet à WORTMANN d'expliquer les phénomènes de courbure des cellules et, par suite, la flexion des organes. Une cellule se courbe, d'après lui, parce qu'un de ses côtés devient moins extensible que l'autre.

Une cellule qui s'accroît commence d'abord par produire des substances osmotiques ; avec ces substances elle attirera l'eau de l'extérieur, deviendra de plus en plus turgescence et augmentera ainsi son volume, tandis que sa membrane, amincie par suite de l'extension qu'elle a subie, s'épaissira par apposition de substances

nouvelles. Alors, de deux choses l'une : ou bien la cellule est placée normalement et alors tous les matériaux nécessaires à l'édification de la membrane viennent se répartir uniformément à sa surface ; la cellule garde partout la même épaisseur, par suite, la même extensibilité, et, tout en augmentant de volume, elle garde une forme semblable à sa forme première. Ou bien la cellule ne se trouve pas placée dans les conditions ordinaires : si c'est la cellule d'une tige, elle sera, par exemple, disposée horizontalement. Or, WORTMANN (10) admet l'hypothèse que le protoplasme tend à se placer vers la partie supérieure des cellules, en vertu d'un géotropisme négatif. Cette augmentation du protoplasme sur une paroi à grande surface, va déterminer de ce côté un dépôt plus abondant de substances membraneuses, d'où un épaissement et par conséquent une diminution dans l'extensibilité. Le résultat sera la flexion de la face opposée.

On arrive, en somme, à déduire des données de WORTMANN que si la turgescence est la cause principale de l'accroissement, l'extensibilité en est pour ainsi dire le régulateur.

L'ancienne théorie de SACHS, qui jusque vers 1889 ralliait la plupart des suffrages et avait gagné avec WORTMANN un terrain considérable, ne tarde pas à en perdre au fur et à mesure que s'accumulent les recherches sur cette intéressante question de l'accroissement de la membrane, et elle tombe finalement en désuétude.

Déjà, au sujet des courbures d'organes, ELFVING (11) et HABERLANDT (12) arrivent à cette conclusion que l'amas du protoplasme et l'épaississement de la membrane sont plutôt la conséquence que la cause de la flexion des membranes. NOLL (14) affirme que la courbure n'est pas produite par un arrêt d'accroissement du côté concave, mais, au contraire, par une accélération de la croissance du côté convexe. Cette accélération serait due, selon lui, à une augmentation dans l'extensibilité de la membrane, augmentation qui est bien sous la dépendance de l'hylaoplasme, mais qui est régie par la lumière, la pesanteur et d'autres agents extérieurs.

Quant au rôle de la turgescence elle-même, que WORTMANN plaçait au premier rang dans les phénomènes d'accroissement, il s'est trouvé notablement amoindri, depuis les travaux d'ASKENASY et de plusieurs autres botanistes.

On sait que l'accroissement des organes est intimement lié à la

température. Un organe s'allonge plus ou moins rapidement suivant qu'on le soumet à telle ou telle température. Or, il n'en est plus de même de la turgescence, qui est, pour ainsi dire, indépendante de la température.

Se basant sur ces principes bien connus, ASKENASY (15) expose des racines de maïs à des températures différentes ; il les sectionne ensuite, et chaque fragment est mis à plasmolyser dans une solution de salpêtre. Le raccourcissement de l'organe doit indiquer alors le degré de turgescence. Or, quelle que soit la température, on constate que le raccourcissement est le même dans tous les fragments ; la turgescence est donc la même aussi bien aux températures optima pour l'accroissement, qu'aux températures les plus défavorables. Il y a donc bien une certaine indépendance entre l'accroissement et la turgescence, et celle-ci n'est pas le facteur essentiel de l'accroissement.

Par une méthode à peu près semblable, GODLEWSKI (16) est arrivé aux mêmes conclusions. Ses recherches ont porté sur le *Phaseolus multiflorus*. Il comparait à la lumière et à l'obscurité les régions épicotylées supérieures, c'est-à-dire jeunes, de cette tige, et n'observait dans les deux cas aucune différence, ni au point de vue de l'extensibilité de la membrane, ni au point de vue de la turgescence. Au contraire, dans les régions inférieures plus âgées, la turgescence et l'extensibilité sont nettement plus grandes, chez les plantes étiolées que chez les plantes normales. Si donc la théorie de WORTMANN était exacte, les différences dans la rapidité de l'accroissement à la lumière et à l'obscurité devraient se montrer dans ces parties où la turgescence et l'extensibilité sont très fortes. Or, c'est précisément le contraire qui a lieu. Ce sont les parties les plus jeunes, celles où la turgescence ne varie plus avec l'intensité lumineuse, qui manifestent les différences d'accroissement les plus sensibles.

Une autre preuve contre l'hypothèse de WORTMANN, c'est que, dans un entre-nœud, la faculté d'accroissement disparaît beaucoup plus vite que sa tension de turgescence.

D'après ce qui vient d'être dit, l'amincissement des parois serait donc la conséquence et non pas la cause de l'accroissement. Ce n'est pas l'extensibilité ni la turgescence qui provoquent l'accroissement puisqu'en somme, les travaux d'ASKENASY, comme ceux de

GODLEWSKI, nous montrent que, quand bien même la turgescence se maintienne constante, la croissance peut varier sous des influences extérieures comme la température et la lumière.

En ce qui concerne la *lumière*, de nouvelles expériences de GODLEWSKI (17) ont montré le rôle important qu'elle joue dans la croissance, où elle intervient, non pas pour la favoriser, mais pour la ralentir. Des plantes placées à l'ombre, puis exposées aux rayons solaires, ne s'accroissent plus que très lentement, jusqu'au moment où elles se sont à nouveau adaptées à ces conditions nouvelles.

Ça n'est pas à dire que la lumière soit toujours, comme le pensait SACHS, la cause de la périodicité journalière que présente l'accroissement en longueur des tiges. Dans ses nombreuses expériences, GODLEWSKY constate en effet que des tiges maintenues à l'obscurité constante, s'allongent beaucoup plus pendant le jour que pendant la nuit. On est donc obligé, pour expliquer cette périodicité, de songer à autre chose qu'à la lumière et d'admettre qu'elle est due à un changement journalier dans les processus chimiques qui interviennent pour accroître la membrane.

La question de l'*humidité* est une de celles qui, en apparence tout au moins, paraissent le plus liées à celle de la turgescence. Y a-t-il vraiment quelque relation entre l'une et l'autre, et, dans tous les cas, comment se comporte l'humidité vis-à-vis de la croissance? Suivant l'auteur dont nous venons d'analyser les travaux, il y a bien un rapport de cause à effet, entre l'humidité et l'accroissement: mais il n'y a rien de semblable ici, toutefois, avec ce qu'on a constaté pour la lumière. Lorsque l'humidité diminue, il se produit un ralentissement soudain, mais passager, dans la croissance, qui s'accélère de même, momentanément, quand l'humidité augmente. L'action est donc temporaire, momentanée. Elle ne porte pas sur l'accroissement lui-même, mais sur la turgescence, qui peut avoir alors un certain retentissement sur la membrane. Il n'en est pas moins vrai que, dans une certaine limite, la croissance est réglée par l'humidité. Les tiges acquièrent, par exemple, plus rapidement une grande taille dans l'air humide que dans l'air sec.

Il paraît donc résulter de la discussion à laquelle nous venons de nous livrer, que la turgescence n'est pas, comme le pensaient SACHS, DE VRIES et WORTMANN, la cause principale de l'accroissement. Elle intervient d'une façon secondaire, et à ce titre seulement, dans le

phénomène sur lequel elle exerce son influence comme plusieurs autres agents physico-chimiques : lumière, température, humidité, etc... Bien d'autres faits encore, qui montrent le mal fondé de la théorie de la turgescence, pourraient être ajoutés à ceux-ci. Je me bornerai à signaler encore les deux suivants : je rappellerai d'abord que PFEFFER a montré depuis longtemps que la croissance s'arrête en l'absence d'oxygène, tandis que la tension interne de la cellule continue à être la même; ensuite que, suivant ZIMMERMANN, la membrane cellulosique n'est pas aussi extensible qu'il faut le supposer pour admettre cette hypothèse.

Après avoir examiné les raisons physiologiques qui, on vient de le voir, ne laissent pas admettre, dans son entier tout au moins, l'hypothèse de la turgescence, il est nécessaire de se demander si, par des considérations anatomiques, on arrive au même résultat. J'aurai spécialement en vue, dans ce qui va suivre, des particularités anatomiques, se conciliant plus ou moins avec la théorie en cause, qui ont donné lieu à des interprétations différentes, mais proviennent toutes de ce que nous avons appelé « l'accroissement localisé ».

Il est tout d'abord une forme de cet accroissement qui se laisse expliquer par la *turgescence locale*. C'est celle qu'on observe lors du bourgeonnement des cellules de levures. Il suffit d'admettre que la pression interne étant la même tout autour de la cellule, l'extensibilité de la membrane est plus grande en un point qui cède et produit la hernie.

Mais les choses sont un peu plus compliquées quand il s'agit de l'accroissement terminal du tube pollinique. On sait que son extrémité s'accroît d'une façon très active, alors même que les parties les plus âgées qu'il laisse derrière lui, en germant, sont détruites ou que le grain de pollen, dont il est issu, est désorganisé. Bien que le tube pollinique soit loin, par conséquent, d'avoir toute son intégrité, STRASBURGER (3) a admis, pendant longtemps, que la croissance se faisait par extension de la membrane terminale, extension provoquée par la pression du torrent protoplasmique.

Or, cette pression, si elle existe, ne peut qu'être extrêmement faible, étant donnée la consistance du protoplasme qui est très fluide, comme on peut en juger par les mouvements dont il est le siège et étant donné, par conséquent, que la résistance qu'il pourrait éprouver de la part des parois, seule force capable de maintenir sa

turgescence, doit être considérée comme à peu près nulle. Pour expliquer, avec STRASBURGER, la croissance du tube pollinique par un phénomène purement mécanique, il faudrait dès lors supposer, à sa membrane terminale, une facilité d'extension considérable, ou, ce qui revient au même, un état semi-liquide.

Un autre cas fort instructif et qui offre peut-être, plus encore, matière à discussion, est celui des méats intercellulaires. Plusieurs auteurs se sont occupés de cette question : HOFMEISTER, BERTHOLD, ZIMMERMANN, entre autres. Les uns attribuent les méats à un inégal accroissement de la membrane ; les autres les considèrent plutôt comme dus à la turgescence. Lorsque des cellules, tout d'abord polyédriques, sont intimement unies les unes aux autres, la tension qui s'exerce sur leur paroi interne tend à les arrondir, et pour peu que, par la nature du ciment qui les relie, elles n'adhèrent que faiblement les unes aux autres, un espace vide naîtra entre leurs sommets d'union.

ZIMMERMANN (19) pousse plus à fond la question et pense qu'il y a deux cas à distinguer : celui où les cellules limitant la lacune ont une courbure convexe, et celui où ces cellules ont une courbure concave. La turgescence est fort conciliable avec le premier cas et explique suffisamment le phénomène, mais il n'en est pas de même du second.

Pour celui-ci, ZIMMERMANN étudie avec beaucoup d'attention les cellules étoilées de certains *Juncus*. Si l'on recherche la cause à laquelle sont dues leurs ramifications, deux explications viennent tout naturellement à l'esprit : ou bien leur formation est due à un enfoncement de certains points de la membrane vers l'intérieur de la cellule, ou bien, au contraire, elle résulte d'une saillie de quelques régions de cette membrane, vers l'extérieur. Pour trancher la question entre ces deux alternatives, ZIMMERMANN mesure à diverses hauteurs de la tige, c'est-à-dire sur des éléments de différents âges : 1° la grandeur absolue des cellules jeunes, encore rondes ; 2° la surface occupée par le centre des cellules étoilées. Il constate ainsi que, pendant l'accroissement, la surface centrale n'a pas sensiblement changé. Il y a donc eu poussée au dehors pour la formation des bras de la cellule et l'accroissement est centrifuge. Il resterait à se demander si cette croissance est due à la turgescence, et s'il y a eu turgescence localisée en divers points

du contour cellulaire. Mais les tentatives que l'auteur a faites dans ce sens ne lui permettent pas de répondre à cette question.

L'étude des cellules épidermiques ondulées ne donne pas des conclusions plus probantes.

Il s'agit là de membranes alternativement en saillie et en retrait dans deux cellules voisines. Par ce fait même que la membrane mitoyenne ondule ainsi entre deux éléments, on ne peut guère expliquer sa formation ni par une augmentation d'extensibilité en certains endroits de la paroi, ni par une turgescence prédominante dans l'une des deux cellules contiguës. Que si l'on mesure, comme précédemment, un certain nombre de ces cellules chez des plantes variées (*Pteris serrulata*, *Papaver Rhœas*, *Delphinium Ajacis*, *Oenothera Chilensis*, *Linum usitatissimum*), on constate, comme précédemment aussi, que la cellule ne se rétrécit pas et que, par suite, les ondulations sont encore dues à un développement local en saillie vers l'extérieur. C'est tout ce qu'on peut déduire de l'expérience, c'est-à-dire bien peu de choses relativement au rôle exact de la turgescence.

Mais s'il est un cas tout à fait inconciliable avec l'hypothèse d'un accroissement de la membrane exclusivement en surface, c'est bien celui où, des plis plus ou moins accentués, plus ou moins saillants de la membrane, naissent dans l'intérieur de la cellule. Ils ont été souvent décrits dans la feuille de *Pinus sylvestris*, où ils prennent un très grand développement. HABERLANDT (13, 174) les a retrouvés chez un certain nombre d'Angiospermes et de Cryptogames vasculaires ; ZIMMERMANN (19), chez *Pinus longifolia*, *Bambusa arundinacea* ; KNY (21), chez *Pinus austriaca*.

Pour STRASBURGER (3, 196), il s'agirait là de simples épaissements entrant dans la même catégorie que les épaissements en forme de bandelettes ou d'anneaux, si fréquents sur les membranes. Ils seraient complètement homogènes dans le début de leur développement et ne perdraient ensuite de leur densité que par une différenciation ultérieure. Il paraît cependant plus vraisemblable, ainsi que le fait remarquer ZIMMERMANN (20, 652), avec juste raison, de les considérer comme de véritables plissements de la membrane. Si, en effet, on les observe à l'état adulte, ils montrent le plus souvent des propriétés physiques et chimiques tout à fait semblables à celles des autres parties de la membrane et, dans leur intérieur, se

continuent souvent la substance intercellulaire et même les espaces intercellulaires. Il résulte d'ailleurs des expériences de ZIMMERMANN (20) et de celles de KNY (21), qui ont mesuré les plissements d'après la méthode déjà indiquée plus haut, que ces lames sont le résultat d'un accroissement de la membrane vers l'extérieur et non vers l'intérieur. Non seulement, en effet, la cellule entière, mais même l'espace interne limité par les extrémités des replis est plus grande à la fin de l'accroissement que ne l'était, au début, la cellule non encore plissée.

Quant aux plis eux-mêmes, ils ont un développement centripète ; chacun d'eux se forme à la face interne de la membrane, par suite d'un accroissement local et progresse ainsi peu à peu vers l'intérieur de la cellule. Il n'est pas nécessaire d'insister pour montrer que la turgescence ne suffit pas à donner l'explication de pareils phénomènes.

C'est encore à des résultats semblables qu'arrivent ZACHARIAS et REINHARDT dans leurs recherches sur la membrane.

ZACHARIAS (22) a constaté que lorsqu'il transportait des rhizoïdes de *Chara* du vase où ils vivaient dans l'eau ordinaire, ces organes cessaient de s'allonger, et, par contre, la membrane s'épaississait beaucoup à leur extrémité (fig. 38). Ces expériences, répétées avec des poils radicaux de *Lepidium sativum* (23), lui ont donné des résultats identiques. Voilà donc des organes, chez lesquels la tension de turgescence doit exister, d'autant plus qu'ils sont placés dans un liquide de très faible densité ; néanmoins l'allongement cesse. Les matériaux plasmiques sont quand même utilisés, mais la membrane, au lieu d'augmenter en surface, s'accroît en épaisseur.

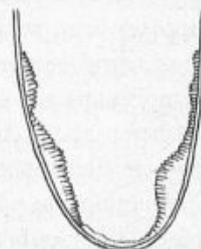


Fig. 38. — Membrane épaissie d'un rhizoïde de *Chara fetida* (ZACHARIAS).

Enfin, dans les expériences de REINHARDT (24), ce sont les filaments de certains champignons : *Mucor*, *Dematium*, *Phycomices* qui sont en jeu. Après avoir montré, ainsi que nous l'avons déjà vu, que leur allongement se fait par la partie terminale et exclusivement par cette région, REINHARDT insiste sur le fait que si cet allongement était dû exclusivement à la turgescence, la tension

tangentielle étant plus forte dans la partie cylindrique du filament que dans la partie sphérique de la pointe, il devrait se produire en arrière de cette pointe une hernie arrondie, ce qui n'arrive jamais dans le développement.

Des prolongements se produisent bien, mais seulement lorsque le champignon végète dans des conditions spécialement défavorables. Il arrive alors que l'accroissement ne pouvant plus se faire par la calotte terminale, il se fait au moyen de processus plus ou moins ramifiés, prenant naissance en arrière de cette région (fig 39).

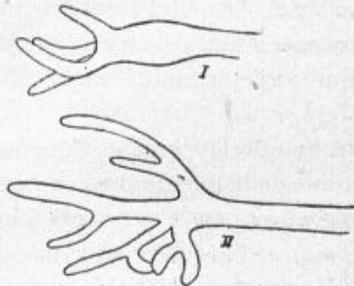


Fig. 39. — Croissance anormale de la pointe d'un filament de champignon dont le développement est arrêté (REINHARDT).

Au fond, les choses se passent ici comme dans l'expérience de ZACHARIAS. Les matériaux plasmiqes continuent

à être consommés, dans les deux cas : dans le premier, ils sont employés à un accroissement anormal en épaisseur ; ici, ils servent à un accroissement anormal en surface. Ces déformations des champignons ne sauraient être expliquées par la seule action de la turgescence. A elle seule, cette tension interne ne peut pas produire les tubes parfois très ramifiés que l'on observe dans de telles conditions. Il faut pour les produire une très grande plasticité de la membrane, et cette plasticité exige qu'on interprète l'accroissement d'une tout autre façon.

THÉORIE DE L'INTUSSUSCEPTION

Les faits accumulés précédemment ont montré suffisamment, je crois, que la turgescence ne joue qu'un rôle secondaire dans l'accroissement en surface. Mais ce rôle n'en existe pas moins ; la membrane subit, de la part du protoplasme et des liquides qu'il renferme, une pression qui tend à augmenter sa surface et détermine, par suite, un écartement de ses molécules. Celles-ci peuvent dès lors admettre entre elles de nouvelles molécules venues du protoplasme ; ces particules s'ajouteront aux premières, non

seulement dans le sens tangentiel, mais encore en direction radiale, et la membrane s'accroîtra en surface aussi bien qu'en épaisseur par le procédé qu'on a appelé l'*intussusception*.

Si l'on admet cette hypothèse, les difficultés d'interprétation rencontrées précédemment disparaissent d'elles-mêmes, et il devient facile d'expliquer les plissements des parois du mésophylle des *Pinus*, aussi bien que les ondulations de certaines autres membranes et que les formations anormales du thalle des *Mucor*.

Il nous faut donc exposer en détail cette théorie et dire dans quelles limites elle doit être acceptée.

L'hypothèse de l'intussusception fut introduite dans la science par NAEGELI en 1858 (25), dans son grand travail sur les grains d'amidon. Elle fut soutenue, plus tard, par SACHS et H. DE VRIES.

Pour NAEGELI, l'accroissement de la membrane se fait par infiltration d'une solution aqueuse issue du protoplasme, qui laisse déposer entre les molécules de la membrane de nouvelles molécules de cellulose. La marche même de l'accroissement, la structure interne de la membrane, la faculté qu'elle a de se gonfler et les phénomènes qu'y provoque la lumière polarisée, tendent à la faire considérer comme formée de corpuscules solides qui seraient chacun entourés et séparés par une enveloppe d'eau. Ce sont les *micelles*. Dans l'esprit de NAEGELI, ces micelles sont des groupes de molécules qui ne se trouvent pas exclusivement dans la membrane, mais entrent dans la constitution de tous les corps gonflables. L'eau qui les entoure disparaît quand les micelles sont desséchés ; ceux-ci se touchent alors. Ils s'écartent, au contraire, par admission d'une nouvelle quantité d'eau dans leur enveloppe, et se séparent ainsi, de plus en plus, les uns des autres. Au fur et à mesure que l'enveloppe d'eau augmente de volume, l'attraction des micelles les uns pour les autres diminue, tandis que leur affinité pour l'eau augmente. Ainsi se trouve expliqué le processus du gonflement, par une théorie qui ne manque pas d'être ingénieuse comme on voit, et qui a aussi l'avantage d'être générale.

Cette hypothèse rend compte, également, de la disposition si curieuse des lamelles de la membrane qui sont alternativement éclairées et sombres comme on sait.

Une fois constituées, les couches s'accroissent par interposition de substance, à la fois en épaisseur et en surface. Dès qu'une couche a

acquis une certaine épaisseur, elle se différencie par les progrès de l'accroissement en trois couches nouvelles. Si c'est une couche dense, il se forme en son milieu de la substance molle, qui la divise en deux lamelles séparées par une couche de moindre densité. Si c'est une couche molle qui s'épaissit beaucoup, sa lamelle médiane se condense et il naît ainsi une couche plus dense, entre deux lamelles de densité moindre.

L'alternance des couches est due, par conséquent, à une différence dans la quantité d'eau qu'elles renferment.

Enfin, l'étude très détaillée des phénomènes que la lumière polarisée provoque, dans les membranes cellulaires, a conduit NAEGELI et SCHWENDENER (26) à des vues plus profondes encore sur leur constitution. Ils en ont conclu, en effet, que les micelles possèdent une structure cristalline. Ils sont biréfringents, ont deux axes optiques et seraient orientés, suivant les trois directions de l'espace, de telle façon que l'un des axes de densité de l'éther y soit dirigé radialement, et que les deux autres axes soient placés tangentiellement.

Soutenue par des botanistes comme SACHS, DE VRIES et MILLARDET, cette théorie ne tardait pas en revanche à être attaquée par d'autres savants et, en particulier par SCHMITZ et STRASBURGER, qui lui opposaient des faits nombreux favorables à l'apposition.

THÉORIE DE WIESNER

Les travaux de WIESNER (27) viennent cependant en 1886 lui donner une confirmation nouvelle, tout en permettant d'interpréter certains faits que la théorie précédente laissait inexplicés.

Reprenant d'anciennes recherches de KRASSER, WIESNER montre que la membrane cellulaire renferme constamment du protoplasma et admet qu'elle contient, tout aussi bien que le cytoplasme de la cellule, que le noyau ou les chloroleucites, des particules vivantes qu'il réunit sous la désignation générale de *plasomes*. Ces plasomes se transforment en particules de nature cellulosique qu'on appelle *dermatosomes*, et qui sont vivantes elles aussi.

Les dermatosomes sont les homologues des micelles de NAEGELI, avec cette différence qu'étant des éléments vivants, ils se reproduisent comme toute substance vivante, c'est-à-dire par bipartition, et

ont aussi la propriété d'absorber et de transformer les matières minérales ou organiques qui leur sont offertes. Ils sont absolument dépourvus de substances albuminoïdes, mais sont reliés les uns aux autres par de minces filaments protoplasmiques, toujours présents dans la membrane, au moins pendant son accroissement. Ces filaments constituent le *dermatoplasme* de la membrane et, à leur tour, sont en communication avec le protoplasme cellulaire qui, dès lors, peut nourrir les dermatosomes et leur permettre de se multiplier.

Il est bon de noter que l'existence de ces éléments vient à l'appui d'une partie au moins de la théorie de NAEGELI, WIESNER, en effet, les suppose rangés suivant les trois directions de l'espace, et on sait que NAEGELI admet la même disposition pour ses micelles.

Les vues de WIESNER sont loin d'avoir eu l'approbation de tous les savants, et CORRENS (28), qui a vérifié ses résultats, en fait une critique rigoureuse.

Selon lui, on ne trouve dans aucun cas de la matière albuminoïde dans la membrane (à part les plasmodesmes bien entendu). Les réactions que WIESNER attribue à des albuminoïdes, sont dues à de la tyrosine, dans le plus grand nombre des cas. CORRENS reconnaît cependant que les dermatosomes sont probablement des éléments figurés, sans qu'il soit possible toutefois de mettre en évidence leur arrangement, suivant les trois directions de l'espace. Tout ce qu'on peut dire de certain à ce sujet, c'est qu'on les voit disposés en une seule direction et former des fibrilles.

TRAVAUX DE STRASBURGER

Les recherches récentes de STRASBURGER (4) l'ont amené à penser que l'apposition comme l'intussusception pouvaient prendre part à l'accroissement de la membrane, sans s'exclure l'une l'autre, en aucune façon. C'est en étudiant le développement des grains de pollen qu'il a été amené à fixer les limites dans lesquelles chacun de ces processus contribue à la formation de leur paroi.

Les grains de pollen des *Knautia*, qui sont assez volumineux, se prêtaient d'autant plus à de pareilles observations qu'ils possèdent, dans l'exine, une couche délicate et mince munie de « bâtonnets » disposés perpendiculairement à la surface et séparant cette partie

de la membrane en deux régions, l'une externe, l'autre interne, et toutes les deux plus épaisses que la « couche à bâtonnets » elle-même.

C'est cette couche à bâtonnets qui devait permettre l'orientation des recherches, sur le mode de croissance de la membrane.

L'exine du grain de pollen mûr de *Knautia magnifica* Boiss.,

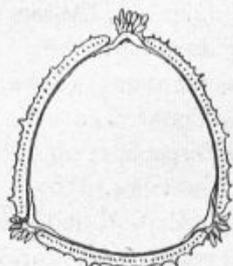


Fig. 40. — Membrane du grain de pollen mûr de *Knautia magnifica* avec l'intine et l'exine complètement développées (STRASBURGER).

l'une des espèces les mieux étudiées par STRASBURGER, est pourvue d'un grand nombre de petits aiguillons et d'un nombre moins considérable d'épines plus longues (fig. 40). A la moitié de son épaisseur, elle montre la couche à bâtonnets dont il vient d'être question. Trois pores de sortie circulaires se trouvent sur chaque grain. L'exine s'y montre développée en un bourrelet non cutinisé, consistant en un disque circulaire surmonté par des processus claviformes (fig. 41).

Sous l'exine s'étend l'intine, très délicate, qui, vers les pores de sortie, s'épaissit quelque peu et se voûte en avant. Elle est surmontée en ces points par le bourrelet que forme l'exine. L'espace compris entre les bâtonnets est vide et absorbe très facilement les colorants.

Comme le rasoir en éloigne parfois la couche interne, les bâtonnets apparaissent comme de fines denticulations, vers l'intérieur. STRASBURGER donne à cette couche à bâtonnets le nom de *lamelle de jonction* (anschlusselamelle). C'est en en suivant le développement qu'on pourra saisir le mode suivant lequel, dans cette région, se fait l'accroissement de la membrane.

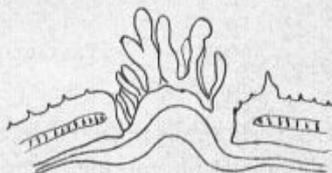


Fig. 41. — Un des pores du grain de pollen de *Knautia magnifica* fortement grossi (STRASBURGER).

Dès le début de sa formation, la jeune membrane du grain de pollen qui, pour l'instant, représente dans son entier la future exine, augmente un peu en épaisseur, et se montre comme une pellicule complètement homogène (fig. 42, I). La stratification apparaît

ensuite peu après, et tandis que l'épaisseur augmente encore, une zone claire se montre dans le milieu de la membrane (II).

Cette zone, qui se forme ainsi, dans l'intérieur de la membrane et la partage en deux parties égales, ne peut pas représenter la limite externe d'une couche nouvellement produite par apposition. Elle ne saurait représenter davantage la limite, c'est-à-dire la ligne de séparation entre la couche externe et la couche interne de la paroi, car c'est d'elle que provient plus tard la couche à bâtonnets (III). Il faut donc reconnaître dans la membrane, à cet état, l'existence de trois couches distinctes. Ces couches se sont-elles produites par apposition ou par intussusception ?

STRASBURGER ne peut décider entre ces deux hypothèses. Ces trois zones ne peuvent être aperçues que lorsqu'elles sont définitivement établies dans la paroi cellulaire ; on peut donc penser, ou bien qu'elles se sont formées par apposition les unes après les autres, ou bien qu'elles résultent de la différenciation, en trois parties, de la lamelle primitivement homogène. La seconde hypothèse serait cependant la moins vraisemblable, et il semble plus conforme à la nature des faits observés, d'admettre que ces couches se sont formées successivement.

Dans tous les cas, une fois qu'elles sont constituées, leur accroissement peut être facilement suivi et l'on peut tout aussi facilement s'assurer du mode suivant lequel cet accroissement s'effectue.

Toutes les trois se mettent à croître en épaisseur et en surface. La zone moyenne claire donne progressivement naissance à la couche à bâtonnets et constitue pour l'observation un excellent point de repaire.

Or, les deux couches externes sont séparées du protoplasme par la lamelle interne et l'on est en droit d'admettre que c'est par intussusception que se fait leur développement. Il n'en est pas de même de la couche interne, en contact avec le protoplasme, et pour laquelle l'apposition est toujours possible.



Fig. 42. — Membrane du grain de pollen de *Knautia magnifica*. — I. L'exine très jeune ne montre encore aucune stratification. La région qui deviendra l'un des pores de sortie est gonflée en forme de lentille. — II. Exine avec ligne claire médiane. C'est la première ébauche de la stratification. — III. Exine à un stade plus avancé (STRASBURGER).

Quant aux reliefs de la surface externe, aux aiguillons, qui se forment par la suite, ils apparaissent bien avant que la substance de l'assise nourricière n'émigre au milieu des grains de pollen. Cette assise ne prend donc aucune part à leur formation, et, puisque l'accroissement de l'exine peut se faire par intussusception comme on vient de le voir, il est inutile de chercher pour eux un autre processus de développement.

L'étude des grains de pollen d'*Althæa* conduit à des résultats semblables. Elle est surtout instructive, en ce qu'elle permet de saisir les derniers stades de leur formation et montre, en particulier, l'usage qui est fait par le pollen de la substance de l'assise nutritive.

Epuisé par le développement de l'exine, le protoplasme se trouve très réduit dans le grain de pollen. C'est alors que les cellules de l'assise nutritive perdent leur individualité, mélangent leur contenu et celui-ci se glisse entre les jeunes grains, qui ne tardent pas à l'absorber. Leur diamètre augmente beaucoup à partir de ce moment, et leurs aiguillons achèvent de se constituer. Une fois établie, l'exine, qui paraissait incolore jusque-là, prend une teinte jaune.

L'intine se forme avant que les grains de pollen ne se remplissent du contenu de l'assise nutritive et, comme chez les *Knautia*, elle s'épaissit et fait saillie dans les pores de la membrane.

Ainsi donc, l'histoire du développement des grains de pollen de *Knautia* et d'*Althæa* montre que la formation de leur membrane n'est pas possible, sans inclusion de substance. Mais de quelle nature est cette inclusion ; quelles sont les substances qui pénètrent ainsi dans la paroi cellulaire et surtout, fait plus intéressant encore, comment ces sculptures, telles que côtes ou aiguillons, qui représentent des caractères spécifiques et forcément héréditaires, se façonnent-elles avec une aussi constante régularité à la surface de la membrane ? Il est certain qu'on ne peut formuler à ce sujet qu'un petit nombre d'hypothèses : ou bien, la substance constitutive de la membrane est vivante et, par conséquent, capable de se former d'après des processus fixés héréditairement et qui s'accomplissent en elle-même ; ou, cette substance est sans vie et son accroissement a lieu d'après des lois purement physiques et matérielles. Ce serait alors quelque chose de comparable à une cristallisation qui pour-

rait tout aussi bien s'effectuer en dehors de l'organisme, si les mêmes conditions se trouvaient réalisées. Ou bien enfin, et c'est la dernière hypothèse, la membrane elle-même est morte, mais elle est traversée par une substance vivante.

L'hypothèse de la membrane, matière vivante, doit être tout d'abord écartée, en dépit des observations de WIESNER. Il faudrait, pour qu'elle fût admissible, qu'on puisse constater dans la paroi cellulaire la présence de la matière albuminoïde. Or, cette présence est contestée par beaucoup d'auteurs, comme on l'a déjà dit, et les soi-disant réactions obtenues à ce sujet sont attribuées par CORRENS à de la tyrosine.

La seconde hypothèse, qui assimile la membrane à la matière non organisée, n'est pas acceptable non plus, car elle n'explique pas suffisamment l'influence de l'hérédité, cependant si nette dans bien des cas. Reste donc l'hypothèse d'après laquelle la membrane morte serait imprégnée par la substance vivante. C'est à celle-là que se range STRASBURGER, qui admet comme une chose très vraisemblable que le cytoplasme peut pénétrer dans la membrane et présider ainsi à son développement.

CONCLUSIONS. — De l'étude à laquelle nous venons de nous livrer nous tirerons, avec STRASBURGER, les conclusions suivantes :

Les substances formant la membrane cellulaire sont des produits du protoplasme. Pour produire la membrane des cellules, elles sont ou bien sécrétées à la surface du protoplasme, ou bien demeurent dans l'intérieur de la cellule, pour y subir divers changements. Dans certains cas (formation des massules chez les *Azolla*), une masse déterminée de cytoplasme se change en substance constitutive de la membrane, sans laisser un résidu apparent. Il paraît donc très vraisemblable que la substance formant la membrane cellulaire est un produit de décomposition du cytoplasme.

Les membranes cellulaires s'accroissent en *surface* par extension passive et en même temps par apposition de nouvelles lamelles, ou par une intussusception active.

L'accroissement en *épaisseur* des membranes cellulaires se produit, en général, dans les tissus par apposition de nouvelles lamelles. Celles-ci ne subissent le plus souvent aucun accroissement ultérieur, en épaisseur, par intussusception active de substance,

mais peuvent être le siège de modifications plus ou moins profondes par infiltration passive et par incrustation. Dans certains cas déterminés, par exemple chez des cellules développées librement ou isolées d'une réunion de cellules (grains de pollen, etc.), l'épaississement des lamelles déjà établies et les reliefs de la surface se produisent par intussusception active de substance.

En résumé, par conséquent, l'*apposition* et l'*intussusception* séparées ou réunies interviennent dans la croissance des membranes cellulaires en surface et en épaisseur.

BIBLIOGRAPHIE

1. STRASBURGER. — *Die Pflanzenlichen Zellhäute*. Jahrb. f. wiss Bot. Bd. XXXI. Heft 4, 1898.
2. — *Lehrbuch der Botanik*, 1904.
3. — *Ueber den Bau und das Wachstum der Zellhäute*. Jena, 1882.
4. — *Histologische Beiträge*. Heft. II.
5. TISCHLER. — *Die Bildung der cellulose Eine theoretische Studie*. Biol. Centralblatt. 1901, p. 247.
6. TREUB. — *Recherches sur les Cycadées*. Ann. Sc. Nat., 6^e série, t. XII, p. 219.
7. SACHS. — *Lehrbuch der Botanik*. Trad. VAN TIEGHEM, 1874.
8. GUIGNARD. — *Recherches sur le développement de l'anthère et du pollen des Orchidées*. Ann. Sc. Nat., 6^e série, t. 14.
9. WORTMANN. — *Beiträge zur Physiologie des Wachstums*. Bot Zeit., 1889, n^{os} 14-18.
10. — *Ueber die Beziehung der Reizbewegungen wachsender Organe zu den normalen Wachstumsercheinungen*. Bot. Zeit. 1889, n^o 28-30.

11. T. ELFVING. — *Quelques mots sur la courbure des plantes*. J. de Bot., 16 juin 1888.
12. HABERLANDT. — *Ueber das Längenwachstum und den Geotropismus der Rhizoiden von Marchantia und Lunularia*. Pesterreichische bot. Zeitschrift, 1889, n° 3.
13. — *Vergleichende Anatomie des assimilatorischen Gewebesystemes der Pflanzen*. Prings. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XIII.
14. NOLL. — *Beitrag zur Kenntniss der physikalischen Vorgänge, welche den Reizkrümmungen zu Grunde liegen*. Arbeiten d. bot. Inst. in Würzburg. Vol. II, n° 14.
15. ASKENASY. — *Beziehungen zwischen Wachstum und Temperature*. Ber. d. deutsch. Bot. Ges., avril 1890.
16. GODLEWSKY. — *Die Art und Weise der wachstumretardierenden Lichtwirkung, und die Wachstums Theorien*. Separat. Abdruck aus dem Anzeiger der Ak. d. Wiss. in Krakau. Déc. 1890.
17. — *Ueber die Beeinflussung des Wachstums der Pflanzen durch aussere Faktoren*. Anzeiger der Akad. der Wiss. in Krakau. Juin 1890.
18. — *Ueber die tägliche Periodicität des Längenwachstums*. Anzeiger der Akad. der Wiss. in Krakau. Juin 1889.
19. ZIMMERMANN. — *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle*. Tübingen, 1891-93.
20. — *Die Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle*. Encyklop. d. Naturwiss, 1887.
21. KNY. — *Ueber das Zustandekommen der Membranfalten in seinen Beziehungen zum Turgordruck*. Ber. d. d. Bot. Ges., 1893.
22. ZACHARIAS. — *Ueber Bildung und Wachstum der Zellhaut bei Chara foetida*. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. VIII, 1890.
23. — *Ueber das Wachstum der Zellhaut bei Wurzelhaaren*. Flora, 1891. Heft, 4.
24. REINHARDT. — *Das Wachstum der Pilzzyphen. Ein Beitrag zur Kenntniss des Flächenwachstums vegetabilischer Zellmembranen*. Prings. Jahrb. f. wiss. Botanik, 1892.

25. NAEGELI. — *Die Stärkekörner; Pflanzenphysiologische Untersuchungen*. Heft. II. Sitz. d. k. Ak. der Wiss., 1863.
26. NAEGELI et SCHWENDENER. — *Das Mikroskop*. II, p. 402.
27. WIESNER. — *Untersuchungen über die Organisation der vegetabilischen Zellhaut*. Sitz. d. k. Ak. d. Wiss. zu Wien, 1886.
- *Versuch einer Erklärung des Wachstums der Pflanzenzelle*. Sitzungsanzeiger d. math. nat. Cl. der kais. Ak. d. wiss. zu Wien.
- *Berichte d. d. Bot. Ges.* Juill. 1890.
- *Die Elementarstructur und das Wachstum der lebenden Substanz*. Wien, 1892.
28. C. CORRENS. — *Ueber die vegetabilische Zellmembran. Ein Kritik der Anschauungen Wiesner's*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXVI. Heft, 4. 1894.
-

DEUXIÈME PARTIE

CONSTITUTION CHIMIQUE DE LA MEMBRANE

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LA CONSTITUTION CHIMIQUE DE LA MEMBRANE

A. — PHANÉROGAMES ET CRYPTOLOGAMES VASCULAIRES

CONSTITUTION DE LA JEUNE MEMBRANE.

PROCESSUS CHIMIQUE DE SON DÉVELOPPEMENT.

DIPPEL (1, 47, 53, 54), un des premiers, a signalé que la nouvelle cloison formée après la division du noyau ne lui avait dans aucun cas donné les réactions de la cellulose ; qu'elle est insoluble dans l'acide sulfurique concentré, où se dissout la cellulose ; qu'elle est uniréfringente alors que la membrane cellulosique est au contraire toujours biréfringente. Sa constitution chimique et moléculaire est donc nettement différente de celle de la cellulose.

DIPPEL la considère comme étant de la nature des gommes et admet qu'elle représente la future couche mitoyenne ou substance intercellulaire, de chaque côté de laquelle s'applique, par la suite, la membrane propre de chacune des deux cellules nouvellement formées.

MANGIN (2, 71), dans ses belles recherches sur la constitution de la membrane, confirme les données de DIPPEL et montre que la nouvelle cloison est bien voisine des gommes, puisqu'elle renferme des composés pectiques.

Quant à la véritable nature de cette lame originelle et aux modifications qu'elle subira pour donner la membrane devenue cellulosique, deux hypothèses sont possibles selon lui :

Ou bien la couche mitoyenne ou substance intercellulaire n'existe pas toute différenciée, au début. La cloison primitive est formée par un mélange intime de matières cellulosiques et pectosiques et s'épaissit par un apport constant de substances. Mais, bientôt il se forme par intussusception, dans la région médiane de cette lamelle, un dépôt de pectate de calcium qui donne naissance à la substance intercellulaire, tandis que, de chaque côté, la membrane propre de la cellule, constituée du même coup, va continuer à s'épaissir.

Dans la seconde hypothèse, la couche mitoyenne se trouve établie dès la division de la cellule. Elle est formée de composés pectiques, de pectate de calcium surtout, à l'exclusion de la cellulose, et serait alors rapidement recouverte, sur ses deux faces, de couches d'apposition constituées par de la cellulose et de la pectose.

C'est la deuxième hypothèse qui paraît la plus probable à MANGIN. La couche mitoyenne serait donc constituée par du pectate de calcium sans cellulose, et celle-ci n'apparaîtrait qu'après, dans les couches d'épaississement déposées par l'activité protoplasmique.

Il est de fait que si les réactifs ne permettent pas de montrer cette structure sur de jeunes membranes, à cause de leur ténuité, d'autres moyens peuvent mettre en évidence la lamelle pectique, dans des parois cellulaires, au début de leur développement. Il suffit de traiter les tissus par les dissolvants des composés pectiques que nous apprendrons à connaître, pour les voir se dissocier, et s'assurer ainsi que leurs éléments étaient unis par un ciment de pectate de calcium. Dans la suite, le développement des tissus se poursuit par un dépôt continu de produits celluloso-pectiques, à l'intérieur de la membrane, tandis que les composés pectiques purs s'accumulent de plus en plus dans sa région externe.

Il en résulte que, dans un tissu adulte, non modifié par l'incrustation de la lignine ou par la transformation en subérine, la membrane présente toujours, non plus une couche mitoyenne, mais une lamelle moyenne dans le sens de NÆGELI ou de GILSON (v. p. 46), dont l'épaisseur augmente sans cesse, par intussusception de produits pectiques. Cette lamelle moyenne est constituée par du *pectate de calcium* insoluble et toujours exempt de cellulose, et,

sur ses côtés, sont des couches secondaires formées de *cellulose* et de *composés pectiques*. Dans une membrane très épaisse et munie d'une couche tertiaire, celle-ci sera constituée par de la cellulose à peu près pure.

Cette constitution de la membrane, appelée pendant longtemps et à tort « membrane cellulosique », est absolument générale chez les Phanérogames, ainsi que chez tous les Cryptogames à l'exception de la plupart des Champignons.

On peut la dire cellulosique parce qu'elle contient de la cellulose, de même qu'on la dirait lignifiée si elle contenait de la lignine ; mais elle est loin, comme on vient de le voir, d'être exclusivement formée par de la cellulose. C'est là un fait définitivement acquis à la science, depuis les travaux de MANGIN.

Dans l'étude des substances fondamentales de la membrane, la *callose*, découverte par MANGIN, marche de pair avec la cellulose et les composés pectiques, bien qu'elle soit moins répandue. Elle existe chez les végétaux supérieurs où elle constitue le cal des tubes criblés ; elle entre aussi dans la composition de la membrane des grains de pollen et de leurs cellules mères. Mais c'est chez les Champignons surtout, qu'on la rencontre fréquemment, comme on va le voir, dans l'étude que nous allons faire des divers cas particuliers que présente la constitution de la membrane.

Membranes des cellules mères et des grains de pollen

La cellulose, quoi qu'on en ait pensé pendant longtemps, fait ordinairement défaut, dans la membrane des cellules mères primordiales et des cellules mères polliniques. Cette membrane est formée à son début de composés pectiques à peu près purs. Lorsque les tétrades polliniques sont constituées, la paroi des cellules mères s'épaissit, en même temps qu'elle se transforme en callose. C'est cette callose qui, par sa gélification, mettra les tétrades en liberté et laissera s'isoler les grains de pollen.

En établissant ces faits, MANGIN (3, 4) a montré, en même temps, que l'intine du grain de pollen est une enveloppe continue et de structure complexe. Elle est formée de cellulose à l'intérieur et sous une faible épaisseur ; à l'extérieur on y trouve des composés pectiques en une couche épaisse. Ce sont ces matières pectiques qui

forment ces bouchons, ces proéminences rentrant plus ou moins dans les pores de l'exine et les obturant, jusqu'au moment où ils se gélifient, en face des pores ou au niveau des plis et font alors éclater toute la membrane externe (Genevrier) ou seulement une partie de cette membrane qui se dissocie (Valériane) ou se détache en forme de calotte (Courge) pour permettre la sortie du tube pollinique.

La callose existe aussi dans un certain nombre de grains de pollen (Conifères, Cypéracées, Joncées) sous l'aspect d'amas intercalés, entre l'exine et l'intine, dans les intervalles des pores ou des plis.

B. — MOUSSES

La membrane des Mousses a été peu étudiée. Nous dirons plus loin ce qu'on sait de sa constitution.

C. — ALGUES

La membrane des Algues a été étudiée par SAUVAGEAU (11, 55) chez certaines Pheosporées et Diatomées. Sa structure correspond à celle observée par MANGIN, chez les Phanérogames, puisqu'elle est de nature celluloso-pectique, avec prédominance des composés pectiques à l'extérieur de la paroi.

Dans l'*Ectocarpus fulvescens*, algue filamenteuse, la surface extérieure, exclusivement pectique, probablement avec condensation spéciale, joue le rôle d'une cuticule ; à l'intérieur est un cylindre cloisonné par les membranes transversales, qui est fortement, ou peut-être exclusivement pectique ; enfin, à l'intérieur de chacun des articles ainsi délimités est une paroi, propre à chaque cellule, où la proportion de cellulose est bien plus considérable que celle des composés pectiques.

Des observations faites sur quelques Diatomées montrent que la gelée qui les entoure souvent est aussi de nature pectique.

D. — CHAMPIGNONS

La membrane des Champignons est si différente de celle des autres plantes, qu'à l'époque où l'on croyait la cellulose répandue chez tous les végétaux, la cellulose des Champignons avait reçu différents noms. BRACONNOT la nommait *fungine*, FRÉMY l'appelait *métacellulose*, et DE BARY (12), de son côté, explique, qu'à cause de ses caractères si spéciaux, il se voit obligé de lui donner un nom provisoire. Il l'appelle simplement « cellulose des Champignons » (*Pilzcellulose*).

Elle se distingue, en effet, de la membrane des végétaux supérieurs, d'abord parce qu'elle ne donne presque jamais les réactions de la cellulose, et ensuite et surtout, parce que sa nature chimique varie énormément d'un groupe à l'autre. On est donc bien loin de cette constance, de cette uniformité de structure que nous avons constatée chez les Phanérogames ; et, si l'on veut connaître la constitution de cette membrane, c'est dans les divers groupes de champignons qu'il faut l'étudier.

Mucorinées

Chez ces Champignons, DE BARY avait signalé depuis longtemps, et par exception, la présence de la cellulose normale. MANGIN (5) établit, en effet, que les substances fondamentales de leur membrane sont la cellulose et les composés pectiques, à l'exclusion de la callose. En outre, comme dans les Phanérogames, la cellulose est en proportion plus abondante dans les couches internes de la membrane que dans les couches externes. Cette cellulose constitue une variété plus résistante que celle des Phanérogames et des Cryptogames vasculaires, car elle demeure insoluble dans le réactif de SCHWEIZER, même après macération dans les acides ; la dissolution n'a lieu, et très lentement encore, qu'après macération dans un mélange d'acide chlorhydrique et de chlorate de potasse.

Dans les filaments fructifères on peut distinguer la présence d'une matière spéciale, analogue à la cutine des Phanérogames, dont elle se distingue cependant par son peu d'affinité pour les colorants et sa solubilité dans l'acide azotique bouillant.

Un autre caractère non moins intéressant de la membrane des Mucorinées est la présence, chez beaucoup d'espèces, d'un revêtement d'oxalate de calcium formant des dessins variés à la surface des filaments fructifères, et sur lequel nous aurons à revenir quand nous traiterons des concrétions calcaires de la membrane.

Si la callose est absente des filaments, elle existe cependant dans les sporanges et c'est elle qui y provoque leur déhiscence. Tantôt elle forme entièrement la paroi des sporanges et met les spores à nu, par sa liquéfaction, tantôt elle est localisée à la partie inférieure : c'est le cas des sporanges partiellement diffluent.

Les Syncéphalées diffèrent des autres Mucorinées (Mucorées, Pilobolées) par l'absence de revêtement calcaire. Comme les Syncéphalées sont souvent parasites des autres tribus de Mucorinées, il est facile, par l'emploi de réactifs appropriés, de distinguer leurs filaments entrelacés avec celles-ci.

Péronosporées

Ici, contrairement à ce qui se passe chez les Mucorinées, le mycélium est formé par l'association très intime de la callose et de la cellulose, tandis que les fructifications aériennes ne sont formées que de cellulose pure.

Les œufs participent de la structure du mycélium et ont une membrane callo-cellulosique.

Les arbres conidifères, au contraire, sont entourés de cellulose pure, la callose ne s'y rencontre qu'à l'état d'amas irréguliers (6).

Urédinées, Ustilaginées

La membrane, très délicate, ne contient ni composés pectiques ni callose, elle renferme de la cellulose.

Ascomycètes

La membrane y est généralement dépourvue de cellulose ; mais, formée essentiellement de callose, soit seule, soit associée à d'autres substances. Un grand nombre d'Ascomycètes étant parasites des plantes supérieures, la recherche en est facile, grâce aux réactions de la callose, comme pour les Péronosporées.

Basidiomycètes

Chez les Basidiomycètes étudiés par MANGIN (5), on peut faire deux groupes bien distincts par la constitution de leur membrane : l'un, comprenant *Boletus purpureus*, *Agaricus campestris*, *Cantharellus cibarius*, renferme des espèces dont la membrane ne se colore pas avec les réactifs iodés, mais présente cependant certaines réactions de la cellulose. Elle serait donc formée par une substance voisine de la cellulose pour laquelle MANGIN propose le nom d'*hémicellulose*. Celle-ci s'y trouve associée à des composés pectiques. Ces espèces ne renferment d'ailleurs aucune trace de callose.

Le second groupe, formé par divers Polypores, par le *Dædalea quercina*, possède une membrane où les composés pectiques sont associés à la callose, quand les matières incrustantes ont été enlevées.

On sait que si certains tissus gardent la constitution décrite au commencement de ce chapitre et sont, pendant toute leur durée, formés de cellulose unie aux composés pectiques ou quelquefois à la callose, il en est d'autres qui, après avoir présenté cette constitution, s'incrustent de lignine, se transforment en subérine ou en cutine, de telle façon que les réactions des premiers composants se trouvent complètement modifiées. Enfin, d'autres substances additionnelles viennent souvent compléter ces modifications. La membrane peut se revêtir de cire, peut être le siège d'un dépôt de calcaire ou de matières colorantes, tout autant de variations dans sa structure qu'il importera d'étudier.

Nous résumerons ce qui précède relativement à la constitution chimique générale de la paroi cellulaire, en disant que la membrane des tissus végétaux est formée de substances très variées que l'on peut toujours ramener à deux groupes : les « substances fondamentales », comprenant la cellulose, les composés pectiques et la callose, et les « substances incrustantes ». Nous comprendrons sous cette dernière dénomination la lignine, la subérine ou cutine, la cire et matières calcaires et colorantes, quitte à mieux

préciser, dans la suite, l'origine et la véritable nature de chacune d'elles.

Ajoutons que la membrane renferme de l'eau d'imbibition, en proportion variable, et différentes matières minérales parmi lesquelles des *sulfates*, *phosphates*, *silicates*, et parfois des *chlorures* de *potassium*, de *calcium*, de *magnesium* et quelquefois aussi de *sodium*.

CHAPITRE II

SUBSTANCES FONDAMENTALES DE LA MEMBRANE

§ I. — CELLULOSE ET SES HOMOLOGUES

L'idée qu'on s'est faite pendant longtemps de l'unité de constitution de la membrane, a fait confondre sous le nom de cellulose les produits les plus divers. On a, tour à tour, rangé sous cette dénomination, des corps chimiquement différents ou des substances qui, apparemment, n'avaient que des propriétés physiques distinctes, et l'on admettait ainsi l'existence de plusieurs variétés de cellulose. Je ne rappellerai pas, à ce sujet, les idées en cours il y a une quinzaine d'années, idées que M. VAN TIEGHEM avait si clairement exposées dans son *Traité de Botanique*.

Depuis cette époque, le terrain s'est déblayé, grâce aux travaux de MANGIN, des composés pectiques et de la callose, qui ont été définitivement séparés de la cellulose. Mais cette cellulose, qui reste dans la membrane quand on en a séparé ces deux produits, comment faut-il l'envisager ? Est-ce un composé simple, un individu chimique, ou bien une réunion de divers composés ? Les chimistes se sont efforcés de répondre à cette question, dans ces dernières années.

Tout d'abord on considère la cellulose comme un hydrate de carbone, dans le genre de l'amidon et caractérisé par les propriétés suivantes : la cellulose résiste aux *alcalis étendus* et aux *acides étendus, même à l'ébullition*, ainsi qu'au mélange de *chlorate de potassium* et d'*acide azotique* (mélange de F. SCHULZE) et, après désagrégation par l'*acide sulfurique assez concentré*, si on la fait bouillir

avec de l'acide sulfurique étendu, elle fournit du *dextrose* (*d. glucose*). Les agents oxydants la transforment d'abord en oxycellulose soluble dans les alcalis, puis en acide oxalique. Elle est, en outre, caractérisée par sa façon de se comporter vis-à-vis de divers réactifs, particulièrement par sa *coloration bleue* avec l'iode et l'*acide sulfurique concentré*, ainsi qu'avec l'iode et le *chlorure de zinc*, et par sa *solubilité* dans l'*oxyde cuivrique ammoniacal* (*réactif de SCHWEIZER*), ainsi que dans le *chlorure de zinc* et l'*acide chlorhydrique*.

La cellulose est, d'après cela, un anhydride polymérisé du *d. glucose*, qui se fait remarquer par sa difficile solubilité.

Mais, au fur et à mesure qu'on étudie la constitution de la membrane, on y trouve des hydrates de carbone dont les caractéristiques diffèrent de celles-ci, à plus d'un titre. Ces corps subissent alors le sort de la callose et des composés pectiques et sont séparés de la cellulose.

Sous le nom d'*hémicelluloses*, SCHULZE (14, 15) distingue des substances plus solubles, dans les acides dilués à l'ébullition, que la cellulose et qui s'hydrolysent plus facilement, en donnant divers glucoses.

Ce sont des composés de même nature que REISS (26) trouve dans la membrane de certains albumens cornés (*Phœnix, Strychnos*) et qu'il appelle « cellulose de réserve », parce qu'ils deviennent solubles, pendant la germination, et servent à nourrir la jeune plantule.

Dernièrement, BOURQUELOT et HÉRISSEY (27) isolaient de l'albumen de certaines Légumineuses, des hydrates de carbone bien plus éloignés encore de la cellulose que ceux-ci, puisque non seulement ils ne donnent à l'hydrolyse que du mannose et du glucose, sans dextrose, mais encore sont solubles dans l'eau.

De tels résultats nous amènent bien loin de l'époque où l'on considérait la membrane comme formée par ce qu'on appelait la « cellulose pure » et rendent bien difficiles à tracer les limites jusqu'auxquelles on doit étendre cette dénomination.

Pour GILSON (17), il n'y a, dans la paroi cellulaire, qu'un seul hydrate de carbone, parmi tant d'autres, qui donne du dextrose et bleuisse par le chlorure de zinc iodé. Il a pu l'obtenir cristallisé, et c'est à celui-là seul qu'il accorde le nom de cellulose.

Mais il est des hydrates de carbone possédant bien tous les caractères conventionnels de la cellulose, y compris la réaction du

chloriodure de zinc, et qui, par hydrolyse avec l'acide sulfurique concentré, fournissent non seulement du dextrose, mais encore du mannose et d'autres glucoses. Il en résulte qu'on doit considérer les tissus végétaux comme renfermant non pas une cellulose, mais *des celluloses* très différentes, formées par la réunion d'anhydrides de divers sucres, ou même, parfois, par des anhydrides plus ou moins condensés d'un seul et même sucre.

Dès lors, la constitution de la membrane végétale apparaît comme l'un des problèmes les plus complexes de la chimie biologique, surtout lorsqu'on considère que cette constitution varie encore avec les groupes de végétaux, ainsi que cela ressort des travaux de G. BERTRAND (16).

Il devient surtout difficile de distinguer entre elles les diverses celluloses et de les définir; aussi, dans ce qui va suivre comprendrons nous, sous la désignation de *cellulose proprement dite*, les substances répondant aux caractères conventionnels énoncés plus haut. Nous en séparerons tous les autres *hydrates de carbone* qui, bien que pouvant être rangés autour de la cellulose, ne présentent pas l'ensemble de ces caractères.

CELLULOSE PROPREMENT DITE

Dans la membrane végétale où sa structure est organisée, la cellulose se montre biréfringente et fournit des couleurs d'interférence. Elle ne présente pas ces caractères lorsqu'elle a été extraite de la membrane par l'action des dissolvants, et en particulier par le réactif de SCHWEIZER.

Nous ne reviendrons sur ses caractères chimiques que pour indiquer sa composition, qui correspond à la formule $C^6H^{10}O^5$. On admet toutefois que sa molécule est plus grande que celle de l'amidon. Comme on a proposé pour celle-ci la formule $(C^6H^{10}O^5)^{20}$, celle de la cellulose serait au moins $(C^6H^{10}O^5)^{30}$ TOLLENS (1).

(1) Pour les autres caractères chimiques de la cellulose, voir encore CROSS et BEVAN: *Cellulose an outline of the chemistry of the structural elements of Plants*, 1903.

Cristallisation de la cellulose dans la cellule

GILSON (*l. c.*) a pu obtenir la cellulose à l'état cristallisé en la dissolvant dans le réactif de SCHWEIZER. Pour y arriver, il est bon de choisir des objets ne contenant que peu ou pas d'amidon, substance qui se laisse difficilement extraire des cellules et a l'inconvénient de se colorer par les réactifs de la cellulose. Il faut ensuite vider entièrement les cellules de leur contenu, de façon à ce qu'elles soient réduites à leurs membranes, et le meilleur moyen d'y arriver est encore d'employer l'eau de Javel, en lavant ensuite parfaitement à l'eau distillée. Le protoplasme et le noyau sont ainsi dissous. Si les cellules contenaient des corps gras, il faudrait au préalable traiter les coupes par l'alcool, puis par l'éther. Les coupes doivent être de grosseur moyenne : si elles sont trop fines, elles ne résistent pas à l'action des réactifs et se désagrègent ; si elles sont trop épaisses, l'action des réactifs, pour être complète, doit être prolongée, ce qui nuit à la netteté des préparations.

Après avoir ainsi préparé les coupes, on les introduit dans un godet contenant de la liqueur de SCHWEIZER (1) et que l'on peut fermer hermétiquement. Suivant les objets à examiner, l'action du réactif doit être plus ou moins prolongée. En général, douze heures de contact suffisent.

On décante ensuite lentement la liqueur ; les coupes, qui ont pris une consistance plus ou moins gélatineuse, se maintiennent au fond du godet. On remplit alors celui-ci d'ammoniaque liquide, on ferme et on laisse reposer pendant une demi-heure. On décante une seconde fois, on remplace par de l'ammoniaque fraîche, en

(1) Le meilleur réactif et le plus rapidement préparé est celui qu'on obtient par le procédé de PELIGOT. On place de la tournure de cuivre dans une allonge à robinet dont le goulot est fermé par un bouchon à l'émeri. On verse une dissolution d'ammoniaque concentrée de manière à mouiller la tournure, puis on fait écouler lentement le liquide, pour le reverser de nouveau sur la tournure, en recommençant cette opération à plusieurs reprises, jusqu'au moment où l'on obtient un dissolvant énergique du coton. Le réactif doit être conservé à l'abri de la lumière et, au moment de s'en servir, on le fait passer une ou deux fois dans l'allonge contenant la tournure de cuivre.

laissant reposer une dizaine de minutes seulement, et on renouvelle ce traitement jusqu'à ce que les coupes soient à peu près incolores, puis on les lave plusieurs fois à l'eau distillée.

Après décantation du réactif de SCHWEIZER, la liqueur qui imprègne encore les membranes garde de la cellulose dissoute. On pourrait précipiter cette cellulose par de l'eau distillée, et on obtiendrait alors dans l'intérieur des cellules une masse amorphe et plus ou moins verdâtre à cause des composés cuivriques insolubles qui la souillent. En lavant, au contraire, à l'ammoniaque, avec précaution, mais d'une façon aussi parfaite que possible, on dissout les composés cuivriques et la cellulose précipite lentement.

Il est bon de la colorer pour observer plus aisément les cristaux qui se forment, et cette coloration peut se faire soit par le chlorure de zinc iodé, soit par le rouge congo. Avec le premier réactif, il n'est pas inutile d'éclaircir, au préalable, les préparations en les lavant à l'acide acétique ou à l'acide chlorhydrique dilué. On ne devra pas leur faire subir ce dernier traitement si on colore par le rouge congo.

Dans ces conditions on obtient de belles arborescences ou des sphéro-cristaux bleus ou rouges de cellulose (fig. 43). La cristallisation de la cellulose peut être obtenue avec tous les tissus parenchymateux, surtout avec les parenchymes à grandes cellules, à la condition qu'ils soient privés d'amidon, comme c'est le cas par exemple pour la racine de betterave.

Suivant la concentration de la liqueur ammoniacale employée, les cristaux obtenus seront groupés d'une façon un peu différente. Avec l'ammoniaque à 5 %, on obtient de petits sphéro-cristaux, tandis qu'avec une solution à 10 %, on obtient des sphéro-cristaux plus volumineux mêlés à des arborescences cristallines.

On constatera toujours que la cellulose cristallise dans l'intérieur

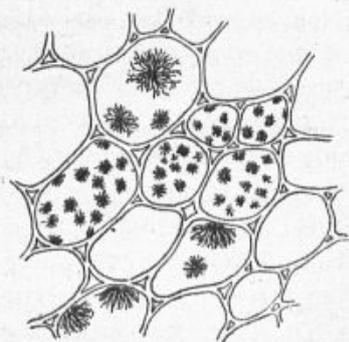


Fig. 43. — *Astrapea Wallichii*. Cellules parenchymateuses avec sphéro-cristaux de cellulose (GILSON).

des cellules, très rarement dans les méats, ce qui montre bien, comme nous avons déjà eu occasion de le dire, qu'elle est localisée dans l'intérieur des membranes, tandis que la partie externe est formée exclusivement par les composés pectiques.

RÉACTIONS COLORANTES DE LA CELLULOSE

La cellulose soumise à l'action de l'acide sulfurique ou phosphorique concentrés et froids, ou à l'action du chlorure de zinc, donne divers composés parmi lesquels l'*amyloïde* ou *hydrocellulose* (MANGIN) est un des termes les plus importants. Ce corps avait reçu le nom d'amyloïde, à cause de la coloration bleue qu'il prend, comme l'amidon, au contact de l'iode. C'est à lui qu'est due la coloration de la cellulose quand on la traite par l'acide sulfurique et l'iode suivant le procédé de SCHLEIDEN, ou par le chlorure de zinc iodé, préconisé par NÆGELI dès 1858, et dont BARESWILL et RILLET ont indiqué la formule encore usitée aujourd'hui.

Si au lieu d'employer les colorants minéraux, on emploie des matières colorantes organiques, c'est encore à l'état d'hydrocellulose que l'affinité pour ces substances est maxima.

Il importe donc, chaque fois qu'on veut obtenir une de ces réactions, d'amener exactement la cellulose à l'état sous lequel ces réactions s'effectuent le mieux. Mais tous ceux qui ont eu l'occasion de se servir des réactifs précédents, et notamment du chlorure de zinc iodé, savent à quels mécomptes il expose bien souvent, et quelles déceptions il réserve presque toujours aux débutants.

D'ailleurs, quelque frais et quelque bon que soit ce réactif, il est rare qu'il donne des résultats semblables. Il a, de plus, l'inconvénient de ne produire la coloration bleue qu'au bout d'un certain temps, et plusieurs heures sont parfois nécessaires pour qu'elle se manifeste. L'acide sulfurique iodé est d'un emploi très délicat ; il gonfle les membranes et les altère s'il est trop concentré, ou n'a pas d'action s'il est trop dilué. En outre, son mélange avec l'eau d'imbibition des membranes détermine une élévation plus ou moins considérable de température, de sorte que, dans les diverses parties de la coupe il est difficile d'avoir le même degré de concentration et, par conséquent, de coloration.

Au cours de ses longues recherches sur la membrane, MANGIN a pu préciser les conditions dans lesquelles doivent s'effectuer les réactions de la cellulose, et a doté l'histologie végétale de réactifs aussi certains que commodes à employer. Les insuccès proviennent presque toujours de ce qu'avant tout l'hydrocellulose n'est pas obtenue pendant la réaction. Si on emploie les acides pour la produire, ou bien ce but sera dépassé, parce que leur concentration est trop grande ; et alors les membranes se désagrègent et se dissolvent ou bien il ne sera pas atteint, parce que la concentration est trop faible. Si on emploie le chlorure de zinc ou d'autres chlorures métalliques, leur action étant moins énergique, il est rare qu'on dépasse le moment où l'hydrocellulose est formée ; le plus souvent ce degré de décomposition n'est pas atteint.

L'action des alcalis caustiques sur la cellulose est plus nette, tout en déterminant aussi la formation d'un corps facile à colorer. La transformation qu'on obtient, signalée d'abord par SCHLEIDEN (19), paraît être analogue, sinon identique, à celle que donnent les acides. Elle sera toujours certaine et donnera les meilleurs résultats en se servant pour la produire d'une *solution alcoolique* saturée de potasse ou de soude. Il suffira d'ajouter ensuite la liqueur colorante, pour obtenir l'élection caractéristique de la cellulose.

Les réactifs colorants de la cellulose sont très nombreux et peuvent être groupés en deux catégories : les réactifs iodés et les matières colorantes organiques.

Réactifs iodés

Les premiers consistent en un mélange d'iode avec des acides ou des chlorures métalliques. Ils donnent tous une coloration bleue, lorsque la cellulose a été amenée à l'état d'hydrocellulose. Ce sont le mélange d'acide sulfurique et d'iode de SCHLEIDEN, le chloroiodure de zinc de BARESWILL et RILLET, le mélange d'acide phosphorique et d'iode de MULDER et HARTING, le chlorure de calcium iodé, le bichlorure d'étain iodé, l'acide iodhydrique iodé : ces derniers sont dus à MANGIN (9,10).

Matières colorantes organiques

Les matières colorantes artificielles, si nombreuses aujourd'hui et si employées dans la teinture des étoffes, peuvent être distinguées en deux groupes : l'un est formé de combinaisons dans lesquelles le colorant, à fonction *basique*, est uni à divers acides minéraux ou organiques ; l'autre constitue des composés dans lesquels le colorant, à fonction *acide*, est utilisé à l'état de sel alcalin.

Parmi ces derniers se trouvent des substances colorantes se fixant directement sur la cellulose, sans l'intervention d'un mordant.

Elles font partie de la série azoïque et renferment deux fois le groupement $Az = Az$. Leur nature acide et leur affinité pour la cellulose témoigne bien de la basicité de celle-ci (8).

On les distingue en deux séries. L'une, formée de colorants teignant la cellulose dans un *bain acide* ou parfois neutre, et qui n'a pour elle qu'une affinité relativement faible. C'est l'*Orseilline* BB, la *Crocéine brillante*, le *Noir naphтол*, etc.

L'autre série est formée de colorants qui teignent la cellulose en *bain alcalin* et présentent une grande affinité pour elle : ce sont les couleurs de benzidine, de toluidine, de xylidine, etc., comme les rouges congo, l'Héliotrope, les *Benzopurpurines*, les *Azobleus*, les *Azoviolets*, les *Benzoazurines*, etc.

Ces matières colorantes, véritables sels, comme on l'a dit, s'emploient en solution aqueuse et se fixent rapidement sur les membranes à constitution voisine de l'hydrocellulose, comme c'est le cas pour les membranes du liber des Monocotylédons, de certaines fibres péricycliques, des cellules de la coiffe, etc.

Par contre, la cellulose de beaucoup d'autres tissus se colore difficilement ; mais il suffit de les traiter au préalable par les alcalis caustiques, pour que la coloration soit immédiate et se produise avec une grande intensité.

TECHNIQUE

RÉACTIFS IODÉS

Nous ne parlerons pas ici de l'acide sulfurique iodé, ni du chloroiodure de zinc, réactifs d'autant plus surannés qu'on possède à l'heure actuelle des moyens beaucoup plus commodes et beaucoup plus certains de colorer la membrane cellulosique.

Rappelons que, d'une manière générale, pour avoir instantanément et à coup

sur l'élection de la cellulose, il est nécessaire de laisser au préalable macérer les coupes, pendant quelque temps, dans une solution alcoolique saturée de potasse ou de soude, quel que soit d'ailleurs le procédé de coloration employé.

Chlorure de calcium iodé (MANGIN. Form. de ZIMMERMANN (21, 138)

On le prépare en ajoutant à 10 cc. d'une solution concentrée de chlorure de calcium, 0 gr. 50 d'iodure de potassium et 0 gr. 10 d'iode. Après avoir chauffé légèrement, on filtre sur amiante pour séparer l'excès d'iode. Le réactif ainsi obtenu doit être conservé à l'abri de la lumière. Il a l'avantage de ne pas gonfler les membranes et il communique à la cellulose une coloration rose qui vire au violet au bout de quelques heures.

La quantité d'iode que peut dissoudre ce réactif étant toujours très faible, il faut le renouveler à plusieurs reprises jusqu'au moment où la teinte jaunâtre du liquide demeure persistante. Les préparations se conservent pendant plusieurs jours et même pendant plusieurs semaines, suivant l'agrégation de la cellulose.

Acide iodhydrique iodé fumant de MANGIN. Procédé de choix.

Ce réactif donne instantanément une coloration violette ou bleue aux régions celluloses des membranes, sans présenter le gonflement et parfois même la dissolution que produit l'acide sulfurique.

Pour le préparer, on prend de l'acide iodhydrique fumant pur, qui est incolore quand il est récemment préparé, et on y dissout 0 gr. 50 d'iode pour 25 grammes d'acide fumant.

Pour l'employer, on dépose sur une lame porte-objet la coupe qu'on veut examiner, après l'avoir déshydratée par l'alcool; l'excès de ce liquide étant enlevé avec du papier buvard, on dépose sur le fragment 2 à 3 gouttes d'acide iodhydrique iodé fumant, on laisse agir ce réactif pendant une demi-minute, on enlève l'excès de réactif avec du papier buvard, et on mouille la préparation avec de la glycérine aqueuse saturée de chloral, ou avec de l'acide lactique, et on recouvre d'une lamelle. Les membranes celluloses sont immédiatement colorées et d'une manière très intense en bleu ou en violet plus ou moins mêlé de brun suivant la proportion d'iode restée en solution.

MATIÈRES COLORANTES ARTIFICIELLES (MANGIN).

Couleurs tétrazoïques en bain alcalin.

On peut se servir, comme on l'a vu, du rouge Congo, de la Benzoazurine, etc. (1).

Ces réactifs s'emploient en solution aqueuse. Ils se fixent directement sur

(1) Ces matières colorantes sont fabriquées par la maison Bayer et Cie, à Elberfeld, dont le représentant est M. J. Kahrès, 23, rue d'Enghien, Paris.

la cellulose de certains tissus, et notamment du liber ; mais pour avoir une coloration instantanée et bien franche, il est bon, dans tous les cas, de faire subir au préalable, aux membranes, l'action des alcalis.

L'objet à examiner, préalablement déshydraté par l'alcool, est additionné de quelques gouttes d'une solution alcoolique saturée de potasse ou de soude ; après cinq à dix minutes d'action, on enlève l'excès d'alcali et on ajoute quelques gouttes du colorant, en solution aqueuse.

Laver ensuite à l'eau. Il sera bon, après lavage, de fixer la matière colorante au moyen d'une solution de sulfate de cuivre à 1 %. On conservera les préparations dans la glycérine.

On verra plus loin que la callose est aussi colorée par ces réactifs.

Certains d'entre eux, cependant, ne donnent pas à la callose la même teinte qu'à la cellulose ; ainsi l'azoblu, l'azoviolet, la benzoazurine colorent la cellulose en bleu parfois un peu violacé et la callose en lie de vin.

Il y a très peu de différence, comme on voit ; aussi préfère-t-on, quand il s'agit de distinguer l'une de l'autre, se servir des méthodes de double coloration que nous indiquerons plus loin, à propos de la callose.

TUNICINE OU CELLULOSE ANIMALE

La *tunicine* est la cellulose que l'on rencontre chez les Tuniciers. On la supposait voisine de la cellulose végétale. WINTERSTEIN (22) et GILSON (17, 420) la considèrent comme identique ; l'un a montré, en effet, qu'elle donne du dextrose par hydrolyse, et l'autre l'a obtenue cristallisée de la même façon et dans les mêmes conditions que la cellulose des végétaux.

HYDRATES DE CARBONE DE RÉSERVE

Les membranes épaissies et très dures de certains albumens comme celui de *Coffea arabica*, de *Phœnix dactylifera*, de *Phytolophas macrocarpa* (Ivoire végétal ou noix de Corrozo du commerce), de *Strychnos Nux vomica* et de beaucoup de Légumineuses, présentent des caractères si spéciaux qu'elles ont, depuis longtemps, attiré l'attention des biologistes. On sait que, lors de la germination, elles sont digérées par la jeune plantule, d'où le nom de *cellulose de réserve* donné par REISS (26) à la substance qui les forme.

Les parois de ces *albumens cornés* sont si épaissies qu'elles occu-

pent presque tout le volume de l'albumen. Mais tandis qu'elles demeurent dures chez le *Phytelephas macrocarpa* par exemple, chez le Caroubier et la plupart des Légumineuses, elles se gonflent dans l'eau et forment un mucilage, en se dissolvant, en partie, à la manière des gommés.

E. SCHULZE, E. STEIGER et W. MAXWELL (13,231) ont extrait des graines de *Lupinus luteus* un hydrate de carbone qu'ils ont nommé *paragalactane*. Cet hydrate de carbone est insoluble dans l'eau, soluble dans les acides dilués à l'ébullition, en fournissant du galactose. Il est insoluble dans l'oxyde de cuivre ammoniacal, et ne se colore pas en bleu par le chlorure de zinc iodé. GILSON (17,414) qui a fait l'analyse micrographique de cette graine, a constaté qu'après avoir débarrassé les coupes de leur paragalactane par l'ébullition dans l'acide sulfurique à 2 1/2 %, elles ne paraissent pas avoir diminué d'épaisseur et se colorent fortement par le chlorure de zinc iodé. Comme, d'autre part, on peut facilement en extraire de la cellulose cristallisée, celle-ci se trouve donc, dans la membrane, mêlée au paragalactane.

SCHULZE (14), de son côté, en étudiant l'albumen du café, y trouve une substance qui fournit par hydrolyse du dextrose et du mannose, et lui donne le nom de *mannoso-cellulose*. GILSON (17,410) reprend cette étude et fait l'analyse microchimique des graines de caféier, en débarrassant d'abord les cellules de leurs corps gras, par l'alcool et l'éther, des matières albuminoïdes par l'eau de Javel, et lavant ensuite à l'eau distillée. Après ce premier traitement, les cellules sont entièrement vides et les membranes apparaissent distinctement formées de trois parties : lamelle moyenne, couche secondaire et couche tertiaire.

Par le chlorure de zinc iodé, seule la couche tertiaire se colore en bleu pâle (elle est donc cellulosique); le restant de la membrane ne se colore pas.

Les membranes résistent énergiquement aux acides (sauf à l'acide sulfurique concentré qui les dissout) et aux alcalis, potasse ou soude, en solution concentrée.

On obtient des réactions fort instructives, en soumettant les coupes aux opérations suivantes : en les traitant à l'ébullition pendant six heures, avec une solution d'acide sulfurique à 12 %, leur aspect général ne change pas, bien qu'une partie de la substance

de la membrane se soit dissoute. Après lavage, toute la membrane, sauf la lamelle moyenne, prend une teinte bleu-foncé, avec le chlorure de zinc iodé.

Ces premiers résultats montrent : 1° que la couche secondaire contient, comme la couche tertiaire, de la cellulose colorée par le chlorure de zinc ; 2° qu'elle renferme en outre une substance ne se colorant pas en bleu par ce réactif, mais se dissolvant par une ébullition prolongée, dans une solution d'acide sulfurique à 12 %.

Cette substance isolée par GILSON, non seulement du *Coffea arabica*, mais encore du *Phytelephas macrocarpa* (18), où on la retrouve avec les mêmes caractères, a reçu le nom de *paramannane*. Le paramannane cristallise, comme la cellulose, en petits sphéro-cristaux, mais ne se colore pas par le chlorure de zinc iodé. Il est insoluble dans l'eau et dans les alcalis, facilement soluble dans la liqueur de SCHWEIZER et l'acide sulfurique concentré à froid. Il se dissout aussi dans l'acide dilué, mais seulement par une ébullition prolongée, en se transformant en *mannose*. Sa formule serait $C^{12}H^{22}O^{11}$ ou un multiple de celle-ci.

La mannosocellulose de SCHULZE n'est donc qu'un mélange de cellulose et de *paramannane*.

Les recherches plus récentes de BOURQUELOT et HÉRISSEY, de LAURENT, de GORET, de CHAMPENOIS, faites sur des graines appartenant aux plantes les plus diverses (Légumineuses, Ombellifères, fève de Saint-Ignace, Noix vomique, etc.), ont montré que, d'une manière générale, les hydrates de carbone de réserve contenus dans les albumens cornés de ces graines sont des mannanes et des galactanes ou manno-galactanes qui sont hydrolysés en mannose et galactose, par les acides étendus. L'hydrolyse peut être obtenue de la même façon, à l'aide d'un ferment soluble ou d'un ensemble de ferments solubles spéciaux rencontrés par BOURQUELOT et HÉRISSEY dans les graines des Légumineuses et nommé par eux *séminase* (27).

Tout dernièrement, HÉRISSEY (28) est arrivé aux mêmes résultats à l'aide de ferments solubles, sans doute analogues à la séminase, et provenant de végétaux très différents tels que Champignons, Orchidées, etc.

AMYLOÏDE

SCHLEIDEN (20) désigne sous ce nom un produit qui se colore directement en bleu par l'iode, tout comme l'amidon, mais s'en distingue cependant par certaines propriétés. On entend actuellement par amyloïdes, des hydrates de carbone sans doute voisins de l'*hydrocellulose* de MANGIN et comprenant deux variétés de corps : la première existe en dissolution dans le suc cellulaire de certaines plantes, la seconde se rencontre dans la membrane de quelques graines, notamment dans les cotylédons de Légumineuses (*Hymenæa Courbaril*, *Schotia latifolia*, *Muenna urens*, *Tamarindus indica*, quelques Lupins) dans les albumens des *Pæonia*, dans les cotylédons de *Tropeolum majus*, de quelques Primulacées, etc. On la rencontre dans les membranes du cambium de nombreux arbres, ainsi que dans la couche tertiaire des cellules libériennes du pédoncule des fruits de petit-pois. L'amyloïde existe aussi dans la Lichénine. Il est considéré comme une réserve dissoute ultérieurement, pendant la germination. Aussi sa présence exclue-t-elle presque toujours celle de l'amidon.

L'amyloïde des graines de *Tropeolum majus* a été bien étudié au point de vue chimique par WINTERSTEIN (22) et au point de vue micrographique par GILSON (17, 416). Ces auteurs ont montré que si, comme l'amidon, il se colore en bleu par l'iode, il n'est du moins pas attaqué par la diastase. Il est insoluble dans l'oxyde de cuivre ammoniacal et s'éloigne donc à cet autre point de vue de la cellulose.

L'ébullition avec les acides étendus le transforme en galactose, en même temps qu'il se forme probablement un peu de xylose et de dextrose. Il diffère donc à ce point de vue, non seulement de l'amidon, mais encore de la cellulose, qui tous les deux, dans les mêmes conditions, donnent, comme on sait, du dextrose.

La localisation de l'amyloïde est intéressante à étudier, dans les cellules des cotylédons de la graine de *Tropeolum majus*. Ces cellules possèdent des membranes fortement épaissies et perforées de nombreuses, ponctuations (fig. 44). Elles sont remplies par une substance jaunâtre dont on peut les débarrasser par traitement à

l'alcool, à l'éther et à l'eau de Javel. Toutefois, il faut éviter de prolonger l'action de l'hypochlorite, pendant plus d'une à deux minutes.

Lorsqu'on traite les coupes par une solution aqueuse d'iode, la lamelle moyenne se colore en jaune, tandis que la couche secondaire prend une teinte bleue.

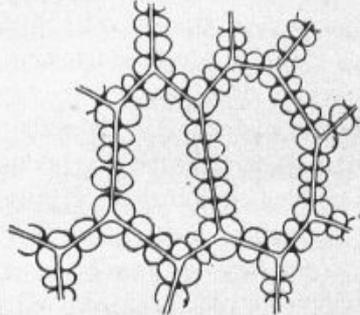


Fig. 44. — *Tropeolum majus*. Cellules des cotylédons. Le liseré noir qui borde la membrane à l'intérieur de la cellule et en suit les sinuosités correspond à la seule partie cellulosique (couche tertiaire) de la paroi. Les épaissements sont constitués par de l'amyloïde (GILSON).

Il est nécessaire que la solution d'iode soit assez concentrée, car les liqueurs diluées, qui colorent toujours l'amidon, ne colorent souvent pas l'amyloïde. En certains points, on peut distinguer la couche tertiaire, très mince, formant à l'intérieur de la précédente un liseré incolore.

Si, après avoir coloré les membranes en bleu par l'iode, on ajoute une à deux gouttes de chlorure de zinc iodé, on peut constater que la couche secondaire vire au rouge

brun, puis se décolore complètement. Pendant ce temps, la couche tertiaire ou interne, incolore tout à l'heure et à peine visible, prend une teinte bleue et se laisse très distinctement apercevoir.

L'emploi du rouge Congo montre la couche tertiaire colorée en rouge, tandis que le restant de la membrane est rose pâle.

Ces réactions prouvent très nettement que si la couche secondaire contient de l'amyloïde, la couche tertiaire est formée de cellulose. Celle-ci s'aperçoit mieux encore quand on débarrasse les membranes de l'amyloïde qu'elles renferment, au moyen de l'acide sulfurique dilué. Elle apparaît alors, comme une bordure bleue, tranchant sur les autres parties incolores de la paroi cellulaire.

L'étude de la membrane des cotylédons de *Tropeolum majus* est donc surtout instructive parce qu'elle montre trois parties ayant chacune une constitution différente : la lamelle moyenne formée, comme toujours, de composés pectiques, la couche secondaire formée d'amyloïde, et la couche tertiaire qui, seule, est cellulosique.

LICHENINE

La lichenine, nommée encore *amidon de Lichen*, est voisine de l'amidon et de la cellulose et renferme une certaine proportion d'amyloïde.

On la trouve dans quelques Lichens (*Cetraria*, *Parmelia*, *Ramalina*, etc.) ainsi que dans quelques Algues (*Delesseria*, *Alsidium*, *Ceramium*).

Elle est très abondante dans le Lichen d'Islande et surtout dans la zone moyenne. La partie médullaire en renferme aussi, mais beaucoup moins, suivant TSCHIRCH (24, 174). Dans ces régions, toutes les membranes contiennent de la lichenine. C'est d'ailleurs exclusivement dans la membrane qu'elle est localisée et, contrairement à l'opinion de KNOP et SCHNEDERMANN (25), on n'en rencontre, ni à l'intérieur des filaments mycéliens, ni dans les espaces qui les séparent.

La lichenine se colore en bleu par l'iode et on attribue cette propriété à l'amyloïde qu'elle renferme. Elle est soluble dans l'eau chaude, ce qui la fait ressembler à l'amidon soluble (granulose).

BIBLIOGRAPHIE

1. DIPPPEL. — *Die neuere Theorie über die feinere Structur der Zellhülle, betrachtet an der Hand der Thatsachen.*
2. L. MANGIN. — *Recherches anatomiques sur la distribution des composés pectiques chez les végétaux.* Extr. du J. de Bot., 1893.
3. — *Observations sur le développement du pollen.* Bull. Soc. bot. de France, t. XXXVI, juillet 1889.
4. — *Observations sur la membrane du grain de pollen mûr.* Bull. Soc. Bot. de France, t. XXXVI, mai 1889.

5. MANGIN. — *Observations sur la membrane des Mucorinées*. J. de Bot., t. XIII, 1899.
Observations sur la constitution de la membrane chez les Champignons. C. R., décembre 1893.
6. — *Recherches anatomiques sur les Péronosporées*. Bull. Soc. Hist. Nat. d'Autun, 1895, t. VII.
7. — *Nouvelles observations sur la membrane*. Bull. Soc. Bot. de France, t. XL, 1893.
8. — *Observations sur la membrane cellulosique*. C. R., décembre 1891.
Sur les réactifs colorants des substances fondamentales de la membrane. C. R., juillet 1890.
9. — *Sur les réactifs iodés de la cellulose*. Bull. Soc. Bot. de France, t. XXXV, 1888.
10. — *Sur un nouveau réactif de la cellulose*. Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 10^e série, 1897, t. IV, p. 419.
11. C. SAUVAGEAU. — *Note sur l'Ectocarpus (Pilayella) fulvescens* THURET. Extrait du J. de Bot., t. X, 1896.
12. DE BARY. — *Morphologie und Biologie der Pilze*. Leipzig, 1884.
13. E. SCHULZE, E. STEIGER, W. MAXWEL. — *Zur Chemie der Pflanzenzellmembranen*. Zeitschrift. f. physiologische Chemie, Bd. XIX, 1890, p. 226.
14. E. SCHULZE. — *Zur Chemie der pflanzlichen Zellmembranen*. Zeitschrift. f. physiologische Chemie, Bd. XVI, 1892, p. 386.
15. — Zeitschrift phys. Chem., t. XIX, 64.
16. G. BERTRAND. — C. R., t. CXIX, pp. 1492-1892 et Bull. Soc. Chim., t. XXIII-XXIV, p. 87, 1900.
17. E. GILSON. — *La cristallisation de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale*. « La Cellule », t. IX, 2^e fascicule, 1893.
18. — *La composition chimique de la membrane cellulaire*. *Quelques mots de réponse à M. E. Schulze*. Extrait de la revue « La Cellule », t. XI, 1^{er} fascicule.
19. SCHLEIDEN. — *Wiegmann's Archiv.*, 1838.
20. — *Ueber das Amyloïde, eine neue Pflanzensubstanz*. Beiträge zur Botanik, 1844.

21. ZIMMERMANN. — *Die botanische Mikrotechnik*, 1892.
22. WINTERSTEIN. — *Chemisches Centralblatt*. Bd. I, p. 602, 1893.
23. WINTERSTEIN in HOPPE-SEYLER. — *Berichte d. deutsch chem. Ges.*, t. IV, p. 16.
24. TSCHIRCH. — *Angewändte Pflanzenanatomie*, 1889.
25. KNOP et SCHNEIDERMAN. — *Journ. prakt. Chem.*, 40.
26. REISS. — *Ueber die Natur der Reservecellulose und über ihre Auflösungsweise bei der Keimung der Samen*. *Landwirthschaftliche Jahrbücher*, 1889, p. 478.
27. EM. BOURQUELOT et HÉRISSEY. — *J. de Ph. et Chim.*, décembre 1899, février et avril 1900, et *C. R.*, t. CXXX, 1900.
28. HÉRISSEY. — *Recherches chimiques et physiologiques sur la digestion des Mannanes et des Galactanes par la séminase chez les végétaux*. *Rev. Gén. de Bot.*, 1903, p. 345.

§ II. — COMPOSÉS PECTIQUES

On sait, depuis les travaux de MANGIN, que la membrane cellulaire, dans les tissus jeunes et dans les tissus que l'incrustation n'a pas modifiés, n'est pas, comme on l'a cru pendant longtemps, formée de cellulose pure. La cellulose y est associée à un groupe de composés encore mal définis chimiquement, les composés pectiques.

L'idée que des substances de cette nature prennent part à la constitution des tissus végétaux n'est cependant pas nouvelle, puisqu'en 1825 BRACONNOT (1) découvrait et isolait l'acide pectique, qu'il avait rencontré dans un grand nombre de plantes. Depuis cette époque jusqu'en 1865, l'importance des composés pectiques, dans la charpente végétale, fut mise en évidence par les nombreux travaux de MULDER et HARTING, de FRÉMY, de KABSCH, de VOGL et de WIESNER. Mais les faits acquis à la science, par ces savants, ne tardent pas à tomber dans le domaine de l'oubli, en même temps que disparaît la notion importante qu'ils entraînent.

C'est à MANGIN qu'il appartenait de les exhumer en 1890, et de les étendre dans les belles recherches qu'il n'a cessé de poursuivre depuis ce moment (1).

LES DIVERS COMPOSÉS PECTIQUES. — LEURS CARACTÈRES CHIMIQUES.

La constitution de ces substances est sensiblement identique à celle des hydrates de carbone, sans qu'on puisse encore décider si cette identité est toujours parfaite ou non (TOLLENS, 2, 558) Elles s'en éloignent, dans tous les cas, par les produits qu'elles fournissent lorsqu'on les traite par l'acide azotique. Il se forme, en effet, de l'acide mucique reconnaissable à ses cristaux, tandis que les hydrates de carbone, dans les mêmes conditions, donnent de l'acide oxalique.

En outre, les composés pectiques sont insolubles dans le réactif

(1) Pour la bibliographie de cette question, je renvoie à l'historique très documenté qu'en donne M. MANGIN (5).

de SCHWEIZER et ne se colorent jamais en bleu ou en violet, ni par l'iode, ni sous l'influence simultanée de l'iode et des acides ou des chlorures métalliques, en solution concentrée.

On range ces substances en deux séries de corps : les corps neutres et les corps acides.

Dans chacune de ces séries se trouvent des substances variables, suivant les plantes et de solubilité fort différente, mais dont la plupart se gonflent dans l'eau, en absorbant une certaine quantité du liquide.

Parmi les corps neutres se trouve la *pectose*, tout à fait insoluble et intimement associée à la cellulose dans les membranes qui ne sont ni lignifiées ni subérifiées, et la *pectine*, considérée jusqu'à ces derniers temps comme soluble, et qui ne le serait nullement, suivant DUCLAUX (3, 333). Il est de fait que les liquides dans lesquels elle diffuse demeurent toujours visqueux, état physique correspondant, d'après DUCLAUX, à une émulsion ou suspension de la substance et non à une solution.

La série des corps acides comprend l'*acide pectique*, insoluble, combiné le plus souvent aux bases alcalino-terreuses, dans les tissus végétaux, comme PAYEN l'a constaté le premier.

À côté de ce corps se place l'*acide métapectique*, qui, lui, est réellement soluble dans l'eau, sans gélatinisation.

Ces deux séries se rattachent étroitement l'une à l'autre, puisqu'on peut, par l'action de la chaleur, des alcalis ou des acides, obtenir, en partant de la pectose, tous les corps intermédiaires jusqu'à l'acide métapectique, terme le plus stable de la série.

Pectose

La pectose est l'un des composés pectiques les moins bien connus, parce qu'elle est toujours intimement unie à la cellulose et que, éminemment instable, elle est transformée en pectine ou en acide pectique par les agents chimiques qu'on pourrait faire intervenir pour l'isoler.

Pectine

La pectine se gonfle et entre en suspension dans l'eau, en donnant un liquide visqueux qui filtre très difficilement ou se prend en gelée par le refroidissement. FRÉMY a signalé son existence à l'état normal

dans les fruits mûrs ; MANGIN l'a retrouvée dans un grand nombre de mucilages. Suivant BRACONNOT, elle prend naissance aux dépens de la pectose par action des acides tartrique, malique, citrique, abondants dans les fruits, comme on sait.

Au contact d'un ferment soluble, la *pectase*, découverte aussi dans les fruits par FRÉMY, la pectine se prend en une gelée tellement épaisse qu'on peut retourner le vase qui la contient sans qu'elle s'écoule.

BERTRAND et MALLÈVRE (4) pensent que cette coagulation, car c'est un véritable phénomène de ce genre qui se produit, ne peut se faire sans le concours des sels de calcium, qui rentrent aussi dans la constitution des fruits, et le coagulum serait du pectate de calcium insoluble, comme on le verra plus loin.

DUCLAUX (*l. c.*) est d'un tout autre avis. Les sels de calcium ne sont nullement indispensables selon lui, et n'ont dans le phénomène qu'une action favorisante.

Acide pectique

De tous ces corps, c'est l'acide pectique qui est le mieux connu, car il est plus facile à caractériser. Il est insoluble dans l'eau, dans l'alcool, dans les acides, et forme avec les alcalis des pectates solubles, avec les bases alcalino-terreuses des sels insolubles, parmi lesquels le pectate de calcium est le plus répandu.

L'acide pectique possède une propriété des plus remarquables : *il est soluble dans les sels alcalins*, carbonate de potasse ou de soude, stannates, phosphates alcalins, ainsi que *dans la plupart des sels ammoniacaux à acides organiques* (oxalate, citrate, tartrate, etc.). Il est probable qu'il forme, avec ces composés, des sels doubles, plus ou moins gélatinisables dans l'eau. Dans tous les cas, les solutions d'acide pectique, dans des sels comme l'oxalate d'ammoniaque, sont parfaitement fluides et filtrent avec la plus grande facilité. C'est là une propriété précieuse, souvent utilisée dans l'analyse des tissus.

Acide métapectique ou arabique

C'est le dernier terme et le plus stable de la série. A réaction franchement acide, il est entièrement soluble dans l'eau et forme avec toutes les bases des sels solubles, même avec la chaux et la

baryte qui précipitent, comme on l'a vu, l'acide pectique. Il se rencontre souvent, ainsi que ses combinaisons, dans les tissus vivants, et en particulier dans les mucilages et les gommés, et se forme quand on traite la pectine ou l'acide pectique avec les alcalis en excès.

Par hydrolyse avec l'acide sulfurique, l'acide métapectique se dédouble en un sucre dextrogyre, l'*arabinose*, et en un acide organique mal connu. Cette réaction a permis d'identifier l'acide métapectique avec l'acide arabe de la gomme, qui donne les mêmes produits de dédoublement.

RÉPARTITION DES COMPOSÉS PECTIQUES CHEZ LES VÉGÉTAUX

Les recherches de MANGIN (5) ont montré que la répartition des composés pectiques est très générale, chez les végétaux, et ont mis en évidence leur importance, dans l'architecture de la plante. A part certaines familles de Champignons, on les retrouve dans tous les tissus dont la membrane n'est pas incrustée par la lignine ou la subérine. Ils existent, par conséquent, chez les Phanérogames, les Cryptogames vasculaires, les Muscinées et les Thallophytes ; ce n'est que par exception que certaines membranes en sont dépourvues, celles des poils de certaines plantes, par exemple.

De tous les composés pectiques, la *pectose* et l'*acide pectique* sont les plus répandus.

LEUR LOCALISATION DANS LA PAROI CELLULAIRE

a) *La membrane propre de la cellule*

Dans la membrane formant l'enveloppe de chaque cellule, la *pectose* est intimement unie à la cellulose.

La *pectose* est insoluble dans le réactif de SCHWEIZER. On peut donc, grâce à cette propriété, s'assurer de sa présence dans la membrane. Après qu'on en a complètement éliminé la cellulose par l'oxyde de cuivre ammoniacal, celle-ci conserve encore sa forme et sa structure, grâce à la présence de la *pectose*. Mais ce principe est, on le sait, très altérable ; sous l'action de l'acide chlorhydrique étendu et froid, qu'on doit employer pendant l'opération, il devient rapidement soluble dans le réactif de SCHWEIZER, et sa présence ris-

que ainsi de passer inaperçue, si l'on n'emploie pas certaines précautions indispensables.

On décèle la présence de la pectose en débarrassant d'abord les tissus du pectate de calcium formant, comme on le verra, la lamelle moyenne. Pour cela, des feuilles de Houx, par exemple, sont traitées par l'alcool chlorhydrique pour mettre en liberté l'acide pectique, en même temps que du chlorure de calcium prend naissance. L'acide pectique est ensuite dissous dans un bain d'oxalate d'ammoniaque, où il est très soluble. Les tissus ainsi dissociés, par destruction de leur substance intercellulaire, forment une pulpe qu'on lave avec soin et qu'on laisse séjourner pendant quelque temps dans l'eau de chaux, afin de rendre la pectose, qui a subi l'action de l'acide chlorhydrique moins soluble dans le réactif de SCHWEIZER. On filtre et on place le résidu pendant une ou deux minutes dans l'oxyde de cuivre ammoniacal ; on étend d'eau, on décante à plusieurs reprises, puis on neutralise par l'acide acétique étendu. Les cellules examinées au microscope après traitement par un des réactifs iodés de la cellulose ne manifestent aucune coloration ; c'est à peine si l'on peut distinguer dans l'intérieur des cellules quelques granulations cellulosiques. D'autres préparations, par contre, traitées par les colorants des composés pectiques, manifestent très nettement, dans la membrane dépourvue de cellulose, la présence d'un corps neutre qui se transforme rapidement en composés pectiques solubles dans les alcalis, la pectose elle-même y étant insoluble. C'est ce corps que MANGIN (5, 48) considère comme de la pectose, sans pouvoir, en raison de sa grande instabilité, préciser davantage ses propriétés. La pectose associée à la cellulose est surtout abondante dans les jeunes tissus, dans le méristème primitif ou les méristèmes secondaires ; elle y représente sans doute, dans la toute jeune membrane, le corps déjà entrevu par DIPPEL et considéré par lui comme étant de la nature des gommés.

b) *La lamelle moyenne* (1)

L'acide pectique existe ordinairement dans la plante, à l'état de combinaison avec les bases terreuses, et principalement avec la chaux. C'est exclusivement dans la lamelle moyenne que se ren-

(1) Le terme de lamelle moyenne est pris ici dans son sens le plus large.

contre le *pectate de calcium*, signalé pour la première fois dans les tissus végétaux par PAYEN. C'est là le ciment unissant les cellules les unes aux autres. Il représente bien la substance intercellulaire telle que la concevait MOUL, la gangue dont la dissolution entraîne la mise en liberté des cellules.

Cette substance intercellulaire est très développée et très curieuse chez certaines Algues comme le Caragaheen ou les Laminaires. Elle y atteint une épaisseur considérable, se gonfle et se transforme rapidement en mucilage dans l'eau. Chez les Laminaires, TSCHIRCH (8, 188) y aurait décelé des traces de cellulose colorable par l'acide sulfurique iodé.

C'est elle aussi qui fournit en partie le mucilage, dans les albumens mucilagineux de *Ceratonia siliqua* (Caroubier) et d'autres plantes. Elle se confond alors avec les couches voisines, de sorte qu'il est difficile de l'en distinguer.

Dans tous les cas, toujours très mince dans les parois jeunes, puisqu'il est même difficile de la mettre en évidence, la lamelle moyenne s'épaissit pendant que vieillissent les tissus.

Connaissant, d'une part, la localisation dans la paroi de deux composés pectiques essentiels, la pectose et le pectate de calcium, et d'autre part les liens de parenté chimique qui unissent les deux corps, il est facile d'expliquer la marche de cet épaississement. Il suffit d'admettre avec MANGIN (*l. c.* 77), que sous l'influence du protoplasma, la pectose contenue dans l'enveloppe cellulaire se transforme progressivement en acide pectique et, en pectate de calcium, et on sait avec quelle facilité s'opère cette transformation.

Grâce à la pression osmotique, ces produits sont peu à peu refoulés à travers la membrane et s'accumulent à l'extérieur. Il s'ensuit donc, comme on l'a vu déjà, que la membrane, homogène dans le début, différencie peu à peu ses diverses parties et, tandis que les composés pectiques s'accumulent à l'extérieur, les nouvelles couches formées par apposition demeurent, au contraire, riches en cellulose.

La constitution de la lamelle moyenne, telle qu'on vient de la décrire, est celle qu'on observe dans les parenchymes dont elle forme en quelque sorte la charpente.

On connaît moins bien la nature de la lamelle moyenne des tis-

sus lignifiés ou subérifiés ; les quelques réactions qu'elle manifeste et dont nous allons parler, indiquent pourtant une constitution différente.

Dissolution de la lamelle moyenne. — Dissociation des tissus

On sait depuis très longtemps que la lamelle moyenne de tous les tissus est soluble dans le réactif de SCHULZE [mélange de chlorate de potassium 3 p. et d'acide nitrique faible (D = 1,16) 20 p.] ; elle se dissout dans les liqueurs alcalines caustiques, à chaud, mais moins facilement toutefois, que dans la macération de SCHULZE. Elle peut être parfois soluble dans l'acide sulfurique, jamais cependant dans les tissus lignifiés, comme on peut s'en convaincre en traitant par cet acide des coupes faites à travers le bois. On voit se dissoudre les couches primaires et secondaires, mais la substance intercellulaire persiste, sous forme d'un réseau très délicat.

Parfois même la lamelle moyenne est soluble dans l'eau, comme cela se voit chez les Floridées et les Fucacées.

En ce qui concerne les parenchymes, la connaissance de la constitution de leur lamelle moyenne a permis d'arriver à la dissociation de leurs éléments, sans avoir recours aux anciens procédés. Puisqu'elle est formée de pectate de calcium, il suffit de dissoudre ce sel, soit en transformant le pectate insoluble en pectates doubles solubles, ou de mettre l'acide pectique en liberté. On y arrive :

1° Par l'ébullition prolongée des tissus dans l'eau pure qui gélifie à la longue l'acide pectique ;

2° Par l'ébullition prolongée, dans une solution de soude ou de potasse caustique à 2 ou 5 0/0, qui donne des pectates doubles solubles ;

3° Par l'action successive et à froid d'un acide faible qui doit agir durant un temps assez long, et met alors l'acide pectique en liberté, et par l'action des dissolvants de celui-ci : alcalis, sels alcalins (carbonates, phosphates, silicates, etc.), eau ammoniacale, sels ammoniacaux à acide organique (oxalates, citrates, etc.) [V. Technique] ;

4° Enfin, la dissociation des tissus peut être effectuée par des microorganismes qui se nourrissent des composés pectiques, comme le *Bacillus amylobacter*, ou *Bacillus butyricus*, le *Sphaceloma Ampelinum* (MANGIN, 6), parasite de la vigne dans l'anthracnose macu-

lée, le *Granulobacter pectinovorum* FRIBES. On a cru pendant longtemps à l'existence d'une variété de cellulose attaquable par le *B. amylobacter*. VAN TIEGHEM (9) admettait que, dans certaines membranes, c'est la variété attaquable par lui qui constitue la substance intercellulaire (10, 559), et expliquait, de cette façon, la dissociation des cellules.

En réalité, c'est la substance intercellulaire, formée de composés pectiques, qui est dissoute et met ainsi les cellules en liberté. La cellulose elle-même n'est attaquée que plus tard, et encore l'attaque est-elle différente suivant les celluloses. Il en est que le *B. amylobacter* respecte complètement.

D'une manière générale, le *B. amylobacter*, éminemment anaérobie, se nourrit de matières ternaires : sucre, acide lactique, cellulose, etc., et donne, dans cette fermentation, de l'acide butyrique, de l'hydrogène et de l'anhydride carbonique. Si la matière fermentescible est soluble, comme l'acide lactique, elle est directement transformée par lui. Si elle est insoluble, comme les composés pectiques et la cellulose, il la liquéfie d'abord, grâce sans doute à la sécrétion d'une diastase. Abandonne-t-on dans l'eau des tranches de pomme de terre ou des graines de haricot, on voit les cellules se disjoindre d'abord, par liquéfaction de la lamelle moyenne ; ce n'est qu'ensuite que le microbe, dissolvant à son tour la membrane cellulosique, pénètre dans l'intérieur des cellules, où il n'attaque que très peu l'amidon.

Le *B. amylobacter* n'a aucune action sur les membranes lignifiées ou subérifiées, non plus que sur certaines variétés de cellulose (fibres du Lin ou du Chanvre). C'est sur cette particularité qu'est basée l'opération du rouissage, les fibres textiles, non attaquées elles-mêmes, se trouvant isolées par macération dans l'eau et destruction des parenchymes interposés.

C'est encore le même microbe qui, se nourrissant du parenchyme des feuilles mortes, les réduit à leurs nervures.

Dans le cas du rouissage, la destruction des composés pectiques a lieu par l'intervention d'un microbe spécial, isolé pour la première fois par FRIBES et étudié tout récemment par W. BEYERINCK et A. VAN DELDEN (19), le *Granulobacter pectinovorum*. Il détermine la fermentation des composés pectiques, et notamment de la pectose au moyen d'une enzyme nouvelle, la *pectosinase*.

La vraie nature de la lamelle moyenne

Il ressort des travaux de MANGIN que la lamelle moyenne est constituée par du pectate de calcium servant de ciment aux cellules. Ce qui tend à le prouver, c'est que si des coupes sont mises à macérer dans l'alcool chlorhydrique et traitées ensuite par l'oxalate d'ammoniaque, elles se disloquent complètement, par suite de la dissolution de la substance intercellulaire. L'acide chlorhydrique a mis l'acide pectique en liberté, et celui-ci, qui, insoluble, maintient encore l'adhérence des cellules, ne les laisse se dissocier que lorsqu'il est dissous par l'oxalate d'ammoniaque.

DEVAUX, cependant (16), tout récemment, combat cette manière de voir et entre autres arguments fait remarquer que si l'on avait réellement affaire à du pectate de calcium, il se dissoudrait plus rapidement dans l'acide chlorhydrique; tandis qu'on est obligé, pour obtenir un commencement de dissociation des tissus, de prolonger la macération pendant un certain temps, quelquefois même durant plusieurs heures. Il en conclut que le phénomène est d'une tout autre nature.

Il pense que, contrairement à l'opinion généralement admise depuis Frémy, la pectose est attaquable à froid par les acides et se transforme, par un phénomène probablement hydrolytique, en un corps intermédiaire entre la pectose et la pectine. La transformation se ferait par degrés comme dans tout acte hydrolytique, et le produit final, peu soluble dans l'eau froide, se dissoudrait plus rapidement dans l'eau chaude, dans les alcalis ou les sels alcalins.

Ainsi se trouveraient expliquées et la lenteur avec laquelle agit l'acide chlorhydrique et la dissolution finale de la lamelle moyenne.

Pourtant, en outre que l'opinion avancée par MANGIN paraît appuyée sur une observation rigoureuse des faits et sur une longue expérience de l'histologie de la membrane, des recherches relativement récentes faites, non plus dans le domaine de la Botanique, mais dans celui de la Chimie pure, semblent lui donner une pleine confirmation.

Je veux parler des travaux de BERTRAND et MALLÈVRE (4). On sait que ces chimistes, en étudiant les composés pectiques des fruits, ont montré que la coagulation de la pectine, qui a lieu grâce à

l'intervention d'un ferment soluble, la pectase, ne peut se faire qu'en présence de sels de calcium. Le coagulum est du pectate de calcium.

Si l'on compare ces résultats avec ceux de MANGIN, on y voit une concordance parfaite, et l'on est amené à voir aussi, dans la transformation, à l'intérieur de la lamelle moyenne, des produits pectiques émanés du protoplasma, un véritable phénomène de coagulation s'opérant peut-être aussi par le concours d'une pectase. Au surplus, il ne serait pas impossible que cette pectase fût conduite jusqu'à la lamelle moyenne, c'est-à-dire à l'endroit où elle doit être utilisée, par des filaments protoplasmiques de la même nature que les plasmodesmes, si bien étudiés par GARDINER et STRASBURGER, et qui sont chargés d'apporter aux membranes de certains albumens les diastases servant à les dissoudre.

Il est vrai que DUCLAUX (3, 333) croit que les sels de calcium agissent plutôt en favorisant la coagulation par leur simple présence, qu'en prenant une part directe à la formation du coagulum. Mais il n'en considère pas moins la chaux comme « un agent spécifique particulièrement actif dans les phénomènes de coagulation ». D'ailleurs, en admettant que les conclusions de BERTRAND et MALLÈVRE fussent être modifiées, aucune expérience ne prouve que, dans certaines conditions, la chaux ne puisse s'unir à l'acide pectique pour donner un coagulum encore plus concret que l'acide pectique seul.

En résumé, les travaux de PAYEN et d'autres ont établi la présence de la chaux dans les tissus végétaux. Cette présence se trouve expliquée par les recherches, de BERTRAND et MALLÈVRE et même par les considérations de DUCLAUX. DEVAUX a lui-même insisté ailleurs sur la grande affinité des composés pectiques pour les métaux.

L'idée d'une combinaison pectique de la chaux paraît donc suffisamment fondée, et l'opinion de MANGIN semble conserver toute sa valeur.

Les méats intercellulaires

Le pectate de calcium exsudé, comme on l'a dit, à la surface externe de la membrane, forme le revêtement de celle-ci du côté des méats intercellulaires, où il n'est que le prolongement de la lamelle moyenne. Quant à la formation des méats, elle est expli-

quée par la facilité avec laquelle l'acide pectique se transforme en produits isomères facilement gélifiables.

Tant que les cellules sont en voie de cloisonnement, leur membrane, n'ayant à supporter qu'une pression osmotique relativement faible, s'accroît en conservant sa forme première, et le contour des cellules, intimement appliquées les unes contre les autres, demeure polyédrique. Mais, lorsque le cloisonnement a cessé, le protoplasma qui remplissait la cavité cellulaire gagne peu à peu la périphérie, pendant que l'eau s'accumule dans l'intérieur. La turgescence de la cellule augmente donc, dans une proportion notable, et cette augmentation de pression se fait précisément au moment où l'accroissement en surface se ralentit. Il en résulte un état de tension, dans lequel la limite d'élasticité de la membrane est bientôt atteinte, et celle-ci, tendant à prendre son volume maximum, arrondit ses angles, en même temps que le pectate de calcium se gélifie en ces mêmes points, pour permettre le décollement des membranes. Les méats prennent naissance du même coup, et c'est par un processus tout à fait analogue mais souvent exagéré, par la traction des tissus voisins, que se forment les lacunes.

Pendant la formation des méats se constitue aussi ce que MANGIN (5,65,75) appelle les *cadres d'union des cellules*.

Lorsque deux cellules voisines, tout d'abord polyédriques et intimement unies par une grande surface polygonale, s'arrondissent grâce à leur turgescence et tendent à devenir sphériques, leur surface d'union diminue de plus en plus.

De polygonale qu'elle était, cette surface devient un cercle qui se rétrécit de plus en plus et, à la limite, se réduirait à un point. Cette limite n'est en général pas atteinte et les cellules d'un parenchyme adhèrent les unes aux autres, par une surface de grandeur variable.

Circulaire, si la forme générale des cellules est une sphère, la surface d'adhérence sera plus ou moins allongée, plus ou moins elliptique, si la croissance des cellules s'est faite irrégulièrement. Pendant que ces phénomènes se produisent, les pectates gélatinisés forment à la surface des méats un enduit plus ou moins fluide, qui, par capillarité, s'accumule à leurs angles, de même qu'un liquide pris entre deux lames de verre faisant un certain angle, s'accumule à leur intersection.

Il en résulte, tout autour des surfaces d'adhérence, la formation d'un bourrelet ou cadre d'union des cellules, qu'ont tour à tour décrit RUSSOW et SCHENK, puis SAUVAGEAU et MANGIN.

Il arrive parfois que les deux membranes en contact se décollent et l'on aperçoit alors cette surface mise à nu, munie de ses ponctuations et bordée par le cadre d'union plus ou moins saillant.

Une autre particularité non moins intéressante, présentée par les méats, ce sont les excroissances qui se dressent sur la face externe des cellules, sous forme de *bâtonnets*, ou plus souvent encore sous forme de *boutons*. Elles paraissent produites par l'accumulation, en certains points de la paroi cellulaire, des produits pectiques qui transsudent vers les espaces intercellulaires. Comme la lamelle moyenne et comme le revêtement des méats, les bâtonnets sont formés de pectate de calcium, suivant MANGIN (5,61). Ils ne sont donc sûrement pas de nature protoplasmique comme avaient cru pouvoir l'admettre RUSSOW, TERLETSKY et BERTHOLD.

RÉACTIONS COLORANTES DES COMPOSÉS PECTIQUES

A. — MATIÈRES COLORANTES ARTIFICIELLES

Tandis que la cellulose manifeste, comme on l'a vu, une fonction basique vis-à-vis des colorants, les composés pectiques témoignent, au contraire, d'une acidité évidente, puisqu'ils ne se combinent qu'avec les matières colorantes basiques. Les sulfates, chlorhydrates, iodures, etc., employés en teinture, colorent les composés pectiques en *bain neutre*, et un acide même faible entraîne immédiatement leur décoloration.

Il n'y a guère, dans les tissus végétaux, que la *géllose* des Algues qui se comporte comme les composés pectiques à l'égard des colorants basiques. Cette substance est colorée en jaune par l'iode, elle ne donne pas de coloration bleue, avec les réactifs iodés de la cellulose (acide iodhydrique iodé, etc.) et retient énergiquement les couleurs basiques. Toutefois, sa solubilité complète dans l'acide chlorhydrique étendu de son volume d'eau, son insolubilité dans les alcalis permettent de la distinguer des composés pectiques insolubles, qui présentent un caractère inverse, puisqu'ils ne se dissolvent pas dans les acides et sont solubles dans les alcalis.

Les colorants basiques dont l'emploi en anatomie végétale est dû à MANGIN (*l. c.*) sont très nombreux et appartiennent aux groupes les plus variés; ce sont :

1° Groupe azoïque : brun Bismarck (vésuvine, brun de phénylène, brun d'aniline), chrysoïdine;

2° Groupe du Triphénylméthane : vert malachite (vert Victoria, vert nouveau, vert solide), vert brillant, bleu de nuit, fuchsine, violet de méthylaniline (violet de Paris, violet direct), vert de méthylaniline (vert de Paris, vert lumière), vert d'iode, violet d'Hoffmann (dahlia, violet à l'iode), etc.;

3° Groupe des Oxazines : violet solide, bleu de naphtylène R, en cristaux (bleu de Meldola, nouveau bleu), muscarine, bleu de Nil;

4° Groupe des couleurs de Thionine : bleu de méthylène;

5° Groupe des Eurhodines : violet neutre, rouge neutre;

6° Groupe des Safranines : bleu neutre, safranine T, phénosafranine, rouge de Magdala, mauvéine (rosalane, violet Perkins), etc.

Toutes ces substances sont solubles dans l'eau et doivent être employées en solution aqueuse. La plupart, cependant, présentent l'inconvénient de colorer de la même façon que les composés pectiques, les matières azotées : protoplasme, noyau, et se fixent aussi sur la lignine, la subérine et la cutine. Aussi n'y en a-t-il que quelques unes dont on puisse conseiller l'emploi parce que, si elles se fixent sur toutes ces substances, elles les colorent d'une façon différente que les composés pectiques : telle est la safranine qui, dans la lumière solaire diffuse, colore les matières azotées, la lignine et la subérine ou la cutine en rouge cerise, tandis que les composés pectiques sont colorés en jaune orangé; le bleu de méthylène et le bleu de nuit qui colorent les matières azotées, la lignine en un beau bleu, tandis que les composés pectiques sont colorés en bleu violacé. En outre de ces différences de nuances, l'addition d'un acide sous le couvre-objet (acide acétique, acide lactique) permet de distinguer les composés pectiques des autres substances colorées en même temps, car ils se décolorent dès que la réaction change. On a vu, en effet, que les matières colorantes ne se fixent sur les composés pectiques qu'à la condition d'opérer dans un bain neutre.

Mais il est toutefois préférable, pour avoir des préparations plus lisibles, d'employer des colorations doubles, obtenues par le mélange de deux substances différentes. Un mélange qui donne de

bons résultats est celui du bleu naphthylène R en cristaux et du vert acide JEEE (Poirier), employé suivant la méthode indiquée plus loin.

RÉACTIFS MINÉRAUX

Rouge de ruthénium

C'est surtout avec le rouge de ruthénium ou oxychlorure de ruthénium, découvert par JOLY et appliqué par MANGIN (7) à l'étude de la membrane, qu'on peut caractériser les composés pectiques. De nature basique, il est très apte à se fixer sur ces substances, tandis qu'il est inerte vis-à-vis de la cellulose et de la callose. Les tissus lignifiés ne sont pas colorés par ce corps, ou ne le sont que faiblement, après l'action des alcalis ou de l'eau de Javel ; néanmoins, comme leur affinité pour le rouge de ruthénium est toujours moindre que pour certains colorants basiques (vert Victoria B, bleu de méthylène, etc.), on peut obtenir, en le combinant à ces substances des doubles colorations du plus bel effet.

Enfin, il a l'avantage de donner, même en milieu acide, des préparations inaltérables, de sorte que les coupes peuvent être déshydratées par la glycérine ou l'alcool et montées ensuite dans le baume, ce qu'on ne peut pas faire avec les matières colorantes artificielles.

Combinaisons salines

PETIT (11) a indiqué, il y a quelques années, un procédé de coloration fort ingénieux, qui consiste à déterminer, dans la membrane, la formation d'un précipité coloré par action successive de deux sels. DEVAUX (12) a montré, quelque temps après, que ce sont exclusivement les composés pectiques qui retiennent ces combinaisons salines, en raison de la grande affinité qu'ils ont pour les métaux.

Cette affinité est telle qu'elle permet de déceler, dans une solution des traces excessivement minimales d'un métal comme le cuivre ou le plomb. Ces métaux se fixent surtout sur la membrane, mais aussi sur le protoplasme et le noyau.

La cellule devient donc, à son tour, un réactif extrêmement sen-

sible et précieux des métaux. Des coupes de plantes placées dans une solution de sulfate de cuivre contenant seulement 1 billionième de cuivre métallique, prennent une coloration sensible par le ferrocyanure de potassium (13, 14).

Il y a plus, une fois fixés, les métaux peuvent être déplacés les uns par les autres. Les métaux alcalins peuvent être déplacés par tous les autres et, en particulier, par le calcium, et inversement celui-ci peut être chassé par les métaux alcalins (14).

Les tissus lignifiés présentent aussi une certaine affinité pour les sels métalliques ; quoique beaucoup plus faible que les composés pectiques, cette affinité se manifeste surtout quand on les a traités au préalable par l'eau de Javel ; mais si l'on évite ce traitement, les parois lignifiées restent ordinairement incolores (15).

Les réactions étudiées par PETIT sont les suivantes :

1° Si on plonge une coupe d'organe dans une dissolution de perchlorure de fer, puis, après lavage, dans du ferrocyanure de potassium, le bois reste incolore, la membrane prend une teinte bleue beaucoup plus intense dans le tissu collenchymateux ;

2° Si on remplace le sel de fer par de l'acétate de cuivre, on obtient une coloration rouge ;

3° Si on plonge successivement la coupe dans de l'acétate de plomb, dans de l'eau, dans du bichromate de potassium, les membranes pecto-cellulosiques se colorent en jaune, le bois se colore à peine ;

4° Enfin, réaction extrêmement sensible et qui permet de reconnaître l'existence de membranes en voie de formation, si l'on plonge un tissu végétal dans du perchlorure de fer, puis qu'on le place au-dessus d'un verre de montre contenant du sulfhydrate d'ammoniac, les tissus jeunes se colorent les premiers en noir, le bois ne se colore qu'ensuite.

Des observations dues à GENEAU DE LAMARLIÈRE (17) et de même nature que celles-ci, ont montré aussi avec quelle facilité les membranes absorbent certains composés minéraux, comme le sesquioxyde bleu de molybdène, obtenu en traitant successivement le phosphate tribasique de calcium par le molybdate d'ammonium en solution azotique et le chlorure stanneux. Il se forme d'abord un précipité jaune cristallin de phosphomolybdate qui est réduit par le chlorure d'étain à l'état d'oxyde de molybdène. La liqueur, d'une

belle couleur bleue, se fixe sur toutes les membranes cellulaires. L'action est énergique pour les membranes pecto-cellulosiques qui prennent une teinte bleu foncé ; elle est beaucoup plus faible pour les membranes lignifiées, subérifiées ou cutinisées qui ne se colorent qu'en bleu pâle.

Les phosphates se fixent aussi de la même façon (phosphate de fer, d'ammonium, phosphate bibasique de potassium, phosphate tribasique de calcium). Il est facile de s'en convaincre en effectuant sur des coupes qui sont restées pendant plusieurs jours dans la solution d'un de ces sels, les réactions qu'on vient d'indiquer pour la préparation de l'oxyde de molybdène. Si les tissus traités par le molybdate d'ammonium, puis par le chlorure stanneux prennent une teinte bleue, c'est qu'ils auront absorbé un phosphate. Or, l'expérience montre que les phosphates se fixent indifféremment sur tous les tissus lignifiés ou non. Ces résultats concordent, sinon d'une façon absolue, du moins d'une façon très approchée, avec ceux de DEVAUX et de PETIT.

Bien qu'ils attestent une certaine affinité des membranes incrustées par la lignine ou la subérine pour les composés minéraux, ils n'infirment en rien l'hypothèse de DEVAUX, pour qui la fixation des métaux dans la membrane est due aux composés pectiques. DEVAUX, en effet, reconnaît que les tissus lignifiés fixent, quoique faiblement, les sels métalliques, et GENEAU DE LAMARLIÈRE, de son côté, admet que ces mêmes membranes contiennent des composés pectiques (*l. c.* 195, **18**, 158). Que si enfin, les membranes pecto-cellulosiques manifestent, dans de nombreux cas, une affinité plus grande que les autres, c'est que, vraisemblablement, elles contiennent une plus grande quantité de composés pectiques.

TECHNIQUE

Il est souvent nécessaire, pour s'assurer de la présence et de la localisation des composés pectiques dans une membrane, de les isoler en éliminant la cellulose qui leur est mélangée. On peut, inversement et comme moyen de contrôle, dissoudre les composés pectiques en ne gardant que la cellulose des membranes. En colorant, dans les deux cas, les préparations par les réactifs des composés pectiques, on s'assurera que ceux qui se fixaient dans la première opération ne teignent plus les tissus dans la contre-épreuve. La technique à suivre est celle qu'a indiquée MANGIN (*l. c.*).

Elimination de la cellulose des tissus.

Les coupes minces sont placées dans le réactif de SCHWEIZER récemment préparé (1); on les y laisse séjourner plusieurs jours, en renouvelant le liquide toutes les vingt-quatre heures. Si les coupes sont minces, au bout de trois ou quatre jours, la cellulose renfermée dans les membranes a été entièrement dissoute, au moins dans les tissus mous; celle qui constitue les tissus lignifiés résiste beaucoup plus longtemps à l'action du dissolvant.

Quand on juge que la macération est suffisante, on étend d'eau le réactif cupro-ammoniacal et on lave à plusieurs reprises, d'abord à l'eau pure, puis à l'eau acidulée par l'acide acétique (3 à 5 pour 100), de manière à enlever toute trace de sels de cuivre. Si on examine les coupes avec précaution, car elles sont devenues très fragiles, on reconnaît que la structure a été *entièrement conservée* et que les matières azotées ont disparu en grande partie.

La coupe étant traitée par un des réactifs iodés de la cellulose, on constate que les membranes se teignent en jaune. La coloration bleue n'y apparaît jamais, sauf dans les tissus lignifiés. Mais si d'autres coupes, après avoir été soigneusement lavées de manière à enlever l'excès d'acide, sont colorées par la safranine, le bleu de méthylène et le rouge de ruthénium, les membranes se teignent immédiatement, en montrant tous leurs détails de structure.

Elimination des composés pectiques

Les coupes sont mises à bouillir, pendant une demi-heure, dans l'eau additionnée d'acide chlorhydrique à 2 pour 100, ou encore mises à macérer, pendant 24 heures, dans de l'alcool additionné d'acide chlorhydrique (1/4 d'acide et 3/4 d'alcool).

Si, après lavage à l'eau distillée, pour enlever l'excès d'acide, on essaye, sur les tissus, les colorants des composés pectiques, on constate que l'acide pectique, qui est insoluble et que l'acide chlorhydrique a mis en liberté (il existait, on le sait, à l'état de pectate de calcium dans la lamelle moyenne), se colore plus fortement que les composés pectiques associés à la cellulose, dans l'épaisseur des membranes propres à chaque cellule. C'est ce ciment d'acide pectique qui maintient accolés les uns aux autres les divers éléments du tissu.

Mais, vient-on à ajouter une solution d'oxalate d'ammoniaque, dans lequel l'acide pectique est soluble, le tissu est immédiatement dissocié et les membranes ne manifestent plus aucune coloration caractéristique des composés pectiques.

(1) V. p. 130 la préparation du réactif de SCHWEIZER.

EMPLOI DES RÉACTIFS COLORANTS

a) MATIÈRES COLORANTES ARTIFICIELLES.

Les substances colorantes des composés pectiques teignant en même temps les tissus lignifiés, il est nécessaire d'employer les méthodes de double coloration, de façon à avoir une élection différente des deux sortes d'éléments. On combinera donc les effets du *bleu de Naphtylène R* en cristaux et du *vert acide JEEE* (Poirier).

Le colorant se prépare en dissolvant des poids égaux de ces deux substances dans l'eau pure (1 gramme de chaque dans 100 grammes d'eau). Ce liquide teint en vert les matières azotées, la lignine, la subérine ou la cutine, tandis que les composés pectiques sont colorés en violet. Les colorations de la lignine sont surtout très belles si on a soin de traiter au préalable les tissus par une solution de potasse ou par l'eau de Javel, et de laver ensuite soigneusement à l'eau.

Il ne faut pas oublier, en effet, qu'on ne doit opérer qu'en bain neutre. Si le milieu est alcalin, on risque de précipiter les matières colorantes employées sous forme de sels à base faible (la base étant la matière colorante); si le milieu est acide, comme l'affinité du colorant est faible, pour les composés pectiques, il sera facilement déplacé de sa combinaison et les coupes se décolorent.

On plongera donc les objets à étudier dans un liquide neutre ou très faiblement acidifié par les acides faibles (acide acétique à 1/2 ou au plus 1 0/0); ou bien encore, on lave les coupes dans l'acide acétique à 3 0/0, et on les passe à l'eau, avant d'ajouter la solution aqueuse du colorant.

De même, après coloration, les préparations ne peuvent pas être montées dans les liquides d'inclusion ordinaires, comme le baume, ni traitées par l'alcool ou la glycérine, sous peine d'être décolorées. Seul, l'acide borique ne les altère pas, et employé à 2 0/0 il permettra de conserver les préparations durant des mois entiers.

Les coupes montées dans ce milieu seront alors lutées, pour empêcher l'évaporation, avec un mélange de vaseline et de paraffine, qui s'étend facilement au pinceau.

Le *rouge neutre* de Cassella, préconisé aussi par MANGIN, peut même être préféré au bleu de naphtylène dans cette double coloration. Il a sur lui l'avantage d'être très soluble dans l'eau, et de ne pas précipiter ou cristalliser dans les préparations. Il colore les composés pectiques et les mucilages coagulés en jaune orangé et se mélange sans précipitation avec les verts acides. Il est soluble dans l'alcool, la glycérine, les acides qui décolorent les coupes, et il est précipité par les alcalis.

b) RÉACTIFS MINÉRAUX. — *Rouge de ruthénium* [MANGIN]. (Réactif de choix)

Le rouge de ruthénium a l'avantage de ne pas être soluble dans l'alcool. Il exige donc moins de précaution que l'emploi des couleurs d'aniline et donne des préparations d'une conservation à peu près indéfinie.

On l'emploie en solution aqueuse. Il suffit pour cela d'en placer, dans 10 à 15 cc d'eau, quelques cristaux formant le volume d'un grain de millet. La dissolution est très rapide et le liquide prend une belle teinte rose.

Comme la lumière le réduit à la longue, en précipitant probablement du sesquioxyde de ruthénium brun ou noir, il est nécessaire de le conserver dans un flacon en verre noir. Il est même bon de n'en préparer que de petites quantités et de le renouveler dès qu'on y voit apparaître un précipité noir.

Pour colorer les tissus avec ce réactif, il suffit de les plonger dans une goutte ou deux de la solution : l'absorption de la matière colorante par la membrane est si énergique que le liquide perd une partie de sa coloration.

Les tissus sont lavés à l'eau et les préparations peuvent être conservées dans la glycérine aqueuse ou dans la gélatine glycinée. On peut même, sans inconvénient, les monter dans le baume du Canada, après déshydratation par l'alcool.

Toutefois, comme les acides décolorent très rapidement les préparations, il ne faut jamais employer le chloroforme comme dissolvant du baume.

COLORANTS SALINS (PETIT)

Les coupes à colorer sont d'abord soumises à l'action de l'eau de Javel. On peut cependant se dispenser de ce premier traitement pour éviter de colorer les tissus lignifiés (DEVAUX). Après lavage à l'eau distillée, elles sont laissées pendant un certain temps dans une solution de chlorure ferrique. On les lave encore avec soin à l'eau distillée, et ensuite avec de l'eau additionnée d'acide acétique à 2 pour 100. Si on les trempe alors dans une solution de ferrocyanure de potassium, les membranes prennent une belle coloration bleue beaucoup plus intense dans le tissu collenchymateux.

On obtiendra une coloration rouge si on remplace le sel de fer par l'acétate de cuivre.

La coloration est accentuée en ajoutant une goutte d'acide chlorhydrique ou d'acide azotique. On lave ensuite et on peut monter soit dans la gélatine glycinée, soit dans le baume. La coloration obtenue est absolument indélébile (DEVAUX).

DOUBLE COLORATION DE LA CELLULOSE ET DES COMPOSÉS PECTIQUES (MANGIN)

La coloration double de la cellulose et des composés pectiques donne des préparations aussi élégantes qu'instructives.

Pour l'obtenir, on traite d'abord les objets par une solution alcoolique

saturée de potasse, puis on les plonge dans une solution aqueuse de benzoazurine ou d'azurine brillante. Quand la coloration est suffisamment intense, on lave rapidement à l'eau et on fixe le colorant benzidique au moyen d'une solution de sulfate de cuivre à 1 pour 100. Après lavage, on plonge les objets dans la solution aqueuse de rouge de ruthénium. On examine ensuite dans la glycérine aqueuse ou dans la gélatine glycinée. La cellulose est alors colorée en beau bleu et les composés pectiques en rose.

BIBLIOGRAPHIE

1. BRACONNOT. — *Recherches sur un nouvel acide universellement répandu dans tous les végétaux*. Lues à la Soc. royale de l'Académie de Nancy, le 1^{er} juillet 1824. Ann. ch. et phys., t. XXVIII, 2^e série, 1825, p. 173-178.
2. TOLLENS. — Trad. BOURGEOIS. *Les hydrates de carbone*, 1896.
3. DUCLAUX. — *Traité de Microbiologie*, t. II, 1899.
4. BERTRAND et MALLÈVRE. — *Recherches sur la pectase et la fermentation pectique*. Bull. Soc. Chim., t. XIII, 1895, pp. 77, 152, et t. XIV.
5. L. MANGIN. — *Recherches anatomiques sur la distribution des composés pectiques chez les végétaux*. Travail publié par extraits, dans le Journal de Botanique, 1891, 1892, 1893. Tirage à part de l'ensemble, 1893.
6. — *Observations sur l'Anthracnose maculée*. C. R., Mars 1892.
7. — *Sur l'emploi du rouge de ruthénium en anatomie végétale*. C. R., 1893, t. 116, p. 653.
8. TSCHIRCH. — *Angewändte Pflanzenanatomie*, 1889.
9. VAN TIEGHEM. — *Sur le Bacillus Amylobacter et son rôle dans la putréfaction des tissus végétaux*. Bull. Soc. bot. de France, t. XXIV, 1877, p. 128. — *Sur la fermentation de la cellulose*, t. XXVI, p. 25.

10. VAN TIEGHEM. — *Traité de Botanique*, 2^e éd.
11. L. PETIT. — Actes de la Société Linnéenne de Bordeaux, 1896.
12. DEVAUX. — *Sur les réactifs colorants des substances pectiques*.
Ext. des Proc. verb. de la Soc. Linn. de Bordeaux,
février 1901.
13. — *De l'absorption des poisons métalliques très dilués par
les cellules végétales*. C. R., mars 1901.
14. — *Généralité de la fixation des métaux par la paroi
cellulaire*. Ext. des Proc. verb. de la Soc. Linn. de
Bordeaux, avril 1901.
15. — *Sur la coloration des composés pectiques*, Ext. des Proc.
verb. de la Soc. Linn. de Bordeaux, 30 mars 1901.
16. — *Sur la nature de la lamelle moyenne dans les tissus mous*.
Ext. des mém. Soc. Sc. ph. et nat., Bordeaux, t. III,
6^e s., 1903.
17. GENEAU DE LAMARLIÈRE. — *Quelques observations sur le mo-
lybdate d'ammonium employé comme réactif des mem-
branes cellulaires*. Bull. Soc. bot. de France, t. XLIX,
1902, p. 183.
18. — *Recherches sur quelques réactions des membranes ligni-
fiées*. Revue gén. de Bot., p. 149, 221, 1903.
19. W. BEYERINCK et A. VAN DELDEN. — *Sur les Bactéries actives
dans le rouissage du lin*. Comm. à l'Ac. des Sc. d'Am-
sterdam. Déc. 1903.

§ III. — CALLOSE

La callose, entrevue comme une substance à réactions spéciales par HANSTEIN, DE JANCZEWSKI, RUSROW, etc., a été caractérisée comme une troisième substance fondamentale de la membrane par MANGIN (1), qui en a fixé les propriétés principales. Elle est amorphe, incolore, insoluble dans l'eau, dans l'alcool, dans le réactif de SCHWEIZER même après l'action des acides ; très soluble dans la soude et la potasse caustique à froid ; soluble à froid dans le chlorure de calcium, le bichlorure d'étain concentrés ; insoluble à froid dans les carbonates alcalins, l'ammoniaque, qui la gonflent et lui communiquent une consistance gélatineuse.

La callose, si résistante à la plupart des agents chimiques et dont l'insolubilité est si grande aussi, est susceptible d'éprouver certaines modifications chimiques qui lui donnent la propriété de se dissoudre dans les solutions alcalines caustiques, ou même simplement dans l'eau. Cette liquéfaction se fait d'emblée et sans gonflement ni sans gélification préalable, comme cela se produit lorsque les composés pectiques se lignifient.

Ce phénomène, très fréquent dans la nature, entraîne la mise en liberté des conidies par résorption de la partie qui les relie au reste de la plante (Péronosporées) ou des spores par destruction partielle ou totale de la paroi callosique du sporange (Mucorinées). C'est encore à ce phénomène qu'est due la disparition du cal situé de chaque côté des plaques criblées du liber.

L'état voisin de la liquéfaction est aussi celui sous lequel la callose manifeste le plus d'affinité pour les colorants, et, à ce point de vue, il existe un parallélisme étroit entre elle et la cellulose ; non pas que la cellulose soit jamais soluble dans l'eau, mais parce que ces deux substances fondamentales de la membrane, doivent se trouver dans un état d'agrégation déterminé, pour pouvoir fixer les colorants. Dans le cal des tubes criblés, dans la membrane des cellules mères définitives du grain de pollen, dans la membrane diffluente des sporanges de Mucorinées, etc., cet état se trouve réalisé et

l'élection des matières colorantes est immédiate ; mais dans beaucoup d'autres cas, la callose doit être transformée au préalable et on y arrive par l'action des alcalis caustiques ou des agents oxydants, et souvent même par les deux à la fois (membrane des Polypores, *Dædalea*, du tube pollinique de certaines espèces, etc).

Il existe, malgré ce, une différence essentielle entre la cellulose et la callose : c'est que celle-ci, parvenue à son état d'agrégation le plus faible, ne se dissout pas dans le réactif de SCHWEIZER, mais, par contre, se dissout facilement dans l'eau.

RÉACTIONS COLORANTES DE LA CALLOSE

Les réactifs de la callose sont tous des matières colorantes artificielles, bien distinctes de celles des composés pectiques, et dont quelques-unes ne colorent pas, non plus, la cellulose. Elles appartiennent surtout au groupe du triphénylméthane. Ce sont l'acide rosolique ou coralline, qui teint la callose en rouge et qu'on emploie en solution dans le carbonate de soude, ou mieux encore les *bleus alcalins* résultant de la sulfonation de la triphénylrosaniline. Les produits dont MANGIN (4) conseille l'emploi, sont les bleus solubles, bleus coton, bleus papier, bleus de Bayer, qui ne colorent pas la cellulose, mais se fixent énergiquement sur la callose en bain acide; ils colorent aussi les matières azotées, et très légèrement les membranes lignifiées.

C'est surtout, comme on l'a vu, chez les Champignons que la callose est répandue ; il n'en est pas moins vrai qu'on la rencontre assez souvent chez les Phanérogames, où elle constitue non seulement le cal des tubes criblés, mais encore siège dans les organes les plus divers chez des plantes assez nombreuses.

Le plus souvent, on la trouve dans des membranes incrustées de calcaire (Urticacées, fruits de certaines Borraginées). Dans les cystolithes, la callose rentre dans la constitution de la trame organique qui supporte le carbonate de calcium; elle occupe toute cette trame et manifeste, après la dissolution du calcaire, les ornements ou les sculptures de la surface (Pariétaire); elle montre, en outre, une stratification très nette (Ortie, Pariétaire, *Ficus*, etc)

Les poils calcaires sont souvent obstrués par des dépôts de

callose, comme on le voit dans l'Ortie ou dans le Houblon. Parfois, dans le Géranium, par exemple, la callose remplit presque entièrement la cavité des poils en formant une sorte de cordon cylindrique vermiforme, contourné sur lui-même. Enfin, dans les cellules bordant les poils à cystolithes ou les poils calcaires, on trouve des amas arrondis et stratifiés de callose, tantôt localisés dans la rosette de cellules entourant les poils, tantôt développés par une sorte d'irradiation, sur une étendue plus ou moins grande des cellules épidermiques (Myosotis, Vigne, Houblon, Pariétaire, etc.). Quoiqu'elle accompagne souvent le carbonate de calcium dans les membranes, elle existe pourtant parfois dans des tissus où ce sel fait complètement défaut : dans des poils ou des cellules épidermiques, dans beaucoup de grains de pollen ainsi que dans les tubes polliniques, où elle constitue les bouchons interrompant la cavité du tube. Enfin elle apparaît fréquemment dans les membranes des cellules de l'épiderme ou du parenchyme qui limitent les régions subérimées, à la suite d'une mutilation de la feuille (déchirure, piqûre, etc.) ; dans ce cas, son apparition est liée à un phénomène pathologique encore mal défini, assez grave cependant pour compromettre la vie de la plante (Chou, Myosotis) (2, 3).

TECHNIQUE

Lorsqu'on veut rechercher la callose dans des organes, dans des poils ou des cellules épidermiques, on ne peut pas songer à faire des coupes, car on risquerait fort d'en faire un très grand nombre, sans rien voir. Il est donc indispensable d'employer d'abord le procédé général suivant, qui permet d'examiner au microscope des étendues considérables de l'organe à étudier.

Des fragments d'organe sec ou frais sont mis en digestion dans l'alcool bouillant afin de chasser l'air qu'ils renferment ; on les dépose ensuite dans une capsule renfermant la quantité d'acide azotique ordinaire et froid nécessaire pour les recouvrir (on doit toujours opérer sur de petites quantités pour éviter les projections). Au bout de quelques minutes, l'oxydation des matières azotées détermine une vive effervescence ; on attend qu'elle soit calmée pour laver les tissus à l'eau froide, puis dans l'alcool bouillant ; puis on fait digérer les fragments de feuilles pendant quelque temps dans l'eau ammoniacale froide, de manière à dissoudre la xanthoprotéine et ses dérivés.

Lorsque les tissus sont assez transparents on neutralise par l'acide acétique à 3% et on laisse macérer les organes dans les réactifs colorants.

Lorsque l'observation est faite au moyen de coupes, quand il s'agit, par exemple, de la recherche de Péronosporées, parasites de feuilles ou autres organes, ces coupes, après avoir été traitées par l'eau de Javel, pour les débarrasser des matières plasmiques et lavées à l'eau, sont déposées sur le porte-objet, et on y ajoute quelques gouttes d'une solution très concentrée de potasse ou de soude caustique. (Le traitement par les alcalis a pour but, comme on sait, de ramener la callose à l'état d'affinité maxima pour les colorants. Dans le cas de gros fragments traités, comme plus haut, par l'acide azotique, c'est cet acide qui, en oxydant les membranes, permet d'arriver au même résultat.)

De toutes façons, pour avoir l'élection de la callose, on fait une double coloration avec un *bleu soluble* mélangé à de l'*Orseilline B B* ou additionné de *brun vésuvien acide*. La callose prend une belle coloration bleue, et la cellulose se colore en rose avec l'orseilline B B. On se sert du brun vésuvien dans le cas où les matières plasmiques n'ont pas été enlevées ou ne l'ont été qu'incomplètement.

Le brun convient très bien pour l'étude des tubes criblés ou des grains de pollen, toujours riches en matières azotées. La teinte bleue de la callose tranche alors sur le fond brun de la préparation. On pourra aussi se servir d'un mélange de benzoazurine et de rosazurine. Quand on colore ainsi les Péronosporées dans les organes végétaux, la rosazurine se fixe sur le mycélium, les suçoirs et la gaine en les teignant en rouge, tandis que la benzoazurine colore en bleu la cellulose des membranes des plantes hospitalières (5).

Ces produits sont, comme toujours, employés en solution aqueuse. Il suffit de mélanger les liqueurs, préparées séparément au préalable. Remarquons aussi qu'on doit opérer en bain acide. On emploie soit de l'acide acétique, soit de l'acide formique à 3 0/0. Après l'action du mélange colorant, action qui doit durer quelques minutes, on lave à l'eau et on monte dans la glycérine aqueuse ou dans la gélatine glycinée. Les préparations peuvent être conservées quelques mois sans décoloration. Quand on se sert des *bleus solubles*, on peut indifféremment employer ceux qui portent, dans le commerce, les marques suivantes : bleu Nicholson 6 B, bleu coton C 4 B (1) ; bleu brillant verdâtre pour coton, bleu papier V (2) ; bleus alcalins 6 B, bleus nouveaux G et R (3) ; bleu de Bayer D B F (4).

Les bruns acides colorent le protoplasma en brun, et parfois la cellulose

(1) Maison Poirrier et Dalsace, à Saint-Denis (Société anonyme des matières colorantes et produits chimiques).

(2) Bayer et C^{ie}, à Flers, près de Roubaix. Représentant, M. J. Kahrès, 23, rue d'Enghien, Paris.

(3) Léopold Cassela et C^o, Anilinfarben Fabrik, Francfort-sur-Mein. Concessionnaire en France : Manufacture lyonnaise des matières colorantes, 3, place Morand, Lyon.

(4) Neuville-sur-Saône. Badische Aniline soda Fabrik.

en rose. Ils teignent aussi très fortement la lignine, la cutine dans un bain acide, mais ils ne colorent ni la callose, ni les composés pectiques. Ils se mélangent très bien aux bleus solubles et conviennent très bien pour distinguer la callose au milieu de tissus riches en matières azotées.

Comme marques commerciales, on peut employer : brun acide (brun vésuvien acide), nuance rougeâtre pour laine (Poirrier et Dalsace) ; brun acide, brun de bronze à l'acide (Bayer et Cie) [5].

BIBLIOGRAPHIE

1. MANGIN. — *Sur la callose ; nouvelle substance fondamentale existant dans la membrane.* C. R., mars 1890.
 2. — *Sur la constitution des cystolithes et des membranes incrustées de carbonate de chaux.* C. R., juillet 1892.
 3. — *Observations sur la présence de la callose chez les Phanérogames.* Bull. Soc. bot. de France, juin 1892.
 4. — *Sur les colorants des substances fondamentales de la membrane.* C. R., juillet 1890.
 5. — *Sur la désarticulation des conidies chez les Péronosporées.* Bull. Soc. bot. France, t. XXXVIII, 1891.
 6. — *Recherches anatomiques sur les Péronosporées.* Ext. du Bull. de la Soc. d'hist. nat. d'Autun, t. VIII, 1895.
-

CHAPITRE III

SUBSTANCES INCRUSTANTES DE LA MEMBRANE

§ 1^{er}. — LIGNINE

La membrane cellulaire jeune est capable, comme on sait, de revêtir, dans certains cas, des caractères tout spéciaux par suite de l'addition à sa substance, de produits nouveaux. Ceux-ci ont leurs réactions propres, réactions qu'accusera désormais la paroi cellulaire ainsi transformée, tandis que celles de la membrane primitive et, en particulier, les réactions de la cellulose, seront complètement masquées.

C'est dans le phénomène de la *lignification* que l'incrustation de la membrane, par des substances nouvelles, se manifeste avec le plus d'évidence.

C'est aussi surtout, de ce côté, que s'est tournée l'attention des chimistes, sans qu'on soit définitivement arrivé, malgré les nombreuses tentatives faites, à déterminer le corps ou les corps qui, inclus dans la paroi cellulaire, en modifient ainsi les réactions. Néanmoins, comme cela arrive souvent en pareil cas, on a, depuis longtemps, donné le nom de *lignine* à la substance problématique si activement recherchée.

RÉPARTITION DE LA LIGNINE CHEZ LES VÉGÉTAUX

C'est chez les végétaux supérieurs que l'on rencontre des tissus lignifiés, quoique ceci n'ait rien d'absolu. On a parfois signalé chez des Thallophytes des membranes donnant les réactions de la lignine, et, pour n'en donner qu'un exemple, je rappellerai que

HARZ (1) eut l'occasion de vérifier ce fait, chez les membranes du capillitium de champignons appartenant aux genres *Elaphomyces* et *Bovista*. Il proposa même, pour la substance caractérisée par lui, le nom de « fungolignine ».

Chez les Cryptogames vasculaires et les Phanérogames la lignification porte bien sur les éléments du bois : vaisseaux, fibres, parenchyme ligneux ; mais elle intéresse bien souvent aussi d'autres tissus ; les fibres péricycliques ou libériennes sont très fréquemment lignifiées, la moelle et les rayons médullaires le sont quelquefois.

Il n'est pas jusqu'aux parois des stomates qui ne se montrent lignifiées. C'est à cela que les membranes bordant l'ostiole doivent, chez les Gymnospermes notamment, d'être si résistantes. LEMAIRE (2) en décrit, comme un bel exemple, l'appareil stomatique de l'*Encephalartos cafra*.

En dehors des stomates, les autres parties de l'épiderme peuvent être aussi lignifiées, chez les Gymnospermes notamment, et chez quelques Fougères. Il existe, dans l'épiderme de *Dioon edule*, deux zones membraneuses lignifiées très distinctes sous la cuticule et les couches cuticulaires. L'*Abies pectinata* présente de même une épaisse membrane lignifiée sous la cuticule. Le pétiole des *Nephrolepis*, de l'*Aspidium aculeatum*, du *Pteris longifolia*, caractérisé par un épiderme dépourvu de couches cuticularisées, offre non-seulement une paroi lignifiée, mais une cuticule imprégnée aussi de lignine et cette lignine peut même être mise en évidence tout autour de la cavité des cellules épidermiques.

Ailleurs, c'est le liège qui présentera des caractères analogues. Il est fréquent, en effet, d'y constater dans la lamelle moyenne, les réactions de la lignine.

Les poils internes, devenus éléments de soutien, montrent également des parois lignifiées, surtout lorsqu'ils se développent dans des canaux aërières dépourvus de diaphragmes et qui ont, par suite, plus besoin d'être soutenus (*Pilularia*, Nymphéacées, *Limnathemum*, etc.).

Il en est de même des laticifères qui peuvent devenir, eux aussi, un organe de soutien pour la plante, ainsi que l'a montré MIRANDE (8, 228-234) dans son remarquable travail sur les Cuscutacées. Chez les Cuscutacées monostylées et homostylées, les laticifères péricycliques, longs tubes plurinucléés, présentent, tout le long de leur

parcours, des épaisissements variables. De nature pecto-cellulosique en certains points, ils passent peu à peu à la lignification complète, puis reviennent insensiblement à l'état primitif, etc. Un laticifère présente ainsi, à diverses hauteurs, des alternatives de zones lignifiées et de zones cellulosiques.

Ces modifications ont évidemment lieu dans un but de soutien de ces plantes parasites et en même temps volubiles et grimpantes. La plante a besoin d'être consolidée de loin en loin, et surtout dans les parties de la tige qui s'enroulent en spires serrées et produisent des suçoirs ; il faut qu'elle lutte contre un déroulement possible en ces points et contre l'affaissement dans les régions à spires lâches. Elle y arrive en épaisissant et lignifiant partiellement la paroi de ses laticifères.

Remarquons que dans un autre groupe de Cuscutacées, chez les hétérostylées, le même résultat est atteint par le simple gonflement des membranes qui ne se lignifient jamais, mais peuvent absorber une certaine quantité d'eau et, suivant les besoins de la plante, lui donnent une rigidité plus ou moins grande.

En dehors de ces cas de lignification qu'on peut dire normaux et constants, cette transformation de la membrane peut être aussi accidentelle et représente, bien souvent, un des moyens employés par la plante pour réagir contre une irritation quelconque, ou cesser tout contact avec l'extérieur. Ainsi, dans la formation des galles, l'organe attaqué réagit non seulement en hypertrophiant ses tissus, mais encore en lignifiant ses membranes, comme l'a montré HARTWIG (3). Lors de la chute des feuilles, le pétiole lignifie ses parois aussi bien au-dessus qu'au-dessous de la surface de rupture. Cette réaction correspondant à la blessure des tissus est générale et se fait sur l'ensemble des membranes, tandis que chaque cellule en particulier revêt sa cavité d'une pellicule subéreuse, sorte de mastic qui obture les ponctuations elles-mêmes. TRISON (4, 190) conclut de ses intéressantes observations sur ce sujet que la « lignification apparaît comme un procédé de *défense collective* des cellules, et la subérisation comme un procédé de *défense individuelle* ».

Pendant que les tissus parenchymateux forment à la plante le premier revêtement protecteur, revêtement bientôt doublé par une zone de liège secondaire, les appareils de forme tubuleuse : vais-

seaux, canaux sécréteurs, etc., ferment leurs orifices par prolifération de thylls normales ou gommeuses, et la gomme qui provient de celles-ci renferme de la lignine et en manifeste tous les caractères.

LOCALISATION DE LA LIGNINE DANS LA PAROI CELLULAIRE

Après avoir examiné ce qu'on pourrait appeler l'aire d'extension de la lignine dans le règne végétal d'abord, et ensuite dans les principaux tissus des plantes vasculaires, il est nécessaire de se demander si, dans un tissu lignifié pris à part, elle y est régulièrement distribuée partout, et poussant plus loin l'analyse, de savoir quelle est la région, dans une membrane donnée, où elle se trouve localisée, et enfin comment elle est répartie dans cette région elle-même.

Il suffit d'avoir examiné quelques coupes de tige ou de racine, pour avoir remarqué que, dans un même tissu ou une même catégorie d'éléments, la lignification est loin d'être la même partout. Par les réactifs, les fibres de l'intérieur du bois ne se colorent pas de la même façon que celles de l'extérieur. LECOMTE (5) signale que, dans *Tilia heterophylla*, les fibres libériennes sont ordinairement moins lignifiées que les fibres du péricycle ; que dans la glycine de Chine, les fibres du liber donnent une teinte intermédiaire entre les réactions de la cellulose et celles de la lignine ; tandis que les fibres péricycliques sont franchement lignifiées, sauf cependant les éléments confinant au liber, qui se colorent comme les fibres libériennes elles-mêmes. Voilà donc une même région et un même genre de cellules, chez lesquelles la lignification se montre à tous les degrés. D'après LECOMTE, ces différences tiendraient à la nature même du milieu cellulaire, dans lequel se développent les fibres, et l'amidon n'y serait pas étranger. Les fibres libériennes sont entourées de cellules riches en substances albuminoïdes, mais ne contenant que peu d'amidon ; les fibres péricycliques, au contraire, confinent à l'endoderme ou à un parenchyme riche en amidon, et c'est à lui qu'elles devraient leur lignification plus accentuée.

Dans la membrane, la lignine est généralement localisée à l'intérieur de la couche secondaire, c'est-à-dire dans la portion la plus épaisse de la paroi cellulaire. Lorsqu'une troisième couche se juxtapose à celle-ci, dans les fibres très épaissies par exemple,

cette couche est cellulosique et ne présente jamais les réactions de la lignine. Encore la distribution n'est-elle pas toujours régulière dans toute l'étendue de cette région. Ainsi, suivant CORRENS (6), les fibres libériennes du Quinquina ou les cellules de la moelle de *Podocarpus*, quand on les a traitées par un des réactifs de la lignine, montrent des lamelles alternativement plus ou moins colorées, ce qui indique évidemment que la lignine y est contenue en quantité plus ou moins grande.

ÉPOQUE DE L'APPARITION DE LA LIGNINE

Dans les tissus lignifiés, la lignification est en général précoce. Les formations secondaires du bois des Gymnospermes et Dicotylédones sont lignifiées dès qu'elles sont produites par le cambium, et longtemps avant leur épaissement. Mais, dans le bois croissant très rapidement au printemps, la lignification peut ne pas suivre la multiplication cellulaire, et les couches les plus externes du bois de Mai ne sont généralement pas lignifiées, quelque temps même après leur formation.

Un fait assez digne d'intérêt, au point de vue de l'apparition de la lignine dans les membranes, c'est l'influence exercée par une membrane lignifiée sur une autre qui ne l'est pas. BARANETZKI (7, 180) a montré que lorsque deux cellules parenchymateuses sont en contact, si l'une d'elles est lignifiée, la paroi qui lui est contiguë se lignifie à son tour rapidement, et la lignification peut même se propager, à une certaine distance, sur les parties adjacentes, en s'affaiblissant graduellement à mesure qu'on s'éloigne de la cellule lignifiée. On pourra constater cette *lignification passive* dans les éléments mous du liber secondaire voisins des couches scléreuses, dans le Tilleul. Les tubes criblés sont sujets aussi à ce contagement : dans le liber d'*Alisma Plantago*, par exemple, où les tubes criblés sont ordinairement entremêlés de fibres scléreuses, toutes les parois latérales sont souvent lignifiées, à l'exception de celles avec lesquelles les tubes voisins sont en contact immédiat.

Il est probable que ce phénomène est dû à ce que les substances lignifiantes émanées du protoplasme ne s'arrêtent pas à la membrane qui limite la cellule d'où elles sont issues, mais peuvent encore se propager à une certaine distance.

CONSTITUTION CHIMIQUE DE LA MEMBRANE LIGNIFIÉE

On sait depuis longtemps que la cellulose, ou plutôt une des celluloses dont nous avons déjà bien défini les caractères, est la partie fondamentale de la membrane lignifiée. C'est cette cellulose, si répandue dans les tissus parenchymateux et probablement formée, comme nous l'avons dit, par divers hydrates de carbone. En 1839, PAYEN, en traitant le bois avec l'acide nitrique, avait obtenu un corps qui, par sa composition centésimale, par sa solubilité dans l'oxyde de cuivre ammoniacal, par sa coloration bleue en présence de l'iode et de l'acide sulfurique ou du chlorure de zinc iodé, correspond tout à fait à la cellulose des parenchymes. Plus tard, on s'apercevait qu'avec cette substance, se trouvaient mélangés d'autres hydrates de carbone de propriétés tout à fait différentes.

Recherchant le principe à qui devaient être attribuées les réactions si spéciales du bois, FRÉMY et URBAIN en isolaient la *vasculose*. C'est la substance à laquelle on donne plus communément le nom de lignine : ils reconnaissaient en outre, à côté d'elle, l'existence de la *cutose*, l'une des substances constitutives des parois subérifiées et cutinisées. Enfin, on a admis récemment, qu'à tous ces corps, on devait encore ajouter les matières azotées et des matières minérales.

En résumé, par conséquent, il y a trois sortes d'éléments dans la membrane lignifiée : des hydrates de carbone de diverse nature, qui en représentent les *substances fondamentales* ; un corps que j'appellerai le *principe lignifiant*, parce que c'est sur lui et sur lui seul que portent les réactions de la membrane lignifiée ; enfin une série d'autres éléments que je réunirai sous la dénomination de *substances accessoires*, attendu qu'ils ne sont ni constants, ni toujours en proportion égale, dans le tissu ligneux.

a) *Substances fondamentales de la membrane lignifiée*

Lorsqu'on traite la fibre ligneuse par l'acide nitrique, suivant la méthode de PAYEN, par la macération de SCHULZE (mélange d'acide nitrique et de chlorate de potassium) ou encore par la potasse concentrée, à 150-200°, suivant le procédé de HOPPE-SEYLER (9),

on en isole un corps, qui se dissout dans le réactif de SCHWEIZER et se colore en bleu par le chloroiodure de zinc. C'est donc bien une cellulose, c'est même la cellulose proprement dite, car J.-B. LINDSEY et B. TOLLENS (10) en ont obtenu du dextrose par hydrolyse ; GILSON (12) l'a, de plus, obtenue cristallisée. Il existe donc bien, dans la membrane lignifiée, une cellulose identique à celle si généralement répandue dans les parois non lignifiées. D'autre part, il résulte des recherches de LINDSEY, WHEELER, ALLEN et TOLLENS (11, 13, 14), surtout de celles de G. BERTRAND (15), qu'il existe, en outre, dans le bois des Angiospermes, un autre hydrate de carbone, le xylane, ou gomme de bois, déjà isolé par POMMARÈDE et FIGUIER, et qui donne du xylose. Le xylane fait défaut chez les Gymnospermes et est y remplacé par du mannane et du galactane.

Ces faits, mis à côté de ceux avancés par SCHULZE, font donc concevoir la membrane des plantes supérieures lignifiée ou non, comme renfermant d'une manière tout à fait générale, des anhydrides de divers glucoses diversement combinés suivant les tissus et suivant les plantes. L'un d'eux, qui est le plus fréquent, donne du dextrose et se trouve associé à d'autres hydrates de carbones, fournissant, suivant les cas, du mannose, du galactose, du xylose, etc.

Remarquons, en terminant, que comme certains de ces anhydrides, tels que le xylane, sont solubles dans l'eau et qu'on ne peut cependant les extraire par l'eau, de la membrane, on a été amené à penser qu'ils formaient une combinaison étherée avec d'autres substances du bois, combinaison qui se trouve saponifiée après traitement par la potasse concentrée et sous pression. Il est de fait qu'après ce traitement, la cellulose proprement dite paraît être mise en liberté, puisqu'elle se colore par le chloroiodure de zinc, ce qui n'arrivait pas auparavant. Cette remarque aura plus loin son importance.

b) *Principe lignifiant*

A côté des hydrates de carbone qu'il a retirés des tissus lignifiés, G. BERTRAND en a séparé un corps analogue à la *vasculose* de FRÉMY et URBAIN, et une autre substance, le *lignol*, qui est une résine phénolique. La *vasculose* n'est pas autre chose que ce qu'on a toujours nommé lignine ; c'est à sa présence qu'a toujours été attribué ce qu'on est convenu d'appeler la « réaction de la lignine ». Quant à

la nature de ce principe, qui détient ainsi l'un des caractères les plus importants des membranes lignifiées, on l'a ignorée jusqu'à ces dernières années.

L'idée la plus accréditée, tout d'abord, était qu'on avait affaire à la coniférine. Cette idée, émise par TIEMANN et HAARMANN (16), eut surtout comme défenseurs E. TANGL (17) et F. DE HORNEL (18). Elle était basée sur cette circonstance, bien peu probante, que la réaction que l'on obtient en traitant la coniférine avec le phénol et l'acide chlorhydrique était à peu près la même que celle que donnent les tissus ligneux dans les mêmes conditions. On obtient, dans les deux cas, une coloration bleu-vert. Mais ce corps n'a jamais pu être extrait du bois et caractérisé d'une façon précise ; aussi, sa présence est-elle fort douteuse.

SINGER (20) n'en a pas moins continué à admettre l'existence de la coniférine dans le bois ; mais, reprenant une idée émise en 1880 par WIESNER, il crut devoir attribuer aussi à une autre substance, la vanilline, les réactions obtenues sur les membranes lignifiées. La vanilline se colore à peu près comme le tissu ligneux, en rouge pourpre par la phloroglucine additionnée d'acide chlorhydrique, en jaune par le sulfate d'aniline.

Ce sont là les meilleurs réactifs de la lignine. De plus, lorsqu'on fait bouillir pendant un certain temps des copeaux de Conifères avec de l'eau, on perçoit une odeur assez sensible de vanille, et la liqueur donne, avec la phloroglucine, la réaction dont on vient de parler. SINGER en conclut que le bois contient de la vanilline. Mais, jamais personne n'a pu extraire ce corps d'aucun tissu lignifié, et, comme pour la coniférine, on a de bonnes raisons pour mettre en doute son existence.

D'ailleurs, les réactions sur lesquelles on s'est, en partie, basé pour croire à l'existence de ces deux substances, sont loin d'être identiques à celles que donne le tissu ligneux lorsqu'il est soumis aux mêmes agents de coloration. Les teintes obtenues sont voisines, mais non semblables. C'est là un fait sur lequel ont, tour à tour, insisté NICKEL (22) et SELIWANOFF (23), dans une critique sévère des conclusions de SINGER, et sur lequel CZAPECK (24) est revenu tout récemment. En ce qui concerne la coniférine, ce savant a fait divers essais de coloration à l'aide du réactif préconisé par MOLISCH (27) pour la caractériser. Ce réactif est un mélange de thymol, d'acide

chlorhydrique et de chlorate de potassium. Le bois se colore rapidement en vert, comme l'a indiqué MOLISCH, mais la coniférine pure se comporte tout autrement. Il se fait d'abord une belle coloration violette, due sans doute à l'action de l'acide chlorhydrique, la teinte vire ensuite au rouge et finalement au rouge orangé.

CZAPECK a, d'autre part, essayé la réaction de la phloroglucine sur un grand nombre de substances de la série aromatique voisines de la vanilline, celles en particulier dérivées de la pyrocatéchine, et a constaté qu'un grand nombre de ces corps présentent, à l'égard de la phloroglucine, une bien plus grande analogie avec le bois que la vanilline. Ainsi, avec le safrol, l'alcool coniférylique, la syringénine, etc., la réaction colorée obtenue est tout à fait conforme à celle que donne le bois. Il n'y a donc guère plus de raisons à admettre dans le bois la présence de la vanilline, que d'y supposer l'existence du safrol ou de l'alcool coniférylique.

Une autre hypothèse sur la substance lignifiée de la membrane a été émise par IHL (29), qui en attribue les réactions à l'aldéhyde cinnamique et à l'anéthol. Elle ne paraît pas reposer sur des bases plus sérieuses que les précédentes.

Le résultat le plus précis peut-être, auquel on soit arrivé dans cette voie, c'est de montrer, comme l'ont fait HEGLER (31) et SELIWANOFF (23), qu'en traitant le bois par du bisulfite de sodium, c'est-à-dire par un sel entrant en combinaison avec les aldéhydes, on n'obtient plus les réactions de la lignine, ce qui laisse supposer qu'elle est de nature aldéhydique. C'est, en effet, ce que CZAPECK (*l. c.*) a pu vérifier, comme on va le voir, dans une série de recherches aussi intéressantes que bien conduites.

Les réactions macro ou microchimiques ne suffisant pas, il fallait séparer du bois le corps cherché pour l'étudier plus à l'aise et s'assurer que c'était bien à lui qu'on devait les réactions de la lignine. Quelques essais furent tentés dans ce sens par SINGER d'abord, puis par W. HOFMEISTER, SELIWANOFF, IHL et TOLLENS, essais qui restèrent sans résultat jusqu'au moment où CZAPECK, prenant la question en mains, fut assez heureux pour isoler du bois un corps auquel il a donné le nom d'*Hadromal* (1), et qui présente toutes les réactions des membranes lignifiées.

(1) De *Hadrom*, nom donné par HABERLANDT au tissu conducteur.

Hadromal

Pour obtenir l'hadromal, on traite du bois pur, autant que possible menuisé, par une solution concentrée de bichlorure d'étain. Le bois est décomposé et agité ensuite avec une solution de benzol. Des traitements répétés avec le bichlorure d'étain permettent d'extraire tout l'hadromal contenu dans le bois.

En combinant avec le bisulfite de soude le corps dissous dans le benzol, on peut l'obtenir cristallisé et étudier ainsi ses propriétés les plus importantes.

La combinaison précédente montre qu'on a affaire à une aldéhyde, et certains caractères indiquent que c'est, de plus, une aldéhyde aromatique.

Elle ne se trouve dans le bois qu'en très faible quantité, 1 à 2 0/0 tout au plus, de la substance sèche du bois. L'hadromal n'est donc pas une des principales parties constituantes du bois ; il en est néanmoins la partie essentielle, puisque c'est sur lui que portent tous les caractères de la lignification, c'est lui qui en fournit toutes les réactions. Avec la phloroglucine et l'acide chlorhydrique, la réaction est très sensible et donne une coloration rouge cerise ; le sulfate d'aniline donne une teinte jaune. Il en est de même avec le sulfate de thalline.

L'acide chlorhydrique uni à la résorcine ou à l'orcine fournit une teinte bleue ; elle est bleu-verdâtre avec le naphthol, et passe ensuite au vert. Si l'on se sert d'un mélange de phénol et d'acide chlorhydrique, la coloration obtenue est franchement verte et passe au brun jaunâtre, par l'addition d'un peu de chlorate de potassium.

Or, ce sont là, comme nous le verrons, tout autant de réactions caractéristiques de la membrane lignifiée ; c'est donc à l'hadromal qu'il faut les attribuer dans les tissus ligneux.

Une certaine quantité d'hadromal se trouve à l'état libre dans le bois, et on peut l'extraire facilement par quelques-uns de ses dissolvants : benzol, xylol, chloroforme, ou éther ; mais il est en majeure partie à l'état de combinaison étherée, qu'on décompose lorsqu'on la traite par le chlorure d'étain concentré et bouillant.

Après ce traitement, qui met ainsi en liberté tout l'hadromal contenu dans la membrane lignifiée, on s'aperçoit que celle-ci se

colore en violet intense avec le chlorure de zinc iodé, et cède à l'oxyde de cuivre ammoniacal une substance qui y est facilement soluble. Cette substance n'est autre que la cellulose, et l'on peut, dès lors, supposer avec quelque vraisemblance que la partie constituante de la membrane lignifiée, qui donne les réactions de la lignine, est, à côté d'une petite quantité d'hadromal libre, un éther résultant de la combinaison de l'hadromal avec la cellulose, et auquel CZAPECK donne le nom de *celluloside*.

Des faits du plus haut intérêt sont encore fournis à ce sujet par l'étude des champignons parasites du bois. D'une portée biologique considérable, ils corroborent en même temps les résultats obtenus par les méthodes chimiques.

Plusieurs auteurs ROBERT HARTIG (32) et WILKOMMS (33) en particulier, ont constaté depuis longtemps que lorsque le mycélium de certains champignons tels que Polypores, Agarics, *Pleurotus*, *Armillaria mellea*, se développe à travers le bois des arbres, les membranes se colorent directement par le chlorure de zinc iodé tout autour des régions envahies par les filaments. HARTIG a établi, de plus, que cette modification de la membrane précède toujours sa dissolution par le champignon.

Ce fait montre que la cellulose, dont les réactions étaient primitivement masquées par celle de la lignine, a été libérée d'une combinaison dans laquelle elle entrait, et cela par l'action du parasite.

Or, si l'on vient à traiter le bois ainsi atteint, par le benzol ou l'alcool, on est surpris de la quantité d'hadromal qu'il cède alors au dissolvant. La solution alcoolique donne une coloration rouge intense avec la phloroglucine chlorhydrique, et même, en effectuant des lavages répétés à l'alcool, on n'arrive pas à épuiser les tissus de tout leur hadromal ; les membranes, après comme avant le traitement par le dissolvant, se colorent énergiquement, elles aussi, par la phloroglucine.

La conclusion à tirer de ces expériences est, d'après CZAPECK (25), que l'éther, ou celluloside, résultant de l'union de l'hadromal avec la cellulose, se trouve scindé par le champignon.

Il est d'ailleurs assez curieux de constater que, dans ce dédoublement produit par un être vivant, tout se passe comme lorsque c'est le chlorure d'étain qu'on fait agir. Les phénomènes observés sont exactement les mêmes

Il est donc vraisemblable que les champignons habitant le bois agissent de telle façon sur la membrane lignifiée, qu'ils décomposent d'abord la combinaison étherée de l'hadromal avec la cellulose. Des deux composants devenus libres, l'hadromal peut être enlevé par ses dissolvants et la cellulose mise en évidence par le chlorure de zinc iodé, ou dissoute aussi par l'oxyde de cuivre ammoniacal. D'ailleurs, la dissolution de la cellulose, après sa mise en liberté, ne tarde pas à être opérée par le champignon lui-même, au moyen d'une de ces cytases bien connues à l'heure actuelle.

Mais quelle est la véritable cause de la saponification de l'éther cellulosique ?

Pour la découvrir, CZAPECK (*l. c.*) retire de divers bois malades des lamelles formées par la réunion de nombreux filaments mycéliens, et les broye avec de l'émeri ; il soumet ensuite le produit à la presse et filtre le suc ainsi obtenu. Il prend ensuite 1 à 2 cc. de ce suc, y ajoute une pincée de râpure de bois bouilli dans l'alcool pour enlever la petite quantité d'hadromal libre qui existe dans les membranes, verse sur le suc un peu de chloroforme et abandonne le tout à l'étuve à 28°, pendant une quinzaine de jours. Au bout de ce temps, la liqueur chloroformique manifeste, avec une grande intensité, les réactions de la lignine, et le bois lavé se colore fortement en violet par le chloriodure de zinc. Le dédoublement a donc été opéré, et il s'est produit de la même façon que dans l'action du champignon sur le bois.

Le suc soumis à l'expérience perd complètement son pouvoir saponifiant si on le porte à l'ébullition. Par l'alcool on précipite du suc frais une poudre blanche amorphe, soluble dans l'eau et qui a, sur le bois, la même action que le suc. Il s'agit donc là d'une enzyme sécrétée par les filaments du champignon, et c'est bien à elle qu'est dû le dédoublement de l'éther cellulosique de l'hadromal.

En raison même de la nature des phénomènes chimiques auxquels elle donne lieu, cette enzyme que CZAPECK nomme *hadromase*, doit être placée dans le groupe des ferments qui décomposent la graisse et les glucosides ; elle est donc voisine de l'émulsine et de la saponase. On voit, qu'en résumé, la prolifération à travers le bois du mycélium d'un champignon parasite se fait par le concours de deux diastases, sécrétées par les filaments : l'une, l'hadromase commence par libérer la cellulose de sa combinaison avec l'hadromal, l'autre,

la cytase, dissout cette cellulose. Le mycélium, qui exerce en même temps une action mécanique sur les membranes, peut ainsi pénétrer dans la profondeur des tissus même les plus résistants, en perforant successivement les diverses cloisons.

Les caractères généraux de l'hadromal étant maintenant indiqués, il reste à savoir comment ce corps peut prendre naissance dans la membrane.

Il est très probable qu'il tire son origine de la coniférine, si abondante parfois dans le suc cellulaire et surtout dans les méristèmes. On sait que ce glucoside donne par dédoublement de l'alcool coniférylique. C'est aux dépens de celui-ci que, suivant CZAPECK (26), l'hadromal prendrait naissance.

D'autres composés, du même genre que l'hadromal, ont été également signalés dans la membrane végétale. LINSBAUER, qui s'est occupé de la lignification chez les Fougères, y a constaté la présence de matières aromatiques qui restent encore incomplètement déterminées.

C) *Substances accessoires de la membrane lignifiée*

FRÉMY admettait que les membranes lignifiées contiennent en faible proportion l'un des principes constituants de la subérine et de la cutine, principe qu'il nommait *cutose*, par analogie avec la vasculose ou lignine proprement dite. Ce fait paraît d'autant plus vraisemblable que le Soudan III, qui est l'un des meilleurs réactifs des tissus subérifiés ou cutinisés, et les colore en rouge intense, laisse incolores les parenchymes purement pecto-cellulosiques et colore en rose pâle le tissu ligneux.

Le regretté GENEAU DE LAMARLIÈRE (34), qui partageait à ce point de vue l'opinion de FRÉMY, admettait, en outre, la présence de *composés azotés* dans les membranes lignifiées.

Il est de fait que certains des meilleurs réactifs des substances riches en azote, sont aussi journallement employés pour la coloration du tissu ligneux. Le vert d'iode, la fuchsine ammoniacale et la teinture d'iode elle-même, qui colorent très bien le bois, se fixent avec non moins d'énergie sur des substances très azotées, comme le protoplasme et le noyau. On peut même remplacer ces colorants par le bleu de méthylène ou le brun Bismarck, qui donnent mieux encore peut-être l'élection des matières azo-

tées, et l'on constate, de la part de la membrane lignifiée, une affinité telle pour ces substances que ni l'alcool, ni la glycérine n'entraînent sa décoloration. Vient-on même à « délignifier » la membrane en la traitant par des agents oxydants énergiques, comme l'acide azotique ou l'eau de Javel, en conduisant l'oxydation de façon à ce qu'elle n'aille pas jusqu'à la destruction des matières azotées, les réactions de la lignine ne se montreront évidemment en aucune façon (phloroglucine chlorhydrique, sulfate d'aniline), mais le bleu de méthylène ou le brun Bismarck continueront à être fixés avec la même énergie.

Par contre, si l'on va jusqu'à la destruction des matières azotées, on obtient bien encore la fixation de ces réactifs, mais la coloration ne résiste ni à l'action de l'alcool, ni à celle de la glycérine.

La présence des matières azotées paraît donc tout au moins vraisemblable.

GENEAU DE LAMARLIÈRE, à qui sont dues les expériences qui précèdent, admet aussi, dans la paroi cellulaire lignifiée, l'existence de composés pectiques et de certains sels, de phosphates notamment (35).

Il a caractérisé les phosphates au moyen de la réaction du molybdate d'ammoniaque en solution azotique qui, de même qu'elle détermine un précipité jaune de phosphomolybdate dans la solution d'un phosphate, communique aux membranes une coloration jaune plus ou moins foncée. Nous aurons l'occasion de revenir sur cette réaction ainsi que sur les réactions de contrôle, qu'on peut employer de concert avec la précédente.

Disons, pour le moment, que l'emploi de ces réactifs permet de constater, au point de vue de la répartition des phosphates dans les membranes, trois catégories de tissus :

1° Les tissus pecto-cellulosiques (parenchymes, liber mou), qui ne renferment pas de phosphates dans leur membrane.

2° Les tissus ayant subi la lignification, la subérification ou la cutinisation, mais à un faible degré (parenchyme ligneux, vaisseaux, fibres longues en général, certains lièges ou cuticules) qui montrent nettement les réactions des phosphates, quoique avec une intensité moyenne.

3° Les tissus de haute lignification (sclérites courtes), de subérification profonde (beaucoup de lièges) ou de cutinisation avancée,

chez lesquels les réactifs accusent une quantité beaucoup plus grande de phosphates.

En somme, les membranes pecto-cellulosiques seules sont dépourvues de phosphates. L'incrustation minérale au moyen de ces sels paraît marcher de pair avec l'incrustation par les substances organiques ordinaires de la paroi cellulaire, et, dans le cas de tissus lignifiés, on est en droit de penser qu'elle les aide notablement dans leur rôle de soutien, tout comme les phosphates entrant dans la constitution du squelette des animaux, contribuent puissamment à sa consolidation.

RÉACTION DES MEMBRANES LIGNIFIÉES

Les réactions que l'on a indiquées, pour caractériser les tissus ligneux, sont excessivement nombreuses. Nous ne mentionnerons que les principales.

Le bois se colore d'une façon intense avec une solution aqueuse ou alcoolique de beaucoup de phénols, en présence de l'acide chlorhydrique concentré. Ces réactions sont les suivantes :

<i>Phénol</i>	—	Coloration obtenue <i>vert bleu</i> (RUNGE) (36), TIEMANN-HAARMANN (16).
<i>Phloroglucine</i>	—	<i>rouge violet</i> (WIESNER) (37).
<i>Résorcine</i>	—	<i>violet</i> (WIESNER).
<i>Orcine</i>	—	<i>rouge violet</i> (LIPPMANN) (39).
<i>Pyrocatechine</i>	—	<i>bleu verdâtre</i> (WIESNER, IHL) (30).
<i>Naphtol</i>	—	<i>verdâtre</i> (IHL).
<i>Thymol</i>	—	<i>vert</i> .
<i>Indol</i>	—	<i>rouge cerise</i> (BAEYER, NIGGL) (40).
<i>Scatol</i>	—	<i>rouge cerise</i> (MATTIROLO) (41).
<i>Carbazol</i>	—	<i>rouge cerise</i> (MATTIROLO).
<i>Pyrrol</i>	—	<i>rouge</i> .

L'addition de chlorate de potassium renforce souvent le ton. TOMMASI (42), MOLISCH (27).

Une deuxième série de réactions de la lignine est obtenue avec un grand nombre d'amines aromatiques, en solution neutre ou acidulée, et donne à la membrane une teinte jaune. Parmi ces réactions il y en a de très anciennement connues. Ce sont surtout les sels d'aniline, et notamment le sulfate d'aniline [RUNGE (*l. c.*), SCHAPRIN-

GER (43), WIESNER (38), V. HÖHNEL (19)], la paratoluidine [SINGER (21)], la tylidine, la métaphénylendiamine [MOLISCH (28)]. Le sulfate de thalline, indiqué par HEGLER (31), donne aussi une coloration jaune.

A ces réactifs, il faut en ajouter quelques-uns couramment employés dans les laboratoires et qui colorent non seulement les membranes lignifiées, mais encore les tissus subérifiés et cutinisés, comme le *vert d'iode*, combiné généralement avec le *carmin aluné* de Grenacher, la *fuchsine ammoniacale*. Enfin, on se sert quelquefois de réactifs minéraux, et parmi eux je cite le réactif de MAULE (44), introduit depuis très peu de temps en micrographie. Cette réaction consiste à traiter les coupes par le permanganate de potassium et par l'acide chlorhydrique et à les soumettre ensuite à l'action de l'ammoniaque. Les parois lignifiées seulement prennent alors une teinte rouge, comparable à celle de la fuchsine, ou mieux encore à celle de la phloroglucine.

Tous ces réactifs, très souvent indifféremment employés pour rendre les coupes plus lisibles, sont loin d'agir de la même manière sur les tissus lignifiés, ainsi que l'a récemment montré GENEAU DE LAMARLIÈRE (34).

A ce point de vue, on peut les diviser en trois groupes que nous étudierons successivement. Nous prendrons comme types du premier groupe (groupe A) la phloroglucine et le sulfate d'aniline ; comme types du second (groupe B), le vert d'iode et la fuchsine ammoniacale. Nous y ajouterons l'iode en solution (teinture d'iode), qui est aussi un réactif du bois, bien qu'on l'emploie moins fréquemment que les deux autres, dans un troisième groupe enfin (groupe C), nous étudierons le réactif de MAULE.

Groupe A

Lorsqu'on traite un tissu ligneux par l'action combinée de la *phloroglucine* et de l'*acide chlorhydrique*, il se fait, comme on l'a dit, une belle coloration rouge cerise.

Il est bon de remarquer tout d'abord que, dans bien des cas, il n'est pas nécessaire d'ajouter de la phloroglucine pour obtenir cette réaction, et l'acide chlorhydrique employé seul suffit. Ce fait, qui paraît surprenant au premier abord, s'explique aisément lorsqu'on tient compte qu'il y a très souvent de la phloroglucine, dans les

tissus, comme l'a signalé Tschirch (45, 175). Waage (46), qui a fait une longue étude sur la répartition de cette substance chez les végétaux, a montré d'abord qu'elle y est extrêmement répandue, et qu'on la rencontre notamment dans le parenchyme cortical, surtout dans sa partie externe, dans le sclérenchyme, l'endoderme, les parois du liège mort, le parenchyme ligneux, les vaisseaux et les fibres du bois, le cambium, au niveau des rayons médullaires, les rayons médullaires. Les fibres libériennes, au contraire, et les tubes criblés en sont généralement dépourvus. Pour la moelle, les cas sont très variables.

Ainsi donc, les éléments lignifiés voisins d'une région à phloroglucine se coloreront instantanément en rouge, par addition pure et simple d'acide chlorhydrique.

Cette restriction étant faite, il est important de rechercher de quelle façon se produit la réaction, suivant les conditions d'expérience.

Avant d'employer les réactifs, on soumet généralement les coupes à l'action de l'hypochlorite de potassium ou eau de Javel, pour débarrasser les cellules des matières albuminoïdes qu'elles renferment, en d'autres termes, pour nettoyer les tissus et les rendre plus transparents. Cette action ne doit pas durer plus d'un quart d'heure.

Dans ces conditions, les réactifs tels que la phloroglucine ou le sulfate d'aniline et corps similaires, dont nous avons donné la liste plus haut, se fixent sur les membranes lignifiées ; seules ces membranes sont colorées. Les parois subérifiées ou cutinisées restent incolores, à moins cependant qu'elles ne contiennent de la lignine dans quelques-unes de leurs parties ; il n'est pas rare, par exemple, que la lamelle moyenne du liège soit lignifiée.

Dans les amas de fibres, on voit très distinctement la lamelle moyenne toujours colorée d'une façon très intense, la couche secondaire colorée aussi, quoiqu'un peu plus faiblement ; la couche tertiaire, cellulosique comme on sait, à peine teintée et souvent même tout à fait incolore.

Mais si l'on prolonge pendant un certain temps l'action de l'hypochlorite, on voit les réactions s'atténuer peu à peu, et lorsque le contact avec l'eau de Javel a duré 5 à 6 heures, on ne peut plus faire apparaître aucune coloration.

Les choses se passent de la même façon, si on remplace, comme agent oxydant, l'eau de Javel par l'acide nitrique, l'acide chromique ou le liquide d'HOFMEISTER (solution saturée de chlorate de potassium dans laquelle on verse de l'acide chlorhydrique étendu d'eau).

Groupe B

Il n'en va pas de même avec les réactifs comme le vert d'iode ou la fuchsine ammoniacale. Ces colorants diffèrent d'abord des précédents en ce qu'ils ne sont pas spéciaux aux tissus lignifiés, puisqu'ils se fixent aussi sur les membranes subérifiées et cutinisées.

Je passe sur les nuances spéciales qu'ils donnent à certains éléments du bois, sur l'intensité de la coloration qui, exaltée dans telle région d'une coupe, se trouvera affaiblie dans une autre.

On observe à ce point de vue une certaine discordance avec les effets obtenus par la phloroglucine.

Mais là où la différence est surtout frappante, c'est lorsqu'on fait agir les réactifs après un long traitement par les oxydants. Tandis que les réactions de la phloroglucine ou du sulfate d'aniline cessent de se produire au bout de quelques heures, le vert d'iode, la fuchsine ammoniacale ou la teinture d'iode diluée, continuent à colorer les tissus.

Après 10 ou 15 heures d'oxydation, le vert d'iode, par exemple, est fixé encore avec intensité. On constate simplement que, de verte qu'elle était, la coloration a viré au bleu. Bien plus, le liège et la cuticule, qui ne se colorent que faiblement, en général, dans le début, prennent des teintes de plus en plus vives à mesure que l'oxydation avance.

Si on prolonge enfin le traitement pendant 24 heures, les membranes ne se teignent plus par les réactifs ci-dessus, mais se montrent sensibles aux réactifs de la cellulose. C'est ainsi, par exemple, que si on a fait usage, pour suivre ces expériences, du vert d'iode uni au carmin aluné, on observe ce fait intéressant qu'à partir du moment où les parois cellulaires ne se colorent plus par le vert d'iode, elles prennent la coloration rouge du carmin.

Groupe C

La réaction de MAULE consiste, comme on l'a vu, à traiter d'abord les membranes par le permanganate de potassium, puis successivement par l'acide chlorhydrique et l'ammoniaque.

Les tissus sont oxydés dans le premier temps de la réaction, où le permanganate peut, d'ailleurs, être remplacé par un autre oxydant comme l'acide chromique ou le liquide d'HOFMEISTER. C'est le produit oxydé que l'ammoniaque colore en rouge.

Nous pouvons maintenant tirer les déductions suivantes des expériences qui précèdent :

On peut considérer que, dans l'oxydation des tissus lignifiés, que ce soit par l'hypochlorite ou par le permanganate (réaction de MAULE), c'est la lignine qui s'oxyde (c'est-à-dire sans doute l'hadromal de CZAPECK). La preuve en est que la membrane ainsi *délignifiée* ne se colore plus par la phloroglucine.

Les produits d'oxydation sont des acides résineux déjà entrevus par FRÉMY.

Si les colorations au vert d'iode, à la fuchsine ammoniacale ou à la teinture d'iode se manifestent encore après oxydation, c'est qu'elles portent sur d'autres substances de la membrane que la lignine. Etant donné que ces réactifs sont précisément ceux aussi des matières azotées (noyau, protoplasme), il est permis de penser qu'ils se fixent sur les substances azotées incluses dans la membrane lignifiée. C'est dans les mêmes conditions qu'ils colorent aussi les membranes subérifiées ou cutinisées.

En résumé, par conséquent, la membrane lignifiée est colorée par des réactifs nombreux agissant seulement sur certaines de ses parties constituantes.

Les réactifs du *groupe A* (phloroglucine chlorhydrique, sulfate d'aniline) se fixent sur la lignine (ou hadromal) et seulement sur cette substance ;

Les réactifs du *groupe B* (vert d'iode, fuchsine ammoniacale) ne se fixent vraisemblablement que sur les matières azotées ;

Les réactifs du *groupe C* (réactif de MAULE) ne colorent la membrane que lorsqu'elle est *délignifiée*, c'est-à-dire après oxydation de la lignine.

TECHNIQUE

PHLOROGLUCINE CHLORHYDRIQUE

On dépose la coupe sur un porte-objet, dans une goutte d'une solution alcoolique de phloroglucine. Après quelque temps, lorsque l'alcool est dilué, on recouvre la coupe avec de l'acide chlorhydrique concentré. Tous les éléments lignifiés se sont colorés en rouge, les autres sont restés incolores.

SULFATE D'ANILINE

Une solution aqueuse concentrée de cette substance est additionnée de quelques gouttes d'acide sulfurique. On dépose une goutte de ce liquide sur l'objet à examiner, placé sur un porte-objet. Ses éléments lignifiés prennent aussitôt une couleur jaune plus ou moins accentuée.

RÉACTIF DE MAULE

On laisse séjourner les matériaux d'étude pendant cinq minutes environ, dans une solution de permanganate de potassium à 1 0/0. Après un lavage à l'eau, on traite les coupes par l'acide chlorhydrique étendu, jusqu'à décoloration complète ; on lave soigneusement à l'eau, puis, toute trace d'acide chlorhydrique étant disparue, on monte les coupes encore humides dans une solution d'ammoniaque, ou bien on les expose simplement aux vapeurs de l'alcali sur le goulot du flacon. On obtient alors sur les parois lignifiées seulement une magnifique coloration rouge, comparable à celle de la fuchsine ammoniacale, ou mieux encore à celle de la phloroglucine acide.

FUCHSINE AMMONIACALE (VAN THIEGEM)

On la prépare en ajoutant à une solution alcoolique pas trop concentrée de fuchsine, de l'ammoniaque jusqu'à ce que la solution devienne jaune fauve après agitation. La solution est filtrée au bout de quelques jours et doit être conservée en flacons bien clos.

CARMINO-VERT

FORMULE ET PROCÉDÉ MIRANDE

1^o Préparation du réactif

a) Préparer, à chaud, une dissolution concentrée d'alun de potassé. Laisser refroidir et se déposer les cristaux pendant un jour ou, au moins, pendant plusieurs heures.

b) Dissoudre du carmin dans cette liqueur d'alun, jusqu'à saturation. Faire

bouillir pendant 1/2 heure environ. Laisser refroidir, filtrer. Il reste sur filtre du carmin qu'on doit recueillir et qui peut encore servir.

c) Préparer une dissolution de vert d'iode à 0,75 p. 0/0 environ.

Mélanger *b* et *c* dans les proportions de 10 cent. cubes de *b* pour 1 cent. cube de *c*. Verser *c* dans *b* peu à peu et en agitant.

Mais il vaut encore mieux procéder ainsi, pour cette dernière partie de l'opération :

Préparer au préalable quelques coupes bien traitées à l'eau de Javel et lavées à l'eau.

Dans le carmin, verser peu à peu du vert d'iode. Essayer le mélange sur des coupes, et arrêter le mélange du vert d'iode dans le carmin, dès que ce mélange colore en *beau vert* les éléments ligneux. L'action du rouge est toujours certaine.

Dans le liquide ainsi obtenu, verser 1 cent. cube d'acide phénique pour un litre.

Le carmino-vert ainsi préparé se conserve très longtemps, avec toutes ses propriétés. Ses qualités s'accroissent même en vieillissant.

2° Usage du réactif

Ce réactif, très commode, évite les longues séries de manipulations usitées généralement en pareil cas. Il permet en quelques minutes d'avoir des coupes bien colorées :

- 1° Décolorer les coupes à l'eau de Javel ;
- 2° Lavage à l'eau ordinaire ;
- 3° Placer les coupes dans quelques gouttes de carmino-vert pendant quelques minutes ;
- 4° Lavage des coupes à l'eau ;
- 5° Monter à la glycérine pour l'observation immédiate.

Les tissus cellulotiques sont colorés en rouge, les tissus incrustés en vert. Souvent le vert donne des teintes différentes suivant l'état des membranes lignifiées, cutinisées et subérifiées. Il n'est pas rare d'obtenir avec ce réactif, suivant l'état des membranes, des triples colorations. Certaines membranes lignifiées se colorent en *bleu*, on a ainsi *bleu, vert* et *rouge*.

Nota. — Le succès de la réaction dépend surtout de l'opération n° 2. Après l'action de l'eau de Javel, il faut un bon lavage à l'eau.

BIBLIOGRAPHIE

1. HARZ. — *Ueber die Verholzung, etc., spec. über das Vorkommen von Lignin in Samenschalen.* Bot. Centr., 1885.
2. LEMAIRE (Ad.). — *De la lignification de quelques membranes épidermiques.* Ann. sc. nat., 6^e série, t. XV, p. 297-302.
3. HARTWIG. — *Berichte d. deutsch. bot. Ges.*, 1885.
4. TISON. — *Recherches sur la chute des feuilles, chez les Dicotylédones.* Thèse. Caen, 1900.
5. LECOMTE. — *Contribution à l'étude du liber des Angiospermes.* Ann. sc. nat., 7^e série, t. X, 1889.
6. CORRENS. — *Zur Kenntniss der inneren Structur der Zellmembranen.* Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXIII, 1891.
7. BARANETZKI. — *Epaisissement des parois des éléments parenchymateux.* Ann. sc. nat., 7^e série, t. IV, 1886.
8. MIRANDE (Marcel). — *Recherches physiologiques et anatomiques sur les Cuscutacées.* Bull. scientifique de la France et de la Belgique. Ext. du t. XXXV, 1900.
9. HOPPE-SEYLER. — *Zeitschrift. f. physiol. Chemie.* Bd. XIII, p. 84, 1888.
10. J.-B. LINDSEY et B. TOLLENS. — *Annalen d. Chemie und Pharm.* Bd. 167, p. 370, 1891.
11. — *Holzsulfitflüssigkeit u. Lignine.* Id. p. 341.
12. GILSON. — *La cristallisation de la cellulose.* « La cellule », t. IX 2^e fascicule. 1893.
13. H.-J. WHEELER et B. TOLLENS. — *Ann. d. Chemie.* Bd. 254. p. 304, 1889.
14. E.-W. ALLEN et B. TOLLENS. — *Id.* Bd. 260, p. 289, 1890.
15. G. BERTRAND. — *Recherches sur la composition immédiate des tissus végétaux.* C. R., 1892, 1492.
— *Bull. Soc. Chim., Paris, t. III, 7^e série, p. 468.*
— *Sur la présence de la mannocellulose dans les tissus ligneux des plantes gymnospermes.* C. R., 1894, p. 1025.

16. TIEMANN et HAARMANN. — Chem. Berichte. Bd. 7, p. 608, 1874.
17. E. TANGL. — Flora, 1874, p. 239.
18. F. v. HÖHNEL. — *Histochem. Untersuchungen über d. Tylophilin und Coniferin*. Wiener Akademieberichte. Bd. 76, I, p. 663, 1877.
19. — Sitz. der Wiener Ak. Bd. 76, I, p. 527.
20. M. SINGER. — Wiener Akademieberichte. Bd. 85, p. 346, 1882.
21. — Id. Bd. 85, I. p. 358. 1883.
22. E. NICKEL. — Chemikerztg, 1887, p. 1520.
— Bot. Centr., Bd. 38, p. 753, 1889.
— *Farbenreactionen der Kohlenstoffverbindung*, 1890, p. 32.
23. TH. SELIWANOFF. — *Ueb. Holzstoff und seine Reactionen*. Travaux de la Soc. d'hist. nat. de Saint-Petersbourg. Chap. d. Bot. XX, 1889, p. 20 (en russe). Anal. par Rotbert dans Bot. Centr. Bd. 45, p. 279, 1891.
24. F. CZAPECK. — *Zur Chemie der Holzsubstanz*. Sitz. d. d. Naturw. Medicin. Vereins f. Böhmen « Lotos », 1898, n° 7.
— *Ueber die sogenannten Ligninreactionen des Holzes*. Hoppe-Seyler's Zeitschrift f. physiol. Chemie, t. XXVII, 1899, p. 141.
25. — *Zur Biologie der Holzbewohnenden Pilze*. Ber. d. d. Bot. Ges. Bd. XVII, 1899, p. 166.
26. — *Sur quelques substances aromatiques contenues dans les membranes cellulaires des plantes*. Actes du Congrès internat. de Botanique. Paris, 1900, p. 14.
27. H. MOLISCH. — Berichte der. d. bot. Ges. Bd. 4, Hoft. 7, 1886.
28. — Verhandl. d. Zool. bot. Ges. in Wien, 1887, p. 30.
29. A. IHL. — Chemikerztg, 1889. Bd. 13, p. 432-560 ; 1891, p. 201.
30. — Id. 1885, p. 266.
31. HEGLER. — Flora, 1890, p. 33. Bot. Centr. Bd. 38, p. 616, 1889.
32. R. HARTIG. — *Die Zersetzungsercheinungen des Holzes der Nadelholzbaüme und der Eiche*. Berlin, 1878. V. aussi : *Lehrbuch der Baumkrankheiten*. 2. Aufl. Berlin, p. 161.
33. WILKOMM. — *Die mikroskopischen Feinde des Waldes*, p. 68, 1886.
34. GENEAU DE LAMARLIÈRE. — *Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées*. Rev. gén. de Bot. 1903, p. 149-221.

35. GENEAU DE LAMARLIÈRE. — *Quelques observations sur le molybdate d'ammoniaque employé comme réactif des membranes cellulaires.* Bull. Soc. bot. de France, 1902, p. 183.
36. RUNGE. — Poggendorf's Annalen. Bd. 31, p. 65, 1834.
37. WIESNER. — *Ueber das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandten Körper zu verholzten Zellmembranen.* Sitzungs. d. Wiener Ak. Bd. 77, I, p. 60-66, 1878.
38. — *Karten's botan. Untersuchungen.* Bd. 1, p. 120, 1866.
39. LIPPMANN. — Cité par WIESNER.
40. NIGGL. — Flora, 1881, p. 545. V. BAEYER. Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd., 140.
41. O. MATTIROLO. — Zeitsch. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 2, p. 354, 1885.
42. J. et T. TOMMASI. — Chem. Ber., 1881, p. 1834.
43. SCHAPINGER. — Wochenschr. d. niederösterr. Gewebevereins. Bd. 26, p. 326.
— Dingler's polytechn. Journal, 1856. Bd. 176, p. 166.
44. MAULE. — *Das Verhalten verholzter Membranen gegen Kaliumpermanganat; eine Holzreaction.* Funfstück's Beiträge zur wiss. Bot. 1900, Bd. IV, p. 166.
45. TSCHIRCH. — *Angewandte Pflanzenanatomie*, 1889.
46. TH. WAAGE. — *Ueber das Vorkommen und die Rolle des Phloroglucins in der Pflanze.* Ber. d. d. bot. Ges. Nov. 1890.

§ II. — SUBÉRINE

VON HOHNEL a donné le nom de subérine à la substance qui imprègne certains tissus, et en particulier le liège.

RÉPARTITION DE LA SUBÉRINE

Comme la lignine, c'est surtout chez les Phanérogames qu'on la rencontre. VAN TIEGHEM (1) aurait cependant constaté la présence du liège dans les grosses racines d'*Angiopteris*. RICHTER (2) et MANGIN (3) signalent la subérine chez quelques Champignons (*Daedalea*, *Polyporus*, *Trametes*).

Chez les Phanérogames, en dehors du liège, on peut la caractériser parfois dans les tissus les plus divers, mais c'est dans les appareils sécréteurs qu'elle se montre encore avec le plus de constance. ZACHARIAS (5) a montré son existence dans de nombreuses cellules sécrétrices dont les membranes ont absolument la même constitution que celle du liège : dans les cellules à huile essentielle de la tige et des feuilles d'*Acorus calamus* ; dans les écorces de *Croton Eleuteria*, *Camphora officinarum*, *Sassafras officinalis* et *Canella alba* ; dans les cellules sécrétrices et à raphides de la feuille d'Aloès. TSCHIRCH (6, 180) considère la subérification des cellules sécrétrices comme un phénomène très répandu et même constant, et la décrit en particulier dans les cellules à résine et à mucilage des Lauracées. Dans le *Cinamomum Cassia*, certaines cellules remplies de protoplasme subérifient graduellement leurs membranes dans la partie moyenne, tandis que la couche interne se transforme en mucilage. Plus tard, c'est dans ces mêmes cellules que naîtra aussi la résine. Pour VAN WISSELINGH (7), les canaux sécréteurs des fruits d'Ombellifères sont revêtus intérieurement d'une substance voisine de la subérine, mais non identique cependant, et qu'il nomme *vittine*.

La subérine joue enfin un rôle très important dans les phénomènes

nes de cicatrisation comme l'ont montré MASSART (9) et TISON (10) : la plante revêt toujours sa surface blessée, d'une couche de liège qui la sépare du milieu extérieur. Dans le cas particulier de la cicatrisation, lors de la chute des feuilles, on a vu que le premier acte de défense de la plante est la ligno-subérisation des cellules extérieures. L'ensemble des parois se lignifie, tandis que chaque cellule s'entoure d'un revêtement interne de subérine. Mais ce n'est là qu'un moyen de protection provisoire permettant d'attendre la formation, au moyen d'un méristème qui va entrer en fonction, d'une couche de liège secondaire qui assurera la cicatrisation définitive (TISON).

CONSTITUTION DE LA MEMBRANE SUBÉRIFIÉE

DE BARY (11) et VON HOHNEL (12) ont établi que la membrane subérifiée (c'est celle du liège que les auteurs ont en vue), comprend d'abord une lamelle moyenne commune à deux cellules voisines et formée de cellulose souvent incrustée de lignine ; puis une couche secondaire dans laquelle la subérine se trouve localisée, et enfin une couche tertiaire cellulosique.

La couche secondaire est formée exclusivement de subérine et ne renferme pas de cellulose, ainsi que l'ont montré VAN WISSELINGH (18) et GILSON (13). L'enveloppe de cellulose étant la plus interne, se forme évidemment en dernier lieu. Cette dernière manque cependant quelquefois, dans les parois subérifiées délicates, comme celles du liège, de la pomme de terre, ou les parois de beaucoup de cellules à essence. Quand elle existe, elle ne contient jamais de subérine, mais peut être parfois lignifiée, tout aussi bien que la lamelle moyenne.

La couche secondaire à subérine est, le plus souvent, très mince, tandis que la couche cellulosique atteint une épaisseur assez grande en général.

Les trois couches sont surtout faciles à distinguer dans le liège à bouchons du *Quercus suber*.

L'endoderme, qui est souvent subérifié, a la même structure que le liège, mais cependant la lamelle de cellulose peut parfois manquer (racine d'Hellébore, d'Arnica, Rhizome de Curcuma, etc.). Par contre, elle est puissamment développée ailleurs (racine de Salsepareille et de Cévadille).

COMPOSITION CHIMIQUE ET CARACTÈRES DE LA SUBÉRINE

La subérine, qui forme à elle seule, comme nous l'avons dit, la couche secondaire de la membrane du liège, possède une constitution assez complexe et qui est loin d'être complètement élucidée.

Cette substance, à laquelle FRÉMY et URBAIN (15) avaient donné le nom de *cutose*, a des caractères tout différents de ceux que nous avons constatés jusqu'ici dans la membrane. C'est un corps de la nature des graisses, ainsi que cela résulte notamment des analyses qu'en ont faites KUGLER et GILSON (*l. c.*).

Ces auteurs ont d'abord isolé du tissu subéreux une série d'acides gras : l'*acide stéarique* et des acides nouveaux, les acides *phellonique*, *subérinique* et *phloïonique*. En outre, il suffit de traiter du liège par le chloroforme bouillant, comme l'a fait KUGLER, pour y trouver de la *glycérine* et une sorte de cire à laquelle on a donné le nom de *cérine*. Cette cire est tellement abondante dans le chêneliège qu'elle cristallise même dans l'intérieur des cellules, sous forme de bâtonnets ou de longues aiguilles, toujours accolés à la face interne de la membrane (GILSON).

Il suffit d'ailleurs de chauffer légèrement une coupe de liège pour voir la *cérine* se répandre dans la préparation sous forme de gouttelettes. KUGLER qui, en traitant le liège par la potasse, en avait isolé, d'une part, de l'*acide stéarique* et de l'*acide phellonique*, et, d'autre part, de la *glycérine*, pensait avoir réalisé une véritable saponification et admettait dans le tissu subéreux la présence d'éthers de la *glycérine*, de corps gras neutres par conséquent. Tel n'est pas l'avis de GILSON, pour qui les corps en question ne sont pas des corps gras, *au sens propre du mot*.

Il est de fait que la subérine est insoluble en totalité dans les dissolvants ordinaires des graisses. Elle est de plus infusible ou peu fusible (sauf la *cérine*), tandis que les graisses ont, au contraire, des points de fusion relativement bas.

Il est donc probable que la subérine est, ou bien un mélange d'éthers composés, peu fusibles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, etc., ou bien, un produit de combinaison, de condensation ou de polymérisation des acides nommés plus haut ou de leurs dé-

rivés. Si elle est formée d'éthers, rien ne s'oppose à ce qu'ils admettent la glycérine dans leur molécule, non pas pour former de véritables graisses, mais simplement des composés voisins des corps gras, par quelques-uns de leurs caractères.

RÉACTIONS DE LA SUBÉRINE

Quant aux caractères chimiques de la subérine, ils peuvent être ainsi résumés :

La chaleur seule amène la formation de gouttelettes de cérine autour des membranes subérifiées. Si, tout en chauffant, on ajoute de la potasse concentrée, les gouttelettes prennent une coloration jaune et les membranes se trouvent teintées de la même couleur (HÖHNEL). Le réactif de SCHULZE ne dissout les membranes subérifiées ni à froid ni à chaud.

Lorsqu'on traite d'abord par la potasse, puis par le chlorure de zinc iodé, une coupe de liège, la couche secondaire, seule subérifiée, comme on l'a dit, se colore d'abord en rose violacé, puis en rouge cuivreux.

Cette réaction, voisine de celle de la cellulose, avait fait admettre par plusieurs auteurs, et par VON HÖHNEL entre autres, la présence de ce corps dans la lamelle subéreuse. Mais il n'est pas nécessaire d'employer le chlorure de zinc iodé pour avoir cette coloration, et VAN WISSELINGH a pu l'obtenir simplement avec l'iode dissous dans l'iodure de potassium. On ne pouvait donc plus l'attribuer à la cellulose, et GILSON a montré, en effet, qu'elle était due à l'acide phellonique, l'un des constituants de la subérine. Sous l'influence de la potasse, il se fait du phellonate de potassium, et c'est ce sel qui se colore en rouge cuivreux par le chlorure de zinc iodé.

Comme colorants organiques de la subérine, on doit surtout citer la teinture d'*Alkanna* et le Soudan III, qui sont d'excellents réactifs. La fixation de l'*Alkanna*, indiquée par PETIT (16), s'explique, étant donné que la subérine est un corps de la nature des graisses.

Enfin, on a déjà vu que le *vert d'iode*, la *fuchsine ammoniacale* coloraient le tissu subéreux en se fixant sur les composés azotés que leur membrane renferme sans doute, car, suivant GENEAU DE LAMARLIÈRE (17), on ne peut admettre qu'ils portent leur action sur la subérine, pas plus d'ailleurs que sur la cutine.

TECHNIQUE

RÉACTION DE HÖHNEL.

Les coupes sont traitées par une solution aqueuse concentrée de potasse et chauffées. Le tissu tubéreux prend une coloration jaune.

RÉACTION DE GILSON.

Après avoir fait subir aux tissus l'action de la potasse aqueuse à chaud, on les traite par le chlorure de zinc iodé. Coloration rouge-violacé, puis rouge cuivreux du liège.

TEINTURE D'ALKANNA. (Formule de GUIGNARD.)

La teinture d'orcanette, préparée par simple dissolution de l'orcanette dans l'alcool, précipite toujours. On évite cet inconvénient en se servant de la formule suivante :

On laisse en contact pendant un jour 10 grammes d'orcanette pulvérisée avec environ 30 cc. d'alcool absolu, on filtre et on chasse l'alcool à l'étuve. Le résidu est dissous dans 5 cc. d'acide acétique cristallisable, puis additionné de 50 cc. d'alcool à 50° ; on filtre après 24 heures. La teinture obtenue de cette façon se conserve limpide ; l'acide acétique, seul acide capable de dissoudre la matière colorante de l'orcanette, rend son action plus rapide et plus intense.

Pendant le temps nécessaire à la coloration des coupes, il faut éviter que la teinture ne précipite par suite de l'évaporation de l'alcool ; quand cela arrive, il suffit d'ajouter quelques gouttes de ce liquide pour lui rendre sa limpidité.

TRIPLE COLORATION (PETIT).

Les coupes sont d'abord traitées par la potasse, puis par l'eau de Javel, pour détruire le contenu des cellules. On lave à l'eau distillée, et on colore le liège en *rouge* par l'alkanna. La coupe est ensuite placée dans la solution alcoolique de vert d'iode, puis lavée à l'alcool. Le bois seul est coloré en *vert*. Enfin, on colore en *jaune* les membranes pecto-cellulosiques par l'acétate de plomb et le bichromate de potassium.

§ III. — CUTINE

La cutine, ou cutose de FRÉMY, forme la cuticule qui revêt les cellules épidermiques et s'étend avec une épaisseur égale sur les poils. Très mince chez les plantes de climats humides, où elle est directement appliquée contre la membrane pecto-cellulosique des cellules, la cuticule est beaucoup plus épaisse chez les plantes de climats secs, où elle est même renforcée, d'une manière générale, par les couches cuticulaires situées au-dessous d'elle et constituées par de la cutine mêlée aux substances pecto-cellulosiques.

CONSTITUTION ET CARACTÈRES CHIMIQUES

D'après MANGIN (4), c'est aux dépens des composés pectiques que prend naissance la cutine.

Sa constitution chimique et ses caractères sont voisins de ceux de la subérine, mais ne sont pas identiques.

Le trait le plus caractéristique de la cutinisation, c'est qu'elle consiste dans une imprégnation tardive de la membrane pecto-cellulosique par la cutine.

C'est elle aussi qui forme l'enveloppe externe ou exine du grain de pollen et des spores.

POUR VAN WISSELINGH (*l. c.*), l'acide phellonique, qui existe toujours dans la subérine, manque constamment dans la cutine. Suivant HOHNEL, le liège est souvent pauvre en cérine, tandis que la cutine en est au contraire toujours abondamment pourvue. Elle se distingue aussi de la subérine en ce qu'elle résiste beaucoup mieux à l'action de la potasse.

On peut de même constater des différences entre les cutines de diverses origines. Ainsi l'exine du grain de pollen et des spores ne se comporte pas de la même façon que la cuticule d'un épiderme. Entre autres caractères, elle présente celui de se dissoudre plus

facilement dans l'acide chromique (STRASBURGER(19,527). La même différence se manifeste entre l'exine et le périnium des spores de certaines Cryptogames (*Salvinia*). Le périnium, ou enveloppe périphérique à structure alvéolaire (19, 507), présente les réactions colorées de la cutine tout aussi bien que l'exine qui est au dessous de lui, mais il reste longtemps sans être attaqué, même par des solutions fortes d'acide chromique, tandis que l'exine s'y dissout après un temps très court.

Quant aux réactions colorées de la cutine, elles sont les mêmes que celles de la subérine, et nous renvoyons le lecteur à celles que nous avons déjà indiquées à ce sujet.

§ IV.— CIRE

Par sa constitution chimique, la cire végétale doit être placée à côté de la subérine et de la cutine.

Elle revêt les épidermes et s'étale au-dessus de la cuticule de beaucoup de tiges, de feuilles ou de fruits.

CONSTITUTION ET CARACTÈRES CHIMIQUES

Les revêtements cireux ne sont jamais entièrement constitués par de la cire pure, mais contiennent souvent aussi des graisses, des acides gras, etc., en quantité variable. D'ailleurs, l'étude microchimique montre que les variétés de cire ne se comportent pas toujours de la même façon. Il n'est pas rare de trouver aussi de la silice mélangée à l'enduit cireux.

La cire disparaît par l'eau chaude : elle est insoluble ou peu soluble dans l'alcool froid, facilement soluble dans l'alcool chaud et l'éther. Saponifiés, les éthers des acides gras de la cire ne donnent pas de glycérine.

STRUCTURE DU REVÊTEMENT CIREUX

Les revêtements cireux se présentent sous trois formes principales : en granulations, sous forme de bâtonnets, et sous forme de couches plus ou moins épaisses.

Les granulations représentent la forme la plus fréquente. Elles sont le plus souvent disposées en une seule couche (chou, feuille de tulipe ou d'iris, prune, etc.).

Les bâtonnets sont la forme la plus rare. Le revêtement cireux bien connu des entre-nœuds de la canne à sucre en est le meilleur exemple. On les retrouve encore chez d'autres Graminées et Scitaminés (*Helicornia farinosa*, *Strelitzia ovata* et plusieurs espèces de Sorgho).

Dans la troisième forme, la cire se trouve déposée, soit en couches, soit en croûtes superposées. A ce cas appartiennent toutes les plantes dont la sécrétion cireuse est exploitée industriellement, comme certaines espèces de *Klopstokia* et de *Ceroxylon*, dont le revêtement cireux sur le tronc peut atteindre souvent une épaisseur de 5 millim.

Ces revêtements cireux en couches, surtout quand ils sont importants, montrent souvent une striation perpendiculaire à la surface de l'organe et une stratification très apparentes. Dans tous les cas, la cire, une fois enlevée sur la plante jeune, peut être facilement régénérée (DE CANDOLLE, 20, 233).

Quant au processus suivant lequel la cire se forme, il est loin d'être expliqué. Tout ce qu'on peut en dire, c'est que la cire sécrétée peut être retrouvée dans la cuticule. Elle sort ensuite à la surface. Mais, on ne peut jamais trouver dans l'intérieur des cellules, une trace de cire qui soit ensuite exsudée à l'extérieur ; dans aucun cas, n'a lieu non plus la transformation de la cuticule en cire. On peut donc admettre, avec DE BARY (11), qu'il s'agit là d'une sécrétion du protoplasma, dont les produits vont se déposer à l'extérieur de la cellule.

§ V. — AUTRES SUBSTANCES INCRUSTANTES DE LA MEMBRANE

Sphagnol

Les Mousses ne renferment jamais d'hadromal, corps si fréquent au contraire chez les Phanérogames, mais elles contiennent un phénol de même nature qui a la propriété de se colorer en un rouge magnifique, par le réactif de MILLON. Ce corps, que CZAPECK (23) a nommé *sphagnol*, se trouve abondamment répandu chez les *Sphagnum* et, en général, chez les Mousses habitant les endroits humides. Doué de propriétés antiseptiques énergiques, il jouerait un rôle important dans la préservation de ces plantes contre tous les micro-organismes qui pullulent dans les lieux humides où elles vivent.

Tanins

Chez les Mousses des régions sèches, surtout chez les Dicranacées, c'est une sorte de tanin, l'*acide dicranumtanique*, qui incruste la membrane. Sous l'action des sels ferriques, celle-ci prend une coloration noirâtre (CZAPECK, *l. c.*).

On attribue également à une substance de même nature, la coloration brune du sclérenchyme et autres tissus lignifiés des Fougères. On sait aussi que les membranes des cellules à parois minces des écorces de quinquina, de cannelle, de chêne, de saffras, sont brunes. Elles ne possèdent pas cette coloration à l'état frais, mais, par contre, il existe dans les cellules des acides taniques divers qui, s'oxydant facilement au contact de l'air, se transforment en des corps rouges tels que le rouge de quinquina (acide quinnotanique), le rouge de chêne (acide quercitanique), etc. Ces substances, que l'on a nommées *phlobaphènes*, sont absorbées avec avidité par la membrane morte. Elles lui sont si intimement liées, qu'on ne peut les en extraire que très lentement par la potasse à l'alcool.

Matières colorantes

La membrane cellulaire s'imprègne parfois de diverses matières colorantes encore mal connues. Ces substances se trouvent dans des parois déjà lignifiées ou subérifiées. C'est à elles que sont dus cer-

tains bois colorés si communément employés dans l'industrie. Tels sont : le bois de santal, coloré en rouge par la *santaline* ; le bois de campêche, coloré en rouge sombre par l'*hématoxyline*, qui devient violet-noirâtre par l'ammoniaque ; le bois de Fernambouc, coloré en jaunâtre par la *brasiline*, qui devient rouge carmin, si on y ajoute une trace d'alcali ; le bois jaune du mûrier, coloré par un tanin, l'acide morintanique, et par la *morine*, etc.

L'aubier de ces arbres est toujours incolore ; c'est dans le cœur du bois que la matière colorante est localisée. Elle se produit aussi, dans le bois protecteur qui se forme aux endroits blessés.

Résine

La paroi cellulaire peut aussi s'infiltrer de résine. Ceci n'arrive, toutefois, que chez les plantes possédant des réservoirs à résine, et s'observe dans les vieux troncs des Conifères. Il se produit ainsi ce qu'on appelle du bois résineux. C'est là, évidemment, un signe de dépérissement et même de la mort du bois qui en est atteint. D'ailleurs, comme l'incrustation par des matières colorantes, la résinification se montre communément dans les tissus blessés des Conifères les plus diverses.

Chitine

Si les travaux de WIESNER et de KRASER laissent penser qu'il existe des matières albuminoïdes dans la membrane, les recherches plus récentes de GILSON (14) et de WINTERSTEIN (21) ont prouvé la présence d'une matière azotée dans la membrane des champignons (*Polyporus*, *Claviceps purpurea*, *Agaricus campestris*). Cette substance est identique à la *chitine* animale et, comme celle-ci, traitée par l'acide chlorhydrique, fournit de la glucosamine. Au contact de l'iode et de l'acide sulfurique la chitine donne une teinte rose violacée qui peut la faire confondre avec la cellulose ou l'amyloïde.

IWANOFF (22), en étudiant l'*Aspergillus niger*, *Boletus edulis*, *Claviceps purpurea*, *Bacillus megatherium*, *B. Anthracis*, *Micrococcus pyogenes aureus*, a pu obtenir la réaction de la chitine et en conclut à sa présence chez ces végétaux. D'ailleurs, leur membrane traitée par l'acide chlorhydrique donne de la glucosamine, comme dans les expériences de GILSON et de WINTERSTEIN.

Matières minérales

Outre les nombreuses matières organiques incluses dans la membrane et dont il a été question jusqu'ici, la paroi cellulaire est toujours imprégnée de substances minérales : silice, oxalate ou carbonate de calcium. La plupart des membranes en sont même si abondamment pourvues, que si on les calcine avec précaution, on peut conserver leur forme intacte. L'union de ces matières minérales avec les substances organiques de la membrane paraît, d'ailleurs, très intime et l'on sait que dans les cystolithes, par exemple, les fins cristaux de carbonate de calcium sont englobés dans une trame très fine formée surtout de callose. Il est vrai qu'à côté de cela, on trouve des membranes dans lesquelles le sel minéral, qui est ici l'oxalate de calcium, au lieu d'être uniformément réparti, s'y montre enchassé sous forme de cristaux relativement volumineux. Les procédés employés pour caractériser ces matières minérales sont trop connus pour que j'aie à les décrire ici. Je me bornerai à indiquer comme réactif nouveau le *vert d'anthracène en poudre*, qui a permis à MANGIN de déceler les incrustations d'oxalate de calcium dans la membrane des Mucorinées.

Emploi du vert d'anthracène en poudre (MANGIN) [1]

Ce produit se rencontre, dans le commerce à l'état de poudre noire insoluble dans l'eau, l'alcool, les acides, mais soluble dans les sels alcalins et surtout dans les alcalis.

Les solutions ont une belle couleur verte tant qu'elles sont fraîchement préparées ; mais, au bout de deux ou trois jours, elles s'altèrent et brunissent. Aussi, ne doit-on employer que des solutions récentes, notamment des solutions ammoniacales ; ce sont celles qui conviennent le mieux.

Pour préparer la solution, on place 10 centimètres cubes d'eau, dans un tube à essai, on y ajoute 3 à 4 centimètres cubes d'ammoniaque, puis on y introduit à peu près le volume d'un grain de blé de la matière colorante, on agite le liquide et on filtre. Ce liquide filtré est employé immédiatement ; il colore en vert les membranes incrustées d'oxalate de calcium. On s'en sert en traitant d'abord les objets à étudier par l'alcool, puis les disposant sur le porte-objet et les baignant à plusieurs reprises par quelques gouttes de la solution de vert d'anthracène. Au bout de quelques minutes de contact, on lave à l'eau distillée et on recouvre d'une lamelle couvre-objet.

(1) Le vert d'anthracène est délivré par la maison Bayer et Cie, à Elberfeld.

Dans un milieu neutre et après lavage, la teinte verte peut être conservée un certain temps. Si on humecte la préparation avec un acide, elle devient noire et peut être conservée indéfiniment.

Enfin, GENEAU DE LAMARLIÈRE (18) a reconnu, comme on l'a dit, la présence de phosphates et peut-être aussi de silicates dans les membranes lignifiées; on les caractérisera facilement par la réaction du molybdate d'ammonium, qui colore ces sels en jaune. Il se fait, en effet, un précipité de phosphomolybdate quand on traite de cette façon un phosphate soluble. Ce précipité, traité à son tour par du chlorure stanneux, abandonne de l'oxyde bleu de molybdène. On a donc, avec le chlorure d'étain, un moyen de contrôler la première réaction.

BIBLIOGRAPHIE

1. VAN TIEGHEM. — Bull. Soc. bot. de France, 1888, p. 171.
2. RICHTER. — *Beiträge zur genaueren Kenntniss der chemischen Beschaffenheit der Zellmembranen bei den Pilzen*. Sitz. d. k. Acad. d. W. in Wien. Bd. 83, I, p. 494.
3. L. MANGIN. — *Observations sur la constitution de la membrane chez les Champignons*. C. R., 4 déc. 1893.
4. — *Recherches anatomiques sur les Pénoresporées*. Bull. de la Soc. d'hist. nat. d'Autun, t. VII, 1895.
5. ZACHARIAS. — *Ueber Secret-Behälter mit verkorkten Membranen*. Bot. Zeit., 1879.
6. TSCHIRCH. — *Angewandte Pflanzenanatomie*, 1889.
7. VAN WISSELINGH. — *Sur les bandelettes des Umbellifères*. Arch. Néerland, t. XXIX, p. 199-232.
8. — *Sur la paroi des cellules subéreuses*. Arch. Néerland. des Sc. exactes et nat., t. XII, 1^{re} livraison, 1888.
9. J. MASSART. — *La cicatrisation chez les végétaux*. Ext. des Mém. couronnés et autres. Mém. publ. par l'Ac. royale de Belgique.

10. A. TISON. — *Recherches sur la chute des feuilles chez les Dicotylédones*. Thèse Caen, 1900.
11. DE BARY. — *Vergleichende Anatomie*.
12. V. HÖHNEL. — *Ueber den Kork und verkorkte Gewebe überhaupt*. Sitz. d. Wien. Ak. Bd. LXXVI, I, p. 507.
13. E. GILSON. — *La subérine et les cellules du liège*. « La cellule », t. VIII, 1891.
14. — *Recherches chimiques sur la membrane cellulaire des champignons*. « La cellule », t. XI, 1^{er} fascicule, 1894.
— *Note sur le corps azoté de la membrane cellulaire des champignons*. Bull. Soc. Chim., nov. 1894.
— *Das Chitin und die Membranen der Pilzzellen*. Ber. a. d. Chem. Ges. Jahrgang, XXVIII. Heft 7, 1895.
15. FRÉMY et URBAIN. — *Études chimiques sur le squelette des végétaux*. J. de Pharm. et Ch., 8^e série, t. V, 1882.
16. L. PETIT. — *Procédés de coloration du liège par l'Alkanna, de la cellulose par les sels métalliques. Triple coloration*. Ext. du proc.-verb. de la Soc. des Amis des Sc. nat. de Rouen. Janv. 1903.
17. GENEAU DE LAMARLIÈRE. — *Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées*. Rev. gén. de Bot., 1903, p. 149 et 221.
18. — *Observations sur le molybdate d'ammonium employé comme réactif des membranes cellulaires*. Bull. Soc. bot. de France, 1902, p. 183.
19. STRASBURGER. — *Das botanische Praktikum*, 1897.
20. DE CANDOLLE. — *Physiologie*.
21. WINTERSTEIN. — Ber. d. d. bot. Ges., 1893, p. 441.
— *Ueber ein stickstoffhaltiges, etc.*, Ber. d. d. Chem. Ges. t. XXVII, p. 3-113.
22. IWANOFF K.-S. — *Ueber die Zusammensetzung der Eiweissstoffe und Zellmembranen bei Bakterien und Pilzen*. Beiträge zur Chemie, Physiologie und Pathologie. Bd. I, p. 524-537, 1902.
23. CZAPECK. — Actes du Congrès international de Botanique de 1900, p. 14.

TROISIÈME PARTIE

DÉGÉNÉRESCENCE DE LA MEMBRANE

On peut bien appeler de ce nom ces transformations dont la membrane est souvent le siège et qui font de la substance organisée qu'est la paroi cellulaire, une matière complètement amorphe. Cette expression est d'autant plus justifiée, que la membrane naît d'un processus inverse, puisque, pour la former, les matériaux produits par l'activité du protoplasme prennent peu à peu la forme organisée.

La forme la plus simple de cette dégénérescence est une hypertrophie de la cellule, se produisant dans le voisinage des vaisseaux morts et donnant des hernies parfois volumineuses qui pénètrent dans ces éléments et finissent par les obstruer complètement. Ce sont les *thylles*, dont l'apparition précède souvent celle de la gomme.

D'autres fois, l'altération de la membrane est plus profonde et plus rapide à la fois, et donne naissance à ces produits demi-solides qu'on appelle les *gommes* ou les *mucilages*, ou bien encore elle produit des *résines* ou des *essences*. Enfin le terme le plus avancé de cette dégénérescence est la dissolution pure et simple de la paroi cellulaire. Tantôt c'est la callose qui se liquéfie, comme cela a été dit déjà tantôt ce sont des membranes pecto-cellulosiques, celles de certains albumens par exemple, dont la dissolution par une diastase est liée à l'acte de la germination.

Ces altérations sont souvent pathologiques et témoignent d'un état maladif de la plante ; mais il n'est pas rare qu'elles soient simplement physiologiques et aient alors un rôle bien déterminé dans la vie du végétal. C'est ce qui se produit pour la gomme, dont l'apparition a souvent son utilité ; mais c'est surtout le cas de la liqué-

faction des albumens, phénomène non seulement normal mais encore indispensable, puisqu'il concourt à un but essentiel, la nutrition de l'embryon.

Nous allons passer en revue ces diverses formes de la dégénérescence de la membrane.

§ I. — THYLLES

Lorsque les vaisseaux du bois sont hors d'usage et ne servent plus à conduire la sève, les cellules du parenchyme ligneux, qui les bordent, prolifèrent à travers leurs ponctuations et forment des hernies qui, grossissant de plus en plus dans l'intérieur du vaisseau, finissent par le remplir. Le phénomène est dû à la pression osmotique de ces cellules qui, n'étant plus équilibrée du côté du vaisseau, force les membranes minces du parenchyme à se dilater et à pénétrer dans les seuls passages qui se présentent à elles : les pores du vaisseau. Ce phénomène, tout à fait normal, se produit parfois avec une grande régularité ; c'est ce qui a lieu dans le faux *Acacia* (*Robinia pseudo-acacia*), où il commence, à chaque automne, dans tous les vaisseaux nés au printemps. Très souvent aussi, il se produit à la suite d'une simple section de tige, feuille ou racine. Tous les vaisseaux d'un cep de Vigne ou d'une tige de Balisier que l'on vient de couper, se remplissent de thylls dans le voisinage de la section. Le phénomène précède ici la formation du liège de cicatrisation de la blessure.

Les grains d'amidon et autres produits figurés rencontrés dans les vaisseaux, n'ont pas d'autre origine que les cellules des thylls. Chemin faisant, ces diverticulum se séparent par une cloison de la cellule qui lui a donné naissance, et munis d'un noyau, ils peuvent se diviser et constituer une sorte de nouveau parenchyme dans le conduit vasculaire.

§ II. — GOMMES

Les gommés sont extrêmement voisines des composés pectiques par leurs propriétés chimiques, l'acide pectique constituant, en effet, une grande partie de la gomme adragante, et l'acide métapectique ayant été identifié à l'acide arabe de la gomme arabe.

Les travaux de MANGIN sur les composés pectiques devaient l'amener à déterminer la véritable origine des gommés, et on lui doit de connaître le lien étroit qui les relie à la membrane cellulaire.

Leur production, comme d'ailleurs celle des mucilages, est le résultat d'une transformation moléculaire de la membrane pectosique, et, dans certains cas, comme dans la gomme adragante, il s'y mélange la partie cellulosique plus ou moins gonflée et dissociée de la paroi cellulaire. Sachant comment les composés pectiques passent, peu à peu, de l'intérieur de la cellule dans la lamelle moyenne et comment, par suite, une partie de la membrane devient de plus en plus riche en ces produits, on est amené à voir dans la *gommification* un processus normal mais exagéré dû à l'activité du protoplasme, sous une influence encore inconnue, et l'on comprend comment s'usent les matériaux protoplasmiques et la cellule tout entière à une production aussi intensive de substance. Aussi la désorganisation totale d'un tissu qui se gommifie est-elle souvent la conséquence de ce phénomène.

L'étude des thylles conduit à une des formes les plus intéressantes de la formation de la gomme. Dans la Vigne, comme aussi dans certaines Rosacées, chez le Cacaoyer, dans l'*Acacia Vereck*, etc., les cellules de bordure des vaisseaux, même d'éléments très jeunes, produisent de la gomme par un épaissement de la paroi contiguë au vaisseau. Sous l'effort exercé par cette gomme accumulée contre la fine membrane des ponctuations vasculaires celle-ci se rompt, et le produit gommeux s'épanche dans le vaisseau, en

revêt la paroi interne, et sa masse s'accroît bientôt rapidement. C'est ce qui a fait croire pendant longtemps à une dégénérescence de cette paroi. Il y a bien, en effet, une altération, mais elle ne porte, comme on vient de le voir, que sur la membrane des cellules de bordure. PRILLEUX (5) avait d'ailleurs déjà établi, en 1875, que la membrane des vaisseaux détenteurs de gomme n'est jamais altérée et que celle-ci provient des cellules voisines. Il n'avait pas poussé plus avant l'étude du phénomène.

L'étude de ces *thylles gommeuses*, comme les a nommées MANGIN (1), montre encore un autre fait intéressant : c'est que l'apparition de la gomme n'est nullement liée ici à une infection microbienne. Il n'y a pas de *gombose bacillaire*, comme on l'a dit à propos de la vigne notamment, et si l'on constate la présence de bactéries dans les tissus des vignes, c'est pour se nourrir de la gomme et non pour en provoquer la formation.

Les thylles ordinaires, dont le mode de développement a été décrit plus haut, produisent souvent, elles aussi, de la gomme dans les vaisseaux qu'elles ont envahis. Mais, en dehors de ces cas particuliers de formation de la gomme, que de nouvelles recherches feraient sans doute rencontrer ailleurs, elle se produit généralement par d'autres processus qu'il convient d'examiner. Après les travaux de HUGO MOHL (6), de WIGAND (7), de FRANK (8), qui indiquaient déjà les relations existant entre la désorganisation de la membrane et l'apparition de la gomme; après les études de MANGIN (*l. c.*) montrant la vraie nature de ces relations et signalant surtout les composés pectiques comme la source de la sécrétion gommeuse, les recherches de LUTZ (9) ont fait connaître la marche de l'affection gommeuse dans les Acacias et dans les arbres fruitiers de nos pays, et la part qu'y prend, suivant les tissus, chaque partie de la membrane.

La gombose peut se manifester dans toutes les parties de la plante. Elle se montre tout d'abord dans le cambium au début de la période secondaire, puis gagne les éléments du liber et ensuite les fibres du bois. Ce n'est qu'en dernier lieu que s'altèrent le parenchyme cortical, les fibres péricycliques, et finalement les vaisseaux du bois.

A un état plus avancé, se montrent les lacunes dans lesquelles s'accumule la gomme et qui la laisseront transsuder au dehors. Chez les Acacias, ces lacunes se forment uniquement dans l'écorce,

le péricycle et le liber, gagnant la périphérie de l'arbre et laissant s'écouler la gomme au dehors. Dans les arbres fruitiers indigènes, elles n'apparaissent que dans le bois jeune.

On sait, d'autre part, que HUGO MOHL (*l. c.*) a indiqué que la gomme adragante, fournie par les *Astragalus*, provient de la moelle et des rayons médullaires.

Remarquons que cette localisation des amas gommeux explique pourquoi il est utile de provoquer, par des entailles profondes, l'écoulement de la gomme adragante, tandis que la gomme arabique fournie par les *Acacias*, ou la gomme de pays exsudent naturellement. Quant aux transformations subies par les membranes dans la gommeuse, elles sont différentes suivant qu'il s'agit de parenchymes ou de fibres lignifiées.

Les parenchymes, et notamment le liber et le parenchyme cortical, épaississent beaucoup leurs parois dans leur région moyenne, en même temps que ces membranes sont le siège de modifications chimiques profondes indiquées par les réactifs. Puis, le volume des parois augmentant de plus en plus, le lumen des cellules finit par disparaître, et comme plusieurs cellules voisines sont le siège de phénomènes semblables, il en résulte des plages ou lacunes complètement remplies par la gomme ainsi fournie, et qui la laisseront ensuite exsuder à l'extérieur.

Les vaisseaux se remplissent de gomme, tout en conservant l'intégrité de leur paroi. Quant aux fibres, celles du bois notamment, elles produisent souvent, dans leur intérieur, une couche d'épaississement tertiaire presque entièrement cellulosique et qui ne tarde pas à présenter les caractères de la gomme. La couche secondaire lignifiée n'est frappée que plus tard, et finalement se produit la fonte totale des parois.

Chez les *Acacia*, les lacunes gommeuses ne se produisent que dans l'écorce et le liber, tandis que, chez nos arbres fruitiers, elles se forment exclusivement dans le bois externe.

En dehors de cette gommeuse, qui atteint certaines espèces végétales bien connues, la gomme prend naissance, d'une façon tout à fait générale, quand un organe est blessé ou sectionné. Elle remplit alors les vaisseaux et les fibres qui sont dans le voisinage de la lésion, de façon à en fermer toutes les issues et à mettre la plante à l'abri du milieu externe.

Quant aux causes qui provoquent ces altérations de la membrane il est probable que, suivant l'idée émise autrefois par WIESNER (12), elles sont dues à des diastases qu'on n'a pas encore pu isoler. Un fait intéressant, dans tous les cas, c'est qu'on peut provoquer l'apparition de la gomme en pratiquant, comme l'a fait MANGIN (2), des meurtrissures sur des branches au moyen de chocs répétés sur l'écorce.

TECHNIQUE

Procédé MANGIN.— La gomme résultant de la transformation des composés pectiques, on pourra toujours la colorer au *rouge de ruthénium*, à la condition de la coaguler tout d'abord pour qu'elle ne se gonfle ni ne se dissolve.

Les coupes placées dans l'alcool sont donc portées dans l'extrait de saturne ; au bout de quelques minutes on les lave et on les plonge dans une solution aqueuse de rouge de ruthénium. Les coupes sont ensuite déshydratées au moyen de l'alcool et de l'essence de girofle, puis montées dans le baume à la benzine.

On peut se servir aussi du mélange de bleu de naphthylène R et de vert acide J E E (Poirrier), déjà indiqué pour la coloration de la cellulose et des composés pectiques.

Procédé LUTZ. — Dans ce procédé, c'est le *rouge neutre de Cassella* que l'on fixe sur la gomme. La gomme est simplement coagulée par l'alcool, mais toutes les opérations devront être faites en bain alcoolique pour qu'elle ne soit pas dissoute.

On emploie les deux liqueurs suivantes :

1^o Matières colorantes se fixant sur la gomme :

Rouge neutre de Cassella	0,25
Alcool à 90°	20
Eau distillée	30

2^o Matières colorantes se fixant sur tous les autres tissus :

Vert acide J E E (Poirrier)	0,10
Alcool à 90°	20
Eau distillée	30

Il faut opérer en milieu neutre ou faiblement acide, et éviter, dans les lavages ou traitements, tous les liquides pouvant changer la réaction du milieu.

Après avoir immergé les coupes pendant quelques minutes dans le colorant rouge, on les lavera *très rapidement* à l'eau pour enlever l'excès du colorant ; on les portera ensuite dans le vert, et finalement, on lave de nouveau rapidement. La coloration est fugace et l'observation doit être immédiate.

§ III. — MUCILAGES

L'origine des mucilages est la même que celle des gommes, et leur nature aussi très souvent pectique. Les uns sont *intracellulaires*, prennent naissance à la face interne de la membrane, dans la couche secondaire, comme le mucilage de la graine de Lin, celui des cellules parenchymateuses des Malvacées qui montrent une stratification très régulière de cette zone.

D'autres fois ils sont *superficiels* et naissent sur la face externe de la membrane. C'est le cas des Conjugées. Chez les *Zygnema*, par exemple, algues vertes filamenteuses, chaque filament est entouré d'une gaine mucilagineuse hyaline, peu réfringente, dans laquelle se trouvent inclus de petits bâtonnets plus denses fixés perpendiculairement à la membrane. Ces bâtonnets peuvent être isolés par l'ébullition qui provoque la dissolution de la gelée.

La gelée est colorée par le bleu de méthylène, le violet de méthyle, la résuline, tandis que les bâtonnets restent incolores.

Cette gaine jouit d'une propriété très curieuse signalée par KLEBS (13).

Après avoir absorbé certaines substances pulvérulentes, comme le bleu de Berlin ou le jaune de chrome, elle les rejette en perdant une partie de sa substance.

L'absorption de ces matières pulvérulentes se fait en les précipitant par voie chimique dans la gaine. On détermine par exemple la formation du chromate de plomb en prenant quelques *Zygnema* à l'extrémité d'un fil de platine et les laissant, pendant quelques minutes, dans une solution de chromate de potassium ; on lave rapidement à l'eau et on plonge les algues dans une solution d'acétate de plomb. Il se forme alors dans la gaine un précipité de chromate de plomb, qui sera bientôt expulsé à l'extérieur. Le phénomène est d'autant plus singulier, qu'il se produit même sur des algues mortes.

KLEBS a encore observé les faits remarquables suivants : les gai-

nes gélatineuses, dans une dissolution de glucose et de peptone, s'accroissent en épaisseur par absorption d'une substance dont la constitution n'est pas connue. Cet épaissement se fait aussi s'il y a, dans le liquide environnant, des albuminoïdes solubles et une substance sucrée; et, de même que l'expulsion des particules pulvérulentes, il a lieu aussi bien sur l'algue vivante que sur l'algue morte.

Ailleurs enfin, le mucilage sera d'origine *intercellulaire*. C'est de cette façon qu'il se produit encore dans de nombreuses algues (Laminaire, thalle de *Fucus vesiculosus*, Agar-Agar, etc.) Chez quelques Laminariacées décrites par GUIGNARD (18), il se produit des canaux mucifères, débutant sous forme de méats provoqués par la gélification de la lamelle moyenne de la cloison radiale commune à deux cellules épidermiques. Ces canaux, en s'anastomosant, forment un véritable réseau dans lequel se différencie, vers la base de la cavité mucifère, un petit groupe de cellules sécrétrices spéciales qui restent localisées en un seul point et ne s'étendent jamais sur toute la surface de la cavité. Ce sont, en somme, de véritables glandes sécrétant constamment un mucilage qui ne s'écoule pas au dehors, l'épiderme de l'organe établissant toujours une séparation entre les canaux et l'extérieur.

Le mucilage sécrété fixe le vert de méthyle acidulé par l'acide acétique. Il se colore facilement aussi avec le violet d'éthyle, le violet de gentiane, le dahlia, etc.

Classification des mucilages

En se basant sur leur origine et sur la nature de leurs réactions MANGIN (3) a donné une classification bien connue des mucilages, et que nous ne ferons que rappeler; il les divise en *mucilages simples*, *mucilages mixtes* et *mucilages indéterminés*.

Les mucilages simples comprennent :

1° *Mucilages cellulosiques*. — Ne possédant que les réactions de la cellulose, à l'exclusion de celles des composés pectiques. Le mucilage des bulbes d'Orchidées est le seul exemple qu'on en puisse donner.

2° *Mucilages pectosiques*. — Donnant exclusivement les réactions des composés pectiques. Ils ne renferment pas de cellulose : mucilages

lages des Malvacées, des Rosacées, des cellules à raphide (*Oenothera*), des canaux des Tilleuls.

3- *Mucilages callosiques*. — Ne possédant que les réactions de la callose. Ces mucilages se rencontrent dans tous les tissus exposés à une prompte liquéfaction : cal des tubes criblés, membrane du sporange des Mucorinées, membrane des cellules-mères des grains de pollen, etc.

Parmi les *mucilages mixtes*, les seuls qui aient été rencontrés jusqu'ici, renferment à la fois de la cellulose et des composés pectiques, et leurs réactions tiennent, par conséquent, des deux substances, tout en montrant le plus souvent la prédominance de l'une ou de l'autre. C'est ainsi que les uns passent aux mucilages pectiques : mucilage de graine de Lin, de *Plantago* *Psyllium*, tandis que les autres passent aux mucilages cellulosiques.

MANGIN comprend, en outre, sous le nom de *mucilages indéterminés*, ceux qui, étant données leurs réactions toutes particulières, ne peuvent rentrer dans aucun des groupes précédents.

TECHNIQUE.

a) Coloration du mucilage

On suivra une technique analogue à celle déjà indiquée pour la gomme. Il importe d'éviter le gonflement trop rapide du mucilage dans les liquides employés. Il est donc nécessaire de le coaguler avant de le porter dans les bains colorants.

Les coupes faites à sec sont placées pendant quelques minutes dans une solution d'acétate neutre de plomb à 10 0/0, puis traitées par le mélange de vert acide et de rouge neutre (v. p. 161). On lave à l'eau et on observe dans l'eau ou dans une solution d'acide borique à 2 0/0, en lutant avec de la paraffine vaselinée. Le gonflement ne tarde pas à se produire, mais la stratification des couches est très nette si l'opération est conduite assez rapidement. Le mucilage ne se gonfle alors que très lentement et peut être facilement étudié.

b) Gonflement et dissolution consécutive du mucilage.

On pourra suivre ce phénomène dans des coupes faites, par exemple, dans la graine de Lin. Ces coupes, sans traitement préalable par l'acétate de plomb, seront placées dans des solutions de glucose de concentration variable

et contenant divers colorants (bleu de naphthylène R en cristaux, rouge neutre de Cassella, rouge de ruthénium). Le gonflement a lieu après quelques minutes ou quelques heures, suivant le degré de concentration du sirop, et on peut en suivre toutes les phases.

§ IV. — RÉSINE

La résine se produit très souvent par une désorganisation de la membrane, comme les gommes et les mucilages ; mais, suivant Tschirch (11, 216), cette désorganisation ne fait que suivre la résinification préalable d'une partie du protoplasme. Chez le *Styrax Benzoïn*, par exemple, dans quelques cellules de l'écorce secondaire, le contenu s'accroît, et il y apparaît quelques gouttelettes résineuses. Alors la membrane se dissout à l'intérieur de l'assemblage cellulaire ainsi différencié, et un petit canal lysigène se forme qui ne tarde pas à s'élargir de plus en plus, les membranes voisines étant aussi frappées de *résinose*. Les canaux contenant le baume de Copahu, le baume de Gurjun et des ampoules corticales renfermant la térébenthine chez les sapins se formeraient d'une façon analogue.

Pour Van Tieghem (14, 641), la résine qu'on trouve dans les vaisseaux du bois âgé des Conifères et de beaucoup de Dicotylédones, provient aussi d'une altération de leur membrane.

§ V. — ESSENCES

Bien plus évidente encore est la dégénérescence de la membrane, lors de la formation de beaucoup d'essences. Les Aurantiacées, les Myoporacées, les Myrtacées, en fournissent de beaux exemples, ainsi que l'ont établi Lutz (10), Sieck (15), Tschirch (*l. c.* 477), et Briquet (16).

Lorsque les poches sécrétrices se sont constituées par voies chizo-

gène, on voit les membranes avoisinant la cavité s'épaissir beaucoup, tandis qu'elles commencent à se gélifier. En même temps, des cavités irrégulières apparaissent dans ces membranes et se remplissent d'huile essentielle. Ces cavités se fusionnent, soulèvent la membrane qui devient fortement convexe du côté du réservoir sécréteur. Finalement toute la membrane se résout en une gelée amorphe, qui se répand dans la cavité centrale en entraînant avec elle les gouttelettes d'huile formées à son intérieur.

§ VI. — FERMENTATION DE LA MEMBRANE

La fermentation de la membrane, qui entraîne sa destruction totale ou partielle, est bien aussi une forme de la dégénérescence. On peut la dire anormale ou pathologique lorsqu'elle se produit sous l'action des bactéries, comme dans l'opération du rouissage ; mais bien souvent elle est normale, bien que disparaissant complètement. C'est ce qui arrive dans la dissolution, au moyen des enzymes, des membranes de certains albumens

Tantôt certaines espèces microbiennes en dissolvent la lamelle moyenne, tantôt elle est détruite dans toute son épaisseur à l'aide de ferments solubles, par des parasites plus élevés en organisation.

Ce dernier cas s'observe dans le développement des champignons parasites du bois. Leurs filaments perforent les membranes, comme on l'a vu, au moyen de deux ferments, l'un, l'hadromase, qui dissocie l'éther que l'hadromal forme avec la cellulose, l'autre, la cellulase, qui permet la digestion de celle-ci par le parasite.

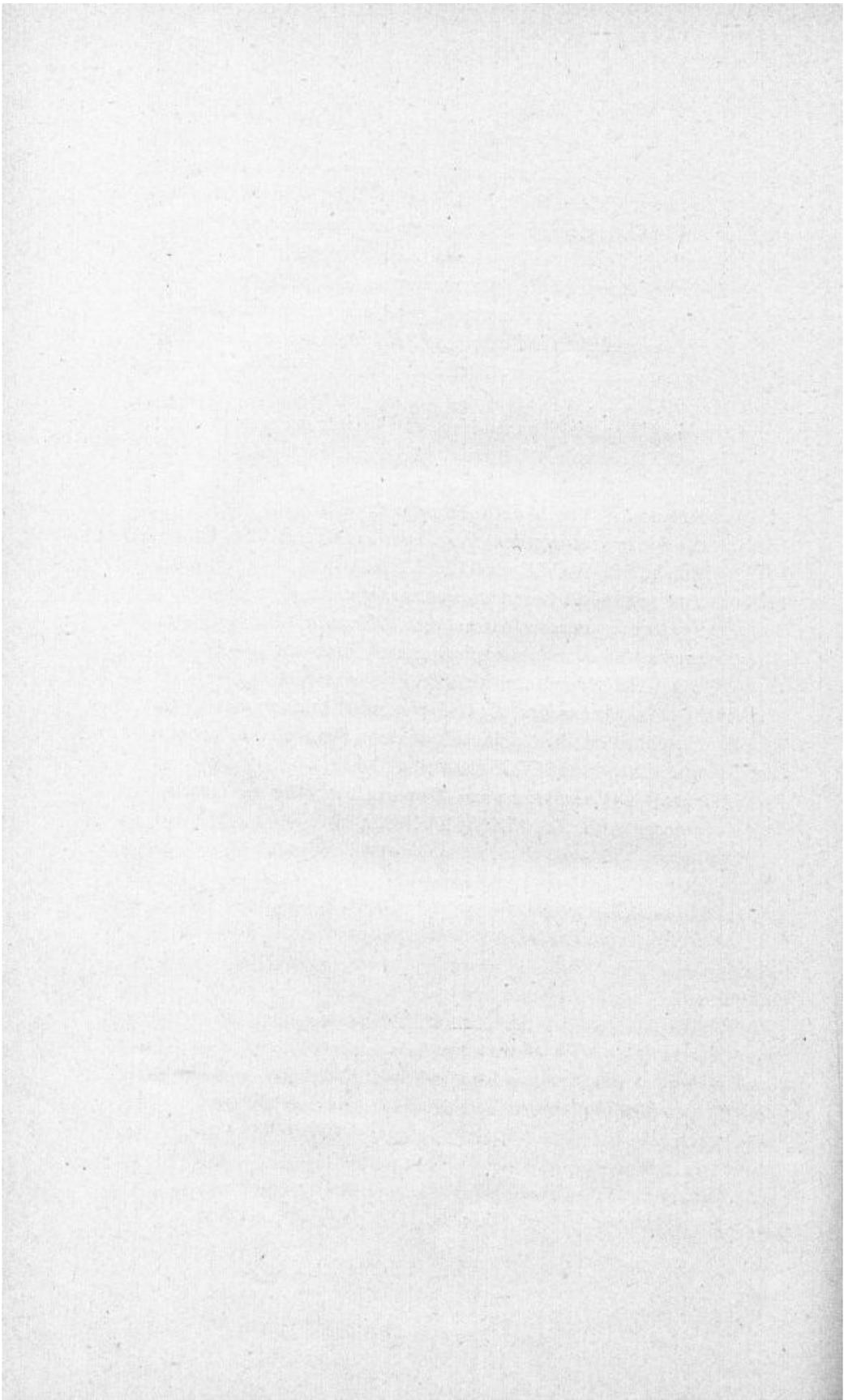
C'est aussi à la suite d'une digestion des membranes par un ferment que les suçoirs des *Cuscuta* perforent, suivant MIRANDE (17) les tissus de leur hôte. Bien souvent, par contre, la fermentation de la membrane est un phénomène absolument normal, et sa disparition, même totale, répond à une fonction physiologique importante. C'est le cas des parois cellulaires des albumens, qui sont entièrement digérées, lors de la germination par des *cytases* ou *diastases cytohydrolytiques*, soit qu'elles constituent des substances de réserve

pour l'embryon (albumens cornés) ; soit que leur disparition n'ait d'autre but que de permettre l'attaque plus facile des grains d'amidon par l'amylase (Orge et autres Graminées).

BIBLIOGRAPHIE

1. MANGIN. — *Sur la présence de thylls gommeuses dans la vigne.* C. R., 1894.
 - *Sur la gommose de la vigne.* Revue de viticulture, t. IV, 1895.
 - *Sur la gommose bacillaire.* Id., t. IV, 1893.
2. — *Sur la production de la gomme chez les Sterculiacées.* C. R., 1897, t. CXXV, p. 725.
3. — *Sur un essai de classification des mucilages.* Bull. Soc. bot. de France, août 1894.
 - *Observations sur l'assise à mucilage de la graine de lin.* Id., février 1893.
 - *Sur la constitution du mucilage de la graine de lin.* Id., janvier 1894.
4. — *Sur une maladie des Ailantes, dans les parcs et promenades de Paris.* C. R., octobre 1894.
5. PRILLEUX. — *Etude sur la formation de la gomme dans les arbres fruitiers.* Ann. Sc. Nat., 1875, p. 176.
6. H. v. MOUL. — *Untersuchungen über die Entstehungsweise der Traganthgummir.* Bot. Zeit., 1857.
7. WIGAND. — *Ueber die Desorganisation der Pflanzenzelle, insbesondere über die physiolog. Bedeutung von Gummi und Harz.* Prings. Jahrb., 1863, t. III, p. 55 et 155.
8. FRANK (A.-B.). — *Ueber die anatomische Bedeutung und die Entstehung der vegetabilischen Schleime.* Prings. Jahrb., t. V, pp. 161-200, 1866-1867.

9. LUTZ (Louis). — *Contribution à l'étude chimique et botanique des gommés*. Thèse. Paris, 1895.
 10. LUTZ. — *Ueber die obliquo-Schizogenen der Myrtaceen*. Bot. Centralblatt., vol. LXIV, pp. 145, 193, 257 et 289, 1895.
 11. TSCHIRCH. — *Angewandte Pflanzenanatomie*, 1889.
 12. WIESNER. — *Ueber das Gummiferment, ein neues diastatisches Enzym, welches die Gummi- und Schleimmetamorphose in der Pflanze, etc.* Sitzungsber. d. K. Ak. d. Wiss. zu Wien. Bd. 92. 1885.
 13. KLEBS. — *Ueber die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten*. Untersuch. a. d. bot. Inst. zu Tübingen. B. II, p. 333.
 14. VAN TIEGHEM. — *Traité de Botanique*, 2^e édition.
 15. SIECK. — *Die schizolysigenen Secretbehälter*. Berne, 1895. Prings. Jahrb., vol. XXVII. Heft. 2. pl. VI-IX.
 16. JOHN BRIQUET. — *Recherches anatomiques sur l'appareil végétatif des Phrymaccées, Stilboïdées, Chloanthoïdées et Myoporacées*. Mém. Soc. de physique et Hist. nat. de Genève, t. XXXII, 2^e partie, n^o 8, 1896.
 17. MIRANDE. — *Recherches physiologiques et anatomiques sur les Cuscutacées*. Bull. scientifique de la France et de la Belgique. Ext. du t. XXXV, 1900.
 18. GUIGNARD. — *Observations sur l'appareil mucifère des Lamina-riacées*. Ann. Sc. Nat., t. XV, 1892.
-



QUATRIÈME PARTIE

FONCTIONS DE LA MEMBRANE

En outre de la fonction générale de protection que les membranes exercent sur le protoplasma, elles ont diverses autres fonctions qu'il importe de passer en revue, et qui varient comme, nous le verrons, avec les modifications subies ultérieurement par elles. Tant qu'elles sont jeunes, les parois cellulaires sont peu élastiques et, par contre, très extensibles pour qu'elles puissent suivre l'accroissement de la cellule. Plus tard, c'est le contraire qui a lieu. L'osmose, qui peut s'effectuer à travers les membranes, est une de leurs fonctions principales, dans la nutrition de la cellule ; encore n'est-elle que secondaire et même passive, par rapport à la même fonction exercée par le protoplasme. On sait très bien, en effet, à l'heure actuelle, que c'est le protoplasme qui est surtout le siège des phénomènes osmotiques, et reçoit, ou non, dans sa masse les nombreuses substances que la paroi cellulaire laisse passer entre ses molécules. Ces substances peuvent être des gaz ou des liquides, et, dans le dernier cas, elles ne le traversent que très peu ou pas du tout, si ce sont des colloïdes, ainsi que nous l'ont appris depuis très longtemps GRAHAM et DUBRUNEAUX.

La membrane est donc perméable. Elle est, de plus, perméable dans les deux sens, mais les travaux de WIESNER et MOLISCH (1) ont montré qu'en ce qui concerne les gaz, il était nécessaire pour qu'ils puissent traverser la membrane que celle-ci soit imbibée. L'osmose des gaz ne s'effectue pas à travers des membranes sèches.

Au fur et à mesure que la paroi cellulaire se développe, ses fonctions changent avec les progrès de l'âge et avec les modifications dont elle est le siège. Ces modifications peuvent être, on le sait, de

nature physique ou de nature chimique et nous les étudierons séparément.

Les modifications physiques consistent surtout dans l'apparition des sculptures de la membrane, épaissements ou ponctuations, qui ont évidemment leur raison d'être.

Les épaissements augmentent la solidité de la membrane. Quand ce sont des bandes, elles sont toujours dirigées dans le sens de la plus grande pression qui s'exerce sur la cellule, de façon à s'opposer à cette pression.

Le fait est manifeste même chez les parenchymes, comme le fait remarquer BARANETZKI (2,197) ; mais il est bien plus apparent chez les vaisseaux. Comme ceux-ci perdent de bonne heure leur protoplasma et leur force de turgescence, leurs épaissements annelés, rayés ou spiralés, les empêchent d'être écrasés par la turgescence des parenchymes voisins.

Il est intéressant de remarquer, au sujet de la sculpture des vaisseaux, qu'elle n'existe dans les organes jeunes que sous forme de spirales ou d'anneaux. Les vaisseaux doivent, en effet, suivre l'organe pendant sa croissance en longueur, et les anneaux ou les spirales qui sont extensibles leur permettent de s'étirer, pendant qu'ils sont déjà le siège d'une active circulation de l'eau.

Si les épaissements consolident la cellule, les ponctuations facilitent les échanges entre les cellules voisines. Largement ouvertes et perforées, comme on l'a vu dans les cribles des Angiospermes, où elles permettent la libre circulation du contenu cellulaire entre les différentes parties des tubes criblés, elles sont probablement fermées ailleurs par une fine cloison, à travers laquelle les échanges se font par osmose, et sans doute aussi par le concours des plasmodesmes.

Les ponctuations aréolées, si curieuses, des Conifères paraissent avoir une fonction fort intéressante aussi. On sait que leur fine lamelle de fermeture est épaissie en disque à son centre. Pour RUSSOW et PAPPENHEIM (3), ce disque fait office de soupape. Lorsqu'un vaisseau vient à se vider de son contenu, la pression se trouvant plus forte dans les vaisseaux voisins, le clapet vient s'appliquer contre l'orifice de l'aréole et le ferme. L'air se trouve ainsi raréfié, et comme il ne peut plus passer d'un vaisseau à l'autre, c'est l'eau qui vient rétablir l'équilibre de tension.

Tout aussi remarquables sont les ponctuations sensibles des vrilles transmettant à la plante les sensations de contact et que nous avons déjà eu occasion de décrire.

Parmi les modifications chimiques subies par la membrane une des plus intéressantes au point de vue biologique est assurément l'accumulation dans sa substance de matières de réserve qui seront utilisées par la suite. La paroi cellulaire devient donc, dans ce cas, un aliment de réserve. C'est ce qu'on observe dans l'albumen de nombreuses graines (*Phoenix*, *Phytelephas*, etc.) dont les membranes seront digérées et dissoutes par l'embryon, lors de la germination.

La signification physiologique des autres transformations chimiques de la membrane : lignification, subérification, cutinisation, est loin d'apparaître d'une façon aussi nette ; aussi est-elle encore bien controversée.

Les anciennes théories, et celle de SACHS en particulier, voulaient que la lignification ait pour but de consolider les tissus, de les rendre plus résistants et de permettre en même temps aux parois des vaisseaux l'absorption d'une grande quantité d'eau. Elle contribuerait donc, en même temps, au soutien de la plante et au transport des liquides.

Les résultats auxquels arrivent SCHELLENBERG (4), ZETSCHÉ (5), KAMERLING (6) et SONNTAG (7), dans des recherches récentes, sont tout différents. On ne peut pas nier que la lignification, chez les vaisseaux par exemple, n'apparaisse comme le moyen employé par la plante pour empêcher la déformation d'éléments arrivés au terme de leur croissance. Mais lorsqu'il s'agit des tissus de soutien, on ne constate aucun rapport entre la lignification et la résistance qu'ils offrent.

Les éléments de soutien du liber sont tout aussi résistants que ceux du bois, et bien souvent ils ne sont pas lignifiés. L'incrustation par la lignine parait donc avoir un autre rôle et il semble qu'elle serve surtout à diminuer la capacité qu'a la membrane de se gonfler au contact de l'eau. L'avantage qui en résulte pour la plante, c'est que la membrane, absorbant moins d'eau, est moins sensible à la dessiccation, et les branches des arbres, par exemple, risquent moins de se rompre après de longues périodes de sécheresse (SONNTAG).

En résumé, la lignification donne de la rigidité aux membranes et leur permet de conserver leur forme dans les éléments à grand diamètre ; elle modère et équilibre ensuite l'absorption de l'eau.

L'idée qu'on se faisait aussi sur la signification de la subérine et de la cutine a dû être modifiée depuis les recherches auxquelles nous avons déjà fait allusion. Très perméables à l'air et aux gaz, les membranes subérifiées et cutinisées sont moins perméables à l'eau, mais sont loin d'avoir la perméabilité qu'on se plaisait à leur attribuer. KAMERLING (*l. c.*) a constaté qu'une membrane de liège prise à part, est fort bien perméable à l'eau : néanmoins, si le tissu tout entier, si le revêtement subéreux d'une tige manifeste une imperméabilité qui est réelle et qu'on ne saurait contester, s'il préserve un organe contre l'évaporation, cela tient à un phénomène plus complexe qu'on ne le croit généralement. C'est que la membrane, très perméable à l'air, le laisse pénétrer dans les cellules subéreuses, et ce sont les bulles d'air ainsi emmagasinées qui s'opposent en définitive à la sortie de l'eau. Des tissus sous-jacents, l'eau passe bien dans les assises les plus internes du liège, mais dans les assises successives, l'air lui offre une résistance telle, qu'elle ne peut franchir la zone subéreuse et arriver à l'extérieur.

La cuticule montre, elle aussi, une certaine perméabilité pour l'eau, et l'on sait que ce liquide passe à travers l'épiderme de plantes aquatiques et même terrestres. Toutefois, et d'une manière générale, il n'y a qu'une minime quantité d'eau vaporisée qui puisse sortir d'un épiderme cuticularisé, surtout lorsque la cuticule est fortement imprégnée de substances cireuses.

La perméabilité des surfaces cuticularisées pour les gaz est beaucoup plus considérable chez les plantes aquatiques que chez les plantes terrestres. MANGIN (8) et DEVAUX (9) ont reconnu, dans une série d'expériences, que si, chez les premières, l'osmose à travers la cuticule suffit à assurer les échanges gazeux respiratoires, il n'en est pas de même chez les plantes terrestres où le concours des stomates est indispensable pour permettre l'entrée et la sortie des gaz.

Après avoir indiqué les fonctions de la membrane sous ses divers états, nous dirons quelques mots du rôle qui doit être attribué à certains de ses produits de destruction : les gommés et les mucilages.

Au sujet de la gomme, nous avons déjà fait remarquer que sa

production est souvent physiologique et n'a pas du tout un caractère pathogène. Très souvent, elle sert à l'occlusion des vaisseaux hors d'usage ou situés dans une région blessée.

En ce qui concerne les mucilages, il y a lieu de remarquer tout d'abord que le fait même de la gélification a souvent son utilité dans l'économie du végétal. C'est, par exemple, par gélification que la cloison transversale des jeunes vaisseaux disparaît pour donner naissance à des vaisseaux ouverts. C'est encore par gélification, mais seulement de la lamelle moyenne, que, lors de la chute des feuilles, s'opère la scission entre les deux parties du pétiole qui vont se séparer (TISON, 10, 189).

Le rôle principal, attribué aux mucilages, est d'assurer l'accumulation de l'eau dans les organes, quand ils se forment à la surface des graines (graine de lin, de moutarde); ils servent, comme l'ont montré les expériences de TSCHIRCH (11, 206), à les fixer dans la terre et à attirer l'eau nécessaire à la germination. D'après le même auteur, les mucilages de certaines racines (*Althæa*) ou tubercules (*Orchis*), seraient des substances de réserve.

BIBLIOGRAPHIE

1. WIESNER et MOLISCH. — *Untersuchungen über die Gerbebewegung in der Pflanze*. Sitzb. d. K. Ak. d. wiss., Vienne, 1889, vol. XVIII, 4-7.
2. BARANETZKI. — *Épaississement des parois des éléments parenchymateux*. Ann. Sc. Nat., 7^e série, 4, 1886.
3. PAPPENHEIM. — *Zur Frage der Verchlussfähigkeit der Höftüpfel im Splintholze der Coniferen*. Ber. d. d. bot. Ges., févr. 1889.
4. SCHELLENBERG. — *Beiträge zur Kenntniss der verholzten Zellmembran*. Jahrb. f. wiss. Bot. XXIX, 1896, 537.

5. ZETSCHÉ. — *Beiträge zur Untersuchung der verholzten Membran.*
Zeit. f. angew. mikrosk., t. XI, p. 225, 1896.
 6. KAMERLING. — *Zur Biologie und Physiologie der Zellmembranen.*
Bot. Centr. LXXII, 1897, p. 49 et 85.
 7. SONNTAG. — *Verholzung und mechanische Eigenschaften der Zellwände.* Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XIX, 1901, p. 138.
 8. MANGIN. — *Sur la perméabilité de l'épiderme des feuilles pour les gaz.* C. R., mars 1888.
— *Recherches sur la pénétration ou la sortie des gaz dans la plante.* Ann. de la Soc. agronom. franç. et étr., 1888.
 9. DEVAUX. — *Du mécanisme des échanges gazeux chez les plantes aquatiques.* Ann. Sc. Nat., 1889.
 10. TISON. — *Recherches sur la chute des feuilles chez les Dicotylédones.*
Thèse. Caen, 1900.
 11. TSCHIRCH. — *Angewandte Pflanzenanatomie*, 1889.
-

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Les faits les plus saillants et les plus récents qui se dégagent de l'étude que nous venons de faire peuvent être résumés dans les propositions suivantes :

I. — MORPHOLOGIE GÉNÉRALE

La membrane cellulaire résulte d'une *sécrétion* du protoplasme. Ce n'est que dans des cas très rares qu'elle est produite par une transformation directe de celui-ci, transformation qui s'effectue alors sans laisser de résidu apparent.

Sa formation comme son développement sont sous la dépendance immédiate du noyau. Elle est également soumise à des influences extérieures, telles que la pression et la lumière, dont les unes sont favorisantes et provoquent sa formation, tandis que les autres sont directrices et déterminent la position qu'elle doit prendre. L'accroissement de la membrane se fait par les procédés combinés de l'apposition et de l'intussusception. C'est surtout par apposition qu'elle s'épaissit et forme ses strates successives, tandis qu'elle augmente sa surface ou bien par une intussusception active de substance, ou bien encore par extension passive, en même temps que par apposition de nouvelles lamelles.

La membrane est parcourue dans son épaisseur par des filaments protoplasmiques, ou plasmodesmes, émanés de la couche externe du protoplasme.

Pour certains auteurs, ces filaments sont continus et traversent de part en part la membrane, qui est donc réellement perforée. Il en résulte la perte de l'individualité cellulaire.

Dans cette hypothèse, en effet, la plante n'est plus formée de cellules, mais d'une seule masse de protoplasme, à travers laquelle les membranes sont tendues comme autant de réseaux dont les mailles permettent la libre communication entre les diverses fractions de la masse protoplasmique totale.

Pour d'autres, au contraire, il n'y a pas continuité dans les plasmodesmes. Nés dans chaque cellule, ils s'avancent au devant les uns des autres, et se mettent en contact intime, sans qu'il y ait entre eux fusion matérielle. La cellule conserverait donc son individualité dans cette seconde manière de voir.

Dans tous les cas, et quelle que soit l'interprétation admise, les plasmodesmes interviennent dans l'accomplissement de certaines fonctions physiologiques importantes de la cellule.

II. — CONSTITUTION CHIMIQUE

Deux sortes de substances entrent dans la constitution des membranes végétales : les substances fondamentales et les substances incrustantes.

Les substances fondamentales : la *cellulose*, les *composés pectiques* et la *callose*, y sont généralement groupées deux par deux et de façons diverses.

La *cellulose*, qui est la plus importante d'entre elles, est loin d'être un produit simple ; c'est, au contraire, une matière fort complexe, formée tantôt d'anhydrides plus ou moins condensés d'un seul et même sucre, tantôt d'anhydrides de sucres différents et variables, non seulement suivant les tissus, mais encore suivant les plantes.

Les matières incrustantes de la membrane sont surtout celles que l'on connaît depuis longtemps sous les noms de lignine et de subérine.

La *lignine* n'est autre que l'*hadromal*, composé phénolique récemment découvert, et qui, dans la membrane lignifiée, formerait un éther avec la cellulose.

La *subérine* est une substance de la nature des corps gras. Elle est probablement formée par un mélange d'éthers de la glycérine, non pas identiques aux corps gras neutres, mais s'en rapprochant seulement par quelques uns de leurs caractères.

III. — DÉGÉNÉRESCENCE DE LA MEMBRANE.

Dans certaines conditions, la membrane est frappée d'une véritable dégénérescence, et semble parcourir en sens inverse tous les stades qu'elle a suivis pendant sa formation. Cette destruction progressive aboutit à la formation de produits tels que gommages, mucilages, essences, etc. D'autres fois, cette dégénérescence est pour ainsi dire instantanée, et se traduit par la dissolution complète et rapide de la membrane. Ces transformations paraissent dues à des ferments solubles, dont quelques-uns ont pu être isolés. Si l'existence des autres n'a pu être mise en évidence, elle est tout au moins probable.

IV. — FONCTIONS DE LA MEMBRANE

Les diverses modifications physiques ou chimiques dont la membrane est le siège, correspondent évidemment à des fonctions physiologiques spéciales qui sont loin d'être toutes bien connues.

La lignification apparaît comme le moyen employé par la plante pour empêcher la déformation d'éléments arrivés au terme de leur croissance ; elle semble aussi modérer l'absorption de l'eau par les membranes dans les éléments qui, comme les vaisseaux, en sont fréquemment imbibés.

La subérification ne rend nullement imperméables les parois cellulaires, contrairement à l'opinion admise jusqu'ici. Les membranes du liège sont parfaitement perméables à l'eau ; mais comme elles se laissent aussi traverser par les gaz, si le tissu subéreux entourant les organes empêche l'entrée et la sortie des liquides, c'est grâce à l'air qui, emprisonné dans ses cellules, leur oppose une résistance qu'ils ne peuvent vaincre.

Tout ceci s'applique aussi aux surfaces cuticularisées, avec cette particularité qu'elles sont beaucoup plus perméables aux gaz chez les plantes aquatiques que chez les plantes terrestres.

FIN



MONTPELLIER. — IMPRIMERIE G. FIRMIN, MONTANE ET SICARDI.
