

50376
1972
202

50376
1972
202

M E M O I R E

présenté

A LA FACULTE DES SCIENCES

DE L'UNIVERSITE DE LILLE

pour l'obtention du

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES

(Sciences Naturelles)

par

Serge RAMBOUR

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

Sujet : GENESE & EVOLUTION DES CELLULES A RAPIDES

CHEZ SPATHIPHYLLUM WALLISII.

Présenté le : 30 Mai ?

GENESE ET EVOLUTION
DES
CELLULES A RAPHIDES
CHEZ

SPATHIPHYLLUM WALLISII.

- I N T R O D U C T I O N -



Dans tous les livres mis à la disposition des étudiants, il est question de l'oxalate de calcium. "Sel organique entièrement précipité" (Guillermond et Mangenot - Masson) se déposant dans les vacuoles, il cristallise "sous des formes variables appartenant à deux systèmes différents" (Bach chez S.E.D.E.S.). Cet auteur précise même : "la nature des cristaux d'oxalate de calcium existant dans un organe végétal est un caractère de diagnose microscopique important".

Nous apprenons aussi que ce sel se dépose dans des cellules spécialisées et mucilagineuses, mais il ne nous est pas donné de savoir comment se traduit cette spécialisation; à quoi correspond-elle ? Tous les auteurs semblent s'accorder pour considérer cette substance chimique "produite par la vie de la cellule" (Plantefol - Biologie cellulaire et végétale - Belin) comme étant une forme qui "détoxique" la plante en immobilisant ainsi l'acide oxalique nocif; donc l'oxalate de calcium, produit d'excrétion de la plante, se trouve enfermé dans certaines cellules que l'on pourrait qualifier d'excrétrices. Excrétrices ou sécrétrices?

Notion difficile à dégager : "Chez les végétaux, on connaît des cas de sécrétion (sécrétion de diastases) mais non des cas d'excrétion. On ne peut même pas se fonder sur l'utilité ou l'inutilité des produits formés ... : on est convenu d'appliquer le terme de sécrétion à la production d'une série de substances dont le rôle n'est pas encore précisé et qui s'accumulent dans les tissus végétaux" (Plantefol id. page 675).

Nous essayerons, dans ce travail, d'apporter quelques documents sur la question.

Qu'il nous soit permis de témoigner ici notre reconnaissance à Monsieur le Professeur HOCQUETTE, qui a dirigé notre travail. Nous tenons aussi à remercier vivement Monsieur MONTUELLE pour son aide technique précieuse et ses nombreux encouragements.

PRESENTATION DU VEGETAL ETUDIE : SPATHIPHYLLUM WALLISII

Cette plante appartient à la famille des Aracées, Engler la classe dans la sous famille des Monstéroïdées où l'unique genre Spathiphyllum forme la sous tribu des Spathiphyllinées.

Elle est originaire des régions montagneuses d'Amérique latine, très exactement de l'ancienne province espagnole de Nouvelle Grenade (comprenant les actuelles républiques du Vénézuéla, de Colombie, de Panama et de l'Equateur).

C'est donc une plante vivant sous un climat équatorial (pluviosité : 2.000mm par an) et dont quelques exemplaires se trouvent au Jardin Botanique de Lille (serres à température constante : 20° - et à degré hygrométrique élevé) où nous avons pu faire les prélèvements nécessaires à notre travail.

L'appareil végétatif comprend :

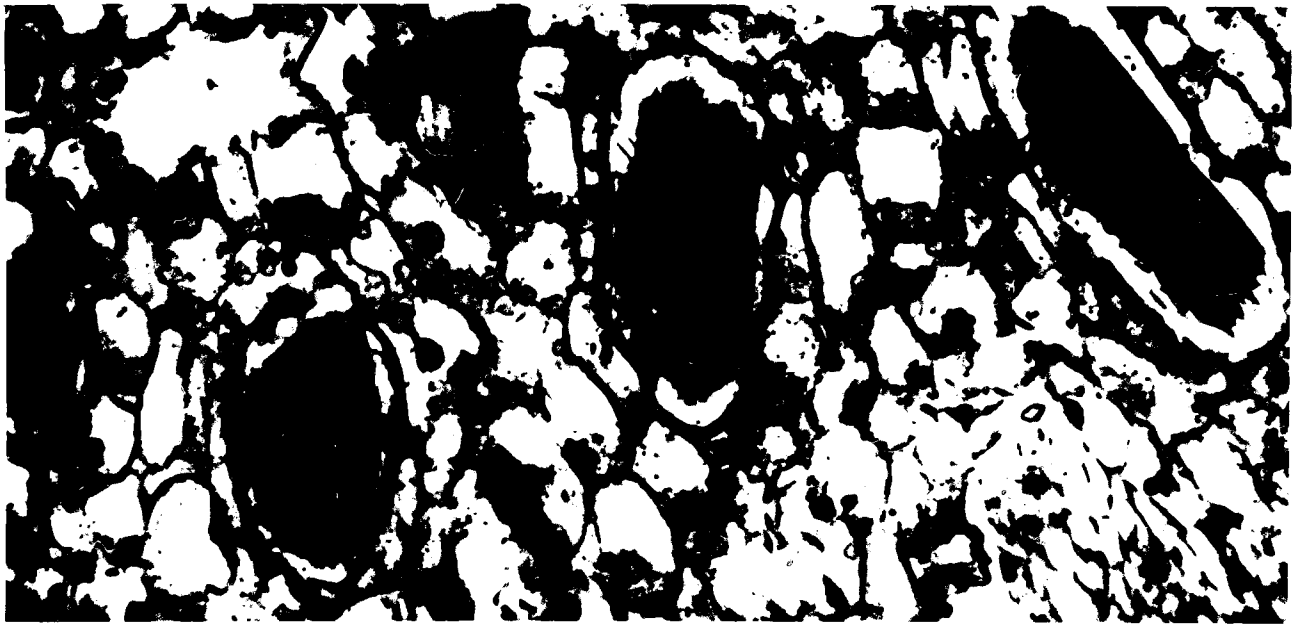
- une partie aérienne formée par de nombreuses feuilles à limbe allongé (15cm environ) assez étroit (2 à 3cm) : sa base est cunéiforme, l'extrémité effilée; d'une nervure principale partent de nombreuses nervures secondaires obliques. Ces feuilles possèdent un long pétiole (12cm), rond dans sa partie supérieure; au-milieu apparaissent deux replis formant une gaine qui s'élargit vers sa partie inférieure.

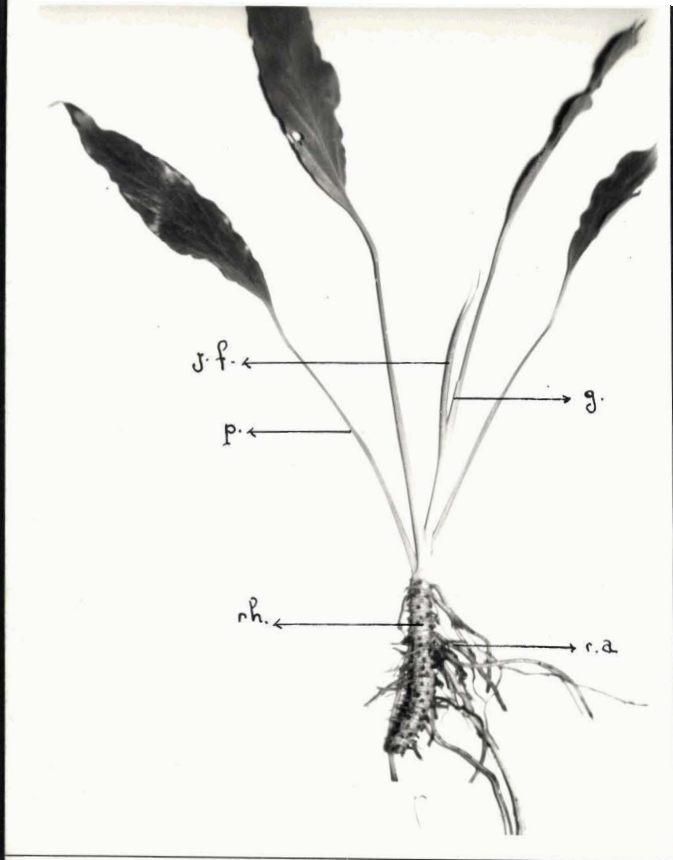
Les jeunes feuilles, enroulées sur elles-mêmes longitudinalement, naissent à l'aisselle des anciennes. Logées dans la gaine, elles sont d'abord invisibles.

- une partie souterraine : constituée par un rhizôme brunâtre vertical, très ramifié (seules les extrémités les plus jeunes portent des feuilles); à sa surface s'observent de nombreuses feuilles réduites à des écailles annulaires. Il peut atteindre un diamètre de 1,5 à 2cm et porte des racines adventives en grand nombre.

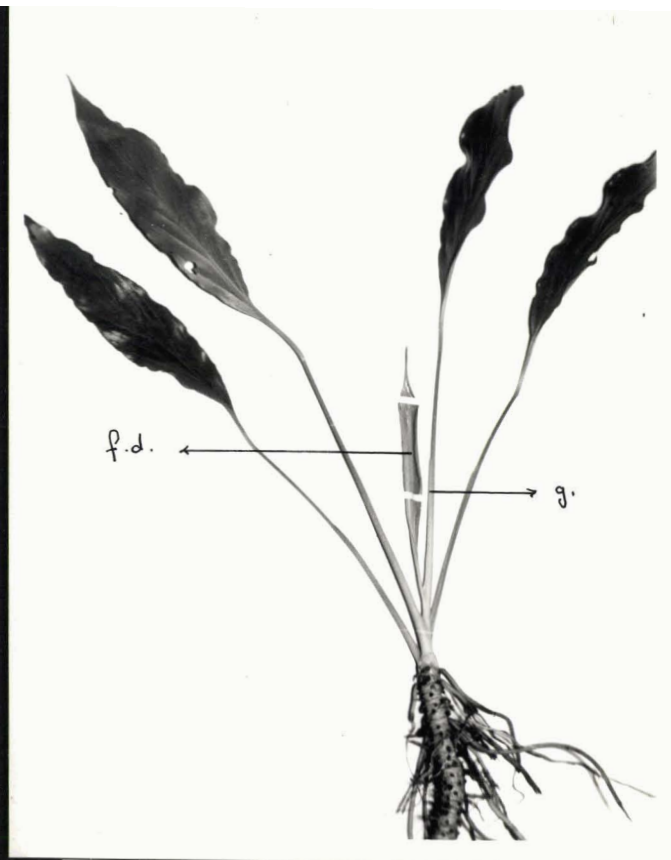
La floraison a lieu au mois d'octobre ou novembre : les inflorescences rares présentent une spathe blanche, d'abord enroulée dans le sens longitudinal autour du spadice : puis elle se déroule peu à peu et verdit (la coloration verdâtre apparaissant d'abord à l'extrémité et près de la nervure principale).

Le spadice cylindrique porte de nombreuses petites fleurs blanchâtres : chacune comporte 6 tépales auxquels sont opposées 6 étamines, un ovaire à 3 loges.

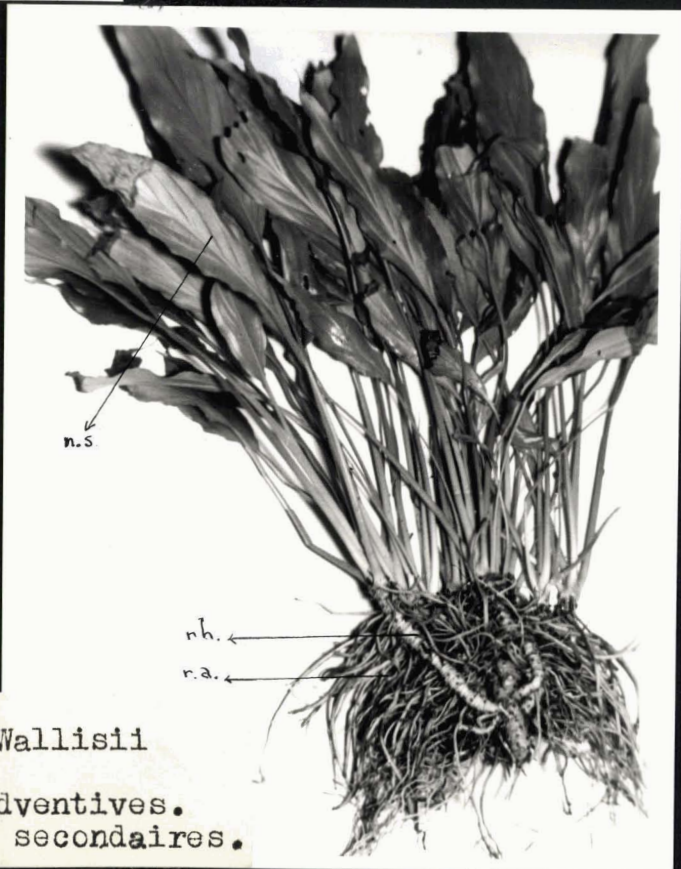




Plant de Sp. Wallisii
 rh.= Rhizôme
 ra.= racines adventives
 g.= gaine; p.= petiole
 j.f.= jeune feuille
 enroulée.



Id.
 g.= gaine.
 f.d. = jeune feuille déroulée
 maintenue ouverte par 2
 bandes de papier collant.



Touffe de Sp. Wallisii
 rh.= rhizôme
 ra.= racines adventives.
 n.s.= nervures secondaires.

HISTORIQUE

A) - L'oxalate de calcium

C'est un sel organique insoluble; d'après Belzung, cet oxalate serait cependant maintenu en dissolution en partie ou même entièrement par combinaison avec des acides libres qui se trouvent aussi dans le suc vacuolaire (formation de citroxalate ou de oxoxalate de calcium). Pourtant c'est sous sa forme insoluble qu'il est le plus répandu : localisé dans des cellules parenchymateuses ou dans des poils épidermiques spécialisés : les cellules oxalifères.

Il peut cristalliser dans deux systèmes :

1) le système quadratique : le cristal est alors octaédrique; les cristaux souvent assemblés et mâclés forment des oursins. Cet oxalate est trihydraté : $(C_2O_4) Ca. 3H_2O$.

2) le système monoclinique : on observe alors des prismes allongés se présentant très souvent en longues aiguilles fines acérées : les raphides. Elles sont groupées en faisceaux dont la cohésion serait assurée par une gaine de mucilages entourant chaque raphide.

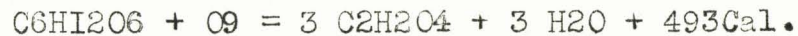
Dans ce même système, les cristaux parfois très fins sont dispersés dans le contenu vacuolaire de la cellule : on observe alors des cellules sableuses. Oxalate monohydraté $(C_2O_4) Ca. H_2O$.

Selon Pfeiffer, les raphides représenteraient en fait de l'oxalate acide de calcium : $(C_2H_2O_4)_2 Ca$ et se déposeraient en milieu acide alors que les cristaux quadratiques apparaîtraient dans les cellules dont le pH serait voisin de la neutralité, l'oxalate étant alors neutre.

La dimension des cristaux peut varier chez une même espèce suivant les organes, les tissus et l'état physiologique des cellules (études de Seyot chez le cerisier).

B) - Origine de l'oxalate de calcium.

D'après Liebig, il provient d'une oxydation incomplète des hydrates de carbone; le phénomène dépend donc de la respiration, il écrit :



Cette réaction se produit à l'obscurité et le rapport gaz carbonique sur oxygène inférieur à 1 tend vers 0.

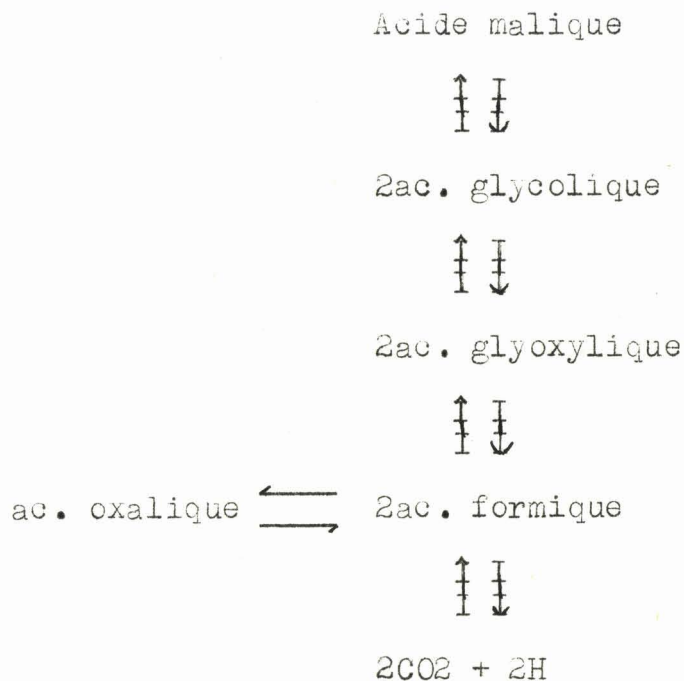
Au soleil au contraire ce rapport devient supérieur à 1 et l'on peut écrire :



De Vries et Aubert montrent qu'il y a une relation directe entre la transpiration et la richesse des feuilles en acide gras : la réserve en acide est d'autant plus grande que la transpiration est faible. Ainsi chez les Cactées 50% du poids sec est représenté par de l'oxalate de calcium.

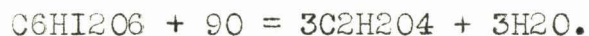
En 1942, Wattiez et Sternon écrivent :
"les acides organiques apparaissent chez les végétaux surtout

comme des termes intermédiaires entre les hydrates de carbone et le gaz carbonique mais leur origine est très complexe".
Origine très complexe que les récentes théories émises à propos de la photo synthèse semblent avoir quelque peu éclairée : l'acide oxalique se formerait à partir de l'acide formique (la réaction est réversible).



C) - Rôle de l'acide oxalique.

L'acide oxalique semble jouer un rôle dans la régulation de la pression osmotique : dans la cellule, cette pression augmente quand il s'y trouve libre. L'oxydation d'une molécule de glucose en 3 molécules d'acide oxalique multiplie par 3 la valeur de cette pression :



La formation d'un sel insoluble a donc pour résultat de faire tomber la pression osmotique d'une cellule.

Pour Groom et Meyer, l'acide oxalique ainsi précipité jouerait le rôle de neutralisant du suc cellulaire : il se produirait en effet une neutralisation des bases libérées lors de la protéogénèse, par l'utilisation des acides nitrique, phosphorique, sulfurique, qui figurent dans le métabolisme sous forme de sels de calcium.

Mais déjà en 1909, Doby faisait remarquer que dans certaines conditions les cristaux d'oxalate de calcium pouvaient se dissoudre : lors de la germination de graines de lupin par exemple, l'oxalate des grains d'aleurone disparaissait. Des études ultérieures de Ramstad et Sternon ont amené ces auteurs à penser que les dépôts d'oxalate constituent une réserve alcaline de la plante : la précipitation ou la remise en solution assurant ainsi l'équilibre acide - base de la cellule.

L'oxalate représente-t-il une substance de déchet ou bien peut-il être réutilisé par la plante et constituer un aliment ? Des expériences de Ravin sur des plantes en cultures aseptiques montrent que si les acides organiques sont parfois utilisés par la plante qui augmente ainsi son poids sec, l'acide oxalique, au-contre semble être un poison.

Bach et Fournier reprenant des expériences identiques démontrent que cet acide est en général assimilable par les végétaux s'il est employé à de faibles dilutions; néanmoins,

ils pensent qu'an s'accumulant sous une forme insoluble il sort définitivement du métabolisme. Tréboux était déjà arrivé à des résultats analogues puisqu'il avait montré qu'un acide organique peut être utilisé comme un aliment mais que sa valeur nutritive est liée à la longueur de la chaîne carbonée.

Dès 1886, Kraus pense que l'oxalate de chaux peut être réutilisé : en effet, déposé dans les écorces des années précédentes, une certaine quantité du sel se redissout pour émigreren d'autres endroits. Donc l'oxalate est une réserve, point de vue repris par Kohl.

Bassalik et Staehelin affirment que la redissolution s'effectue par un processus enzymatique : Staehelin et Ramstad mettent en évidence une oxalase capable de décomposer l'acide oxalique en gaz carbonique et en eau; cette diastase serait très répandue dans le règne végétal.

D) - Les cellules oxalifères : mode de formation, évolution.

Bien que les cellules à raphides fussent connues depuis longtemps, c'est, semble-t-il, Wakker qui le premier a étudié leur genèse; il remarque que les cristaux se déposent toujours dans les vacuoles, fait non admis à l'époque (Van Tieghem : Traité de Botanique 1884 - "ces cristaux se forment tantôt dans le protoplasma général, tantôt dans des leucites spéciaux, cristalligènes, qui peuvent être des chromoleucites").

Des observations de Tison et Witlin

citées par Guillermond montrent que les cellules oxalifères lignifient leur membrane qui se charge fréquemment de mucilage, en même temps noyau et cytoplasme dégénèrent et subissent une véritable fonte alors que les cristaux s'accroissent; parfois, la paroi de la vacuole dans laquelle la cristallisation s'effectue, s'incruste de cellulose, s'épaissit et vient se souder à la membrane cellulaire. Après une lignification complète, les cristaux se trouvent enkystés : l'oxalate serait donc bien un produit d'excrétion.

Kohl en 1898 étudie la question et remarque que le noyau de la cellule à raphides se trouve contre la membrane cellulaire. D'après cet auteur, les raphides se déposent dans le cytoplasme, pourtant il hésite beaucoup : dans le cytoplasme, mais dans une vacuole que l'on ne voit pas (? !). ("Nicht in einer der deutlich sichtbaren grösseren Vacuolen, sondern in Cytoplasma entstehen die Raphiden, freilich auch in einer Vacuole, aber in einer, welche man nicht sieht, weil sie die Raphiden eng umschliesst"). Chez les cellules plus âgées, les vacuoles deviennent plus importantes, le faisceau de raphides s'accroît : il reste finalement un sac cytoplasmique (Plasmasack) qui entoure les raphides et les relie, par deux tractus principaux aux parois de la cellule.

Selon Samuels qui observa le parenchyme des pièces florales d'*Anthurium scandens*, les cellules oxalifères sont de deux types :

Les unes renferment des cristaux polyédriques, les autres des raphides qui mobilisent plus d'eau lors de la cristallisation. Il observe que les cellules à raphides proviennent de la fusion de deux cellules voisines : union des cytoplasmes et des noyaux; elle serait provoquée par des conditions physiologiques anormales dont la plus importante serait sans doute le départ d'eau du cytoplasme lors de la cristallisation. Ce départ interviendrait aussi sur la forme du noyau et perturberait les mécanismes régulateurs de la cellule. La densité du cytoplasme de la nouvelle cellule obtenue est importante, le noyau hypertrophié peut être améboïde, spiralé ou lobé; autour de lui et avant même la fin de la fusion des noyaux pères, il se forme des colonies de cristaux à son contact immédiat.

La cristallisation terminée, le noyau devient ovale, son nucléole grandit considérablement, ce qui amène l'auteur à la conclusion suivante : le nucléole est un produit de fin de métabolisme. En dernier ressort, la formation des cellules à raphides est un phénomène pathologique.

Sept ans plus tard, W. Robyns étudie la genèse des cellules oxalifères chez *Hyacinthus orientalis*. Il observe dans les cellules du peribleme de la racine, et uniquement dans celles-ci, la formation d'une vacuole centrale unique qui refoule noyau et cytoplasme à la périphérie. D'emblée, dans le centre de la vacuole, apparaissent des raphides qui s'entourent bientôt de mucilage.

Lorsque la vacuole commence à se creuser, l'auteur remarque une ou deux taches distinctes du cytoplasme; denses, l'une est souvent en contact directe avec le noyau; lors de l'accroissement de la vacuole, moulées contre celle-ci elles s'étendant progressivement. Les fixateurs mitochondriaux les révèlent homogènes et sans structure discernable. Après l'usage de fixateurs acétiques, elles présentent de grands alvéoles.

Ces formations, l'auteur les nomme : ergastoplasme vrai. Leur fonction serait identique à celle du protoplasme basal observé dans certaines cellules sécrétrices animales; elles participeraient en outre activement à la formation des raphides. Nous serions là en présence d'une différenciation fonctionnelle; ce serait un élément caractéristique et constant des cellules sécrétrices.

Que devient cette ergastoplasme après le dépôt des raphides ? L'auteur n'apporte aucune réponse.

GENESE DES CELLULES A RAPHIDES CHEZ SPATHIPHYLLUM WALLISII

A) - Techniques.

Nous avons effectué des prélèvements d'apex de racines, de bourgeons et de rhizôme. Le fixateur employé a été le Zenker formol : temps de fixation 48h; puis, nous avons procédé à une postchromisation par une solution de bichromate de potassium à 3% pendant 48h et à 45°. Ensuite, les pièces ont été mises dans l'alcool à 70° auquel nous avons ajouté 2 à 3 gouttes de teinture d'iode afin d'éliminer le sublimé du fixateur, resté dans les objets.

Puis nous avons extrait l'excès d'iode par de l'alcool à 70° régulièrement renouvelé (jusqu'à ce qu'il soit entièrement incolore). Lavage à l'eau une nuit, déshydratation, inclusion.

Les coupes faites à 5 microns ont été collées à l'albumine. Avant la coloration, mordantage par l'alun de fer ammoniacal à 3%; le colorant employé fut l'hématoxyline de Heidenhain, parfois celle de Regaud (les résultats ont été comparables).

Quelques lames ont été colorées par la méthode de Milovidov : le chondriome apparaît alors rose, les bactéries bleues.

Afin de mettre en évidence les mucilages, nous avons également coloré quelques coupes par l'hématoxyline de Delafield.

B) - Observations.

I) L'oxalate de calcium :

Largement représenté chez *Spathiphyllum Wallisii*, dans les feuilles, les pétioles, les racines et surtout dans le rhizôme, son observation a été facilitée par l'emploi du microscope polarisant qui nous a révélé son existence sous deux formes :

- des plaquettes plus ou moins groupées, qui au premier abord simulent parfois des oursins; une observation plus poussée montre qu'elles sont groupées de façon parfois fort irrégulière.

La fig. I. Pl. I. indique la disposition de quelques-uns de ces cristaux disséminés dans une vacuole centrale. Leur nombre est parfois plus élevé (Fig.2 id.), leur groupement plus serré; il est parfois grossièrement rayonné (Fig.3 id.) mais très irrégulier et ne ressemble guère aux cristaux maclés formant les oursins si souvent décrits.

Ces formations, de taille variable, et parfois nettement pentagonales, nous ne les avons observées que dans les coupes de rhizôme où elles sont assez fréquentes quoiqu'en nombre inférieur à celui des raphides.

- Les raphides, aiguilles acérées, sont groupées en faisceaux nombreux très visibles en lumière polarisée.

Quand analyseur et polariseur sont croisés, elles apparaissent vivement colorées : jaune sur les bords, bleutées en leur centre, présentant des tons orangés dans les régions intermédiaires.

Dans les coupes colorées par l'hématoxyline et mordancées par l'alun de fer, elles ont disparu, dissoutes lors du mordantage (fait déjà signalé par Samuels). Il ne reste plus alors que des traînées très pâles, à peine colorées, légèrement bleutées, à disposition parallèle : ce sont les gaines mucilagineuses des cristaux.

De telles gaines, il semble que les plaquettes n'en possèdent pas : sur toutes les coupes observées, nous n'en avons décelé aucune.

Nous verrons que la cellule à raphides peut avoir différentes tailles; les raphides n'en sont pas pour autant plus ou moins longues, mais chaque faisceau est composé de plusieurs rangées d'aiguilles superposées (Fig.4 id). Il semble donc que lors de la croissance de la cellule oxalifère, la raphide ne grossisse pas continûment, mais la cristallisation se poursuit par apport de raphides nouvelles.

2) Les cellules à raphides :

- Dans le rhizôme

La Fig. 5. Pl.2. représente une cellule à raphides du rhizôme :

elle est remarquable par sa taille, comparée aux cellules voisines.

Le cytoplasme de couleur sombre, d'aspect granuleux forme une bande pariétale. La vacuole centrale, très grande, contient les gaines mucilagineuses qui ont gardé leur disposition parallèle et ne semblent guère avoir été affectées par les traitements subis. Le noyau, important, plus ou moins ovale, inclus dans la bande cytoplasmique est lui aussi devenu pariétal : on y distingue difficilement quelques granulations chromatiques, tant il est devenu chromophile; le nucléole ? volumineux et très apparent.

Le chondriome est largement représenté : les mitochondries abondent dans le cytoplasme et contribuent à lui donner sa teinte sombre. Alors que les cellules voisines renferment un certain nombre de plastes, ici, dans la cellule à raphides, nous n'en notons aucun.

L'observation de la Fig.6; Pl.2. nous montre un fait nouveau : dans un cytoplasme plus clair se trouve un petit plaste, de taille très inférieure à celle des plastes des cellules voisines. (Le noyau n'est pas visible dans cette coupe).

Certaines lames n'ont pas été colorées à l'hématoxyline, ni mordancées, mais déparaffinées et montées dans une solution iodo-iodurée : le cytoplasme granuleux renferme de nombreuses mitochondries (Fig.7); les cellules voisines contiennent en plus de très gros plastes de couleur brunâtre, parfois rougeâtre mais jamais violette : ces amyloplastes présentent

donc de l'amidon soit en formation, soit en voie d'hydrolyse. Il faut noter que dans des coupes non colorées, uniquement fixées, observées au microscope polarisant, nous n'avons jamais observé le phénomène de la croix noire.

Il semble donc que dans les cellules oxalifères il n'y ait pas coexistence de l'amidon ou de ses formes dérivées et de l'oxalate de chaux (le petit plaste de la figure 9 paraît être un leucoplaste étant donné sa taille réduite). Cette observation nous paraît générale, nous l'avons en effet retrouvée dans la jeune cellule de la fig.8.

- Dans les feuilles

Les cellules à raphides y sont allongées selon l'axe de l'organe. La fig. 9. Pl.3 en représente une qui, déparaffinée, a été colorée par le bleu de méthylène (noyaux colorés en bleu-vert), puis montée dans l'eau iodée : cytoplasme dense, granuleux; le noyau, central, contient deux nucléoles importants ; les raphides n'occupent que la partie inférieure de la cellule. Un seul petit plaste est visible, alors que les cellules voisines renferment de nombreux chloroplastes, jaunes, verdâtres.

La cellule, de la fig.10 possède un noyau énorme à nucléole bleu-foncé, très visible. Le cytoplasme contient une multitude de petites mitochondries serrées les unes contre les autres; quelques petits plastes sont situés

sur le côté de la cellule, mais nous verrons ce qu'il faut en penser car cette figure est intéressante par d'autres aspects.

De même, la jeune cellule à raphides de la fig.II renferme un chondriome important mais pas de plastes

Par conséquent, oxalate et chloroplastes semblent ne pas se retrouver côte à côte sauf en quelques rares cas.

- Dans les racines

Les remarques précédentes ont été vérifiées dans les coupes observées : le cytoplasme granuleux contient des mitochondries mais jamais de plastes. Ici encore les cellules oxalifères sont allongées suivant l'axe de l'organe (Fig. I5) - (microphotographie). Cependant, la Fig. I3 nous montre une cellule fortement ventrue : elle se trouve en effet en un endroit où une expansion latérale est possible, les cellules n'étant plus alignées selon des directions rectilignes, parallèles (Fig. I3').

Dans la racine, les cellules oxalifères ne se forment que dans le périlème.

3) Naissance des cellules à raphides :

Souvent dans les feuilles entourant le point végétatif et surtout dans celles qui sont le plus différenciées, nous observons des cellules de taille normale mais remarquables par leur noyau volumineux, fortement

coloré : les chromocentres s'étalent largement sur les fibres du réseau à peine visible; le nucléole intensément coloré nous apparaît entouré d'une auréole plus pâle.

Le cytoplasme dense est creusé d'une ou de plusieurs vacuoles (Fig. 14 - 15 - 16); à cause de sa densité, il ressemble beaucoup à celui des cellules méristématiques foliaires, mais les inclusions vivantes, les mitochondries notamment sont nettement moins visibles.

Des figures identiques nous en trouvons dans le rhizôme (Fig. 17, Pl. 5) et dans la racine (Fig. 18), toujours situées à une certaine distance des points végétatifs.

Ensuite, l'oxalate de calcium se dépose (Fig. 19) : trois vacuoles renferment déjà de petits faisceaux de raphides, une quatrième est vide; quelques cellules plus loin, à gauche, la cristallisation s'est produite dans deux vacuoles seulement (voir aussi Fig. 20 - 20' - 20"); parfois, elle s'opère soit dans une vacuole unique, simple (fig. 21, Pl.6) ou complexe (Fig. 21'). Il semble que le dépôt ne s'effectue pas selon des directions privilégiées, les différents faisceaux peuvent faire entre eux des angles extrêmement variables. Lorsque les raphides se forment dans une vacuole unique, elles ne se déposent pas forcément selon le plus grand axe de la cellule, mais parfois transversalement (Fig.22).

4) Evolution des cellules à raphides :

Puis les vacuoles s'accroissent, les faisceaux prennent **une importance plus grande** (Fig. 23) : les faisceaux r1, r2 et r3 ne sont plus séparés que par un fin tractus de cytoplasme (voir aussi Fig. 23'); ensuite, les vacuoles fusionnent (Fig. 24, Pl. 7) : **ici trois ont conflué** : f1, f2, f3 sont en effet orientés selon des directions différentes.

La fig. 25 nous offre un aspect identique mais dans ce cas précis deux vacuoles se sont unies (idem fig. 26).

Enfin la vacuole devenue unique, occupe très rapidement la presque totalité du volume cellulaire; cytoplasme et noyau sont refoulés; le noyau bientôt ovale (fig. 26) s'allonge de plus en plus (fig. 27 et 28).

Longtemps encore il conserve sa structure : le nucléole reste important, net, la chromatine abondante, fortement colorée. La bande de cytoplasme se rétrécit encore, pâlit, renferme un noyau qui a perdu sa colorabilité et dont les contours ne sont discernables qu'en faisant fortement varier la mise au point (fig. 29).

Dans d'autres cas, le pouvoir chromophile du noyau subsiste, mais les limites sont peu visibles tant le cytoplasme est sombre et riche en chondriome (fig. 30, Pl. 8 : cellule de gauche - fig. 31).

5) Cas différents :

Cependant, cette naissance, cette évolution simple et banale de la cellule oxalifère se complique parfois.

La fig. 32 montre la fusion de deux cellules apparemment banales : rupture de la membrane commune dont il ne reste plus qu'une portion sur les bords, et surtout fusion nucléaire produisant une masse en forme de 8; les nucléoles, accolés, sont encore distincts. Précisons cependant que cette figure semble exceptionnelle et nous ne l'avons que très rarement rencontrée.

La fig. 33 nous surprend également : dans une coupe transversale de méristème foliaire, nous observons une cellule à raphides formées, qui contient deux noyaux situés rigoureusement sur le même plan, mais ici aucune velléité de fusion n'apparaît.

Nous avons parfois remarqué quelques cellules binucléées (fig. 34, 35, 36) : dans le rhizôme, la feuille, soit dans des tissus méristématiques, soit déjà différenciés. Ou bien les noyaux sont de taille identique, ou bien légèrement inégaux. Notons immédiatement qu'aucune de ces cellules ne présente les caractères d'une cellule oxalifère.

Par contre, certaines cellules à raphides jeunes ou déjà évoluées sont bi-et même plurinucléées: (fig. 37, Pl. 9) l'un des noyaux présente toutes les caractéristiques observées

chez les autres cellules oxalifères, nucléole important ..., l'autre de taille normale est situé dans un coin de la cellule.

La fig. 38 montre deux cellules oxalifères jeunes, à cytoplasme dense, à noyau caractéristique; entre les deux unités, aucune membrane. Chaque vacuole se trouve juste sous le noyau.

Nous avons retrouvé cette structure mais plus évoluée (fig. 39) : les vacuoles plus importantes contiennent des faisceaux d'aiguilles.

Peut-on considérer la fig. 40 comme un terme ultérieur de cette évolution ? Deux vacuoles séparées par une fine bande de cytoplasme occupent presque tout le volume offert; mais on peut se demander s'il n'existe pas dans ce cas un reliquat de membrane : l'identification est extrêmement difficile. Des figures identiques ? Nous en avons observées dans le rhizôme.

La fig. 41, Pl. 10 représente une cellule oxalifère issue de l'union de deux cellules voisines; la vacuole, centrale, unique est occupée par un faisceau de raphides toutes orientées dans la même direction; le cytoplasme pariétal englobe un noyau très coloré.

Phénomène identique : fig. 42 : les raphides orientées différemment occupent deux vacuoles entre lesquelles un pont de cytoplasme contient un noyau à structure peu nette.

Confluence totale des deux cellules ? Dans la coupe suivante (fig. 42'), le noyau à nucléole volumineux est nettement visible . Résulte-t-il de la fusion de ceux des cellules cI et c2? La fig. 42" a été dessinée trois coupes plus loin (soit à une distance de 15 microns environ) : nous y retrouvons la cellule cI avec son faisceau de raphides et un noyau de taille moyenne, nettement localisé; quant à la cellule c2, l'observation des coupes successives nous permet de la repérer mais nous arrivons là à sa limite : elle est alors séparée de cI par une membrane. La fusion n'a donc pas été totale.

Par ailleurs, les fig. 30 et 3I, Pl. 8 nous ont posé un problème délicat : dans des cellules oxalifères déjà bien évoluées à noyau pariétal, peu distinct du cytoplasme, nous observons des masses ovales n et nI, légèrement plus colorées que le cytoplasme, à limite floue, contenant quelques granulations : elles évoquent des noyaux en dégénérescence. Plus délicate encore est l'interprétation des éléments annotés a et c, (fig. 30) qui pourraient être des noyaux entièrement désorganisés; mais nous ne nous prononcerons pas sur ces formations. Par b (fig. 30) et a (fig. 3I), nous avons désigné des granulations assez importantes qui paraissent difficilement assimilables à du chondriome et qui sont contenues dans des masses plus ou moins arrondies de cytoplasme.

Après avoir observé la cellule de la fig. 10, qui, avec ses trois noyaux dont 2 plus petits, doit sa taille anormale à

la disparition des membranes de plusieurs cellules (3 ou 4 au minimum), nous avons pensé que ces masses pouvaient être des noyaux en régression; les granulations représenteraient alors des reliquats de noyau.

DISCUSSION DES FAITS OBSERVES

L'oxalate de chaux, en plaquettes ou en raphides, est donc largement présent chez *Spathiphyllum Wallisii*. L'évolution des cellules contenant des cristaux pentagonaux est apparemment identique à celle des cellules à raphides : noyau et cytoplasme deviennent également pariétaux lorsque la cellule contient de très nombreux cristaux.

En accord avec les observations de Wakker et Robyns, nous pouvons affirmer que les raphides naissent dans les vacuoles; soit dans une vacuole unique, soit dans plusieurs qui conflueront par la suite, comme l'avait déjà signalé Kohl. Nous n'avons, par contre, jamais observé le "plasmasack" décrit par cet auteur.

Comme ces savants, nous pensons que les raphides sont entourées d'une gaine mucilagineuse qui subsiste plus ou moins après le mordantage. En effet, des colorations à l'hématexyline de Delafield nous ont donné une teinte faiblement violacée autour des raphides mais jamais autour des plaquettes. La plus grande partie des mucilages est vraisemblablement disparue après les lavages à l'eau, qui les fait gonfler et les dissout en partie.

Le dépôt d'oxalate ne semble pas s'effectuer selon des directions particulières mais au contraire très diverses. Lorsque la vacuole, par contre, est devenue

unique, les raphides sont généralement parallèles; sans doute faut-il admettre l'intervention d'un arrangement ultérieur (facteur mécanique : pression ...).

Nous n'avons jamais observé de lignification totale de la cellule à raphides, pas d'enkystement, même lorsque l'évolution est achevée.

Comme Robyns, nous remarquons lors du dépôt des raphides, que le paraplasme se trouve refoulé à la périphérie et que le noyau perd peu à peu de sa colorabilité. Par contre, nous n'avons vu aucun noyau lobé, améboïde, ni spiralé, comme le rapporte Samuels.

Le cytoplasme de la cellule contient très souvent de nombreuses mitochondries, les plastes cependant y sont rares et de taille toujours réduite. Il apparaît donc qu'il existe une relation entre l'oxalate et l'amidon d'une part et les chloroplastes d'autre part. Malgré l'emploi des méthodes mitochondriales de fixation et de coloration, nous n'avons jamais pu mettre en évidence les taches cytoplasmiques signalées par Robyns; les cellules oxalifères ne présentent donc pas dans ce cas précis de structure spéciale, ni d'analogies avec les cellules sécrétrices du règne animal.

La jeune cellule à raphides se distingue très tôt par son noyau et son nucléole volumineux. Il semble donc, comme l'avait déjà noté Miss Smith, que la cellule qui se différenciera voit s'accroître son noyau bien avant

le dépôt des raphides.

Nous avons montré que très souvent une cellule oxalifère se différencie d'une façon très simple : accroissement de la vacuole, reflux du cytoplasme et du noyau ... Aussi, avons été très intrigués par la fusion nucléaire de la fig. 32, Pl. 8; ce phénomène semble très rare.

Par contre, nous observons un nombre plus élevé de cellules binucléées; après avoir pris connaissance des études de Samuels, nous avons pensé "peut-être les cellules à raphides proviennent-elles de la fusion de deux cellules ordinaires, voisines, formant le - symplast - de l'auteur".

Le premier stade serait donc représenté par une cellule binucléée, ensuite fusion de deux noyaux, puis formation de la cellule oxalifère. Ainsi s'expliquerait la présence de deux nucléoles dans un même noyau (fig. 9 - fig. 43); or, nous avons remarqué (fig. 44) un phénomène de bourgeonnement nucléolaire, par conséquent la dualité des nucléoles ne peut confirmer l'hypothèse formulée.

Nous avons alors trouvé (fig. 38, Pl. 9) des cellules oxalifères binucléées, la fig. 10 nous montre même une telle cellule à trois noyaux; ou bien ils sont identiques, ou bien fortement dissemblables, mais jamais ils ne présentent la moindre fusion, ils coexistent simplement.

Une question se pose alors : la fusion des cytoplasmes se présente-t-elle avant la différenciation ou bien est-elle provoquée par l'accroissement des cellules ?

Dans certains cas, un tel complexe à plusieurs noyaux provient probablement d'une cellule binucléée : aucune trace de membrane n'est visible, les deux noyaux sont identiques : volumineux, ils présentent un nucléole très développé (fig.38 et 39, Pl. 9).

Dans d'autres cas, il est possible qu'une cellule à raphides détruite lors de sa croissance, soit par une action purement mécanique, soit par une action diastasi-que, la membrane d'une cellule voisine (fig.37, Pl.9) ou même de plusieurs cellules (fig.10, Pl.3). Les noyaux des cellules annexées ne participent pas à l'activité de ce nouveau complexe, mais ils tendent rapidement à dégénérer.

Ainsi pourrait s'expliquer la présence des masses observées dans la fig.30, Pl.8 : lors de la croissance, les cellules voisines englobées perdent rapidement leur activité. Dans le rhizôme en effet, il est fréquent d'observer les cellules adjacentes, moulées contre la cellule oxalifère; elles sont alors allongées et très étroites.

L'accroissement se fait ici selon les 3 directions de l'espace, mais il est plus important suivant le grand axe de la

cellule; en fait, le phénomène semble lié au développement général de l'organe : dans les feuilles et les racines, les cellules oxalifères très longues ne dépassent pas en largeur la file des cellules dans laquelle elles sont comprises; par contre, nous avons vu (fig.13, Pl.4) que lorsque l'expansion latérale par suite de proliférations inégales de cellules vers l'extérieur, est permise, la forme de la cellule oxalifère varie.

Il se peut que lors de leur développement des cellules à raphides voisines, d'abord nettement séparées, confluent par la suite : la membrane mitoyenne disparaît pour ne subsister que sur les bords, formant alors une sorte de frange (fig.41 - et peut-être aussi fig.40). Dans ce cas, les noyaux ont aussi un aspect identique.

Nous pouvons donc dire que la formation des cellules à raphides paraît complexe et très diverse : ou bien elles se développent à partir d'une cellule simple, ou bien le point de départ est représenté par une cellule binucléée, cas plus rarement observé. Quelle est la cause de cette hémidiérèse ? Nous ne pouvons répondre après nos seules observations.

Que retenir de plus ? ceci : par quel effet noyau et nucléole présentent-ils un volume aussi considérable ?

Selon Samuels, l'explication paraît simple : dans la plante existent des conditions pathologiques; comme lui, nous avons recherché si une action bactérienne ne pouvait être décelée. Quelques coupes colorées selon la méthode de Milovidev nous ont apporté une réponse négative.

L'hypothèse d'une activité bactérienne écartée, l'auteur évoque l'existence de conditions physico-chimiques anormales : les raphides cristallisent en effet en fixant 3 molécules d'eau par molécule d'oxalate; ce départ d'eau provoquerait l'augmentation de volume du noyau; le nucléole ? : produit final du métabolisme.

Bien que son rôle soit actuellement encore mal connu, le nucléole paraît être un élément de réserve du noyau; des observations de cellules en surnutrition montrent son accroissement en volume et souvent son bourgeonnement. Dans des cellules en inanition au contraire, diminution de volume. L'A.R.N. du nucléole se trouve rapidement **lysé** lors d'expériences de jeûne, vite resynthétisé au cours de la régénération.

La morphologie traduisant l'activité physiologique, nous concluons donc que les cellules à raphides présentent une activité très importante.

Samuels fait d'autre part remarquer que par sa densité le cytoplasme des cellules oxalifères rappelle celui des cellules du sac embryonnaire et il voit là un argument supplémentaire pour attribuer ce fait à un phénomène pathologique :

une infection par un élément étranger.

Nous avons vu aussi que l'ensemble du noyau augmente en chromaticité : or, nous savons que les amas chromatiques (constitués d'A.D.N.) sont des centres de synthèse protidique.

Ces remarques faites, nous ne pouvons cependant trancher le problème. Sommes-nous en présence d'un cas pathologique ? Il faudrait pouvoir comparer la teneur en oxalate de calcium des plantes cultivées dans les jardins botaniques à celle des plantes poussant dans leur milieu naturel. Mais surtout, il serait intéressant de se livrer à des études microchimiques très précises, afin de connaître les conditions de vie de la cellule : déterminer le pH, la pression osmotique, la constitution chimique exacte de tous les éléments de la cellule oxalifère et connaître le métabolisme particulier de celle-ci - problème évidemment très complexe -. Il semble, en effet, que noyau et cytoplasme interviennent de pair dans cette genèse des raphides; sans doute, pourrait-on également étudier les différentes valeurs du rapport nucléo-plasmatique et les comparer à celles des autres cellules parenchymateuses.

Une étude de l'oxalate dans l'appareil reproducteur de la plante éclaircirait peut-être le problème; sa répartition y est-elle aussi large ? Le sel existe-t-il dans la graine ? Où ? Et à quel stade de la germination apparaît-il ?

L'oxalate est-il un produit d'excrétion ?

Nous savons que la question est délicate; étant donné son abondance, il semble bien qu'il sorte définitivement du métabolisme de la plante. N'est-il jamais réutilisable ? Pour s'en assurer, on pourrait suivre son évolution sur de jeunes plantes soumises à des expériences de jeûnes et de régénérations diverses (il serait intéressant d'observer l'état du noyau lors de jeûnes azotés par exemple).

CONCLUSION

Résumons donc les résultats auxquels nous sommes parvenus :

1) - Les raphides se déposent dans les vacuoles : le dépôt peut avoir lieu dans une ou plusieurs poches qui ensuite convergent. Ceci est prouvé par les orientations différentes des faisceaux de raphides.

2) - Une relation paraît exister entre l'oxalate de chaux et les plastes : elle se manifeste de façon précoce dans les jeunes cellules à raphides : jamais plastes et cristaux ne coexistent.

3) - La jeune cellule qui va évoluer en cellule oxalifère apparaît très souvent dans des tissus déjà différenciés essentiellement soumis à un allongement. Elle se distingue par un cytoplasme dense, sombre par les colorations mitochondriales, riche en chondriome. Le noyau est volumineux; si sa structure n'est pas toujours nettement visible, le ou les nucléoles sont très importants et remarquables par leur colorabilité; parfois, apparition d'un bourgeonnement nucléolaire.

4) - Le noyau reste longtemps volumineux et conserve son aspect même après avoir été refoulé contre les parois cellulaires. Puis il change de forme, devient ovale et se confond avec le cytoplasme : il semble alors entrer en dégénérescence; nous n'avons cependant jamais observé de cellule oxalifère **anucléée**.

5) - L'accroissement de la cellule se fait selon les directions générales de la croissance de l'organe : en longueur dans les racines et les feuilles, selon trois directions dans le rhizôme. Il en résulte donc une forme différente des cellules oxalifères suivant les organes considérés.

6) - Dans la racine, la genèse des cellules à raphides ne s'effectue que dans le périblème.

7) - Au cours de sa croissance, la cellule à raphides peut annexer une ou plusieurs cellules adjacentes qui semblent dépérir rapidement. Deux cellules oxalifères voisines confluent parfois par suite de leur développement simultané.

8) - Dans certains cas, il apparaît que certaines cellules binucléées dont nous ne connaissons pas le mode de formation, donnent naissance à un complexe, sorte de cénocyte à raphides où chaque énérgide semble se comporter comme une cellule à raphides banale.

9) - Jamais nous n'avons observé les mystérieuses taches cytoplasmiques de Robyns. Dans la cellule oxalifère sénescence par contre, le chondriome semble parfois confluer; il reste cependant granuleux et ne suit pas l'évolution décrite très souvent lors de la différenciation cellulaire (pas de formation de chondriosomes filamenteux).

10) - Le noyau, par ses variations de volume, le cytoplasme, par sa densité, ont de toute évidence une activité importante dont seules des études microchimiques précises pourraient indiquer la nature.

BIBLIOGRAPHIE
- - - - -

- I - Aubert : Ann. Sc. Nat. Bot. (7) - 16 - 1892
- 2 - Bach et Fournier : sur l'absorption de l'acide oxalique par l'*Aspergillus Repens*. C. R. Ac. Sc. p. 1416 - No 26 1935.
- 3 - Baillon : histoire des plantes - vol. 13. Hachette 1935.
- 4 - Bassalik : bull. Ac. Sc. Cracovie. 1917 - 203.
- 5 - De Candolle : Monographiae - Phanerogamarum - vol. 2 Masson 1879.
- 6 - De la Rue : Über Krystalldrüsen bei einigen Pflanzen Bot. zeitung 1869.
- 7 - De Vries : Über die periodische Säurebildung der Fettpflanzen - Bot. zeit p. 337 - 1884.
- 8 - Fournier : These doctorat Univ. de Paris - Ph. 1936.
- 9 - Engler : Das Pflanzenreich - Regni vegetabilis conspectu.
H.74 : Pars generalis et index familiae generalis 1926.
H.37 : Araceae - Monsteroideae 1908.
- 10 - A. Fuchs : Untersuchungen über der Bau der Raphidenzellen. - Osterreich bot. Zeitschrift, Bd XLVIII - No 9 - 1898.
- 11 - Groom : Preliminary note on the relation between calcium and the conduction of carbohydrates in plants. Ann. of Botany 1896.
- 12 - Guillermond : Mangelot - Plantefel : Traité de cytologie végétale - Le François 1933.
- 13 - Kehl F.G. : Untersuchungen über die Raphidenzellen. Bot. centralblatt - Bd. LXXIX - No 9-10 - 1899.
- 14 - Kraus / Jahresb. wiss. Bot. 67 - 1866 -

- 15 - Küster E. : Die Pflanzenzelle Iéna 1935.
- 16 - Meyer : Ber. Bot. Ges. 36-1918 - p. 508
Morphologische und physiologische - Analyse des
Zelle - Teil I - 1920 Iéna.
- 17 - Pfeiffer H. : Kleine Beiträge zur Bestimmung des I.E.P.
von Protoplasten - I Mikrorefraktometrische Untersuchungen
an kugelförmigen pflanzenzellen - Protoplasma II-85-1930.
- 18 - Montreuil J. : Données récentes sur l'assimilation
chlorophyllienne - Bull. de la Soc. de Bot. du Nord de
la France. T.6 1953 - No 4.
- 19 - Ramstad : Th. Doctorat Univ; de Liège - Ph. 1939.
- 20 - Ravin : Ann. Sc. Nat. Bot. (9) 18-1913 - p. 89.
- 21 - Robyns W. : L'origine et les constituants protoplasmiques
dans les cellules à raphides de Hyacinthus orientalis
la cellule 38 - 1928.
- 22 - Rosanoff : Über die Krystalldrüsen in den Pflanzen - Bota
Zeitung 1867 p. 41.
- 23 - Samuels J.L. :
- Etude cytologique sur les relations existant entre
le noyau et le développement des cristaux d'oxalate
de chaux dans les cellules parenchymateuses d'An-
thurium - C.R. Paris 1912 - p. 1275-7.
- A pathological, anatomical study of crystal cyst
formation in parenchymatous tissue in the genus
Anthurium - Ann. of Botany Vol. XXXVII - 1923.
- 24 - Smith Edna.L. : The histology of certain orchids with
référence to mucilage sécrétion and crystal formation.
Bull. Terr. Bot. Club. T.4 No 1 - 1923.
- 25 - Staehelin : Biochem. Zeitschr. 96-1818 - I.
- 26 - Sternon : Archives Inst. Grd. Ducal Sc. Luxembourg
15 - 1937 - 47.
- 27 - Thomas P. : Manuel de Biochimie - Masson 1936.
- 28 - Treboux : organische Säuren als Kohlenstoff Quelle bei
algen. Ber. Bot. Ges. 23 - 1905 - 432.

- 29 - Wakker J.H. : Studien über die Inholdskörper der
Pflanzenzelle - Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd. XIX 1888.
- 30 - Wattiez et Sternon : éléments de chimie végétale -
Masson 1942.

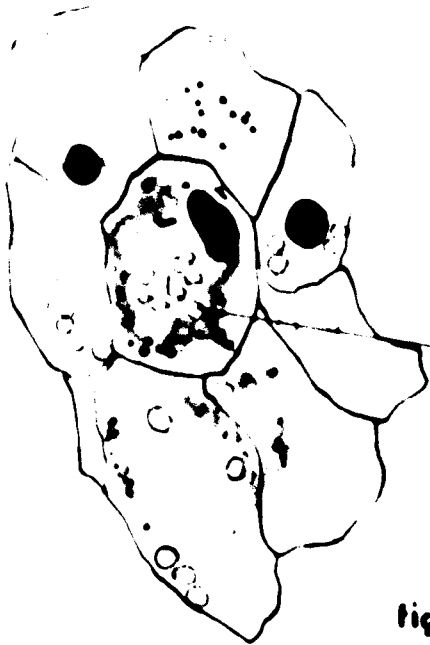


fig.1

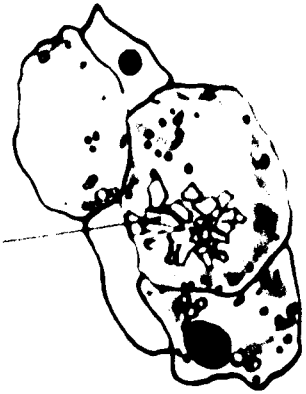


fig.3

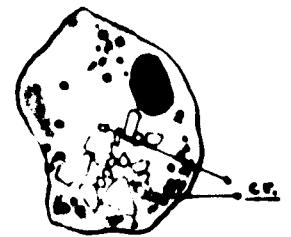


fig.2

cc. cc. cc. cc. cc.

fig.4

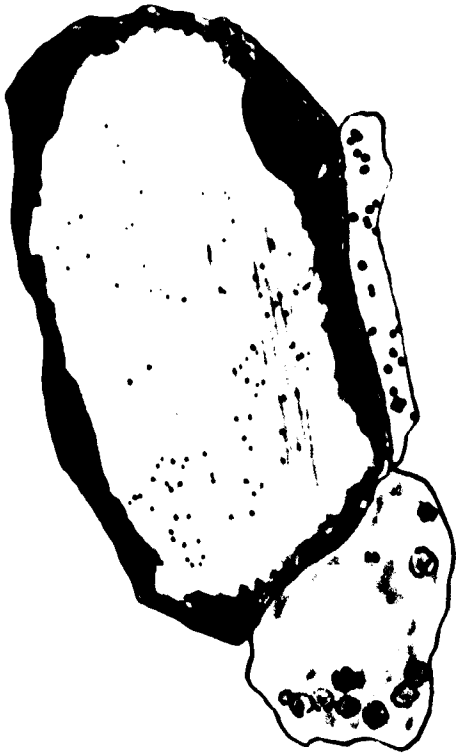


fig. 5.

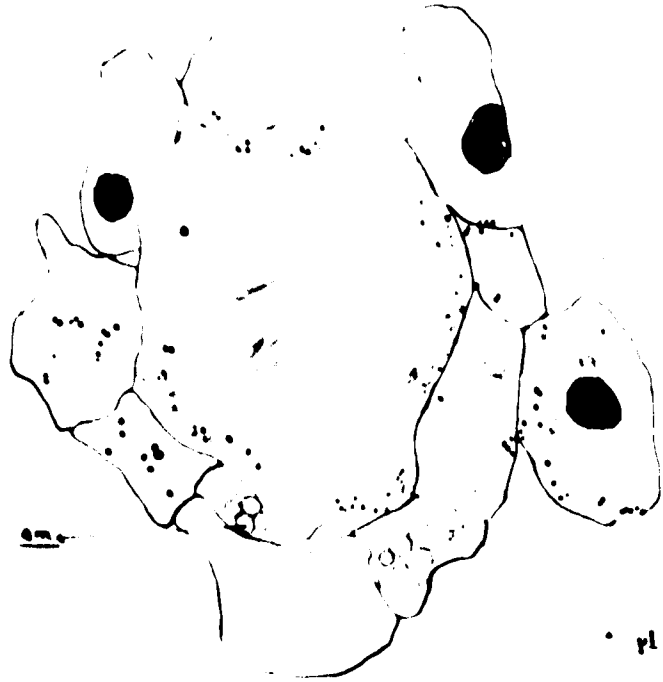


fig. 6.

anamnioplaste
pl. plaste

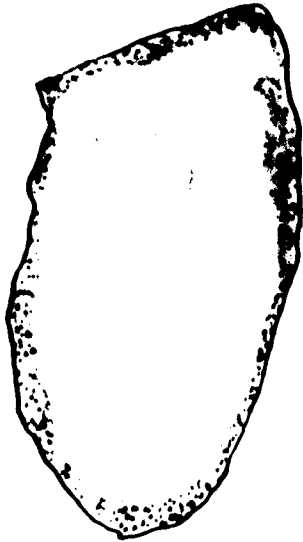


fig. 7



u. up

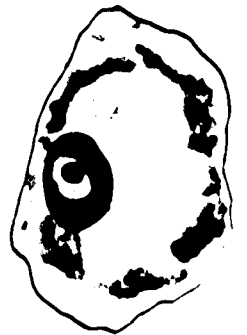


fig. 8



fig.10



fig.9

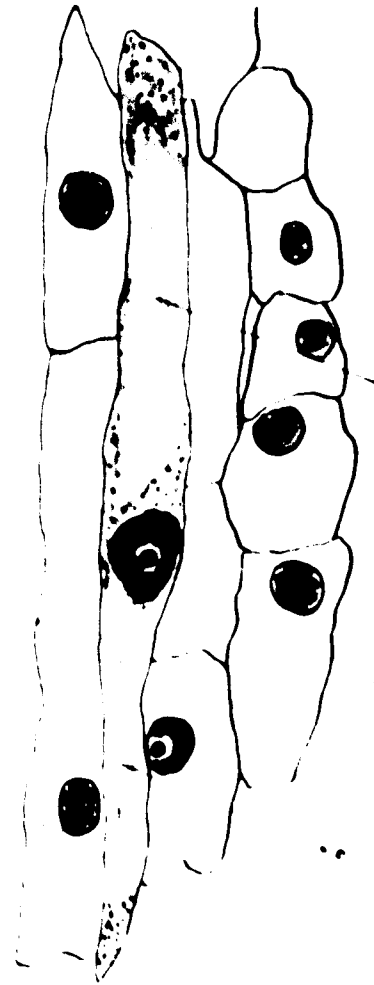


fig.12

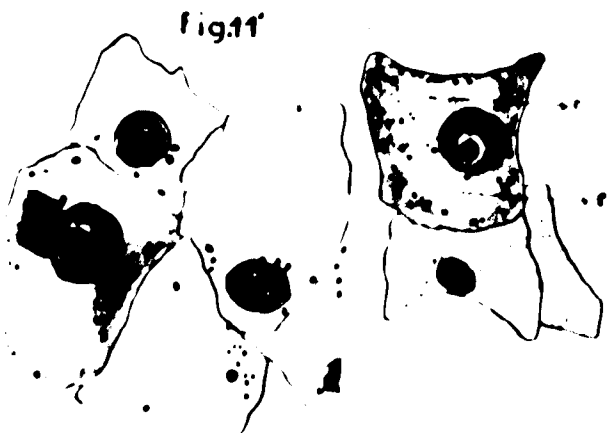


fig.11

fig.11'

Pl 4



fig 13

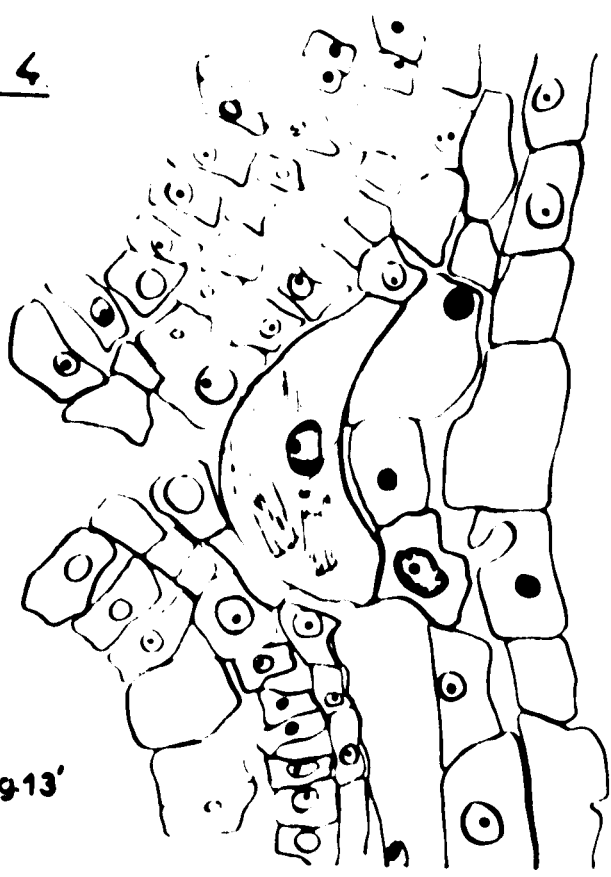


fig-13'

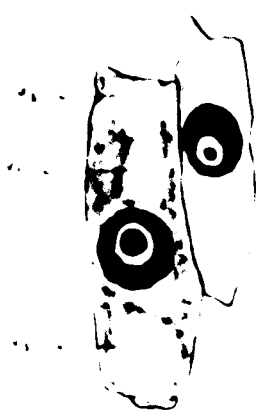


fig 14



fig 15

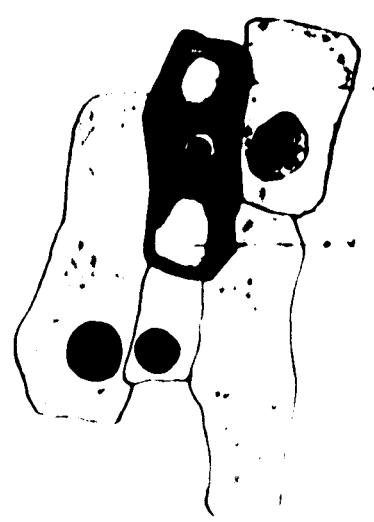


fig 16

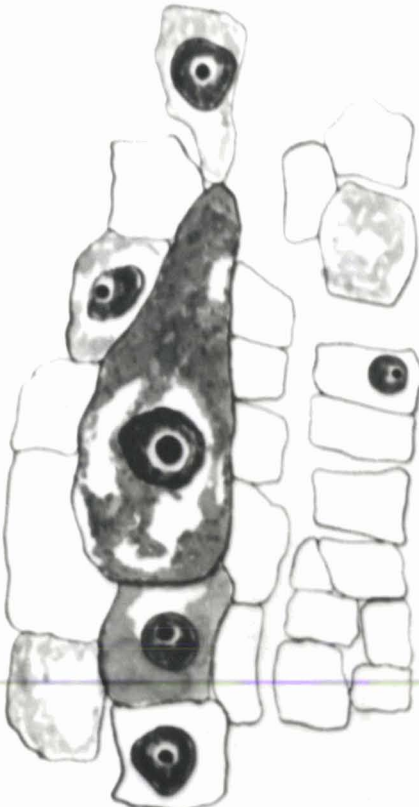


fig.18

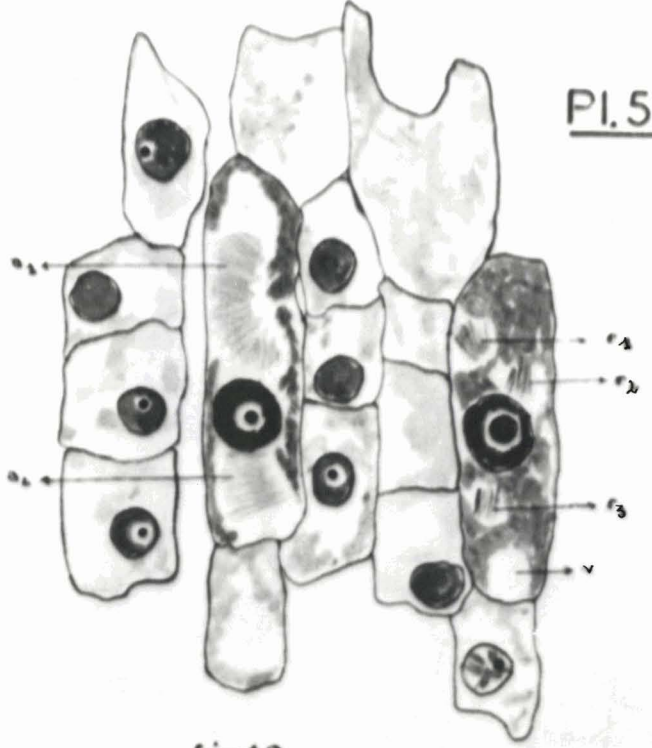


fig.19



fig.17

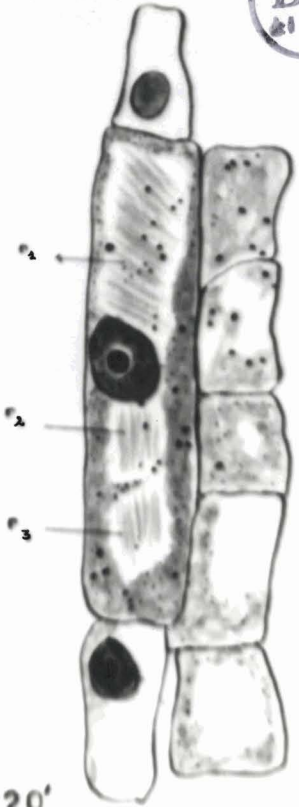


fig.20'

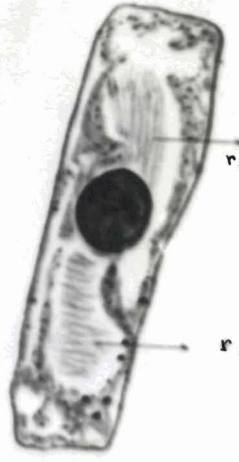


fig.20''



fig.20



fig. 21'



fig. 21

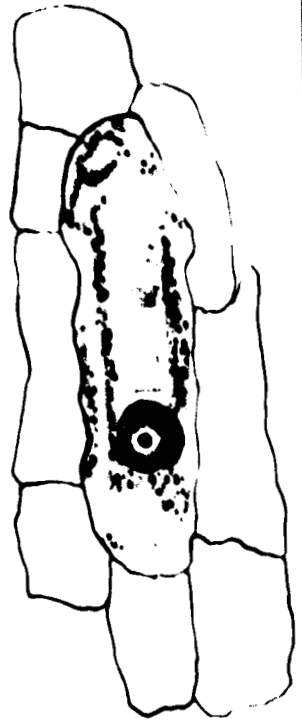


fig. 22

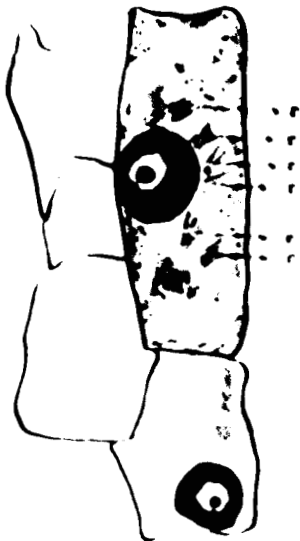


fig. 22'



fig. 23'

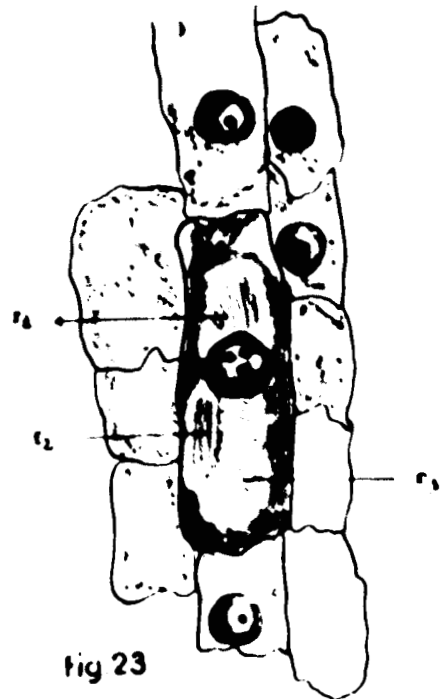


fig 23

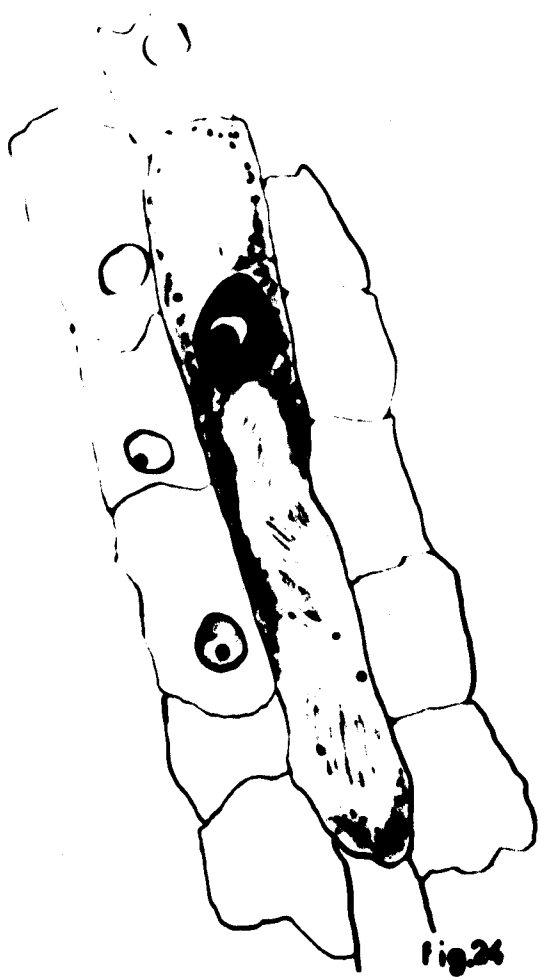


Fig. 24

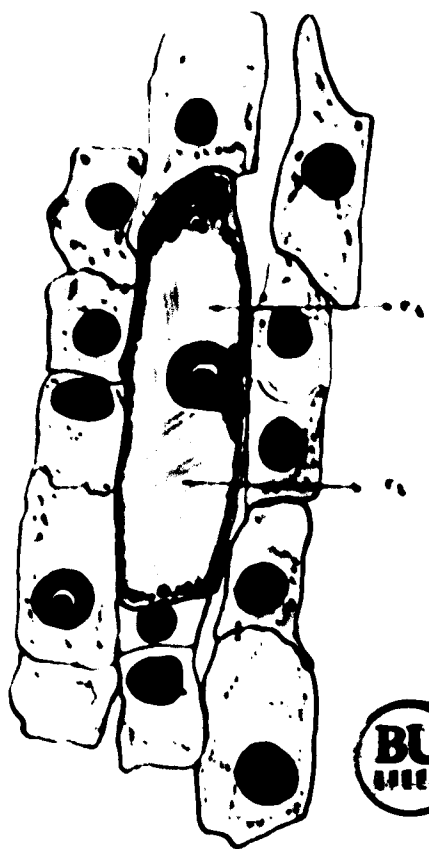


Fig. 25



Fig. 26



Fig. 28

0 10 μ



Fig. 29

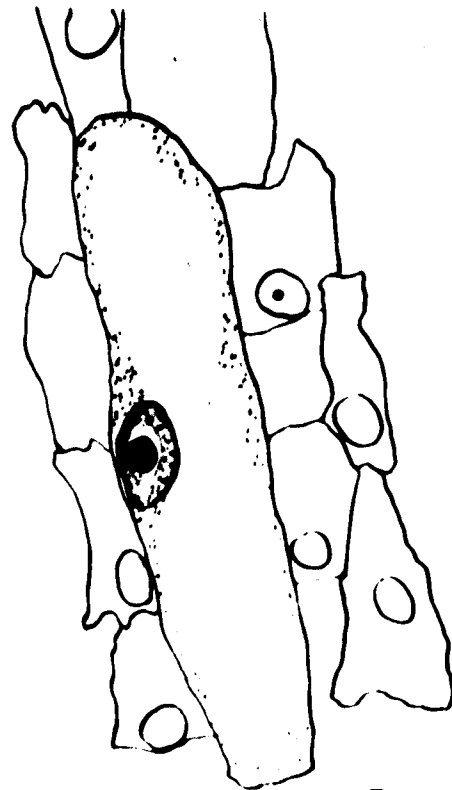


Fig. 27

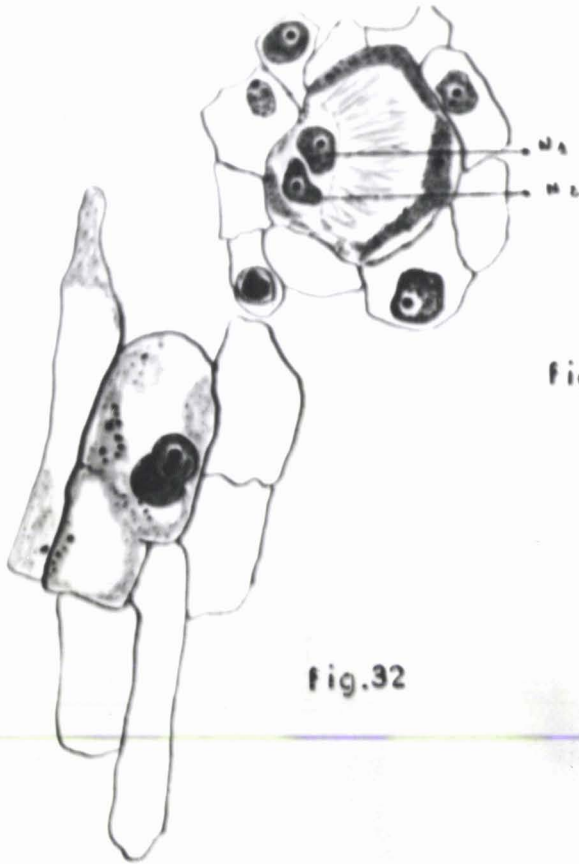


fig.33.

fig.32

10µ

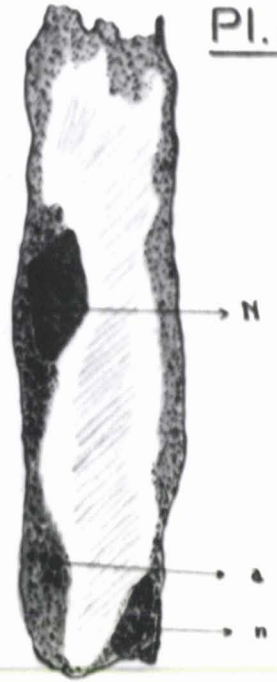


fig.31

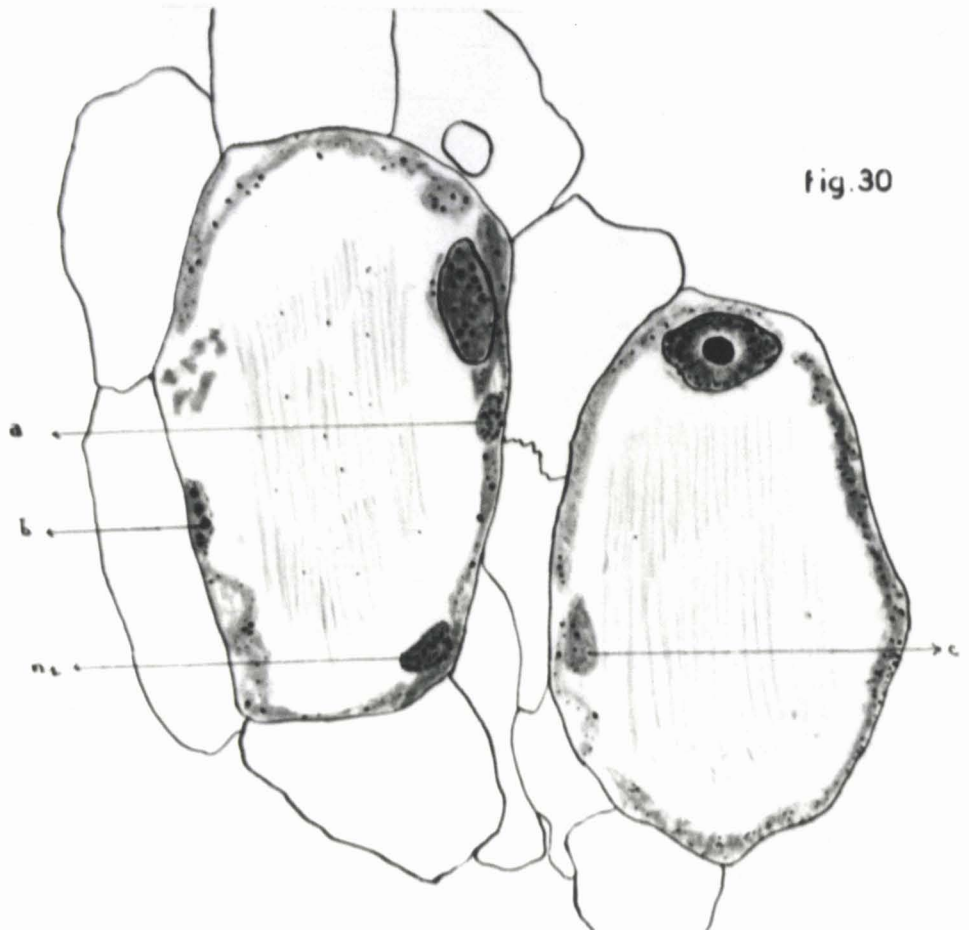


fig.30

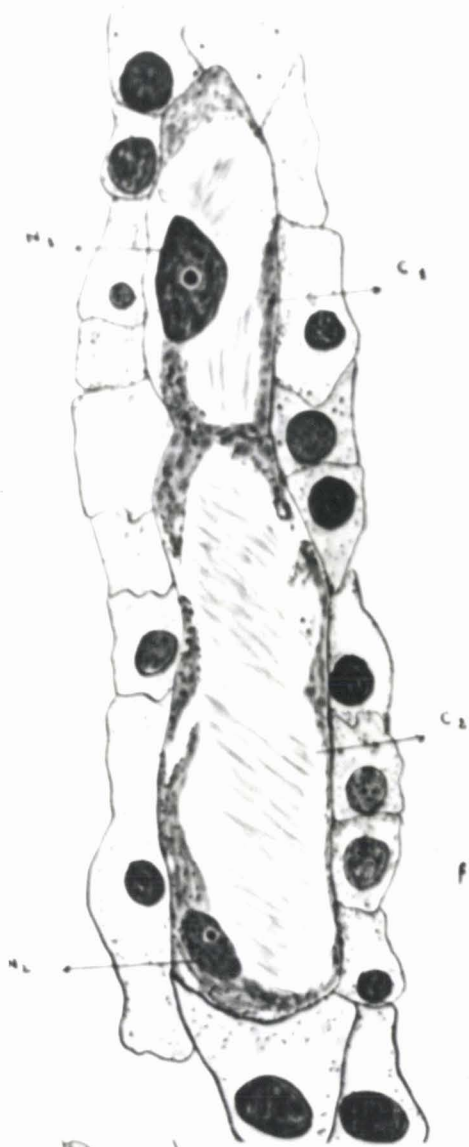


fig.40

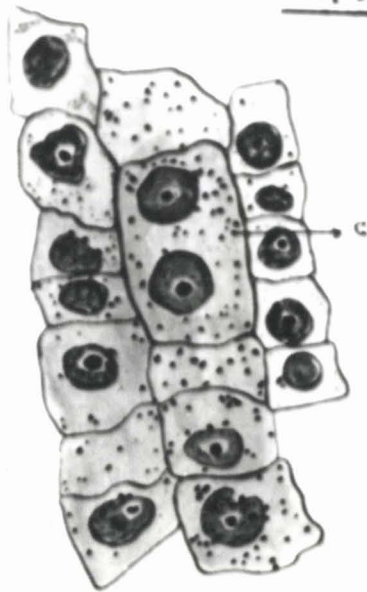


fig.36

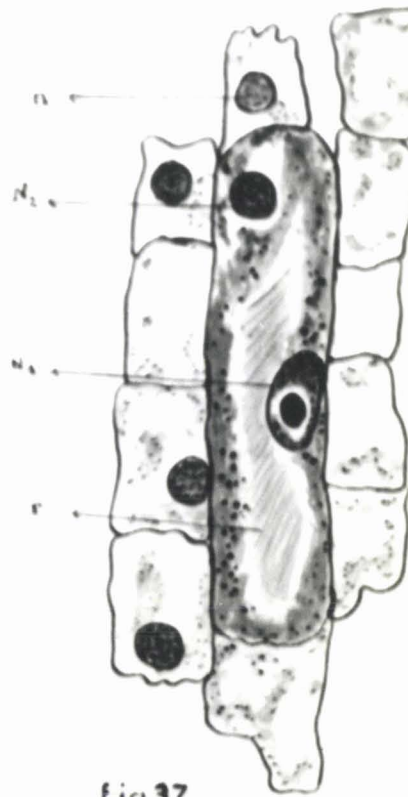


fig.37

C. naphides
n. N1, N2, n. r.

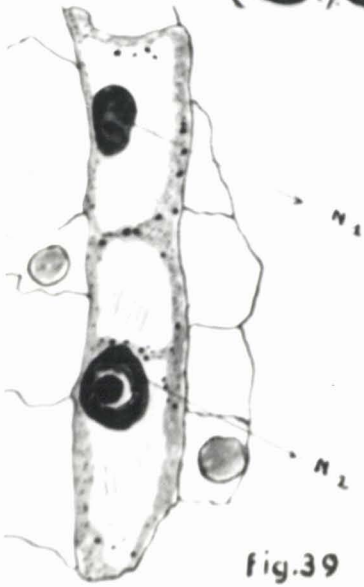


fig.39

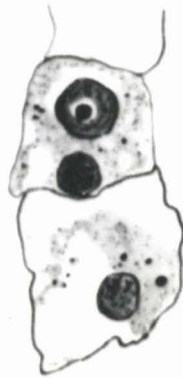


fig.34

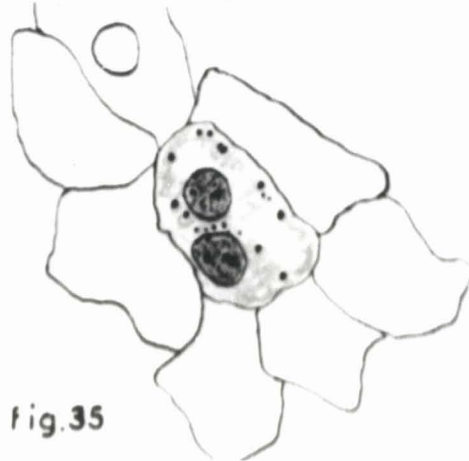


fig.35

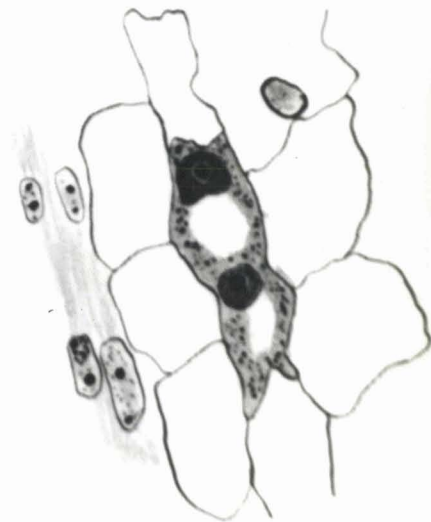
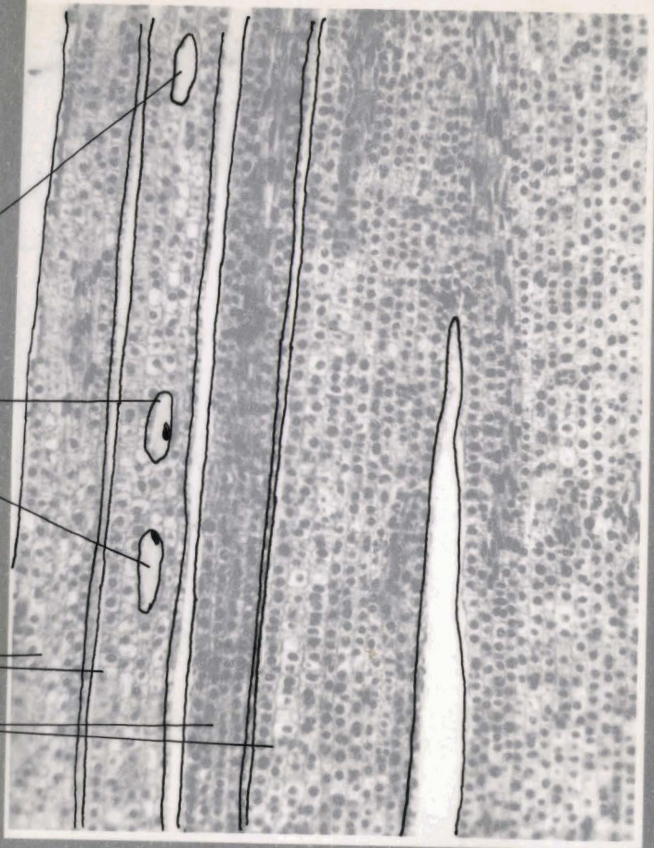


fig.38

cellules à
raphides.

parties d'une
feuille
en voie de
différenciation

feuille plus
jeune.



Bourgeon : coupe
longitudinale au niveau
d'une jeune feuille enroulée.

Fig.43



BU
VILLE



Fig.44

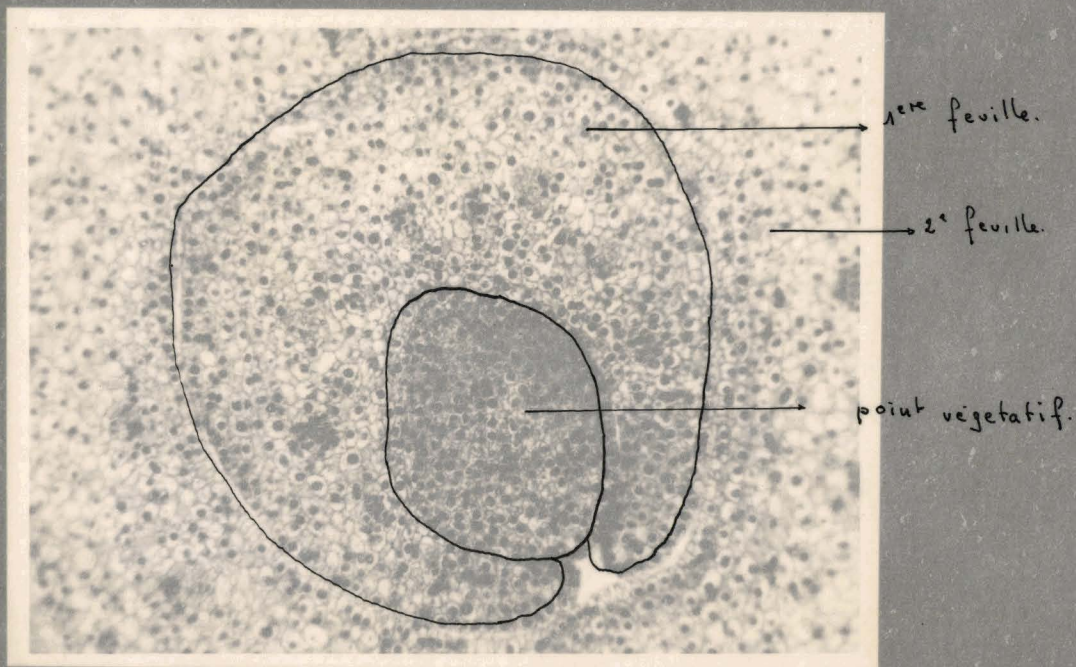
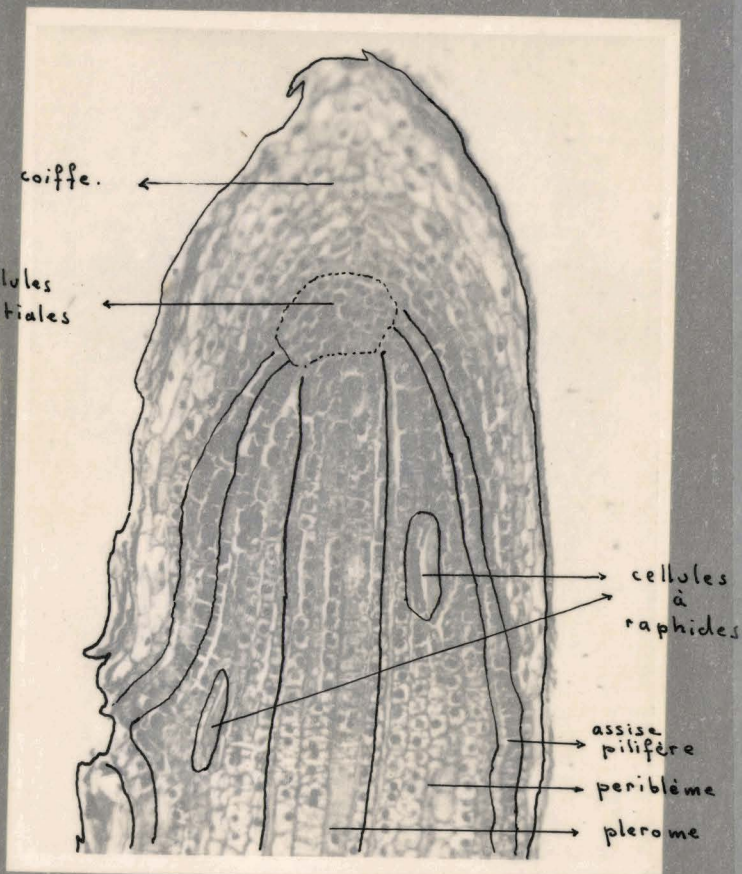


Cristaux en plaquettes
Microphotographie en
lumière polarisée.
Oc. : 10 - Obj : 40



Faisceaux de raphides - lumière polarisée.
A gauche : 2 rangées de raphides superposées.
A droite : 2 rangées au-milieu du faisceau,
une seule vers le bas.

Apex de racine :
coupe longitudinale.



Coupe transversale dans un bourgeon.