50376
1974
67

50376
1974
67

N° d'ordre : 444

THESE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE

SPECIALITÉ : BIOLOGIE VÉGÉTALE

par

Marie-Chantal FABRE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE STRUCTURALE ET CYTOCHIMIQUE DES SPHAIGNES DE LA SECTION PALUSTRIA L.

Soutenue le 12 mars 1974, devant la COMMISSION D'EXAMEN

Membres du Jury : MM.	Professeur	E. VIVIER	Président
	Professeur	E. J. BONNOT	Rapporteur
	Professeur	R. LINDER	Examinateur
	Professeur	F. LEBLANC	Invité (Université d'Ottawa)

SCD LILLE 1
D 030 307249 3

50376
1974
67

50376
1974
67

N° d'ordre : 444

THESE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE

SPECIALITÉ : BIOLOGIE VÉGÉTALE

par

Marie-Chantal FABRE

BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE
Section de SCIENCES
LILLE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE STRUCTURALE ET CYTOCHIMIQUE DES SPHAIGNES DE LA SECTION PALUSTRIA L.

Soutenue le 12 mars 1974, devant la COMMISSION D'EXAMEN

Membres du Jury : MM.	Professeur	E. VIVIER	Président
	Professeur	E. J. BONNOT	Rapporteur
	Professeur	R. LINDER	Examinateur
	Professeur	F. LEBLANC	Invité (Université d'Ottawa)

AVANT - PROPOS

Au début de ce Mémoire, j'ai l'agréable devoir de remercier mon Maître le Professeur BONNOT qui, durant tout le temps de mes travaux dont il a été l'instigateur, n'a cessé de me prodiguer ses encouragements et les fruits de son expérience. Ses idées, suggestions et conseils, toujours exprimés avec une parfaite clarté, m'ont permis de surmonter les difficultés inhérentes à la tâche qui m'incombait. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et sache que je conserverai un inoubliable souvenir de ces premières années consacrées à l'étude d'un sujet qui m'est cher.

Que Monsieur le Professeur VIVIER, qui me fait l'honneur de présider le Jury chargé de juger mon travail, soit assuré de ma plus profonde gratitude. C'est avec un grand profit que j'ai suivi le cours de Microscopie électronique qu'il dispense au niveau du 3ème Cycle.

J'adresse mes très vifs remerciements à Monsieur le Professeur LINDER qui a bien voulu participer à ce Jury.

Monsieur le Professeur LEBLANC (Université d'Ottawa, Canada) a accepté d'inclure dans son séjour en France un voyage à Lille. Sa présence au Jury est pour moi un très grand honneur. Je le prie de croire en ma profonde et respectueuse considération.

Je voudrais aussi assurer de ma gratitude Monsieur le Professeur BIZOT, doyen de la Faculté de Pharmacie de Dijon, pour l'obligeance de son accueil dans son laboratoire. J'ai pu y consulter un riche matériel de collection

sphagnologique.

A ces remerciements j'associe ceux qui m'ont assistée sur le plan technique. Je citerai spécialement M. Ch. HEBANT, Maître-Assistant à l'Université du Languedoc, ainsi que Mlle M.C. VERDUS, Chargée de recherche au C. N. R. S. Ils sont l'un et l'autre des modèles de méthode efficace et de travail bien fait.

Enfin, je ne saurais oublier mes camarades de l'U. E. R. de Biologie de l'Université de LILLE I, dont les avis et l'amitié m'ont toujours été bien précieux. Tout cela me laisse espérer de pouvoir continuer dans l'avenir l'étude d'un groupe végétal dont j'ai découvert, en ces dernières années, le caractère très attachant.

HISTORIQUE

Avant d'entreprendre un travail sur les Sphaignes, il était nécessaire de faire un rapide historique. Leur étude n'a véritablement commencé que vers le milieu du XIXe siècle avec les ouvrages de W.P. SCHIMPER mais, dès avant les travaux de cet auteur, les Sphaignes avaient fait l'objet d'importantes recherches qui ont suscité de nombreuses controverses. En effet, DILLENIUS déjà (1741) emploie le nom de Sphagnum mais parmi ses descriptions on trouve des Grimmia, des Phascum et des Neckera ; deux espèces de vrais Sphagnum sont cependant décrites avec une rare perfection. LINNE (1753) adopte le genre créé par DILLENIUS : c'est le point de départ de la nomenclature des Sphagnum. Plus tard, EHRHART (1780) circonscrit le genre tel qu'il est aujourd'hui. HEDWIG (1782) en découvre les organes mâles. Il décrit le tissu des feuilles mais sans en avoir compris la structure. Ce n'est qu'en 1812 que MOLDENHAUER fait connaître la véritable nature de ce tissu foliaire et de celui de la tige, mettant ainsi hors de doute l'existence de deux types de cellules. HOFMEISTER (1834), auquel la science cryptogamique doit tant de découvertes, a été le premier à caractériser la morphologie des organes femelles.

Il faut attendre 1848 pour voir apparaître le premier ouvrage vraiment scientifique sur les Sphaignes. A cette date, W.P. SCHIMPER (120, 1848) publie son "Mémoire pour servir à l'Histoire Naturelle des Sphaignes", travail qu'il reprend en allemand (121) en 1858 et qui donnera une véritable impulsion à l'étude de ces végétaux. Résumant les travaux de ses prédécesseurs tels que HAMPE (1847), C. MÜLLER (1848-1849), SULLIVANT (1845), et les complétant par un grand nombre de recherches personnelles, il donne un excellent exposé de l'anatomie de ces plantes et précise la description de dix espèces d'Europe.

Vers 1880 l'étude des Sphaignes prend son véritable essor. De 1880 à 1910 paraissent de nombreuses publications dont l'analyse ici serait trop longue. Elles sont surtout d'orientation biogéographique. A partir de cette époque une part plus grande est faite aux caractères anatomiques dans l'étude spécifique de ces plantes. Il en résulte une fragmentation des espèces anciennes. Cette période est dominée par les recherches et les innombrables travaux des célèbres sphagnologues allemands E. RUSSOW (117, 1889) et C. WARNSTORF (139, 1884). Ces auteurs mettent en relief l'importance que l'on doit attribuer à la position et

à la forme des chlorocystes des feuilles raméales ainsi qu'à la disposition et la fréquence des pores dans les hyalocystes des feuilles raméales et caulinaires. Le genre Sphagnum est subdivisé en de nombreuses espèces. Déjà CARDOT (29) dans son "Répertoire Sphagnologique" (1897) en cite 213 et près de 600 variétés pour le monde entier. Cette tendance à la multiplication des espèces atteint son maximum avec C. WARNSTORF (140) qui dans son "Sphagnologia Universalis" (1911) n'en décrit pas moins de 342 avec plus de 2000 variétés !

La période postérieure à 1910 est surtout marquée par des divergences d'opinion sur les questions taxonomiques. On peut se référer aux arguments de MEYLAN (99, 1934), LE ROY ANDREWS (89, 1951), DIXON (44, 1954), BUREAU et CAMUS (22, 1896). Pendant cette période la plupart des Sphagnologues prennent une position intermédiaire et tendent à diminuer le nombre des espèces. C'est le cas de PAUL (108, 1931), GAMS (57, 1957), DISMIER (43, 1927). Malgré toutes ces contributions, loin de se clarifier, la systématique et la taxonomie du groupe se compliquent considérablement et, actuellement, la délimitation des espèces est encore diversement appréciée. Quant aux études de Biologie cellulaire, elles sont restées l'exception jusqu'à nos jours. Nous les envisagerons au moment de l'exposé de nos propres recherches en ce domaine.

Dans ce présent Mémoire, nous essayerons tout d'abord de régler le problème systématique pour une Section du Genre Sphagnum. Nous tenterons ensuite d'apporter des données nouvelles dans le domaine des ultrastructures grâce à des techniques et des moyens que les anciens auteurs ne possédaient pas.

CHAPITRE PREMIER

MATERIEL BIOLOGIQUE ET METHODES D'ETUDE

L'aperçu historique nous montre le grand intérêt que ce groupe de végétaux à l'organisation originale a suscité chez les anciens. En effet, les Sphaignes sont des Bryophytes dont l'importance ne peut échapper à aucun naturaliste. Dans certains pays elles constituent un élément caractéristique du paysage botanique. Les Sphaignes envahissent certains endroits humides et sont en grande partie responsables de l'édification de tourbières dont la superficie peut dépasser la centaine d'hectares, tandis que l'épaisseur de la couche de tourbe formée atteint parfois vingt mètres. Dans le Nord de l'Europe et en Amérique boréale, ces phénomènes biologiques et biogéographiques sont très spectaculaires : des tapis continus de Sphaignes, étendus sur des kilomètres carrés, surprennent le naturaliste par leurs teintes rouges, vertes ou brunes. Les Sphaignes mortes forment la plus grande part des masses énormes de tourbe.

Mais elles étonnent aussi le botaniste lorsqu'il étudie un échantillon à la loupe binoculaire et au microscope photonique, car ces Sphaignes possèdent en effet des caractères très particuliers et originaux au niveau des appareils végétatif et reproducteur.

CARACTERES GENERAUX DES SPHAIGNES

Afin de mieux cerner les problèmes biologiques modernes concernant les Sphaignes, il nous a semblé nécessaire de rappeler ici, d'une façon sommaire, les caractères généraux de ce groupe végétal.

A) Le gamétophyte

I. L'appareil végétatif

Morphologie

La spore, toujours issue de la méiose (méiotospore), germe en émettant un court filament qui produit un protonéma en lame (fig. 1, pl. I). Sur la marge

de celui-ci naît un bourgeon, origine de la tige feuillée. Celle-ci constitue un gamétophyte feuillé simple ou très peu ramifié. Il est dépourvu de rhizoïdes qui n'existent que pendant le jeune âge. Comme cette tige se détruit par la base à mesure qu'elle s'accroît par l'extrémité supérieure, elle finit par prendre une longueur à peu près constante. Elle se termine par une sorte de gros bourgeon constitué de jeunes rameaux denses et serrés, formant la couronne de rameaux (fig. 2, pl. I). Sur l'axe prennent naissance des verticilles de rameaux simples. Les uns sont étalés : ce sont les rameaux ascendants ; les autres, plus ténus, sont plus ou moins appliqués contre la tige : ce sont les rameaux pendants. Sur les 2 types de rameaux sont insérées en spirale, avec une divergence de 2/5 ou 3/8, des feuilles raméales habituellement serrées et imbriquées, de forme variable suivant les groupes (fig. 2, pl. I). La tige porte des feuilles caulinaires, généralement assez distantes les unes des autres. Elles sont souvent cachées par les rameaux qu'il est nécessaire d'enlever pour les découvrir.

Anatomie

- la tige

Une coupe transversale de tige nous montre 3 zones différenciées (fig. 3, pl. I). La zone périphérique est composée, sauf exceptions, d'une ou plusieurs assises de grandes cellules vides, hyalines, les hyalocystes. Ces cellules à parois minces constituent le hyaloderme (encore appelé parfois zone corticale ou écorce). Les parois sont, dans certains cas, perforées de grands pores.

Une zone plus interne fait suite à cette écorce. Elle est constituée de plusieurs couches de petites cellules à parois épaisses, de couleur brune, parfois rougeâtre. Elle correspond au stéréome des Mousses et forme le cylindre ligneux dont les éléments cellulaires sont les stéréides.

La zone axiale (= zone médullaire) est formée d'un tissu à larges cellules parenchymateuses, régulières, à parois peu épaisses.

Le hyaloderme peut être mis en évidence sur une coupe tangentielle (fig. 4, pl. I) qui facilite son étude microscopique. Les cellules hyalines présentent souvent des pores et parfois des épaississements spiralés, les fibrilles, qui assurent une certaine rigidité à l'ensemble.

- les rameaux

Les rameaux ont une structure plus simple. Ils ne possèdent pas de cylindre ligneux. La zone externe n'a qu'une seule couche de hyaloderme. La zone interne

PLANCHE I : Appareil végétatif de Sphagnum palustre
(d'après SCHIMPER, 120, 1848)

Fig. 1. - Protonéma. La spore germant émet un court filament produisant une lame protonématique (lp). De cette dernière naît une tige feuillée (tf) pourvue au début seulement de rhizoïdes (rh).

Fig. 2. - Morphologie externe. Couronne de rameaux courts (cr). Sur la tige (t) prennent naissance les rameaux étalés (ré) ou rameaux ascendants, et les rameaux pendants (rp).
Tous les rameaux sont pourvus de feuilles raméales (fr) alors que la tige porte des feuilles caulinaires (fc).

Fig. 3. - Coupe transversale de la tige. Cette dernière est constituée de 3 zones :
- zone corticale ou hyaloderme (h)
- cylindre ligneux (cl)
- zone axiale (za).

Fig. 4. - Coupe tangentielle de la tige. Dans les hyalocystes (H) sont visibles des fibrilles (f) et de gros pores (p).

Fig. 5. - Portion de feuille raméale. Des chlorocystes (C) et des hyalocystes (H) constituent le tissu de la feuille raméale. Dans les hyalocystes on retrouve les pores (p) et les fibrilles (f).

Fig. 6. - Coupe transversale d'une feuille raméale. Elle montre des hyalocystes (H) et des chlorocystes triangulaires (C).

PLANCHE I : APPAREIL VEGETATIF DE *SPHAGNUM PALUSTRE*

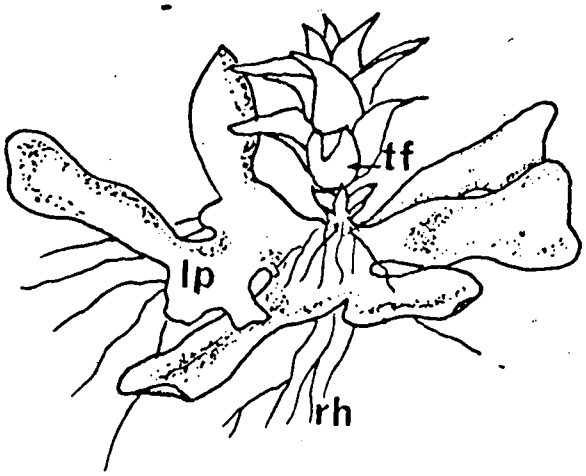


Fig. 1 : Protonéma

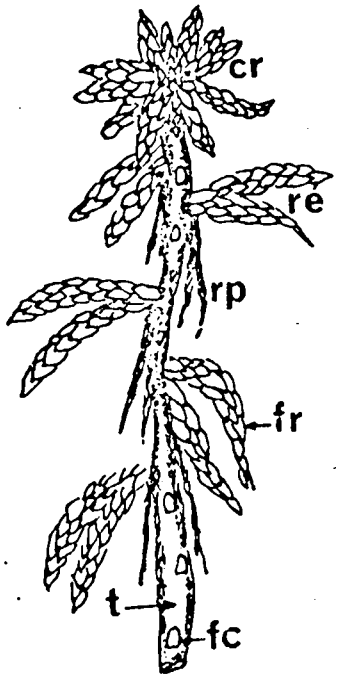


Fig. 2 : Morphologie externe

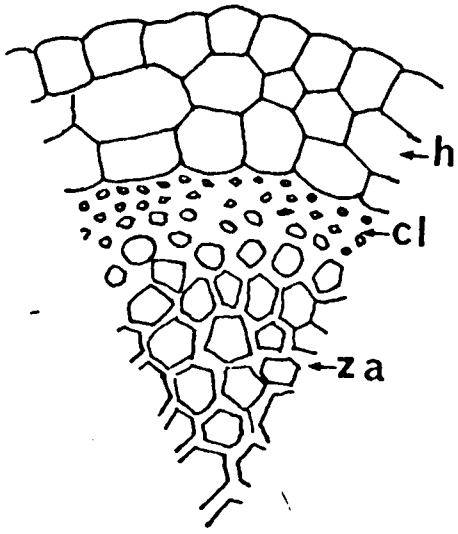


Fig. 3 : Coupe transversale de tige

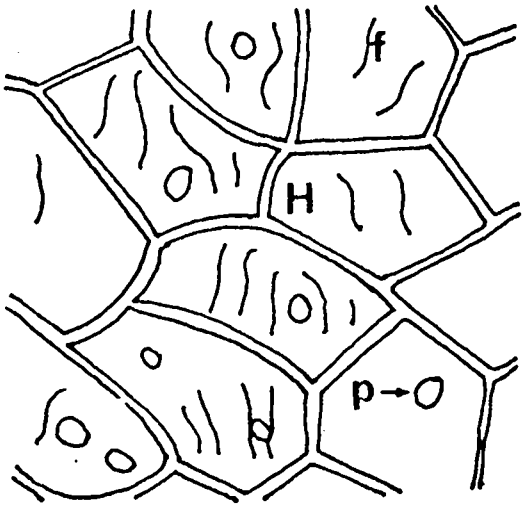


Fig. 4 : Coupe tangentielle de tige

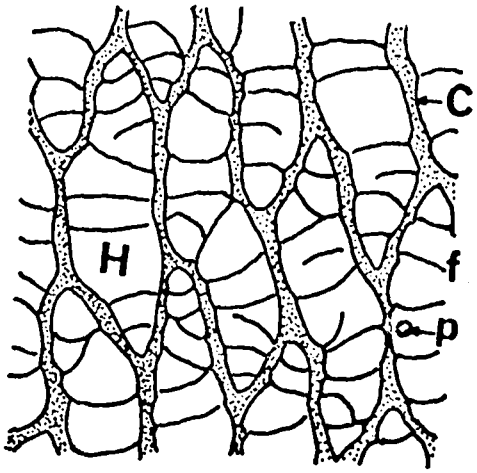


Fig. 5 : Portion de feuille raméale

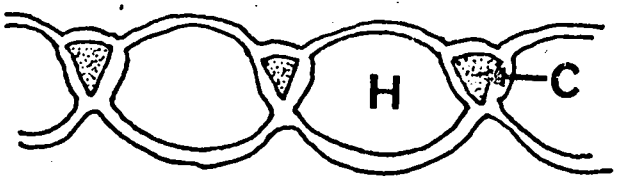


Fig. 6 : Coupe transversale de feuille raméale

BUS LILLE

est constituée d'un tissu identique à celui de la tige.

- les feuilles

Les feuilles des Sphaignes, qu'elles soient raméales ou caulinaires, sont formées de 2 types de cellules (fig. 5, pl. I). Les unes, de forme linéaire, plus ou moins rectangulaires-allongées, sont vivantes ; elles contiennent de nombreux chloroplastes et sont articulées les unes aux autres en un réseau assez lâche : ce sont les chlorocystes. Les mailles délimitent de grandes cellules hyalines, rhomboïdales ou en forme de S allongés ; ce sont les hyalocystes. Ceux-ci sont morts, vides de tout protoplasme. Leurs parois présentent fréquemment des pores et sont soutenues par des fibrilles spiralées. Les chlorocystes et les hyalocystes affectent, dans chaque espèce, des rapports constants, bien visibles sur une coupe transversale de la feuille (fig. 6, pl. I). Ceux-ci sont à la base de la subdivision du Genre en Sections.

II. L'appareil reproducteur

Ce sont des gamétanges (anthéridies et archégones) portés par des rameaux qui ne diffèrent que fort peu des rameaux stériles.

Morphologie

- Les anthéridies (fig. 1, pl. II), de forme ovoïde, naissent à l'aisselle de feuilles peu différentes des feuilles végétatives et sont pédicellées. Les rameaux mâles sont souvent plus colorés que les autres parties de la plante. SCHIMPER (102, 1848) observe et décrit avec précision des anthéridies de Sphagnum cymbifolium (c'est-à-dire S. palustre) et Sphagnum acutifolium (c'est-à-dire S. nemoreum). Mais LEITGEB (88, 1869) pense que, pour la plupart des cas, il confondait les anthéridies et les poils mucigènes qui apparaissent également dans le creux des feuilles. Et pourtant, il est facile de distinguer les jeunes anthéridies des poils mucigènes. La jeune anthéridie est élargie à la base et prend naissance à partir de la tige. Le poil mucigène par contre se compose d'une cellule ovoïde supérieure et d'une cellule basale très étroite. En général, il provient d'une cellule de feuille et quand on arrache cette dernière le poil mucigène vient avec. Par contre, l'anthéridie reste sur la tige. Les spermatozoïdes sont allongés et pourvus de deux longs flagelles comme chez toutes les Bryophytes.

- Les archégones se développent à l'extrémité de rameaux femelles qui se trouvent près de l'apex. Ils ont une forme de bouteille, identique à celle des archégones des autres groupes de Muscinées.

Anatomie

- L'anthéridie vue en coupe transversale présente 2 zones : une assise de cellules parenchymateuses, convexes à l'extérieur, renfermant des chloroplastes, la paroi anthéridiale ; puis une zone interne constituée de cellules plus petites que celles qui l'entourent : c'est le tissu spermatogène. Le pédicelle est formé de 4 séries de cellules cylindriques à parois très minces et contenant des chloroplastes.

- Les archégones (fig. 2, pl. II) contiennent chacun une oosphère, logée dans une région élargie, dite le ventre de l'archégone. Cette région communique avec l'extérieur, à maturité, par un long tube, le col de l'archégone. Il se remplit d'un mucilage formé par destruction des cellules qui en occupaient l'axe. Comparant les gamètes mâles aux gamètes femelles, on note, en même temps qu'une différence de taille et de constitution, une disproportion numérique énorme entre les gamètes mâles très nombreux et biflagellés et les gamètes femelles, uniques dans le ventre archégonial.

B) Le sporophyte

La fécondation a lieu, du moins dans certains cas, au printemps. L'oeuf fécondé se transforme rapidement en un embryon qui reste contenu dans le ventre de l'archégone dont les cellules se multiplient en même temps que le jeune sporophyte grandit. Bientôt on reconnaît dans l'embryon deux régions distinctes (fig. 3, pl. II) ; un pied bulbeux enfoncé dans les tissus du rameau, et une capsule où l'on distingue une couche externe épaisse, une columelle centrale, une masse en forme de cloche, coiffant la columelle et représentant le tissu sporogène formé de cellules-mères des spores. La jeune capsule est enveloppée par le reste de l'archégone ; bien qu'accrescent, ce tissu gamétophytique se déchire finalement sans avoir pris de forme définie, donc sans avoir formé de véritable coiffe.

Toutes les cellules-mères des spores donnent, par les deux divisions successives de la méiose, quatre méiotospores tétraédriques. On remarque qu'entre la capsule et le pied du sporophyte on ne trouve pas, comme chez la plupart des

autres Muscinées, un pédicelle allongé. Au moment de la maturation des spores, la partie distale du rameau femelle s'allonge fortement formant un pseudopode (fig. 4, pl. II). Celui-ci, par son aspect, rappelle le pédicelle de la capsule d'une Jungermanniale par exemple, mais son origine est différente. En effet, le pédicelle des Jungermanniales appartient au sporophyte : il est intercalé entre le pied du sporophyte et la capsule. Le pseudopode d'une Sphagnale appartient au gamétophyte et il est situé sous le pied du sporophyte qu'il supporte.

C) Le cycle biologique

Lorsque les méiostospores des Sphaignes germent sur un milieu solide, de multiples divisions donnent naissance à une lame verte formée d'une seule assise de cellules, appliquée contre le sol auquel elle est fixée par des rhizoïdes incolores, comme nous l'avons vu précédemment (fig. 1, pl. I). Le protonéma des Sphaignes n'est donc pas filamenteux comme chez la plupart des Mousses, mais rappellerait plutôt un prothalle de Fougère.

La description de la Sphaigne adulte a été faite plus haut. C'est sur certains de ses rameaux que naissent les archégones et les anthéridies. Le protonéma et la pousse feuillée constituent donc deux phases successives du gamétophyte, phase haploïde du cycle de développement de la plante.

Le sporophyte, diploïde, né de la fécondation de l'oosphère par un spermatozoïde, est de moindre importance physionomique que le gamétophyte. Il est incapable de mener une existence autonome et vit sur le gamétophyte.

Cette prédominance du stade haploïde sur le stade diploïde est un des arguments qui a fait classer les Sphaignes parmi les Bryophytes, où elles constituent l'ordre des Sphagnales.

Les Sphagnales ne renferment qu'une seule famille : les Sphagnacées, avec un seul genre : Sphagnum.

MATERIEL ET TECHNIQUES

A) Le matériel

Les recherches morphologiques, systématiques et taxonomiques ont été poursuivies sur matériel d'herbier (Herbier M. BIZOT, Herbier E. BONNOT, et nos ré-

PLANCHE II : Appareil reproducteur de Sphagnum palustre
(d'après SCHIMPER, 120, 1848)

Fig. 1. - Anthéridie. Tissu spermatogène t spt, paroi p, pédicelle péd.

Fig. 2. - Archégone. Ventre v, col cl, pseudopode ps, oosphère o, cellules du canal c.

Fig. 3. - Sporophyte. Le jeune embryon : opercule op, capsule cap, vaginule v, pseudopode ps.

Fig. 4. - Sporophyte. Section schématique du sporogone : capsule cap, columelle col, tissu sporifère t spg, pseudopode ps.

PLANCHE II : APPAREIL REPRODUCTEUR DE *SPHAGNUM PALUSTRE*

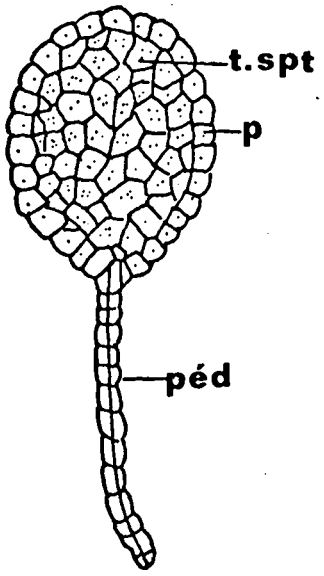


Fig. 1 : Anthéridie

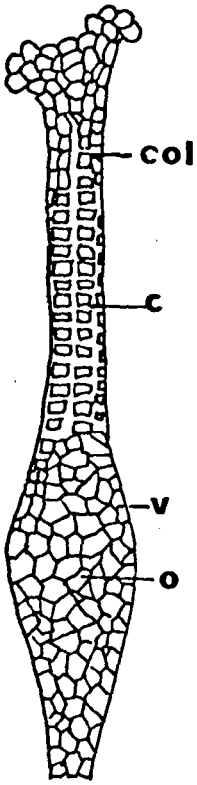


Fig. 2 : Archégone

LES GAMETANGES

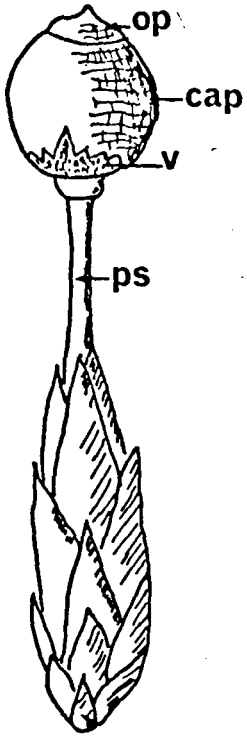


Fig. 3 : Jeune embryon

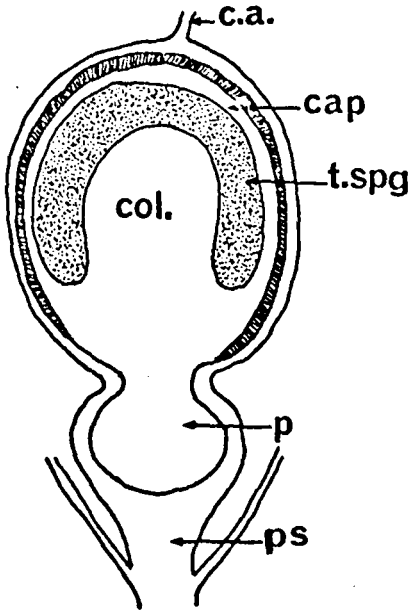


Fig. 4 : Section schématique de sporogone

BUS LILLE

coltes personnelles dans le Nord et les Alpes).

Pour les investigations cytologiques et cytochimiques, il a été nécessaire d'utiliser du matériel vivant, en provenance des tourbières des forêts de Desvres et de Saint-Amand, et de la tourbière de Montendry (Savoie).

B) Les techniques

Pour envisager les problèmes qui se sont posés, nos observations ont été réalisées sur des échantillons fixés. Ensuite elles ont été complétées par l'étude directe de matériel frais et vivant.

I. Microscopie photonique

Les apex, aussitôt prélevés, sont disséqués sous la loupe binoculaire. Avec une pince très fine les jeunes feuilles qui les entourent et qui gênent la fixation ultérieure sont enlevées. Ils sont ensuite plongés, aussi rapidement que possible, dans le fixateur approprié.

- La fixation

Les échantillons ont été traités dans les fixateurs suivants :

- CRAF I

On mélange à l'emploi volume à volume :

Solution chromique { trioxyde de Cr, acide acétique, eau distillée } Solution formolée { formol 30 %, eau distillée }

- Glutaraldéhyde 5 %

- Tétroxyde d'osmium en tampon PALADE. La durée de fixation est de 1 heure.

- Formol - Acéto - Alcool (= F.A.A.), LANGERON (85, 1942)

éthanol à 50°	90 ml
acide acétique cristallisable	5 ml
aldéhyde formique	5 ml

JOHANSEN (76, 1940) qualifie ce mélange de fixateur "standard". Le matériel peut y être laissé presque indéfiniment sans dommage appréciable. Cette propriété

de conservation très convenable fait du F.A.A. le fixateur idéal à prendre lors de longues expéditions. Le même auteur ajoute que, si la fixation est suivie d'une déshydratation à l'isobutanol tertiaire, il est inutile de laver avant le passage de l'objet dans la série des alcools. Nous préférons cependant le faire car tout fixateur formolé exige un lavage soigné.

La durée de fixation au laboratoire est de 24 heures.

Le passage sous vide au cours de la fixation est une opération indispensable pour les apex de Bryophytes. Ceux-ci portent des primordiums foliaires, des jeunes feuilles, des poils mucigènes et, s'ils sont sexualisés, ils possèdent en outre des gamétanges et organes annexes. Le tout est enveloppé de mucilage. Des bulles gazeuses y sont donc retenues et leur évacuation nécessite un passage sous vide.

Dès la première ébullition du liquide, les bulles disparaissent et l'objet descend dans le fixateur qu'il faut ensuite renouveler.

Le lavage

Cette opération importante est réalisée en tube de Caullery. Les objets biologiques ont été disposés dans des tubes en verre (23 mm de diamètre et 38 mm de hauteur) ; les deux extrémités sont obturées par un filet de gaze ou de nylon attaché avec un bracelet de caoutchouc. Les tubes sont ensuite déposés dans un cristallisoir dans lequel on laisse couler l'eau du robinet pendant 24 heures.

La déshydratation

Les fragments apicaux des Bryophytes sont des objets fragiles constitués en partie de tissus méristématiques. Il faut donc déshydrater progressivement et opérer en 2 temps :

- déshydratation partielle à l'éthanol ;
- déshydratation définitive à l'isobutanol tertiaire.

La suite des bains est la suivante :

Ethanol à 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % : un bain de 10 mn pour chacun. Puis :

- Mélange butylique tertiaire I (50 % alcoolique) :

eau distillée	100	1 bain de 50 mn
éthanol à 95°	80	
isobutanol III	20	

- Mélange butylique tertiaire II (70 % alcoolique) :

eau distillée	60	1 bain de 10 mn
éthanol à 95°	100	
isobutanol III	40	

- Mélange butylique tertiaire III (85 % alcoolique) :

eau distillée	30	1 bain de 10 mn
éthanol à 95°	100	
isobutanol III	70	

- Mélange butylique tertiaire IV (95° alcoolique) :

éthanol à 95°	90	1 bain de 10 mn
isobutanol	110	

- Mélange butylique tertiaire V (100 % alcoolique) :

éthanol absolu	50	1 bain de 10 mn
isobutanol	150	

Isobutanol tertiaire pur : 1 bain de 5 heures.

Dans ce dernier bain on ajoute 2 gouttes d'une solution à 1 % d'érythrosine dans l'éthanol absolu : il a pour effet de colorer ainsi les objets, ce qui facilite leur repérage dans le bloc de paraffine.

L'inclusion

L'isobutanol tertiaire est remplacé par l'huile de paraffine. L'inclusion des Bryophytes est une opération très délicate. Les meilleurs résultats sont obtenus avec la méthode de BONNOT (19, 1968), qui propose d'infiltrer le matériel avec une paraffine à bas point de fusion ("paraffine" Chroma 40-42°C). Mais celle-ci n'est pas soluble dans les solvants usuels (xylène, toluène). Elle est éliminée dans un deuxième temps par une paraffine véritable à point de fusion normal, 54° à 56°C. On peut également utiliser la paraffine Microcolor Prolabo qui donne de bons résultats. L'inclusion définitive se pratique en barres de Leuckardt.

La coupe

Les coupes en série, à l'épaisseur de 5µ , sont obtenues au microtome DECIMU type Minot. Elles sont collées sur lames très propres, à l'aide du mélange adhésif de HAUPT : 1 g de gélatine pur est dissous dans 100 ml de glycérol et 2 g de cristaux d'acide phénique. On étale sur la lame et les coupes sont déplis-

sées à 40° sur 8 gouttes de solution formolée. On sèche en position verticale.

Le déparaffinage et la réhydratation

Les coupes sont passées dans des cuves à coloration contenant :

xylène I à chaud	10 mn
xylène II à chaud	10 mn
xylène + éthanol absolu	quelques instants
éthanol absolu	
éthanol à 95°	
éthanol à 90°	
éthanol à 70°	
eau distillée	

Les colorations et le montage

Les coupes issues des pièces traitées par les divers fixateurs subissent différentes colorations.

- Hématoxyline de REGAUD

Les coupes, soigneusement déparaffinées, sont préalablement mordancées par une solution d'alun de fer et d'ammonium à 5 %. Après un lavage à l'eau distillée pendant 24 heures, elles sont placées 24 heures dans l'hématoxyline de REGAUD préparée comme suit :

solution mère alcoolique	10 ml
glycérine	10 ml
eau distillée	80 ml

La solution colorante doit être prête longtemps à l'avance et n'être utilisée qu'au moins 3 mois après sa confection. Cette coloration peut être employée après tous les fixateurs. La différenciation se fait sous le microscope soit par une solution d'alun de fer et d'ammonium à 1 %, soit par une solution d'acide picrique. Lorsque la régression paraît suffisante, les coupes sont lavées immédiatement puis déshydratées et montées à l'Entellan. C'est une solution toluénique d'une résine synthétique se solidifiant d'une façon homogène en l'espace de 20 minutes seulement. Vu ses propriétés, il répond parfaitement à toutes les exigences requises d'un moyen d'inclusion rapide.

- Fuchsine d'ALTMANN

On colore les coupes sur plaque chauffante pendant 10 mn, puis au bec bunsen jusqu'à formation de vapeurs, avec le mélange ci-dessous, préparé au moment de l'emploi :

fuchsine acide	0,1 g
eau anilinée saturée vieillie de 6 mois	50 ml

(et non 2 g pour 10 cm3 comme il est indiqué par erreur dans un travail récent !).

On peut différencier rapidement dans une solution d'Aurantia à 0,5 % dans l'alcool à 70°. Le chondriome apparaît alors d'une belle teinte rouge.

Les coupes traitées au tétroxyde d'osmium sont montées directement à l'Entellan après le deuxième bain de xylène.

L'étude des coupes

Un microscope REICHERT muni d'une chambre claire pour les dessins et un microscope Nachet 200 équipé pour les micrographies photoniques ont été utilisés.

II. Microscopie électronique à transmission

Deux espèces ont été étudiées en microscopie électronique : Sphagnum centrale et Sphagnum palustre.

La fixation aldéhydique

Les objets sont fixés en fin d'après-midi dans le mélange suivant :

formaldéhyde 1,5 %	10 ml
glutaraldéhyde 1,5 %	10 ml
tampon PALADE	10 ml

La fixation sous vide est nécessaire. Puis le fixateur est renouvelé et les objets y séjournent pendant 2 heures à la température du laboratoire.

Les objets sont ensuite rincés :

- 2 fois 15 mn dans le tampon
- 1 nuit dans le tampon
- 2 fois 5 mn dans l'eau bidistillée
- 1 fois 10 mn dans l'eau bidistillée

La postfixation osmique

On pratique une postifixation pendant 1 heure sur glace fondante, dans le mélange suivant :

tétroxyde d'osmium à 2 %	10 ml
tampon PALADE	10 ml

Trois rinçages de 10 mn dans l'eau bidistillée sont nécessaires.

La déshydratation

Elle est pratiquée dans la série montante des éthanols avec l'oxyde de propylène comme agent intermédiaire entre l'éthanol et les résines d'inclusion. La série comprend :

éthanol 30°	10 mn
éthanol 50°	10 mn
éthanol 70°	10 mn
éthanol 95°	10 mn
éthanol absolu	3 bains de 10 mn
oxyde de propylène	2 bains de 30 mn

L'inclusion

Deux mixtures de résines synthétiques polymérisables ont été utilisées au cours de nos recherches : le mélange Epon-Araldite et le mélange de SPURR (126, 1968).

- Epon-Araldite

On prépare le mélange suivant :

Mélange M	araldite	10 ml
	Epon	12,5 ml
	dodécényl succinique anhydride	30 ml

Après la déshydratation (2° bain d'oxyde de propylène), on procède aux bains suivants :

1° bain	mélange M 1/3 vol. oxyde de propylène 2/3 vol.	1 heure
2° bain	mélange M 2/3 vol. oxyde de propylène 1/3 vol.	1 heure
3° bain	mélange M D.M.P. 30 2 ml	1 heure

Les objets sont enfin inclus, dans ce dernier bain, dans des capsules laissées un après-midi à la température du laboratoire. Puis on procède à la polymérisation en étuve : 37° (24 h), 45° (48 h), 50° (72 h).

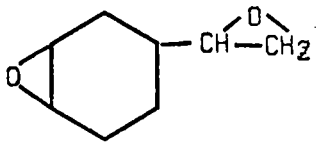
- Mélange de SPURR

Pour cette méthode, il faut déshydrater non pas dans la série des alcools mais dans la série d'acétone pendant 15 mn. Chaque bain se pratique sur glace

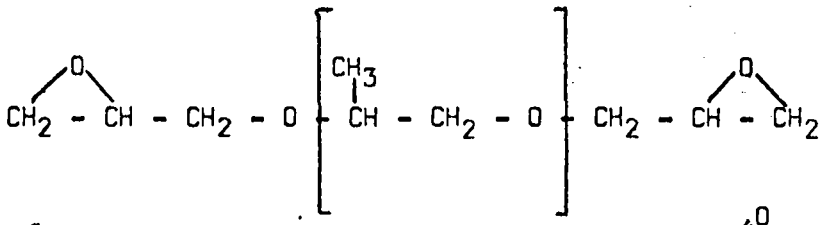
fondante (0°C). Après le dernier bain d'acétone à 100 % on laisse toute une nuit les objets dans le mélange suivant :

• vinyl cyclohexène dioxyde (1)	10 g
• éther dipropylène oxyde du poly 2,3 propylène diol (2)	4 g
• méthyl 5, isooctényl 6 d'anhydride succinique (3)	26 g
• diméthylaminoéthanol (4)	0,4 g

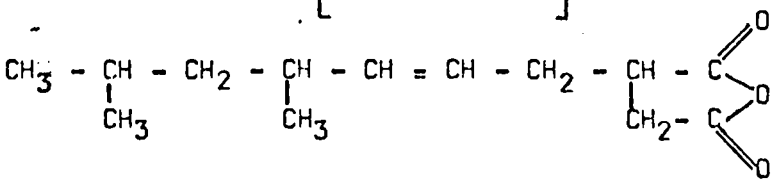
(1)



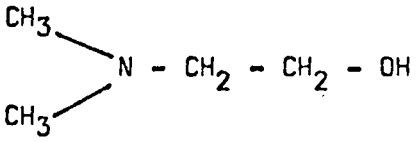
(2)



(3)



(4)



Le lendemain a lieu le 2° bain qui dure de 4 à 5 heures. L'inclusion définitive se fait également dans le même mélange, dans des capsules qui seront placées directement dans une étude à 60°.

La coupe

La polymérisation achevée, les blocs sont préparés pour la réalisation des coupes. Un ultramicrotome manuel L.K.B. de Porter-Sorvall a été employé pour ce travail. Les coupes sont réalisées à l'aide de couteaux de verre obtenus sur Knife-maker L.K.B. Retenues par flottage sur l'eau bidistillée, elles sont recueillies sur des grilles de cuivre n°200, non carbonées.

La post-imprégnation

On a employé afin d'augmenter le contraste des structures :

- une solution saturée d'acétate d'uranyle dans l'éthanol à 50 %
- une solution de citrate de Plomb

L'observation

Elle a été effectuées au moyen du Microscope électronique SOPELEM 75.

III. Microscopie électronique à balayage

Une seule espèce a été étudiée en microscopie électronique à balayage. C'est Sphagnum palustre, provenant d'une tourbière du Monte d'Oro (Corse).

Le matériel, conservé à sec, est d'abord réhydraté à l'eau bouillante. Des fragments de jeunes rameaux sont traités ensuite au tétroxyde d'osmium à 2 % pendant 30 minutes, puis lyophilisés à l'azote liquide. Ces objets alors particulièrement fragiles sont montés sur platine puis métallisés. Les observations ont été effectuées au moyen du microscope "Stéréoscan" du service de Microscopie électronique de l'U.E.R. de Biologie, à l'Université des Sciences et Techniques de Lille.

IV. Cytochimie

Les recherches sont effectuées sur des coupes pratiquées à l'aide d'un microtome à congélation sur matériel frais, vivant, sauf pour la détection des groupements sulfhydriles. D'autres investigations ont été poursuivies en microscopie électronique.

Les lipides

Les coupes sont traitées par le Soudan III pendant 3 minutes. Elles sont ensuite montées directement dans la glycérine. Les globules lipidiques apparaissent colorés en rouge.

Les groupements sulfhydriles

Deux méthodes ont été utilisées.

a) Le test de CHEVREMONT et FREDERIC

- mécanisme de la réaction

Dans cette méthode, le radical - SH réduit le ferricyanure ferrique en ferrocyanure ferrique, ou bleu de Prusse. Les tissus contenant des groupements -SH sont donc colorés en bleu en fin d'expérience.

- technique

Les objets sont fixés dans le formol durant 18 h à 24 h et lavés à l'eau courante pendant 24 h. Ils sont ensuite déshydratés et inclus à la paraffine en ayant soin de réduire au minimum les temps de passage dans les différents bains de xylène.

Enfin on traite les coupes durant 25 mn par 3 bains successifs dans la solution suivante préparée et filtrée au moment de l'emploi :

- ferricyanure de K à 0,1 % 25 ml
- solution de sulfate ferrique à 1 % 75 ml

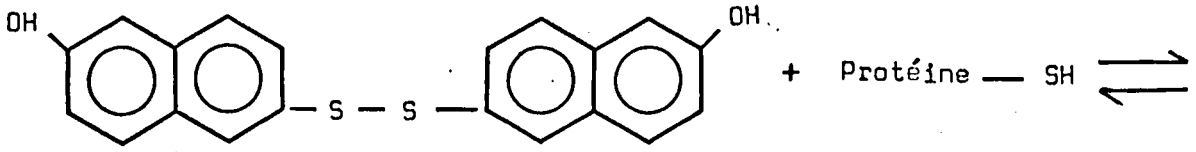
b) La méthode de BARNETT et SELIGMAN

- mécanisme de la réaction

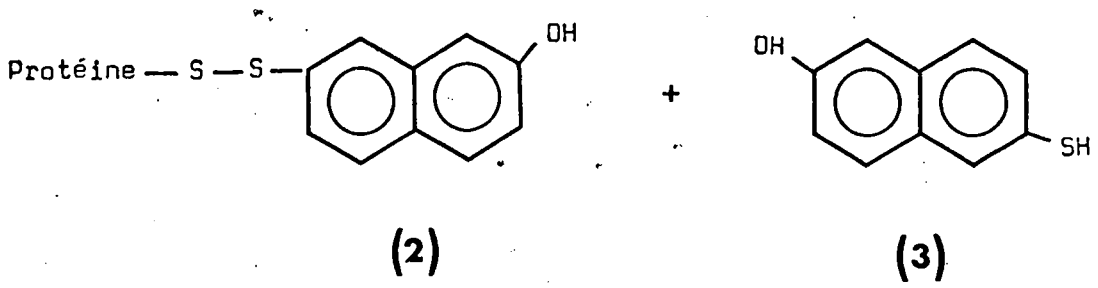
Cette technique fait intervenir 2 réactifs :

- le 2,2' dihydroxy 6, 6' - dinaphtyldisulfure
- la diorthoanisidine tétraazotée

D'après BARNETT et SELIGMAN le principe de la réaction est le suivant : quand le 2,2' - dihydroxy 6,6' - dinaphtyldisulfure (1) réagit avec une protéine à groupements - SH, la molécule du réactif se scinde en 3 parties dont l'une s'accroche à la protéine par une liaison disulfure (2), tandis que l'autre est libérée sous forme de 2 - hydroxy 6 - naphtylthiol (3).

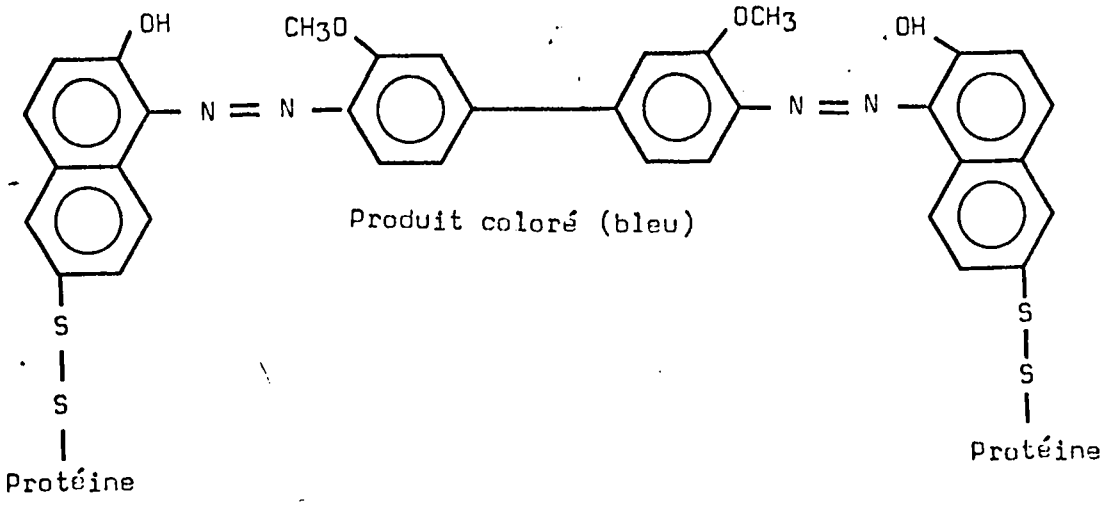


(1)



Lorsqu'on ajoute la diorthoanisidine tétraazotée, il se forme un produit coloré :

- bleu, si 2 molécules de protéine sont couplées sur le colorant,
- rose, si une seule molécule de protéine intervient.



Si le tissu renferme une forte teneur en composés sulfhydrilés, on obtient en majorité le complexe bleu ; dans le cas contraire, le complexe rose domine.

- technique

. fixer les échantillons durant 24 h dans l'acide trichloracétique en solution alcoolique ainsi préparée :

éthanol à 80°	100 ml
acide trichloracétique	1 g

l'acide trichloracétique empêche l'oxydation par l'air des groupements sulfhydriles.

. déshydrater et inclure dans la paraffine

. couper à 5 microns

. déparaffiner

. passer dans les alcools 95°, 70°, 50°

. rincer à l'eau distillée

. placer les lames dans une étuve à 50°C durant 1 heure, dans une solution obtenue en mélangeant quantitativement les 2 solutions suivantes :

solution alcoolique de 2,2' dihydroxy - 6,6' dinaphtyldisulfure	30 ml
tampon véronal de MICHAELIS à pH 8,5	100 ml

. laisser refroidir les lames durant 10 minutes, à la température ambiante.

. rincer rapidement à l'eau distillée

. traiter les lames par 2 bains successifs d'eau distillée acidifiée à l'acide acétique à pH 4,5. Chaque bain dure 10 mn. Cette opération est nécessaire pour transformer le sel de sodium de 2,2' - dihydroxydinaphtyl disulfure et celui du produit secondaire (3) (2 - dihydroxy - 6 - naphtylthiol), en naphtol libre, pouvant être extrait par les solvants organiques

. passer alors dans une série d'alcools successifs à 50°, 70°, 95°, alcool absolu

. rincer pendant 5 mn à l'éther absolu

. placer les lames durant 2 mn à la température ambiante dans la solution colorante ci-dessous, préparée au moment de l'emploi :

diorthoanisidine tétraazotée	100 mg
tampon phosphate PO_4HNa_2 et PO_4H_2K de SÖRENSEN M/10 à pH 7,38	100 ml

. rincer à l'eau courante

. monter à la gélatine glycérinée

La recherche des enzymes

a) détection histochimique des phosphatases

Les phosphatases sensu lato sont des enzymes qui catalysent le clivage hydrolytique des éthers-sels phosphoriques. La prise en considération de l'optimum de pH conduit à distinguer des phosphatases acides et des phosphatases alcalines. Seules sont recherchées ici les phosphatases acides, suivant deux techniques : celle de GOMORI, variante de LOGDA (1961) puis de BENEŠ (1964) et celle de BURSTONE.

α) Méthode de GOMORI

. fixer au glutaraldéhyde à 5 %

. laver pendant 12 h dans le cacodylate de sodium à basse température (4°C)

. réaliser les coupes à l'aide d'un microtome à congélation, à 50 microns

. préparer extemporanément la solution suivante :

acétate de sodium, $3H_2O$		5,4 g
acide acétique		0,6 ml
$Pb\ (NO3)_2$		1,2 g
eau distillée	qsp	1 l

Au moment de l'emploi ajouter 0,3 g de glycérophosphate de sodium dissous dans 10 ml de la solution de conservation.

. traiter les coupes par le substrat à l'étuve à 37°C, pendant 10 mn à 2 h

. rincer soigneusement : - à l'eau distillée pendant 30 mn
- à l'acide acétique 2 % pendant 1 mn
- à l'eau distillée pendant 1 mn

. traiter pendant 2 mn par la solution de sulfure d'ammonium (1 à 2 ml de solution commerciale dans 50 ml d'eau distillée)

. rincer abondamment

. monter après déshydratation dans l'Entellan

β) Méthode de BURSTONE aux azoïques

- Préparation d'un milieu d'incubation : dissoudre 4 mg du substrat Naphtol AS-TR-Phosphate (de Na) dans 0,5 ml de N, N- diméthylformamide, ajouter 25 ml d'eau distillée, 25 ml de tampon acétate 0,2 M (pH 5,2 à 5,6), 35 mg d'un sel de diazonium (Red Violet LB salt ou Red Garnet Salt) et 2 gouttes de chlorure de manganèse à 10 %, filtrer.

- Mode opératoire

. fixer au glutaraldéhyde à 5 %

. incuber les coupes à 37°C, pendant 30 mn à 2 h, dans le milieu

. rincer à l'eau

. monter à l'Entellan

- Préparations témoins

Elles sont réalisées par addition d'un inhibiteur spécifique au bain d'incubation : le fluorure de sodium à 0,01 M a été utilisé dans nos recherches.

b) Détection des oxydo-réductases

Les oxydases catalysent spécifiquement le transfert d'hydrogène moléculaire.

α) Les peroxydases

Leur activité enzymatique catalyse le transfert de l'hydrogène d'un donateur sur des peroxydes.

- Technique pour la microscopie photonique

. Fixer pendant 1 h 30 dans le mélange suivant :

paraformaldéhyde	1,2 g
glutaraldéhyde	5,5 ml
tampon cacodylate à pH 7	40 ml

. Laver durant 15 h dans le tampon cacodylate.

. Faire les coupes au microtome à congélation.

. Incuber, pendant 1 h, à la température de la pièce, les coupes dans le milieu suivant :

DAB (3,3'chlorhydrate de diaminobenzidine	5 mg
tampon phosphate à pH 7,3	9,8 ml
eau oxygénée à 1 %	0,1 ml

. Témoin

On reprend le milieu d'incubation sans eau oxygénée.

. Laver rapidement dans le tampon.

. Monter dans l'Entellan.

- Technique pour la microscopie électronique

. Fixer par le même fixateur que pour la microscopie photonique.

. Laver durant 15 h dans le tampon.

. Incuber les apex entiers dans le même milieu que précédemment.

. Rincer durant 20 mn dans le tampon.

. Postfixer pendant 1 h dans l'OsO_4 tamponné à 1 %.

. Déshydrater dans la série des acétones.

. Inclure dans le mélange de SPURR.

β) Les cytochromes-oxydases

Ces enzymes activent et déplacent l'hydrogène d'un donateur relativement peu spécifique, pour le transférer directement sur l'oxygène moléculaire.

Une seule technique est utilisée, celle de BURSTONE, dont la procédure est bien décrite dans GABE (55, 1968). Le substrat est une amine dont l'oxydation produit des polymères insolubles et capables de fixer des métaux.

- Réactifs

. Préparer le bain d'incubation : dissoudre, dans 0,5 ml d'éthanol, 10 à 15 mg de paraaminodiphénylamine (variante Blue TR base de SIGMA) et 10 à 15 mg de paraméthoxy-p aminodiphénylamine (variante 6 : 8 amino 1, 2, 3, 4 tétrahydroquinoléine).

. Ajouter à ce bain d'incubation :

eau distillée	35 ml
tampon tris HCl à pH 7,4	15 ml

. Agiter et filtrer.

. Préparer le bain de chélation-fixation comme suit :

acétate de cobalt	5 g
formol à 10 %	50 ml
tampon acétate à pH 5,2	0,5 ml

- Mode opératoire

. Incuber à la température du laboratoire pendant 15 à 60 mn.

. Transférer directement dans le bain de chélation et laisser séjourner 1 h.

. Laver à l'eau courante pendant 10 mn.

. Monter en milieu aqueux.

γ) La succino-déshydrogénase

Cette enzyme catalyse la déshydrogénation de l'acide succinique en acide fumarique. L'hydrogène est transféré sur le ferro-cytochrome. La technique utilisée est celle de NACHLAS et Coll. au nitro - BT.

. Préparer le bain d'incubation de la manière suivante :

solution de nitro - BT à 0,1 %	10 ml
solution 0,2 M de succinate de sodium	5 ml
tampon de SÖRENSEN 0,2 M à pH 7,6	5 ml

. Incuber en masse des apex (à l'obscurité pour éviter la réaction photosynthétique au niveau des chloroplastes) pendant 1 h.

. Laver au chlorure de sodium à 9 % pendant 1 mn.

. Déshydrater à l'alcool pour éliminer les traces colorées.

. Monter à l'Entellan.

CHAPITRE DEUXIEME

LA SECTION DES PALUSTRIA L.

Divers critères ont été mis tour à tour en première ligne par les sphagnologues pour la division du genre Sphagnum L. Les caractères correspondants leur ont fourni, trop exclusivement parfois, la base d'une classification. "Chez les Sphaignes, l'expérience montre que tous les caractères sans exception doivent concourir à cette classification; tous en effet sont bons mais il n'en est aucun qui conserve sa valeur, ou du moins la même valeur, dans toute l'étendue du genre. Tel caractère, d'une importance capitale dans une Section, n'a plus la même constance et, par suite, n'a plus dans ce cas qu'une importance relative."

La présence d'épaississements spiralés et de pores dans les parois du hyaloderme de la tige a permis à E. RUSSOW (117, 1889) d'établir deux groupes principaux :

- les Sphagna Inophloea avec la seule section Palustria (= Cymbifolia) ;
- les Sphagna Litophloea, avec 5 sections.

Alors qu'autrefois on se basait essentiellement sur les caractères macroscopiques, à savoir la forme et la disposition des rameaux et des feuilles et la coloration des espèces, les travaux de K.G. LIMPRICHT (91, 1890), E. RUSSOW (1887) et C. WARNSTORF (1881-88) ont conduit à attribuer une importance de premier ordre à la structure et à la disposition des chlorocystes par rapport aux hyalocystes dans les feuilles raméales. C'est sur ce caractère fondamental que les 5 sections ont été fondées. Ainsi on distingue principalement et très brièvement, en dehors des Palustria :

- la section Acutifolia où les chlorocystes, dans une coupe transversale de la feuille, ont une forme en triangle dont la base est située à la face interne de la feuille ;

- la section Cuspidata où les chlorocystes ont la même forme, mais avec la base libre située à la face externe de la feuille ;

- la section Squarrosa où les chlorocystes sont trapézoïdaux avec la base libre située à la face externe de la feuille ;

- la section Rigida où les chlorocystes sont elliptiques, allongés et complètement entourés par les cellules hyalines ;

- la section Subsecunda où ils ont la même forme mais sont libres sur les deux faces de la feuille.

Dans le présent travail, nous n'étudierons que la section Palustria. Dans celle-ci existent 5 espèces européennes formant un groupe très homogène. En effet le caractère marquant des Inophloea est la présence uniforme de fibrilles dans les cellules hyalines des tiges. La coupe transversale des feuilles y est un bon caractère de distinction car la forme des chlorocystes varie d'une espèce à l'autre.

A) Etude systématique

La détermination et la vérification des espèces en herbier ont été effectuées en utilisant, outre le travail fondamental de C. WARNSTORF (140, 1911), les ouvrages de G. DISMIER (43, 1927), L. HILLIER (72, 1943), H.N. DIXON (44, 1954), U. DUNCAN (46, 1961), H. PAUL (108, 1931), T. HUSNOT (72, 1882), H. GAMS (57, 1957), E. NYHOLM (107, 1969), L.I. SAVICZ-LJUBITZKAJA et Z.N. SMIRNOVA (119, 1968). La nomenclature adoptée est celle d'ISOVIITA (74, 1966).

La section Palustria L. (= section Cymbifolia Lindbg) est la seule du groupe Inophloea. Tous ses représentants sont très robustes et présentent des feuilles raméales largement ovales et concaves, en forme de bateau (caractère "cymbifolié"). Ce sont les caractères tirés de la forme et de la position des chlorocystes des feuilles raméales qui ont ici le plus d'importance pour la détermination des espèces.

Sphagnum palustre L. (= S. cymbifolium Hedw.)

Sphagnum palustre est la plus grande et la plus robuste de toutes les Sphaignes d'Europe. C'est une espèce hygrophile, généralement d'un vert plus ou moins blanchâtre, formant des touffes assez serrées. Les rameaux (fig. 1, pl. III) sont groupés par verticilles de 4, dont 2 étalés et 2 pendants. Le hyaloderme de la tige (fig. 2, pl. III) est formé de cellules à 1, 2, rarement 3 pores, et à fibrilles nombreuses.

Les feuilles caulinaires (fig. 3, pl. III) sont grandes, lingulées, arrondies et légèrement fibrillées au sommet. Elles ont 2 à 3 mm de long ; les hyalocystes

sont plus ou moins rectangulaires, sans cloisons ; ils sont pourvus de quelques fibrilles et de quelques rares pores (fig. 4, pl. III).

Les feuilles raméales (fig. 5, pl. III) sont plus petites, ovales, obtuses, cucullées au sommet. Les hyalocystes (fig. 6, pl. III) sont allongés et fibrillés. Les chlorocystes en coupe transversale (fig. 7, pl. III) sont étroitement triangulaires-isocèles, complètement libres par leur base à la face interne, mais recouverts à la face externe par les hyalocystes qui sont fortement gonflés-convexes.

La coupe transversale de la tige montre 3 couches de cellules hyalines, assez grosses, dont quelques-unes sont munies de pores (fig. 8, pl. III).

En Europe occidentale, Sphagnum palustre est l'espèce la plus commune du genre. C'est une amphi-atlantique et amphi-pacifique. En France, elle vit aussi bien en plaine que dans les montagnes où elle atteint 1900 m d'altitude dans les Pyrénées.

Sphagnum papillosum Lindb.

C'est une plante ressemblant comme taille et comme port à S. palustre. Elle ne s'en distingue que par ses nuances ocreuses, bistres, plus ou moins ferrugineuses. Les rameaux (fig. 1, pl. IV) sont groupés aussi par 4 dont 2 étalés et 2 pendants. Mais les rameaux étalés sont plus gros et plus courts et les rameaux pendants plus fins. Le hyaloderme de la tige (fig. 2, pl. IV) possède dans chaque cellule 2 ou 3 gros pores, quelquefois 4.

Les feuilles caulinaires sont grandes (fig. 3, pl. IV), très arrondies au sommet, non fibrillées, avec des hyalocystes sans pores et sans fibrilles (fig. 4, pl. IV).

Les feuilles raméales sont grandes, largement ovales (fig. 5, pl. IV) à base étroite. Dans leur partie inférieure (fig. 5a, pl. IV) les parois des hyalocystes, très allongés, sont pourvues de petites papilles. Par contre, dans leur partie supérieure (fig. 6, pl. IV), les hyalocystes sont plus courts et sans papilles. Cette espèce diffère donc des autres Palustria par la présence sur les parois des hyalocystes de nombreuses papilles. Celles-ci sont très visibles sur une coupe transversale de feuille raméale (fig. 7, pl. IV).

MEYLAN (99, 1934), curieusement, considère le S. papillosum comme une sous-espèce de S. palustre. Nous verrons plus loin qu'une telle conception ne saurait

être retenue.

La coupe transversale de la tige montre les 3 zones classiques, mais les cellules du hyaloderme sont énormes (fig. 8, pl. IV).

On trouve cette espèce dans les 2 hémisphères Nord et Sud. En France, elle est beaucoup moins répandue que la précédente. Elle descend aussi moins bas en altitude et monte moins haut. Elle forme rarement des colonies très étendues et se plaît dans les "replats" des tourbières.

Sphagnum centrale Jens.(= S. subbicolor auct., non Hampe)

C'est une plante robuste, jaune et verte. Les rameaux (fig. 1, pl. V) sont groupés par verticilles de 6 dont 3 étalés et 3 pendants. Le hyaloderme de la tige, en coupe tangentielle (fig. 2, pl. V), se montre formé de cellules possédant 3, 4 ou 5 pores. Nous en avons même compté jusqu'à 8 dans quelques cellules.

Les feuilles caulinaires (fig. 3, pl. V) ressemblent beaucoup à celles de S. palustre. Elles sont grandes, lingulées et fibrillées au sommet. Les hyalocystes (fig. 4, pl. V) sont totalement dépourvus de fibrilles et de pores, ce qui sépare cette espèce de S. palustre avec lequel elle est souvent confondue.

Les feuilles raméales (fig. 5, pl. V) sont de même taille que les feuilles caulinaires, donc grandes et largement ovales. Les hyalocystes sont allongés en forme de S, ou rectilignes, avec fibrilles et pores (fig. 6, pl. V). Une coupe transversale de feuille permet également de la distinguer de S. palustre. Les chlorocystes sont fusiformes avec une paroi plus épaisse du côté interne que du côté externe (fig. 7, pl. V).

La tige en coupe transversale montre des cellules hyalines grandes et à contour très irrégulier (fig. 8, pl. V).

C'est une espèce circumpolaire, avec des tendances continentales. En France, elle est rarissime. Elle a été rencontrée dans les Pyrénées, en Corse, dans les Alpes (1) et dans le Massif Central. Elle nous apparaît comme une espèce arctoalpine.

(1) Nous avons en effet trouvé cette espèce dans les Alpes de Savoie au cours d'investigations effectuées dans le cadre de la "Bourse du Lautaret" qui nous avait été attribuée pour l'année 1971 (travail en cours de rédaction).

Sphagnum magellanicum Brid. (= S. medium Limpr.

Cette espèce ressemble beaucoup à S. palustre mais elle est presque toujours rouge, surtout au sommet. Elle peut même être reconnue sur le terrain par sa teinte si caractéristique. Les rameaux (fig. 1, pl. VI) sont groupés par 5 dont 2 étalés assez longs et 3 pendants très fins. Le hyaloderme de la tige (fig. 2, pl. VI) en coupe tangentielle montre des cellules relativement petites possédant un gros pore et quelquefois deux.

Les feuilles caulinaires sont plus ou moins grandes, lingulées et fibrillées jusqu'à la base (fig. 3, pl. VI). Les hyalocystes sont ordinairement non fibrillés et sans pores (fig. 4, pl. VI).

Les feuilles raméales, largement ovales, sont très concaves (fig. 5, pl. VI). Les hyalocystes (fig. 6, pl. VI), sont fibrillés et possèdent de grands pores. Les chlorocystes, vus sur une coupe transversale (fig. 7, pl. VI), ont une section elliptique et une position centrale, avec le lumen ovale ; ils sont complètement entourés sur les 2 faces par les hyalocystes.

La tige en coupe transversale présente les trois zones habituelles. La zone externe possède 4 couches de cellules hyalines à contour assez irrégulier (fig. 8, pl. VI).

C'est une espèce circumpolaire. En France, sa fréquence est à peu près semblable à celle de S. papillosum, c'est-à-dire qu'elle est beaucoup moins répandue que S. palustre. Elle forme généralement de beaux bombements rougeâtres dans les tourbières de l'étage montagnard.

Sphagnum imbricatum Russow

Cette Sphaigne ressemble assez à S. papillosum par ses teintes brunâtres, vertes ou jaunes. Les rameaux sont groupés par 4, dont 2 gros étalés et 2 plus fins pendants (fig. 1, pl. VII). Les cellules du hyaloderme, vus sur coupe tangentielle (fig. 2, pl. VII), possèdent 2 ou 3 pores, quelquefois 4, et sont très fibrillées.

Les feuilles caulinaires sont plus petites que celles des autres espèces, et de forme lingulée-spatulée (fig. 3, pl. VII). Elles apparaissent fibrillées sur tout le pourtour. Les hyalocystes sont également de petite taille et fibrillés (fig. 4, pl. VII).

PLANCHES III, IV, V, VI, VII : Organisation et systématique

Sphagnum palustre, S. papillosum, S. centrale, S. magellanicum, S. imbricatum.

Fig. 1. - Rameaux pendants et rameaux étalés.

Fig. 2. - Coupe tangentielle de tige. Hyalocystes avec pores et fibrilles ; noter la variation spécifique au niveau de ces caractères.

Fig. 3. - Feuille caulinaire : variation spécifique de la forme et de la taille.

Fig. 4. - Détail de feuille caulinaire : hyalocystes avec ou sans fibrilles.

Fig. 5. - Feuille raméale : forme "cymbifoliée" peu différente, mais taille variable.

Fig. 5a. - Partie inférieure de feuille raméale : les parois des hyalocystes sont ornementées soit de papilles, soit de crêtes.

Fig. 6. - Partie supérieure de feuille raméale : les hyalocystes, à parois lisses, possèdent ou non des fibrilles et des pores.

Fig. 7. - Coupe transversale de feuille raméale : la forme de la section des chlorocystes constitue un caractère spécifique majeur.

Fig. 8. - Coupe transversale de tige : hyaloderme toujours très développé ; pores dans les cellules hyalodermiques.

(Dessins à la chambre claire).

PLANCHE III : *SPHAGNUM PALUSTRE L.*

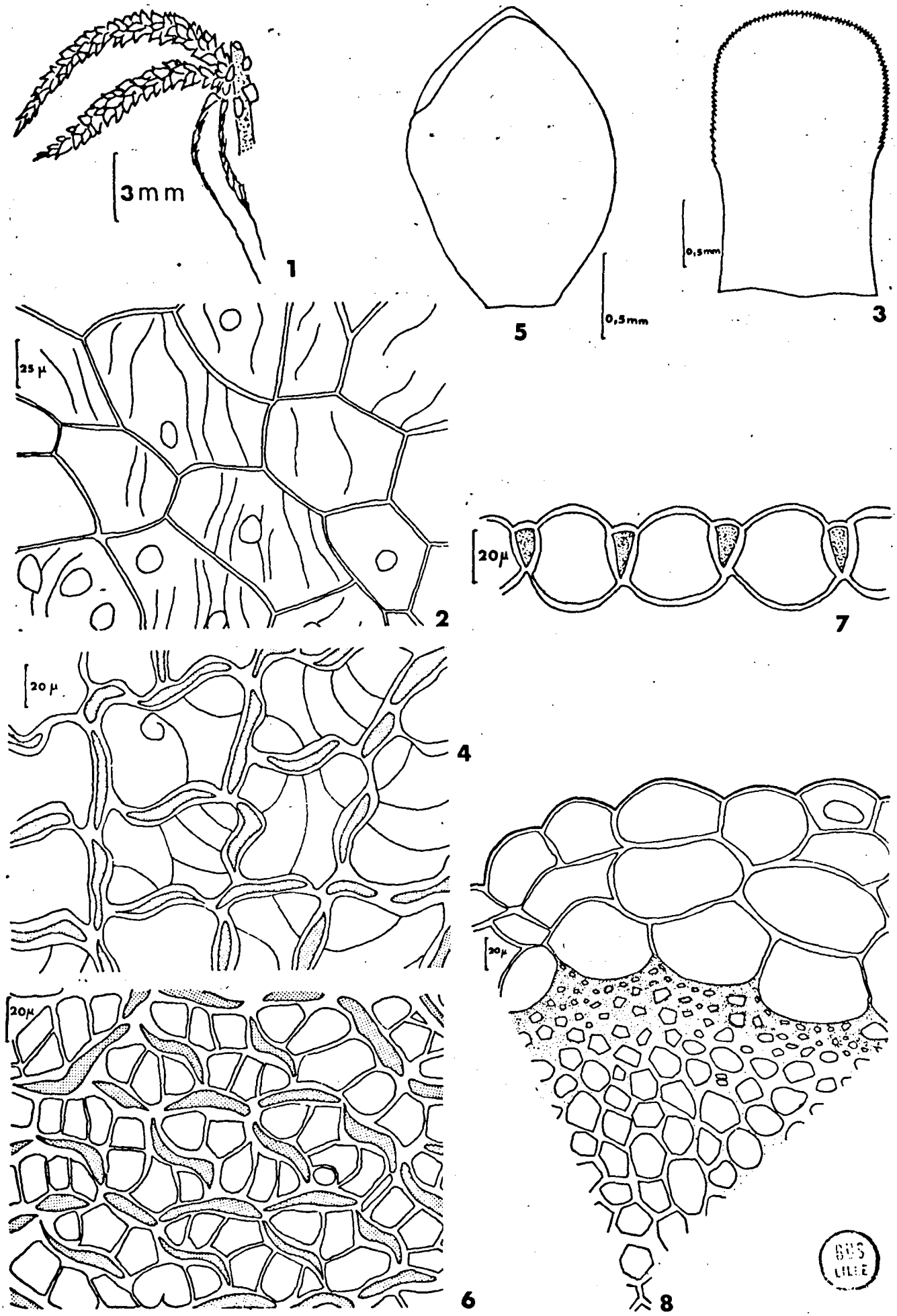
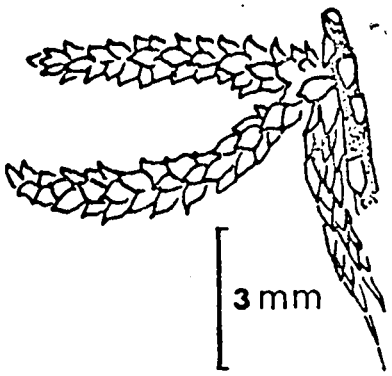
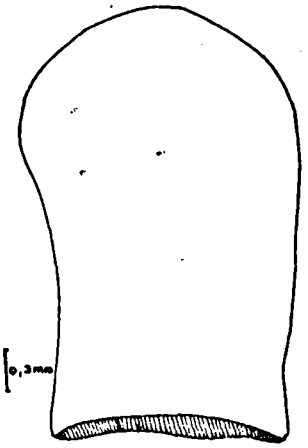


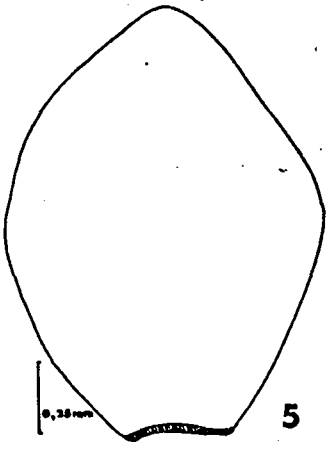
PLANCHE IV : *SPHAGNUM PAPILLOSUM Lindb.*



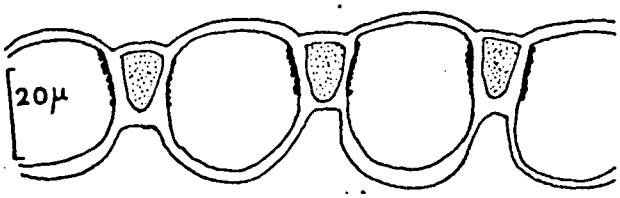
1



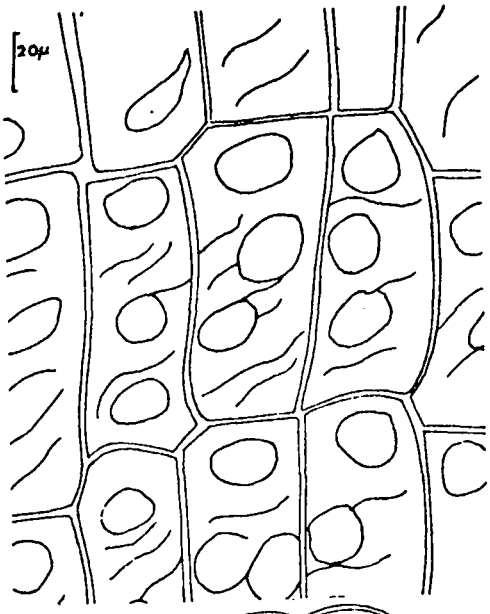
3



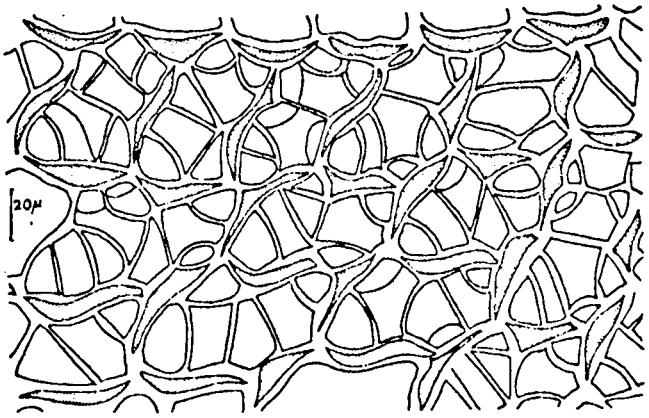
5



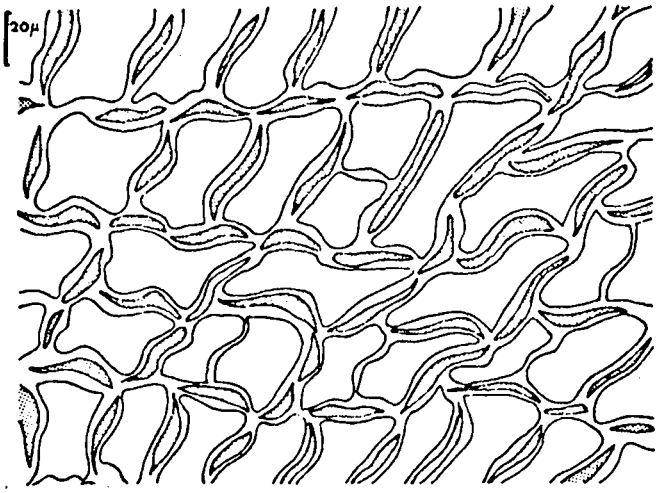
7



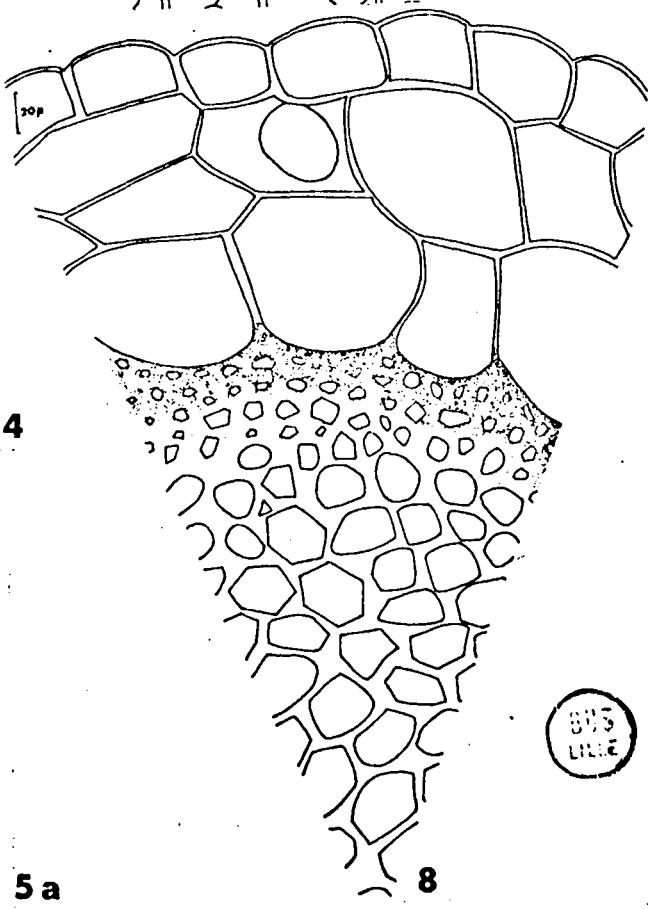
2



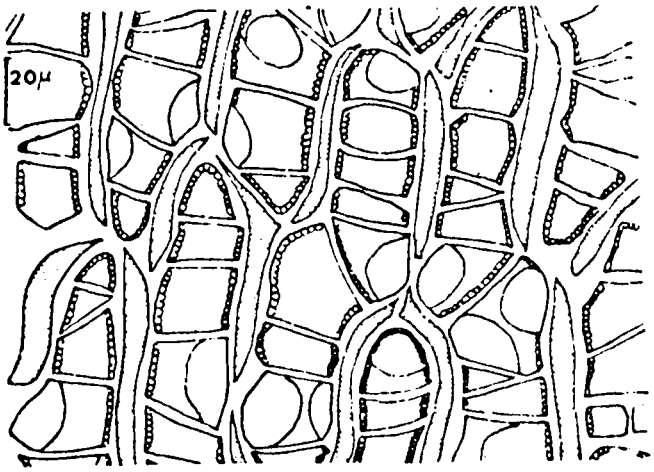
6



4



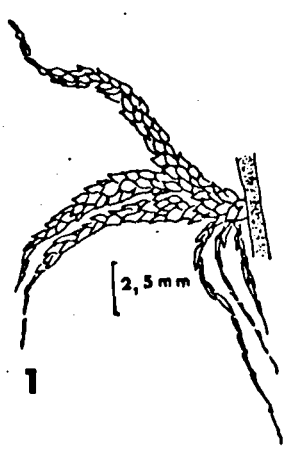
8

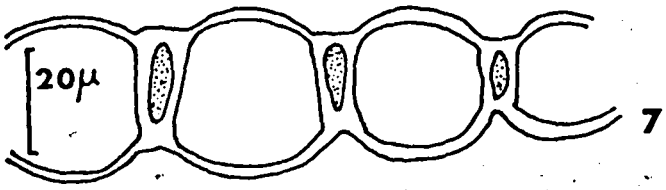


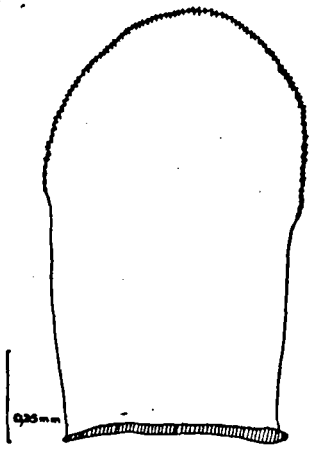
5 a

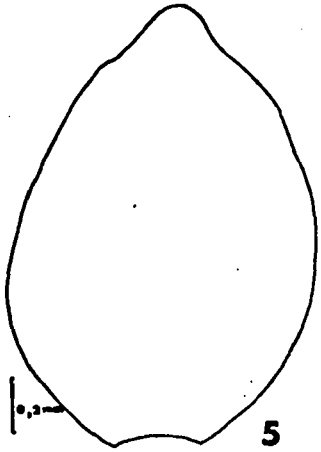
BUS LILLE

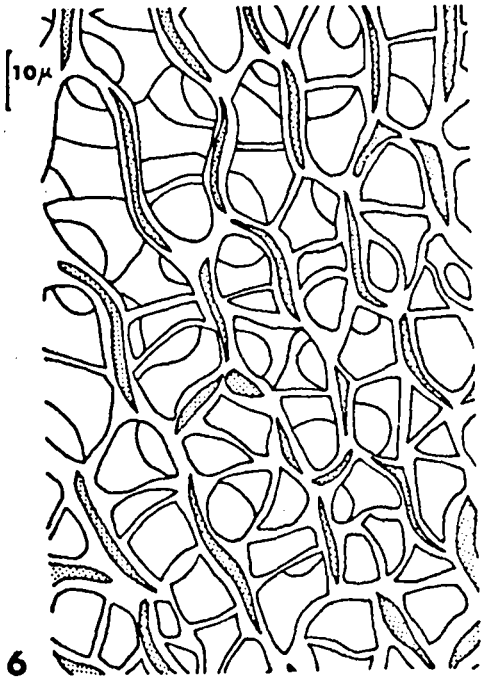
PLANCHE V : *SPHAGNUM CENTRALE Jens.*

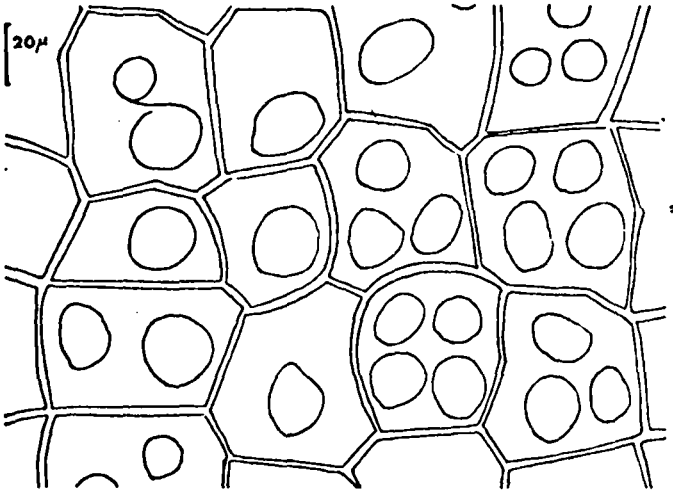


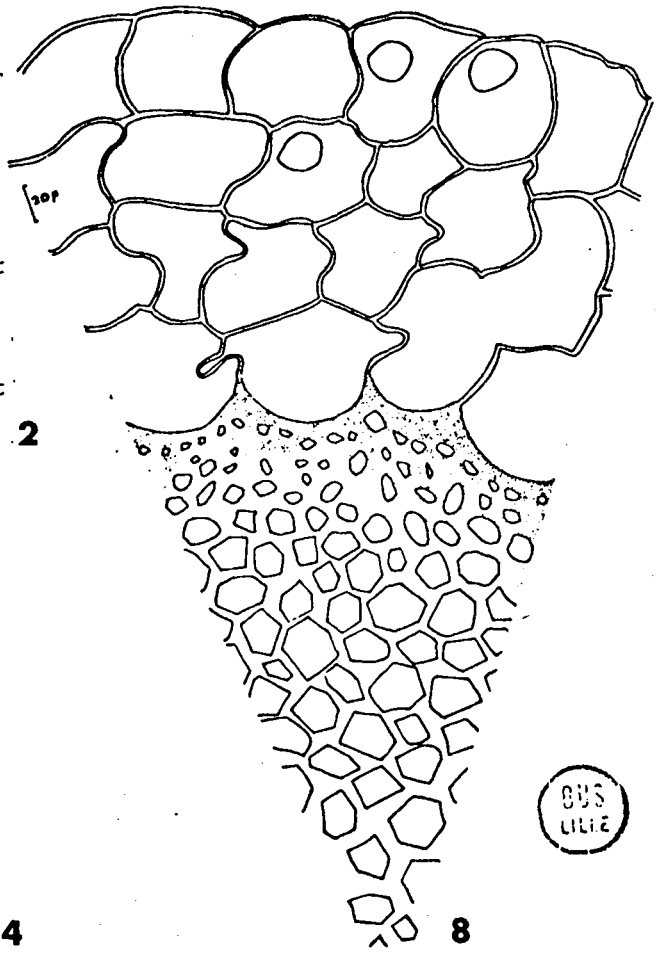


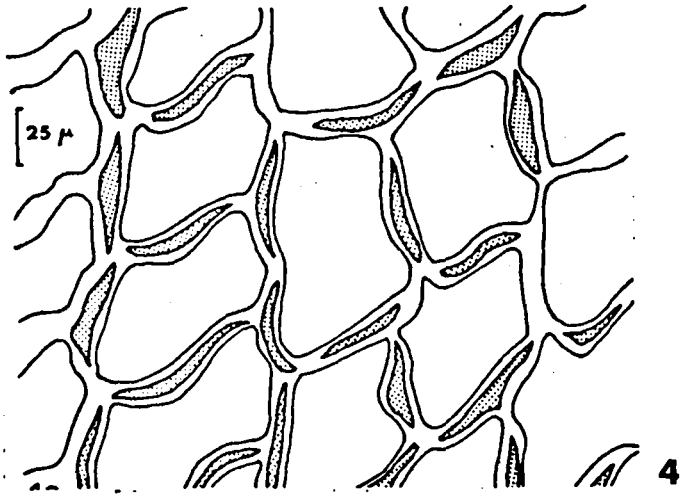






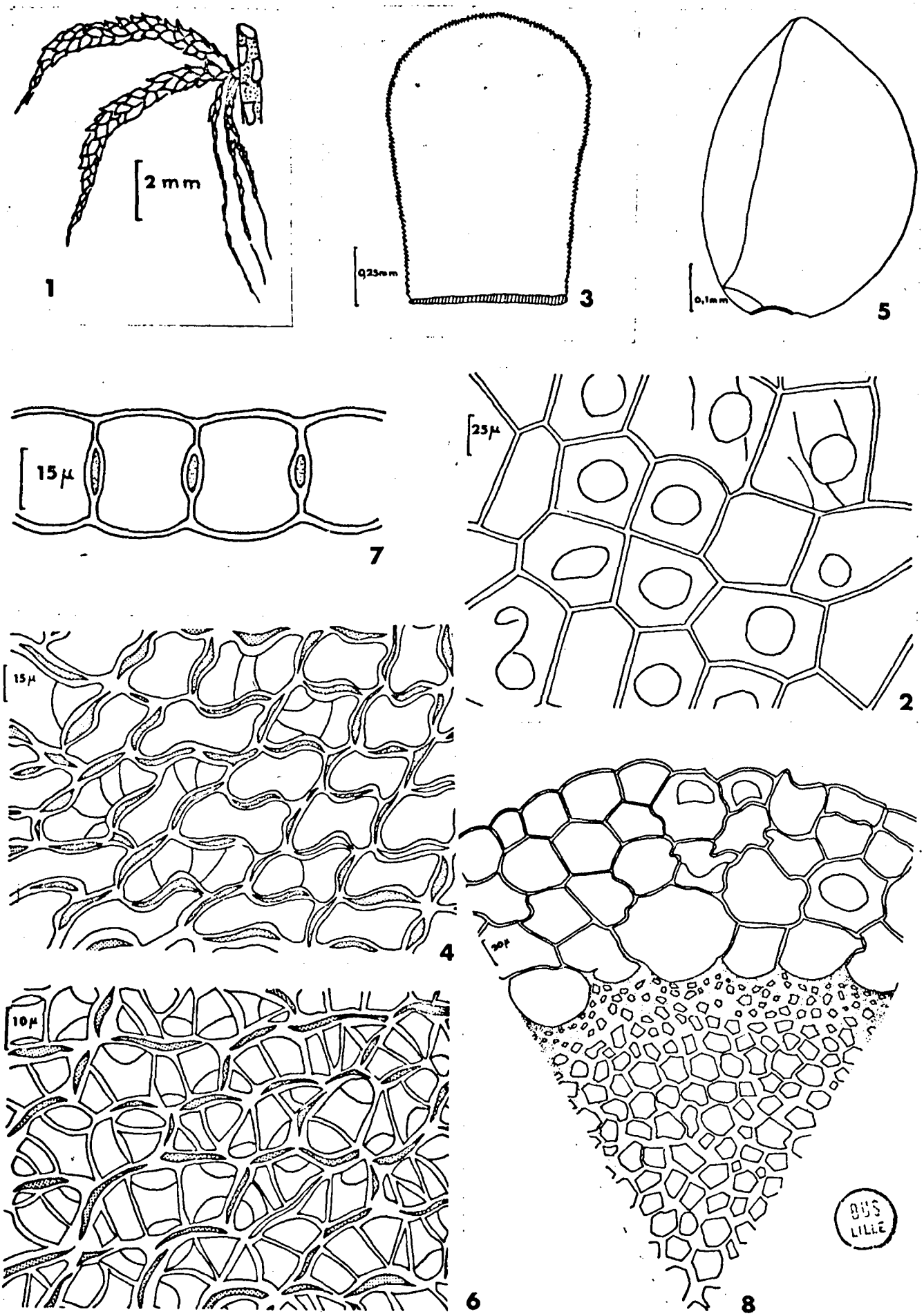






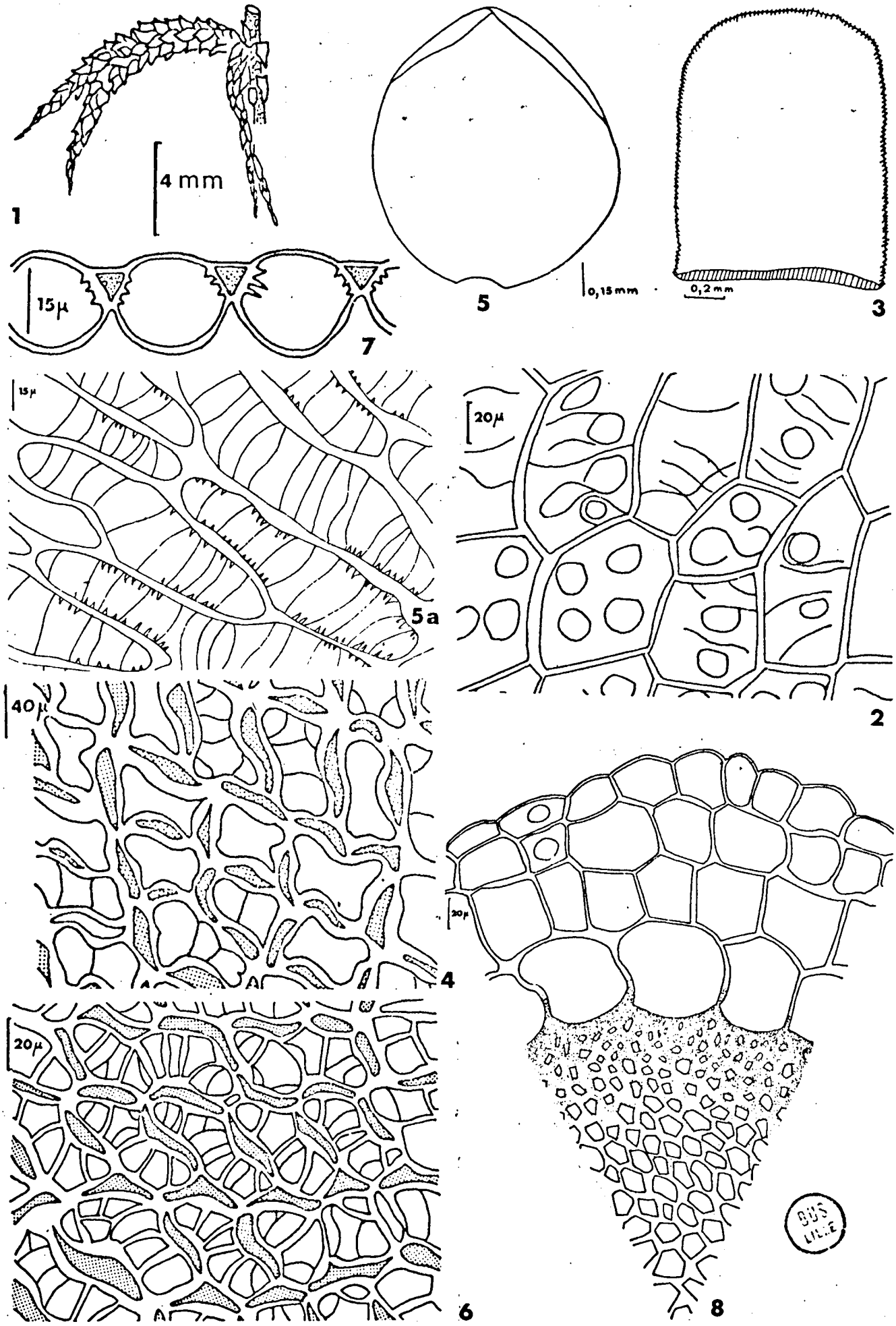
BUS LILLE

PLANCHE VI : *SPHAGNUM MAGELLANICUM Brid.*



BUS LILLE

PLANCHE VII : *SPHAGNUM IMBRICATUM Russow*



BUS LILLE

Les feuilles raméales (fig. 5, pl. VII) sont très largement ovales mais petites. Les cellules hyalines de leur partie supérieure sont très fibrillées, petites (fig. 6, pl. VII), tandis que celles de la partie inférieure sont grandes et possèdent des crêtes le long des parois (fig. 5a, pl. VII). En coupe transversale, ces crêtes apparaissent très nettement sur la face externe de la paroi des chlorocystes (fig. 7, pl. VII). Ceux-ci montrent une forme triangulaire équilatérale avec la base libre à la face interne de la feuille. Les cellules hyalines de la tige vues sur coupe transversale sont de grandeur moyenne par rapport aux autres espèces (fig. 8, pl. VII).

C'est également une espèce amphi-atlantique et amphi-pacifique. En France, elle est très rare. Découverte par CARDOT en 1883 dans les Ardennes, elle a été retrouvée dans la Loire (Massif du Pilat), dans la Meurthe et dans la Haute-Saône.

Malgré tous ces caractères de morphologie externe, de nombreuses confusions entre ces espèces sont encore commises. Pour résoudre avec rigueur certains problèmes de classification et d'identification, nous avons mis au point une méthode reposant sur les données statistiques. Celle-ci nous a permis de distinguer les différentes espèces de la section Palustria, très facilement et avec certitude.

B) Apport de la biométrie

Depuis quelques années, les méthodes statistiques ont rendu de grands services en Biologie. Nous les avons utilisées afin de distinguer avec netteté les espèces de la section Palustria. Certains de leurs caractères se prêtaient bien à l'application d'une telle méthode.

Méthodes et résultats

Pour cette étude, des coupes tangentielles de tiges des 5 espèces ont été pratiquées, toujours au même niveau, à 1 cm sous la couronne des jeunes rameaux subapicaux. Le nombre de hyalocystes à 1, 2, 3, 4, 5, et 6 pores a été déterminé sous le microscope. Le diamètre des pores a été mesuré (en micromètres) et les valeurs extrêmes repérées. On a d'autre part calculé, pour 5 feuilles de chaque espèce, l'indice foliaire : L/l (rapport longueur sur largeur de la feuille) ainsi que l'indice cellulaire des hyalocystes L'/l' (rapport longueur sur largeur des cellules). Enfin, le diamètre des pores de ces mêmes hyalocystes a été mesuré (en micromètres).

Après construction des courbes de distribution des mesures, l'interprétation

peut en être faite par l'application des lois statistiques fondamentales.

a) La recherche de la distribution des caractères

En abscisses (x) sont portés les nombres de pores par cellule et en ordonnées (y) les fréquences correspondantes. Les courbes obtenues (pl. VIII) ont la forme caractéristique en cloche pour chaque espèce et répondent parfaitement à la loi de GAUSS. L'importance en biologie de cette loi est grande. Les courbes de distribution sont dissemblables et permettent une première ségrégation spécifique. La valeur des différents paramètres est à considérer :

- Valeur du mode : elle s'établit à 3 exclusivement chez S. centrale, 2 pour S. imbricatum et S. papillosum, et 1 pour S. palustre et S. magellanicum ;
- Valeur de la moyenne $\bar{x}$: 3,04 pour S. centrale, 1,4 pour S. palustre et S. magellanicum, 2,3 pour S. imbricatum et 2,5 pour S. papillosum ;
- Valeur de l'écart-type σ : 1,14 pour S. centrale, 0,62 pour S. palustre, 0,86 pour S. imbricatum, 0,93 pour S. papillosum et 0,7 pour S. magellanicum.

b) Le test de χ^2 de PEARSON

Le test de χ^2 a été utilisé ici dans un double but :
- montrer que le Sphagnum récolté dans les Alpes est bien un S. centrale. Pour cela, toutes les données d'un S. centrale de Hongrie, typique, ont servi d'effectif théorique (tableau I) et les données du Sphagnum provenant des Alpes correspondent aux effectifs observés (tableau II) ;
- montrer avec certitude que S. centrale et S. palustre sont deux espèces bien distinctes.

Pour comparer la répartition observée à la répartition théorique d'un caractère quantitatif à K classes, on calcule le χ^2. Puis on cherche la probabilité P correspondante dans la table des χ^2 pour le nombre de degrés de liberté (d.d.l. = K - 1). Si α est supérieur à 5 %, la différence n'est pas significative. Si α est inférieur ou égal à 5 % la différence est significative, α étant le degré de signification.

a) Détermination du Sphagnum des Alpes

Tableau I : nombres théoriques pour S. centrale de Hongrie

x (nombre de pores)	f	pourcentages
1	4	2,4 %
2	51	30 %
3	62	36,4 %
4	42	24,7 %
5	9	5,2 %
6	2	1,1 %

Tableau II : nombres obtenus pour la Sphaigne des Alpes

x (nombre de pores)	f	pourcentages
1	6	3,5 %
2	47	27,8 %
3	66	39,5 %
4	40	23,6 %
5	7	4,1 %
6	2	1,1 %

Le tableau III résume les résultats.

$$\chi^2 = \frac{(o - c)^2}{c}$$

o = fréquences observées

c = fréquences calculées (théoriques)

P = pourcentage de probabilité

La valeur du χ^2 total comporte l'ensemble des χ^2 partiels additionnés.

Tableau III : des χ^2 partiels et total

x	o	c	o - c	$(o - c)^2$	$\frac{(o - c)^2}{c}$
1	3,5	2,4	1,1	1,21	0,504
2	27,7	30	2,3	5,29	0,17
3	39,5	36,4	3,1	9,61	0,26
4	23,6	24,7	1,1	1,21	0,04
5	4,1	5,2	1,1	1,21	0,23
6	1,1	1,1	0	0	0
					χ^2 =1,20

BUS LILLE

Le χ^2 de 1,20 correspond à une valeur statistique de 0,95. Il est hautement significatif. Il y a une probabilité de 95% pour que, par le caractère "pores des cellules hyalodermiques", la Sphaigne des Alpes soit un S. centrale comme le S. centrale typique de Hongrie.

β) Distinction de S. centrale et S. palustre

On procède de la même façon que précédemment. Le tableau IV indique les effectifs observés pour S. palustre.

Tableau IV : effectifs observés pour S. palustre

x (nombre de pores)	f	pourcentages
1	102	57,3 %
2	65	36,5 %
3	11	61,8 %

On reprend le même tableau I pour les effectifs théoriques. Enfin le tableau V donne le χ^2 total.

Tableau V : des χ^2

x	o	c	o - c	$(o - c)^2$	$\frac{(o - c)^2}{c}$
1	37,3	2,4	54,9	3014,01	1255,0
2	36,5	30,0	6,5	42,25	1,4
3	61,8	36,4	25,4	645,16	17,0
4	0	24,7	24,7	610,09	24,7
5	0	5,2	5,2	27,04	5,1
6	0	1,1	1,1	1,21	1,0
					χ^2 = 1304,2

Le χ^2 est hautement significatif, bien au-dessous du seuil de 1%. Les deux populations comparées sont génétiquement distinctes.

c) Les diagrammes de dispersion symbolique des caractères

Afin de comprendre les corrélations qui peuvent exister entre les espèces, des diagrammes de dispersion visualisant ces caractères sont établis et interprétés.

Les caractères choisis ont été les suivants :

- indice cellulaire (L/l = longueur/largeur) des hyalocystes des feuilles raméales;
- diamètre (en micromètres) des pores des hyalocystes des feuilles raméales ;
- longueur des feuilles raméales ;
- fréquence maximale des pores dans les cellules (mode).

Les dimensions des hyalocystes (donc leur indice cellulaire) et le diamètre des pores sont des caractères stables et facilement quantifiables. Grâce à eux, on dispose d'une base de dispersion des points représentant les différentes espèces dans un espace défini par des axes de coordonnées. Sur ces derniers sont portés l'indice cellulaire (en ordonnées) et le diamètre des pores (en abscisses). Cinq feuilles raméales ayant servi de base de mesures, on obtient cinq nuages de points correspondant à chaque espèce (pl. VIII). Nous nous sommes efforcée de dégager, par l'étude des diagrammes de dispersion, les corrélations pouvant exister entre l'indice foliaire et les autres caractères, ceux-ci figurant sur les diagrammes sous forme de symboles.

d) Le test de corrélation

Ce test est appliqué à notre matériel afin de savoir si le diamètre des pores est lié à leur densité définie par le nombre de pores par hyalocyste . Les données étant nombreuses, il est nécessaire de les présenter dans un tableau à double entrée dit "tableau de corrélation". Dans celui-ci, on dispose horizontalement le nombre de pores par cellule (x) et, verticalement, la valeur moyenne du diamètre des pores (y).

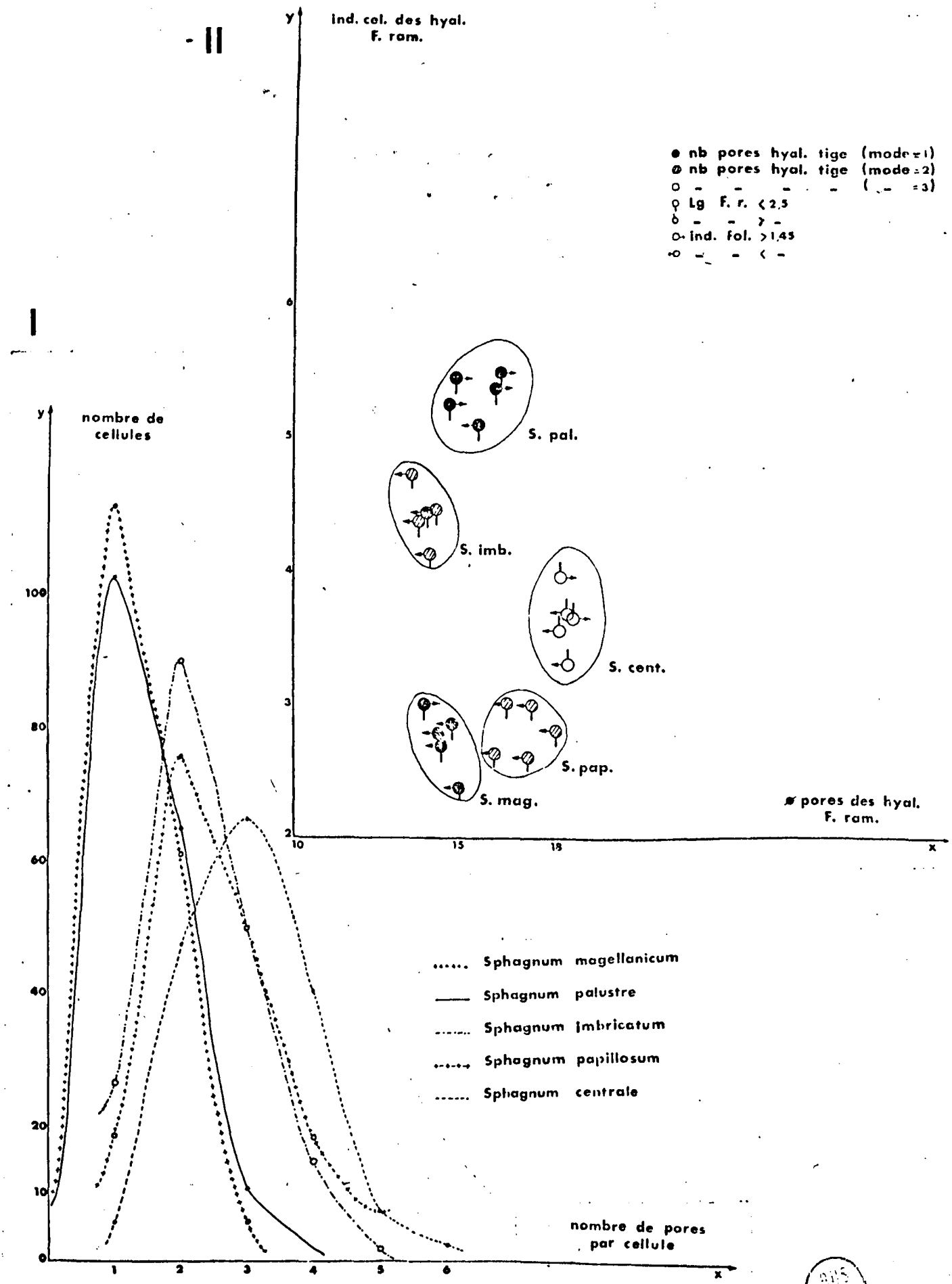
Un exemple est détaillé pour S. palustre. Les renseignements sont réunis dans le tableau VI, à l'instar de CRAPLET (35, 1954).

La rangée des x (horizontale) indique le nombre total de cellules ayant 1 à 5 pores : 76 cellules, pour un total de 163 pores. La moyenne $\bar{x} = 163/76 = 2,14$.

La colonne des y (verticale) est établie à partir des moyennes m_o du diamètre des pores dans les cellules à 1, 2, 3, 4, 5 pores. Le total des moyennes $\Sigma m_o = 1280,26$; $n = 76$; $\Sigma m_o/76 = 16,84\mu$ (= moyenne des moyennes).

Si la liaison de corrélation est très nette, positivement ou négativement, un simple examen du tableau montre la corrélation (directe ou inverse) entre les deux caractères étudiés.

Un résultat plus précis est acquis par le calcul du coefficient de corrélation r :


- II
y
ind. col. des hyal.
F. ram.
● nb pores hyal. tige (mode = 1)
nb pores hyal. tige (mode = 2)
○ - - - - (- = 3)
Lg F. r. < 2,5
- - > -
ind. fol. > 1,45
- - < -
S. pal.
S. imb.
S. cent.
S. pap.
S. mag.
pores des hyal.
F. ram.
10
15
18
x
2
3
4
5
6
I
y
nombre de
cellules
100
80
60
40
20
10
0
1
2
3
4
5
6
x
Sphagnum magellanicum
Sphagnum palustre
Sphagnum imbricatum
Sphagnum papillosum
Sphagnum centrale
nombre de pores
par cellule

$$r = \frac{\dfrac{\Sigma\,(x\,y)}{n-1}}{\sqrt{\left(\dfrac{\Sigma\,x^2}{n-1}\right)\left(\dfrac{\Sigma\,y^2}{n-1}\right)}}$$

En valeur numérique :

$$\frac{\Sigma\,(x\,y)}{n-1} = -\,0{,}2713 \qquad \frac{\Sigma\,x^2}{n-1} = 1{,}\,58 \qquad \frac{\Sigma\,y^2}{n-1} = 4{,}14$$

d'où : $r = -\dfrac{0{,}2713}{\sqrt{1{,}58\,.\,4{,}14}} = -\,0{,}106$

Cette valeur sera discutée plus loin.

Pour les 4 autres espèces de la section Palustria, les mêmes calculs ont donné :

pour S. centrale : r = - 0,295
pour S. papillosum : r = - 0,681
pour S. imbricatum : r = - 0,14
pour S. magellanicum : r = + 0, 035

(tableaux de corrélation conservés en archives).

Discussion

a) Loi de GAUSS

Les modes et les moyennes se séparent nettement, à condition de procéder à une analyse sur une population et non sur un individu. On ne peut conclure à partir d'un individu puisque les courbes de fréquence se superposent. On a ainsi trois groupes de courbes. Pour celles qui ont le même mode, par exemple S. palustre et S. magellanicum, il existe d'autres caractères qualitatifs péremptoires pour les distinguer. Par contre on différencie avec certitude S. centrale et S. palustre.

b) Le test χ^2 de PEARSON

L'application de ce test est tout à fait positive. Il n'existe en effet aucun rapport, pour les caractères analysés, entre S. centrale et S. palustre. On constate également que la dimension des pores n'est pas la même pour ces deux espèces. S. palustre possède des pores petits. La moyenne des diamètres est de 16, 84 micromètres. Par contre la moyenne du diamètre des pores de S. centrale

TABLEAU VI

Sphagnum palustre

Recherche d'une éventuelle corrélation entre :
- le nombre de pores par hyalocyste (x)
- le diamètre des pores (y)

y diamètre des pores	$y-\bar{y}$	E'^2 \ x nombre de pores	1	2	3	4	5	f y	Σy^2	f xy (-)	f xy (+)
		$x-\bar{x}$	-1,14	-0,14	+0,86	+1,86	+2,86				
		E^2	1,296	0,196	0,739	3,459	8,179				
12,83	-4,01	16,080				-7,45		1	16,08	-17,22	
13,16	-3,68	13,542			-3,16			1	13,54	-15,78	
13,82	-3,02	9,120		+0,42	-2,59			6	54,72	-12,97	
14,48	-2,36	5,569			-2,02			1	5,56	-10,14	
15,14	-1,70	2,890			-1,46			5	14,45	-7,32	
15,40	-1,44	2,073					-4,11	1	2,67	-6,17	
15,80	-1,04	1,081	+1,18	+0,14	-0,89	-1,93		28	30,24	-4,47	
16,78	-0,06	0,0036		+0,08				3	0,10	-0,19	
17,77	+0,93	0,864	-1,06	-0,13				7	6,04		+3,97
18,76	+1,92	3,686		-0,26				5	18,40		+8,27
19,09	+2,25	5,062			+1,93			1	5,06		+9,67
19,75	+2,91	8,468	-3,31	-0,40	+2,50			17	143,82		+12,52
		f x	18	33	22	2	1	76	310,68	-74,26	+34,43
		Σx^2	23,22	64,68	16,06	6,90	8,17	119,03	$\Sigma xy = -20,35$		

$x-\bar{x}$, $y-\bar{y}$ } écarts à la moyenne

E^2 et E'^2 : leur carré

BUS LILLE

est plus élevée et atteint 22,06 micromètres. Si un problème se pose pour reconnaître le var. laeve de S. papillosum (sans papilles), la mesure du diamètre des pores tranche la question. En effet, S. papillosum a de très grands pores (moyenne 26,88 micromètres, maximum 32). Par conséquent, le var. laeve possède des pores dont la moyenne et le maximum du diamètre seront proches de ces valeurs. On peut ainsi aisément séparer cette variété de S. palustre auquel elle ressemble beaucoup.

c) Les diagrammes de dispersion des caractères

L'examen des diagrammes montre que les cinq espèces se différencient facilement. Un caractère cependant, l'indice foliaire, ne donne aucun résultat. Par contre, pour les espèces ayant le même mode pour le nombre de pores dans les cellules du hyaloderme de la tige, la différence apparaît nettement puisque les deux nuages de points ne se superposent pas. La longueur des feuilles est aussi un bon caractère. Ainsi la distinction des espèces est simplifiée.

d) Le test de corrélation

Pour chaque coefficient r, la table de "signification d'un coefficient de corrélation" donne les limites de ce dernier ayant respectivement 5 (r 0,05) et une (r 0,01) chances sur 100 d'être dépassées par suite des fluctuations fortuites.

Pour S. palustre, S. imbricatum et S. magellanicum, le coefficient r n'est pas significatif. Il n'y a donc aucune relation entre le diamètre des pores et le nombre de ces derniers par cellule.

Par contre pour S. papillosum le coefficient de corrélation est hautement significatif et pour S. centrale, il est significatif. Il y a donc relation, pour ces deux espèces, entre le diamètre des pores et le nombre de ceux-ci par cellule.

Essai de conclusion phylogénique

En comparant tous les caractères des espèces, on peut tenter de reconnaître une filiation dans le groupe des Palustria.

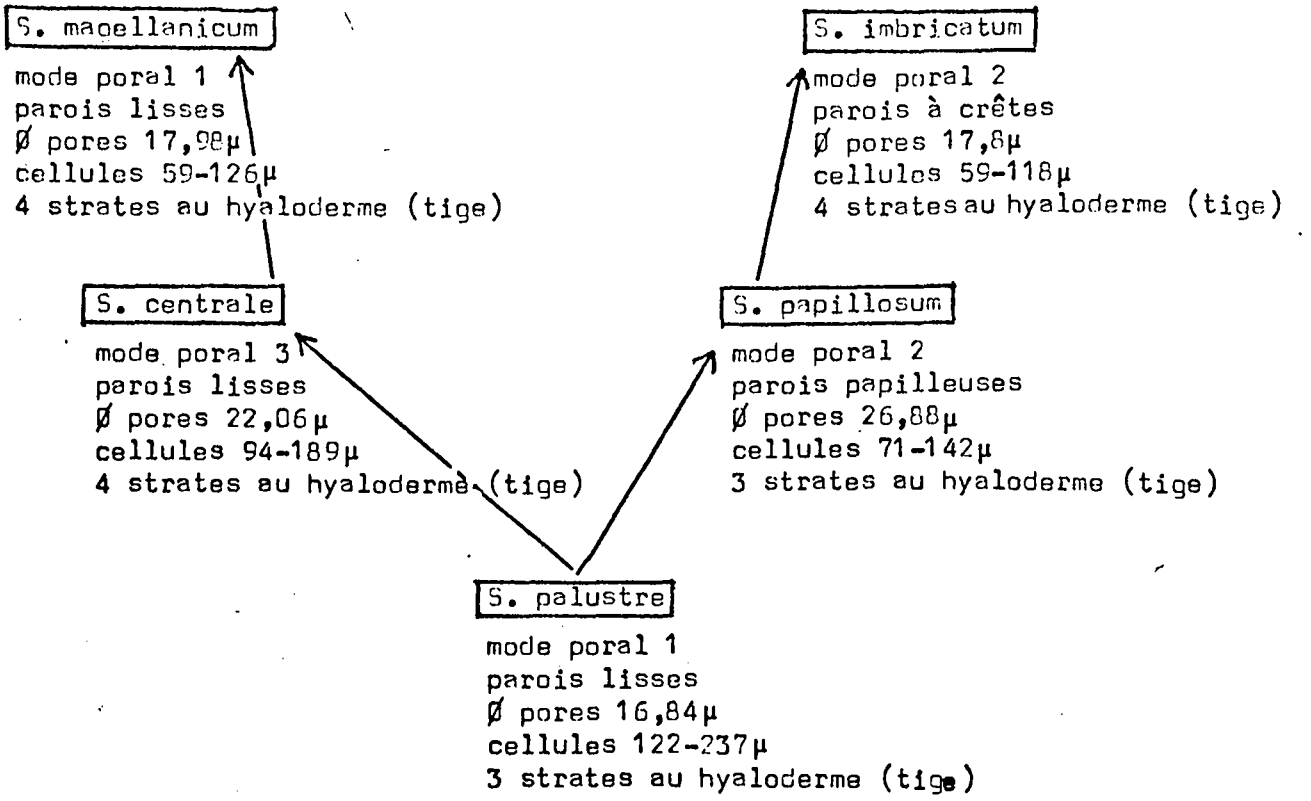
Un première lignée ressort avec S. palustre qui paraît, par sa simplicité et l'absence de détails différenciés, l'espèce la plus ancienne. La taille des hyalocystes est élevée ; elle atteint 122,15 à 237 micromètres. Les chlorocystes, vus en coupe transversale, sont trapézoïdaux et les parois des hyalocystes sont lisses. Le diamètre des pores est petit, en moyenne 16,84 micromètres, et on en trouve le plus souvent un par cellule.

De cette espèce dériverait S. papillosum. Les chlorocystes, vus en coupe transversale, présentent une forme de triangle isocèle et les parois des hyalocystes sont papilleuses. Le nombre des pores est généralement deux, quelquefois trois ou quatre et leur diamètre moyen s'établit à 26,88 micromètres. De plus la longueur des hyalocystes vaut 71,10 à 142,28 micromètres.

De cette deuxième espèce prendrait naissance le S. imbricatum. Ce dernier possède des hyalocystes très petits (59,25 à 118,50 micromètres). Les chlorocystes, vus en coupe transversale, sont triangulaires-équilatéraux et les parois des hyalocystes sont ornementées de nombreuses crêtes. Le nombre de pores dans les hyalocystes de la tige est deux, rarement trois. Enfin, le diamètre de ces pores est 17,8 micromètres en moyenne.

Une deuxième lignée semble réalisée avec S. centrale aux chlorocystes fusiformes et aux hyalocystes à parois lisses. La dimension des hyalocystes varie de 94,80 à 189,60 micromètres. Cette espèce possède de nombreux pores dans les cellules du hyaloderme de la tige (3, 4 ou 5) et leur diamètre est 22,06 micromètre en moyenne.

Enfin, de cette espèce pourrait dériver le Sphagnum magellanicum. La taille des hyalocystes des feuilles raméales atteint 59,25 à 126,40 micromètres. La section des hyalocystes est lisse. Le nombre de pores dans ces derniers dépasse rarement un et leur diamètre est égal en moyenne à 17,98 micromètres.



Ainsi, la section Palustria semble formée de deux lignées issues de S. palustre. Les caractères évolutifs que l'on peut retenir sont :

- une différenciation ornementale de la paroi ;
- l'augmentation du mode poral (avec peut-être un retour pseudocyclique à un pour S. magellanicum) ;
- l'augmentation du diamètre des pores (avec peut-être une diminution pseudocyclique pour S. imbricatum) ;
- une diminution de la longueur des hyalocystes foliaires. Cette dernière tendance nous paraît la plus importante ;
- l'augmentation du nombre de couches des cellules du hyaloderme de la tige.

La lignée "imbricatum" est caractérisée par la section triangulaire-trapézoïde des chlorocystes qui s'oppose au type ellipsoïde des chlorocystes centraux de la lignée "magellanicum".

Ces méthodes statistiques complètent les observations macroscopiques et microscopiques et apportent avec certitude la preuve que Sphagnum palustre et Sphagnum centrale sont bien deux espèces différentes.

Lorsque les caractères anatomiques et morphologiques qui permettent normalement de les déterminer ne sont pas frappants, l'apport de la biométrie peut être déterminant. En outre, il est intéressant de pouvoir dégager deux lignées évolutives dans le groupe des Palustria.

CHAPITRE TROISIEME

ETUDE DE L'APEX VEGETATIF CAULINAIRE DE SPHAGNUM SP. (SECTION PALUSTRIA L.)

En 1845, NÄGELI (106) découvre une cellule initiale impliquée dans l'ontogenèse du gamétophyte feuillé des Hépatiques : c'est l'initiale apicale singulière. HOFMEISTER croit la retrouver chez les Gymnospermes. LEITGEB (87, 1868), dans son étude sur le fonctionnement de l'apicale de Fontinalis antipyretica (Bryales), précise les processus qui conduisent à l'édification de la tige pourvue de ses feuilles. L'année suivante (88, 1869) le même auteur décrit la formation de la tige feuillée chez Sphagnum cuspidatum et Sphagnum cymbifolium (= S. palustre), où il met en évidence l'existence d'une initiale apicale singulière. Le pouvoir initiateur de celle-ci sera admis par de nombreux auteurs comme CAMPBELL (28, 1905) et POTTIER (110, 1925). La structure de cette cellule apicale est décrite par DANGEARD (38, 1924) chez Fontinalis antipyretica ; par MOTTE (104, 1928) chez Drepanocladus fluitans. Une étude détaillée est entreprise par BONNOT (14, 1967) chez Anomodon viticulosus. Il conclut que la cellule apicale unique est douée d'un type spécial de polarité qu'il désigne par l'expression de "polarité modelante". Tous les tissus constitutifs de la tige feuillée procèdent de l'apicale : "celle-ci est totipotente". Une cloison péricline découpe vers l'extérieur une cellule unique qui fonctionne comme apicale et engendre une feuille. Les cellules situées sous la base de l'initiale foliaire, et appartenant au même segment qu'elle, se divisent activement. Elles forment un tissu méristématique. Une étude cytochimique et ultrastructurale réalisée par le même auteur (15, 1967) a montré leur haute teneur en ADN. Lorsque la différenciation est totale, la tige feuillée est définitivement constituée. A l'aisselle des jeunes feuilles, il y a formation de poils mucigènes élaborés par cloisonnement anticline. Les cellules plus profondes des segments latéraux sont à l'origine des cellules-mères du tissu central externe. Leur rôle est déterminant dans l'allongement de la partie interne de la tige. Elles élaborent le tissu central externe. Enfin, le même auteur (18, 1968) expose des données nouvelles, après étude d'apicales caulinaires, chez Thuidium tamariscinum, Hylocomium splendens, Loeskeobryum brevirostre et Polytrichum formosum. Une méthode de coloration par le violet-cristal permet de différencier proplastes et plastes et de localiser, à l'apex de la tige feuillée, la zone en histogenèse.

Ainsi, chez les Sphaignes comme chez les autres Bryophytes, l'apicale se divise et les cellules résultant de cette division se segmentent, donnant naissance aux tissus de la tige et des feuilles. Ces dernières, comme nous l'avons vu dans le chapitre I, possèdent chez les Sphaignes une structure hétérodictyée caractéristique. Elles sont en effet formées de deux types de cellules (fig. 5, pl. I et fig. 1, pl. IX), les hyalocystes et les chlorocystes ; l'étude de leur différenciation a été abordée par DURHAM (47, 1937) chez Sphagnum recurvum var. tenue. Quant à la tige, elle est composée de 3 zones bien déterminées (fig. 3, pl. I).

STRUCTURE GENERALE DE L'APEX DU GAMETOPHYTE FEUILLE DES SPHAIGNES DE LA SECTION PALUSTRIA

A) L'apicale caulinaire des Sphagnum

L'apex caulinaire principal est pourvu d'une apicale "profondément enfoncée dans les tissus néoformés à partir d'elle-même". Elle a une forme tétraédrique avec la face libre légèrement convexe (fig. 2, pl. IX). Son cytoplasme est dense. Les vacuoles sont très nombreuses et très petites. Le noyau est de grande taille et le nucléole exceptionnellement développé ; différents procédés de fixation-coloration les mettent en évidence. Il en est ainsi pour la fixation à OsO_4 non suivie de coloration (fig. 3, pl. IX). Le noyau manifeste une faible chromaticité le réseau de chromatine est difficilement visible.

B) Les jeunes organes de l'apex

Comme chez les autres Bryophytes, l'apicale des Sphaignes est totipotente. Directement ou indirectement, elle élabore à l'apex :

I. Les ébauches foliaires

L'initiale, par cloisonnements successifs de chacune de ses trois faces, donne les segments qui formeront les ébauches foliaires. La feuille naît au niveau des plus jeunes segments sous forme d'une cellule ou initiale foliaire, qui engendre un initium dont on voit bien l'existence latéralement à l'apex caulinaire (fig. 4, pl. IX). La cellule initiale apicale foliaire possède

un noyau relativement gros avec un nucléole, ce qui la fait ressembler à l'initiale caulinaire, en plus petit. Elle se divise de nombreuses fois et donne naissance à un tissu méristématique . La segmentation et le mode d'accroissement des cellules se font comme chez les autres Mousses ainsi que l'ont montré LEITGEB (88, 1869), POTTIER (110, 1925) et BONNOT (14, 1967).

Au début, chez les Sphaignes, toutes les cellules des ébauches foliaires ont la même morphologie. Sur une coupe longitudinale, une ébauche foliaire vue de face à l'aspect d'une gaufre avec des cellules rhomboïdales uniformes (fig. 5, pl. IX). Une coupe transversale (fig. 6, pl. IX) montre aussi des cellules d'ébauches foliaires, toutes semblables dans leur morphologie et homogènes dans leur structure. A l'intérieur, le noyau occupe un volume important et le cytoplasme est granuleux. DURHAM (47, 1937) a observé les divisions et les décrit "comme peu fréquentes". Lorsqu'elles sont terminées, toute la surface de la feuille paraît segmentée, quoique non simultanément, en système de cellules hyalines larges (les hyalocystes), entourées chacune de 4 cellules plus étroites qui sont les futures cellules chlorophylliennes (les chlorocystes) (fig. 7, pl. IX). A partir de ce moment, deux types de cellules sont formés , contenant tous deux des chloroplastes (fig. 4, pl. XXXI). Ces derniers sont facilement visibles dans les jeunes hyalocystes où ils n'augmenteront plus en nombre ; au contraire, ils dégénèrent graduellement. Les feuilles s'accroissent, en longueur et en largeur, durant ce processus de différenciation cellulaire. Cependant, les chlorocystes se développant plus vite que les hyalocystes. Aussi, ces derniers revêtent-ils la forme d'un "S" allongé. Après la différenciation, chaque hyalocyste se trouve entouré de 6 chlorocystes (fig. 7, pl. IX), nombre réduit à 5 si l'une des dernières divisions n'a pas lieu (fig. 7, pl. IX). La feuille a alors terminé son développement et possède un tissu hétérodictyé (fig. 1, pl. IX). Elle diffère ainsi des plus jeunes, encore homodictyées. Le dimorphisme apparaît au niveau de la quatrième ou de la cinquième feuille approximativement, à partir de l'apicale. CAMPBELL (28, 1905) rapporte que le phénomène de dimorphisme s'observe dans la portion la plus basse de la feuille, tandis que la portion apicale reste indifférenciée.

Sur toutes les photomicrographies de Sphagnum magellanicum et S. palustre que nous avons obtenues, le phénomène est d'ordre inverse. Les cellules indifférenciées se trouvent à la base et non en position apicale (fig. 8, pl. IX).

Parmi les apex étudiés, nous avons pu noter que, conformément aux vues classiques, les Sphagnum ont une apicale caulinaire de premier ordre et de très nombreuses apicales de deuxième et troisième ordres.

II. Les poils

A l'aisselle des jeunes feuilles de l'apex des Sphaignes se développent très tôt des organes bicellulaires d'un type particulier. On peut les considérer comme des poils composés d'une cellule basale de petite taille surmontée d'une cellule plus grande et ovoïde (fig. 8, pl. IX). Leur étude sera entreprise dans un chapitre spécial. Ils appartiennent ontogéniquement au segment qui les supporte et restent solidaires de leur feuille axillante lorsqu'on arrache celle-ci. Dans certains cas, ils paraissent avoir pris naissance aux dépens de cellules corticales de la tige.

III. Les anthéridies

La position particulière des gamétanges mâles ou anthéridies a été décrite par SCHIMPER (120, 1848). Elles apparaissent à l'aisselle des feuilles de rameaux spéciaux reconnaissables à leur coloration rouge. On ne voit jamais qu'une seule anthéridie par feuille. Leur apparition et leur développement ont été étudiés par LEITGEB (88, 1869). La future anthéridie naît d'abord comme une excroissance papilleuse à la base ventrale d'une feuille. Cette excroissance prend une forme cylindrique et se segmente une première fois. La cellule basale se divise par des parois longitudinales. La cellule supérieure subit également plusieurs divisions. Quelques-unes des cellules-filles continuent à se segmenter. Ainsi, toutes les cellules proviennent de la cellule supérieure et de ses cellules-filles. Certaines forment le pédicelle anthéridial.

IV. Les archégones

Par contre, "par manque de matériel", LEITGEB n'a pu suivre l'évolution des archégones. Ceux-ci se forment en position apicale aux dépens de la cellule apicale principale. Ainsi, dans ce cas, cette apicale reçoit une induction sexualisante et est gamétogène. La morphologie et l'anatomie d'un archégone ont été précisées dans le chapitre I (fig. 2, pl. II et fig. 9, pl. IX).

C) Discussion

La tige croît grâce au fonctionnement d'une initiale tétraédrique incluse dans les tissus méristématiques du sommet, constituant le point végétatif. Le mode de division de l'apicale est celui de la plupart des Mousses et des Hépatiques à

PLANCHE IX : Apicale caulinaire

Fig. 1. - Portion de feuille adulte de S. palustre montrant la structure hétérodictyée. f, fibrilles ; p, pores ; H, hyalocystes ; C, chlorocystes (pris dans une préparation traitée pour la mise en évidence de la phosphatase acide suivant la méthode de GOMORI). G x 1300.

Fig. 2. - Coupe longitudinale d'un apex de S. palustre. F, feuilles ; A, apicale caulinaire ; éb, ébauches foliaires. Fixateur : OsO_4 . G x 1300.

Fig. 3. - Cellule apicale de S. magellanicum montrant un gros noyau central (N) avec un nucléole (n). Fixateur : OsO_4 . G x 1300.

Fig. 4. - Coupe longitudinale d'un apex et d'une tige feuillée de S. palustre. F, feuilles ; i, initium foliaire ; A, cellule apicale. Fixation : OsO_4 . G x 1300.

Fig. 5. - Primordium foliaire ; stade holoméristématique. La simultanéité des mitoses aboutit à la segmentation régulière et géométrique du tissu foliaire non différencié. Fixation ; OsO_4 . G x 650.

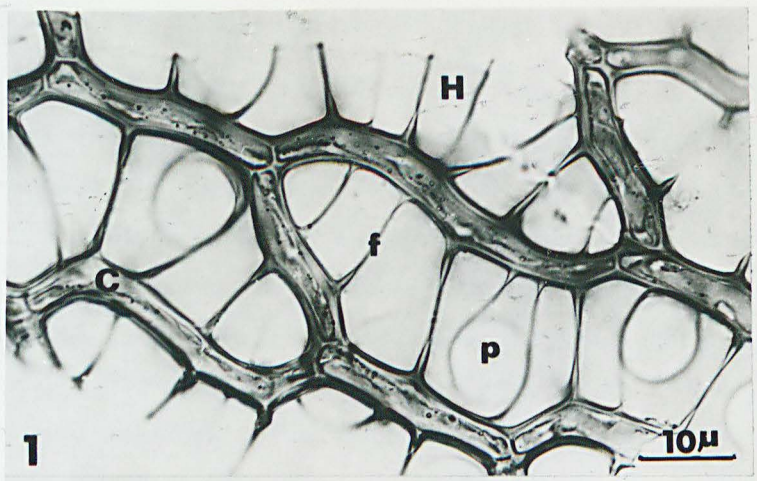
Fig. 6. - Coupe transversale d'un apex de S. magellanicum. Les premières ébauches foliaires (eb) possèdent un seul type de cellules. Fixation : OsO_4 . G x 850.

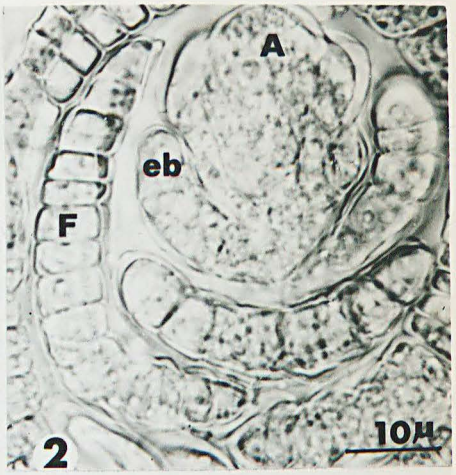
Fig. 7. - Primordium foliaire de S. magellanicum au stade de la différenciation. Les hyalocystes (H) sont entourés de 4, 5 ou 6 chlorocystes (c). (Apex traité pour la mise en évidence des peroxydases). G x 450.

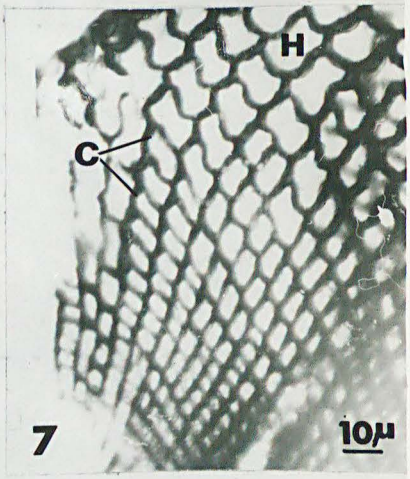
Fig. 8. - Apex (ap) et tige feuillée (tg) vus sur une coupe longitudinale de S. magellanicum. La différenciation commence à l'apex des ébauches foliaires, contrairement à ce qu'affirmait CAMPBELL (1905). On observe bien les 2 types de cellules. Noter la présence d'un poil mucigène (pm) à l'aisselle d'une feuille (F). Fixation : OsO_4 . G x 500.

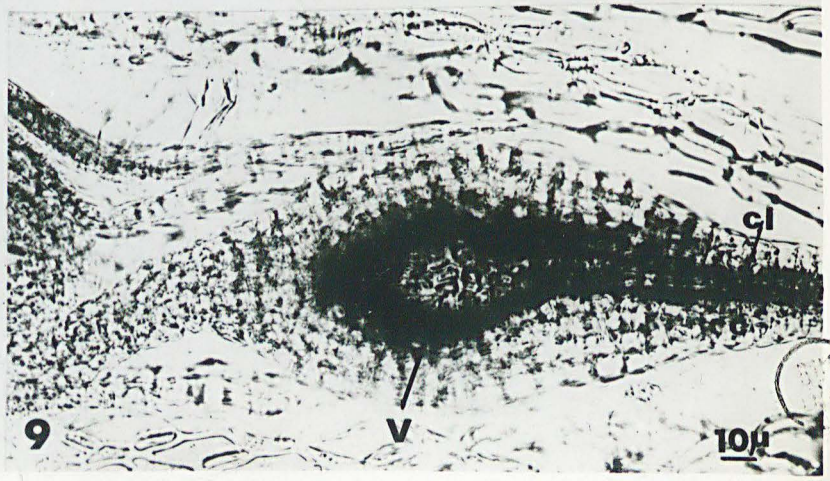
Fig. 9. - Coupe longitudinale d'un archégone de S. magellanicum. La coupe montre les cellules de canal du col (cc), le col (cl), le ventre de l'archégone (v) avec la région de l'oosphère, et le pseudopode (ps). Fixation : F.A.A. ; coloration : Soudan III . G x 500.

PLANCHE IX : *APEX CAULINAIRE*









feuilles. Mais sa croissance caulinaire est indéfinie chez les Sphaignes, tandis qu'elle est limitée chez les autres Bryophytes.

Les feuilles appartiennent à un type spécial, presque exclusif des Sphagnales parmi les Bryophytes. Une exception doit être faite, cependant, pour les Leucobryacées qui possèdent déjà, dans une certaine mesure, des feuilles à structure hétérodictyées. Cette existence de deux sortes de cellules, chlorocystes et hyalocystes, montre qu'il y a eu différenciation cellulaire au cours du développement du tissu foliaire. Lorsque celui-ci est achevé, ce phénomène original se traduit par la dégénérescence des hyalocystes qui deviennent vides de tout contenu protoplasmique. Le phénomène de dégénérescence des différents organites, discernable en microscopie photonique, sera étudié en détail dans ce troisième chapitre.

ULTRASTRUCTURE DES CELLULES DES EBAUCHES FOLIAIRES

La microscopie électronique a contribué pour une large part à notre connaissance cytologique actuelle des Bryophytes. Les données ainsi acquises sont assez nombreuses aussi bien chez les Mousses que chez les Hépatiques. Par contre, peu d'études ont été entreprises, chez les Sphaignes, à l'aide de cette technique. Il faut citer cependant les travaux de MANTON (94, 1957) sur les anthéridies et les spermatozoïdes de Sphagnum, et ceux de HEITZ (70, 1958) sur l'appareil de Golgi de Sphagnum sp. Les observations de J. EYME (49, 1954), qui a suivi la continuité plastidale tout au long de la spermatogenèse de Sphagnum palustre, ont été effectuées seulement en microscopie photonique.

A) Etude des composants figurés de la cellule

Toutes nos coupes ont été pratiquées sur des ébauches foliaires de Sphagnum centrale et de S? palustre.

I. LA PAROI

De structure assez complexe, elle sépare soit deux chlorocystes, soit un hyalocyste et un chlorocyste. Il arrive aussi qu'on se trouve en présence d'une paroi libre de la face externe ou de la face interne de la feuille.

Dans le cas de Sphagnum centrale la paroi montre, selon le niveau d'observa-

tion, des structures variées. Certaines parois sont entièrement granuleuses, de même densité sur toute la surface (fig. 1, pl. X), alors que d'autres présentent une bande étroite, plus dense aux électrons du côté des hyalocystes, et une bande en contact avec les chlorocystes plus large que celle qui borde les hyalocystes (fig. 2, pl. X).

La paroi peut également avoir une structure granuleuse et stratifiée (fig. 3, pl. X). Elle apparaît alors formée de granules serrés et d'un enchevêtrement de fibrilles longues et pourvues de petites ramifications. Enfin, certaines parois sont constituées de fibrilles très régulières, parallèles à la membrane plasmique, ce qui leur donne un aspect homogène (fig. 4, pl. X).

Chez Sphagnum palustre, la paroi est entièrement fibrilleuse avec alternance de zones claires et de zones foncées (fig. 1, pl. XI). On retrouve ici aussi la bande étroite et dense aux électrons lorsqu'il s'agit d'un contact avec un hyalocyste. Sur cette dernière micrographie, la lamelle mitoyenne est bien visible.

Nous avons pu observer une paroi directement en contact avec l'extérieur, mais il n'est pas possible de dire si le côté libre correspond à la face externe ou à la face interne de la feuille. La paroi se compose de 3 zones (fig. 2, pl.XI):

- la paroi proprement dite, formée de fibrilles réparties très régulièrement ;
- une couche de densité moyenne aux électrons par rapport à la paroi, la cuticule ;
- tout à fait à l'extérieur une pellicule très mince, dense aux électrons, correspondant à un renforcement de la cuticule au contact du milieu externe.

Une coupe transversale (fig. 3, pl. XI) montre la jonction entre trois cellules contiguës et, en même temps, la lamelle mitoyenne. Cette dernière présente un réseau de fibrilles très serrées et que les contrastants ont rendues très denses aux électrons.

Chez Sphagnum centrale, de nombreux ribosomes se rassemblent et forment un pilier (fig. 4, pl. XI) qui prend appui par un large "pied" sur la paroi. On peut reconnaître qu'ils proviennet de l'ergastoplasme (fig. 5, pl. XI). Quelquefois, ces piliers sont doubles. Les cellules sont deux futurs hyalocystes. En effet, certains organites cellulaires ont déjà disparu et d'autres se trouvent liés entre eux par l'intermédiaire du plasmalemme et de l'ergastoplasme. On assiste peut-être à la genèse d'une ou de deux fibrilles pariétales spiralées. Ce problème sera repris plus loin, avec l'étude du contenu cellulaire.

PLANCHE X : La paroi

Sphagnum centrale Jens.

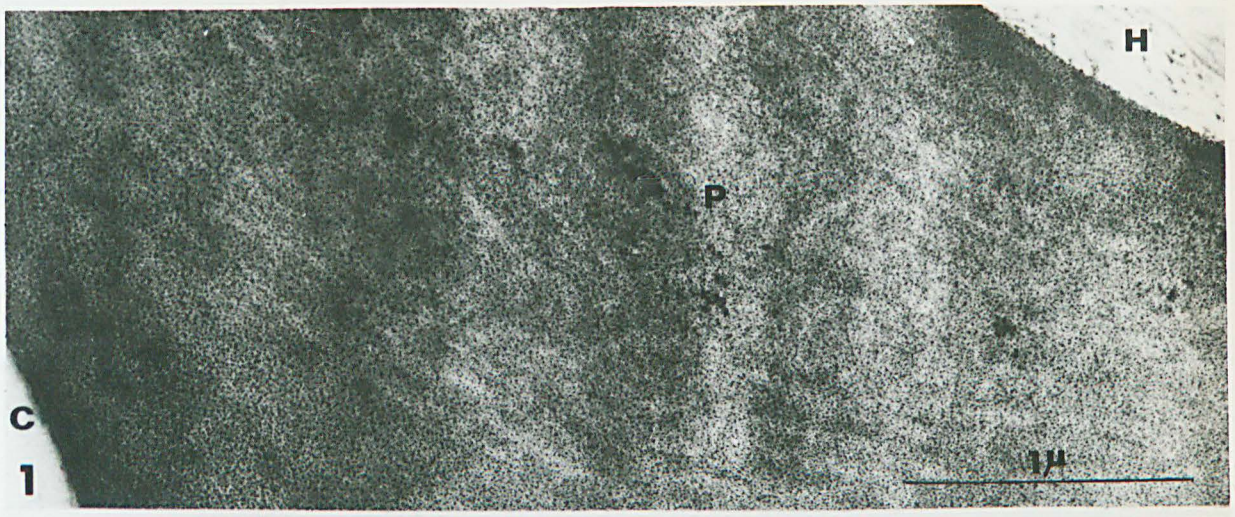
Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion ; épon - araldite.

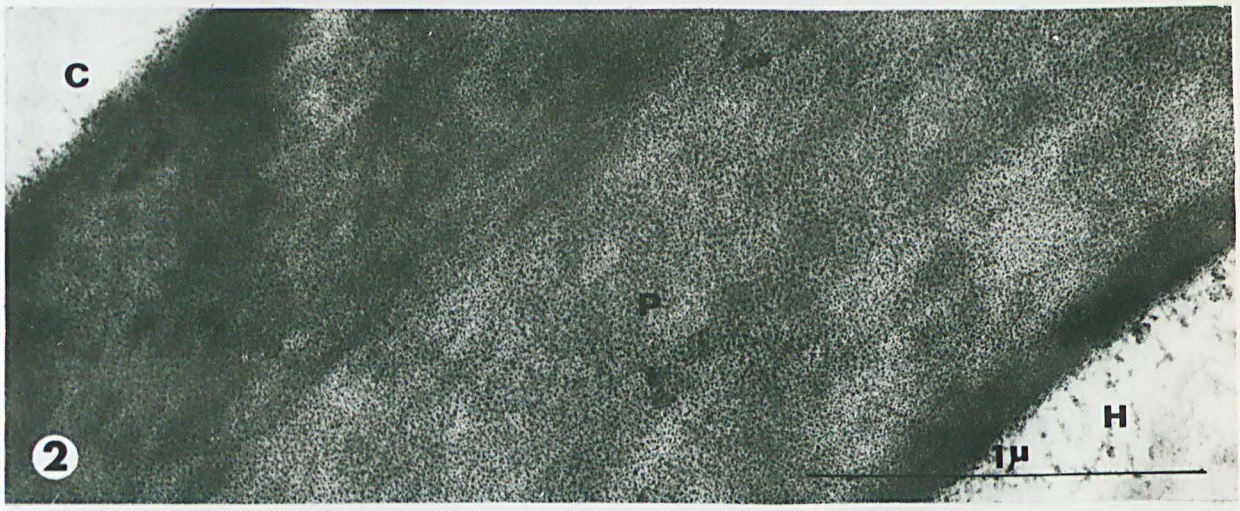
Fig. 1. - Paroi granuleuse (P) séparant un hyalocyste (H) et un chlorocyste (C). G x 40 000.

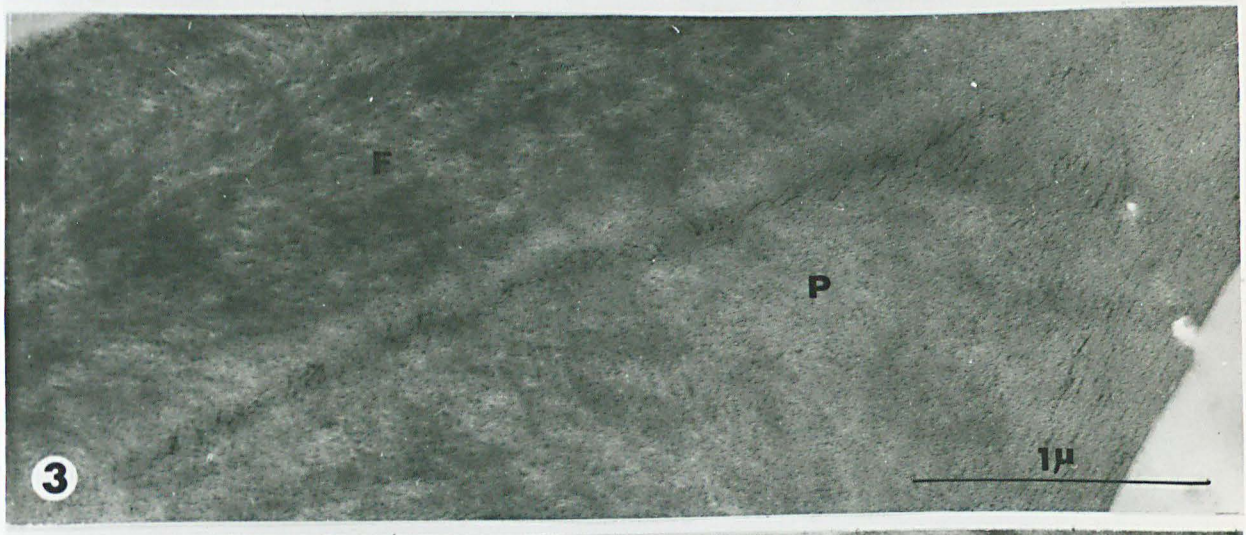
Fig. 2. - Cette paroi (P) a la même structure que celle décrite précédemment. Une bande étroite plus dense aux électrons est en contact avec un chlorocyste (C) tandis qu'une bande plus large borde un hyalocyste (H). G x 54 000.

Fig. 3. - Paroi (P) à structure granuleuse et stratifiée. Les fibrilles (F) sont très serrées et bifurquées. G x 40 000.

Fig. 4. - La paroi (P) est ici entièrement fibrilleuse, ce qui lui donne un aspect homogène. G x 25 000.


H
P
C
1
1μ


C
P
H
2
1μ


F
P
3
1μ

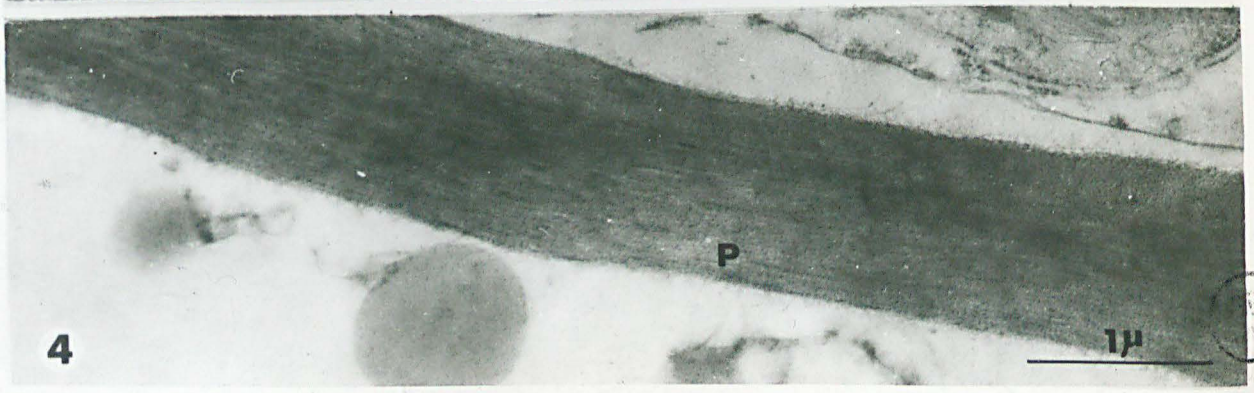

P
4
1μ

PLANCHE XI : La paroi

Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : mélange de SPURR.

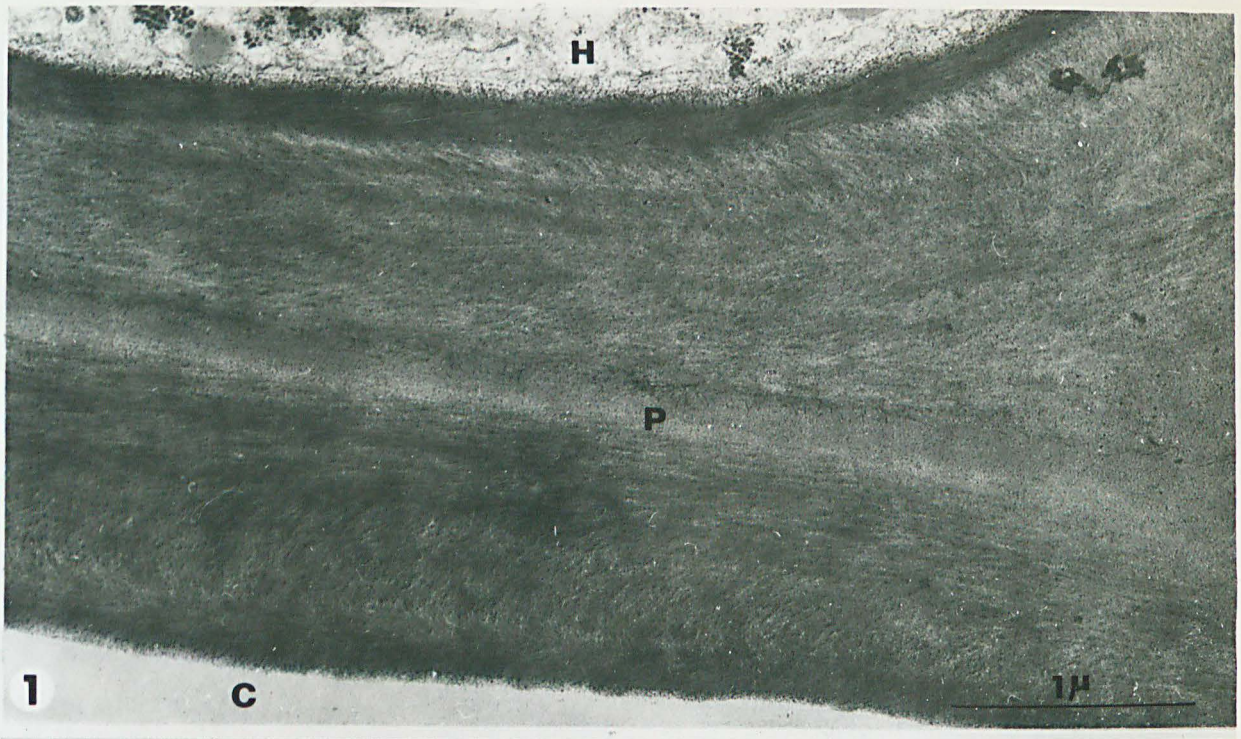
Fig. 1. - S. palustre. Paroi fibrillée (P) avec zones claires et zones denses. On retrouve comme chez S. centrale la bande étroite en contact avec un chlorocyste (C). G x 24 000.

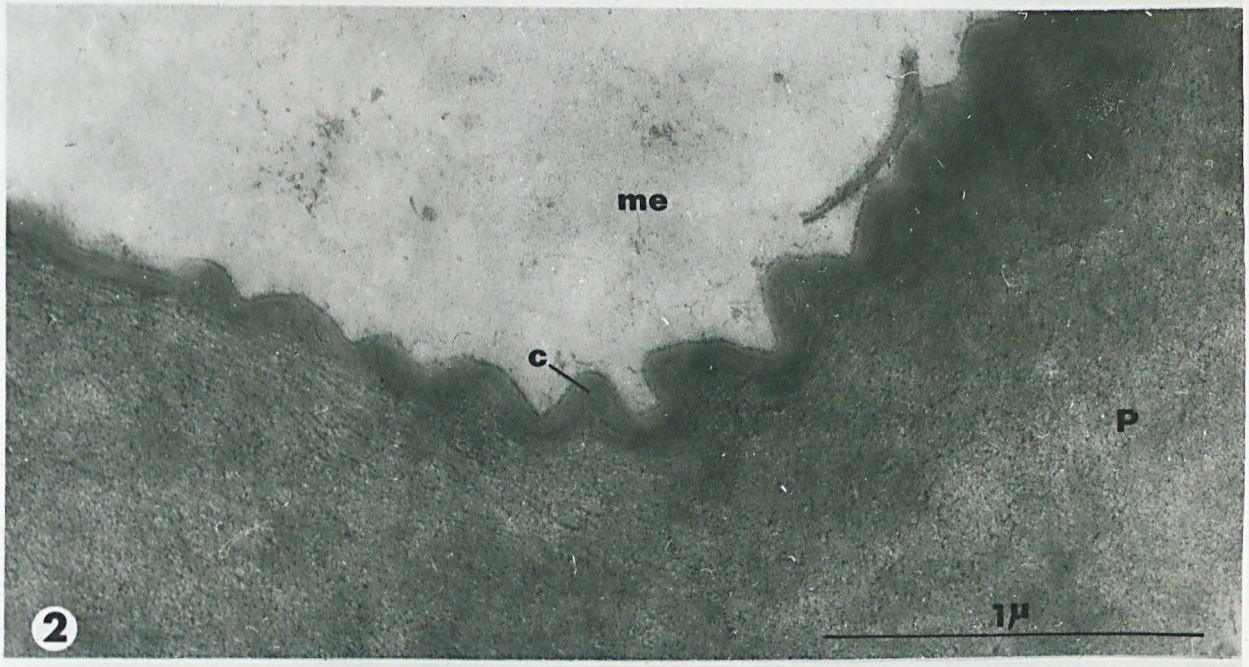
Fig. 2. - S. palustre. Paroi (P) à structure fibrillée, en contact direct avec le milieu extérieur (me). Dans ce cas la cuticule (c) est présente. G x 52 000.

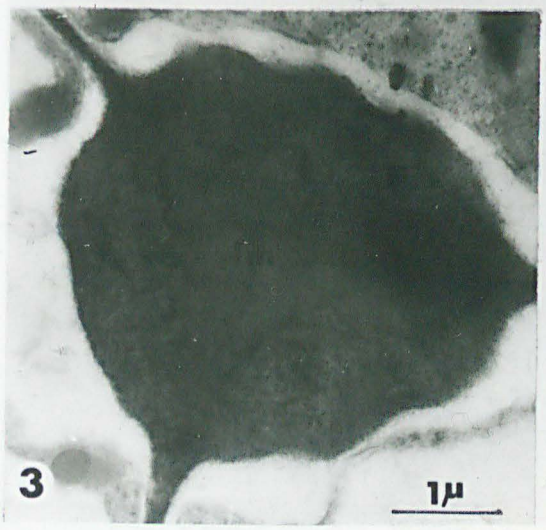
Fig. 3. - S. palustre. Jonction entre trois cellules. Epaississement important de la lamelle mitoyenne (lm) dont le réseau est très serré. G x 14 000.

Fig. 4. - S. centrale. Piliers (p) accrochés à la paroi (P). Les deux cellules sont de futurs hyalocystes et on assiste peut-être à la genèse d'une ou de deux fibrilles pariétales hélicoïdales. G x 32 000.

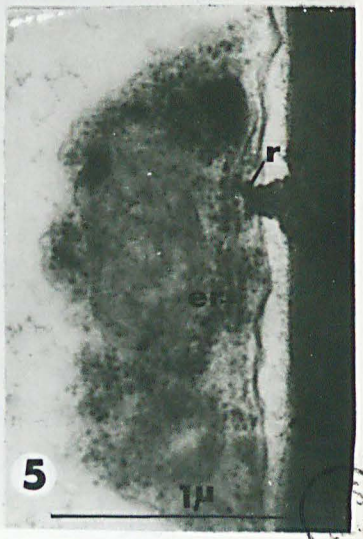
Fig. 5. - S. centrale. La nature du pilier est ribosomique. En effet, les ribosomes (r) provenant de l'ergastoplasme (er) se sont accumulés à cet endroit. G x 40 000.


H
P
1
C
1μ


me
c
P
2
1μ


3
1μ

p
4
1μ


r
5
1μ

II.Le cytoplasme

Le microscope électronique montre que le cytoplasme des cellules indifférenciées des ébauches foliaires renferme des ultrastructures caractéristiques de cellules méristématiques. La plupart représentent des membranes plasmiques, mais les ribosomes sont nombreux dans le hyaloplasme. Ce cytoplasme occupe l'espace délimité par deux systèmes membranaires : le plasmalemme plaqué contre la paroi et le tonoplaste entourant les vacuoles.

Le plasmalemme

Le plasmalemme est toujours accolé à la face interne de la paroi et présente les caractéristiques d'une "unit membrane" (=membrane unitaire). Cette dernière est nettement visible lorsque les coupes sont traitées au DAB (3-3'chlorhydrate de diaminobenzidine) (fig. 1,pl. XII). Par contre, si elles ne subissent aucun traitement de mise en évidence enzymologique, la structure du plasmalemme est moins typique (fig. 2, pl. XII).

La paroi primaire, callosique puis cellulosique, s'épaissit en certains endroits. Dans ces espaces, on peut observer de petites vésicules (fig. 3, pl. XII) et même des corps multilamellaires (fig. 4, pl. XII), Bien que leur origine soit vraisemblablement cytoplasmique aucune micrographie ne permet de l'affirmer avec certitude.

Les plastes

Les hyalocystes avant leur différenciation renferment un nombre généralement indéterminé de chloroplastes plus ou moins cylindriques (fig. 1, pl. XIII) et dont la forme varie d'ailleurs suivant l'angle de section. Ils sont de taille relativement petite. Les chlorocystes, par contre, possèdent de très gros chloroplastes (fig. 3, pl. XIII). Dans les deux types cellulaires, les chloroplastes sont limités par une membrane plastidale à structure en double feuillet qui, dans certains cas, est nettement individualisée.Dans d'autres, lorsque la régression du plaste est plus accentuée, elle a partiellement disparu.

On observe à l'intérieur du chloroplaste un grand nombre de membranes lamellaires formant de nombreux saccules aplatis : les thylacoïdes. Sur la fig. 2, pl. XIII, on en compte jusqu'à 38. Ces saccules renferment un espace clair qui se trouve donc séparé de la substance fondamentale du plaste ou stroma. En certains endroits, ces lamelles réalisent des empilements très serrés ou disques granaires

PLANCHE XII : Le plasmalemme

Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb.

Fig. 1. - S. palustre. Le plasmalemme (pl), plaqué contre la paroi (P), possède sur cette micrographie toutes les caractéristiques d'une membrane unitaire. Inclusion : mélange de SPURR ; coupe traitée au DAB pour la mise en évidence des peroxydases. G x 54 000.

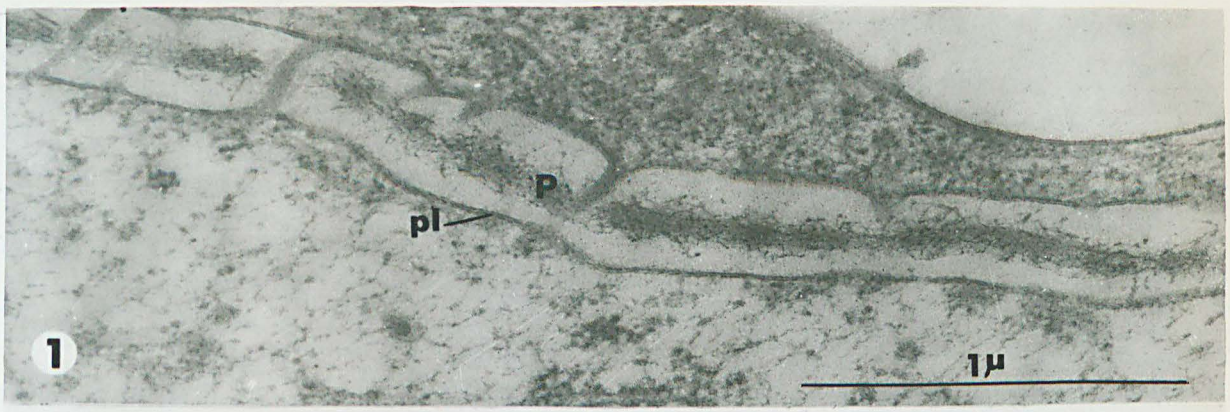
Fig. 2. - S. centrale. Le plasmalemme (pl) ne possède pas ici les caractéristiques nettes d'une membrane unitaire. Inclusion : épon - araldite . G x 28 000.

Fig. 3. - S. palustre. Dans l'espace hyalin (e) entre la paroi (P) et le plasmalemme (pl), on rencontre souvent des vésicules (v) à double membrane. Inclusion : mélange de SPURR . G x 26 000.

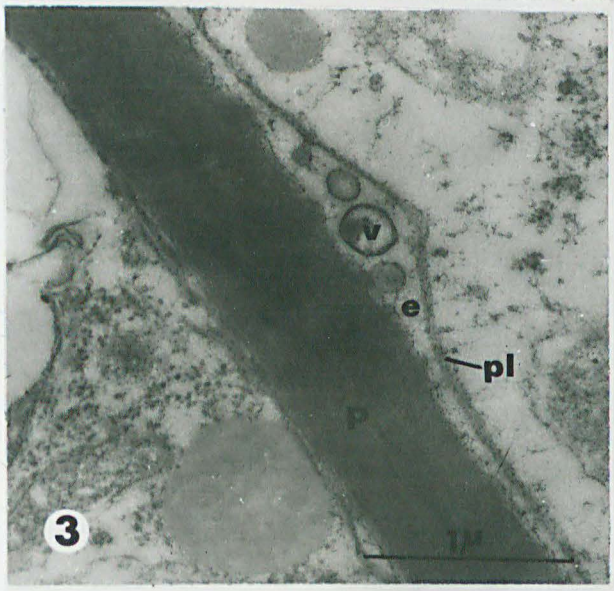
Fig. 4. - S. palustre. Un corps multilamellaire (cm) est présent entre le plasmalemme (pl) et la paroi (P). Inclusion : mélange de SPURR ; coupe traitée au DAB pour la mise en évidence des peroxydases . G x 46 000.

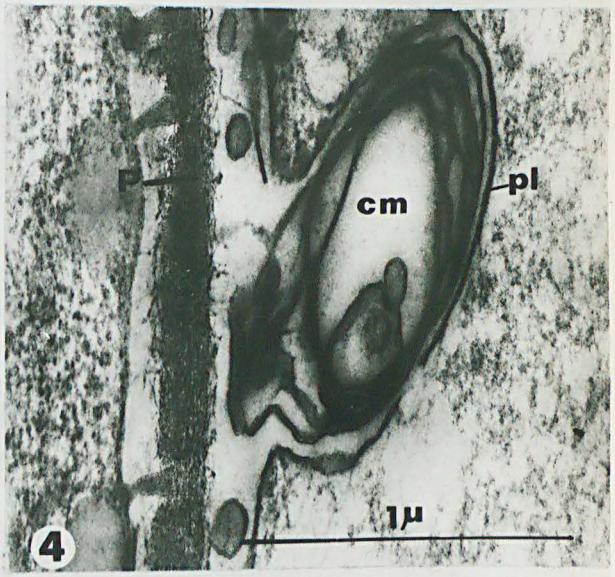
Fig. 5. - S. palustre. Il s'agit peut-être d'un stade intermédiaire de la formation de petites vésicules (v) se disposant entre la paroi (P) et le plasmalemme (pl). Inclusion : mélange de SPURR ; coupe traitée au DAB . G x 28 000.

288


P
pl
1
1µ

pl
2
1µ


v
e
pl
P
3
1µ


P
cm
pl
4
1µ

P
v
pl
5
1µ

PLANCHE XIII : Les plastes

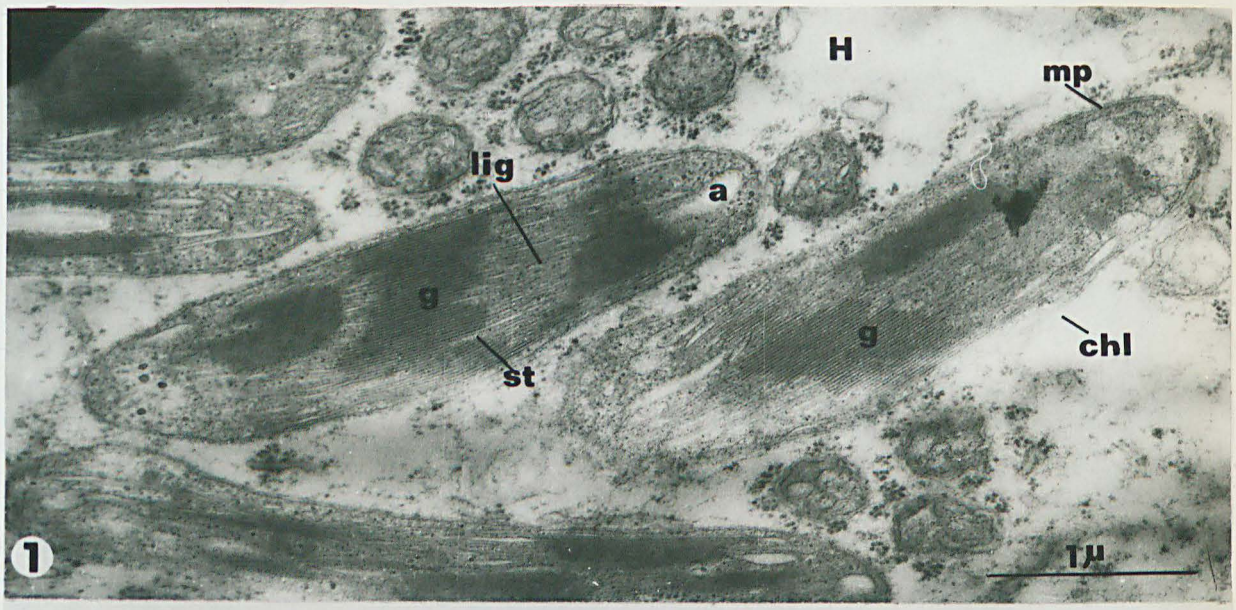
Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : mélange de SPURR.

Fig. 1. - S. centrale. Chloroplaste (chl) lenticulaire dans un hyalocyste (H). La membrane plastidale (mp) entoure les granums (g), le stroma (st), les lamelles intergranaires (lig) et les grains d'amidon (a). G x 29 000.

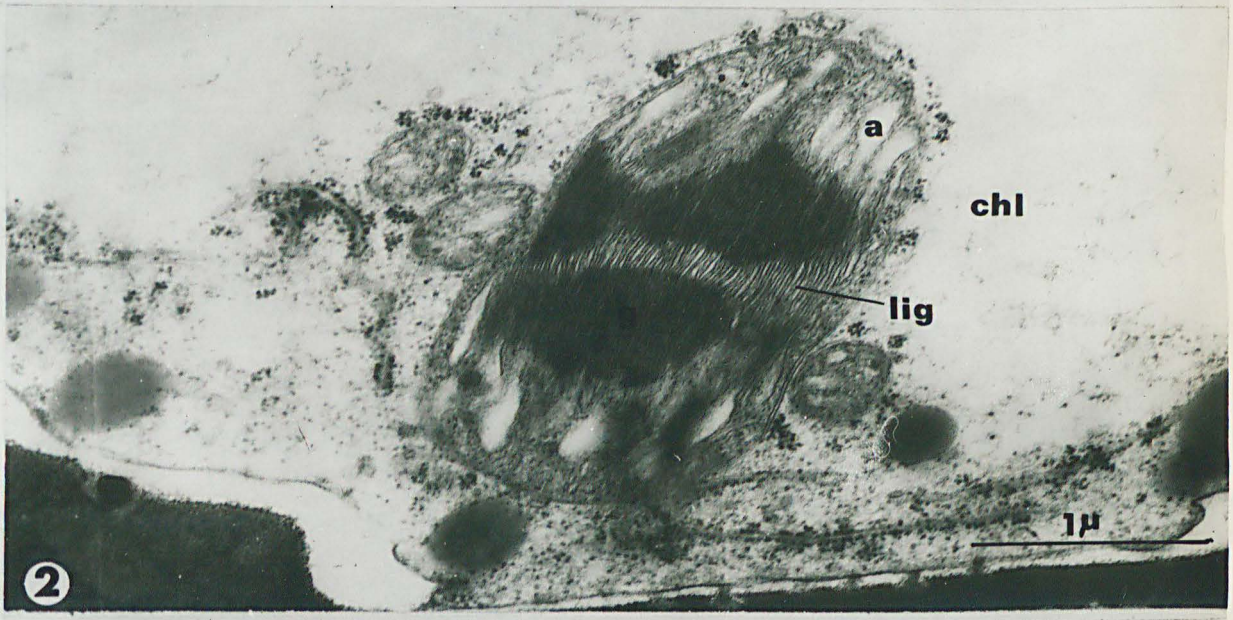
Fig. 2. - S. centrale. On trouve également dans les futurs hyalocystes des chloroplastes (chl) ovoïdes. La structure interne est identique. G x 33 000.

Fig. 3. - S. palustre. Gros chloroplaste dans un chlorocyste (C). Les thylacoïdes y sont très nombreux. L'ensemble est assez dense aux électrons car le matériel a été traité au DAB. A la périphérie du plaste sont disposés de petits grains d'amidon abondants (a). Des plastoglobules (plg) sont visibles dans le stroma. G x 65 000.

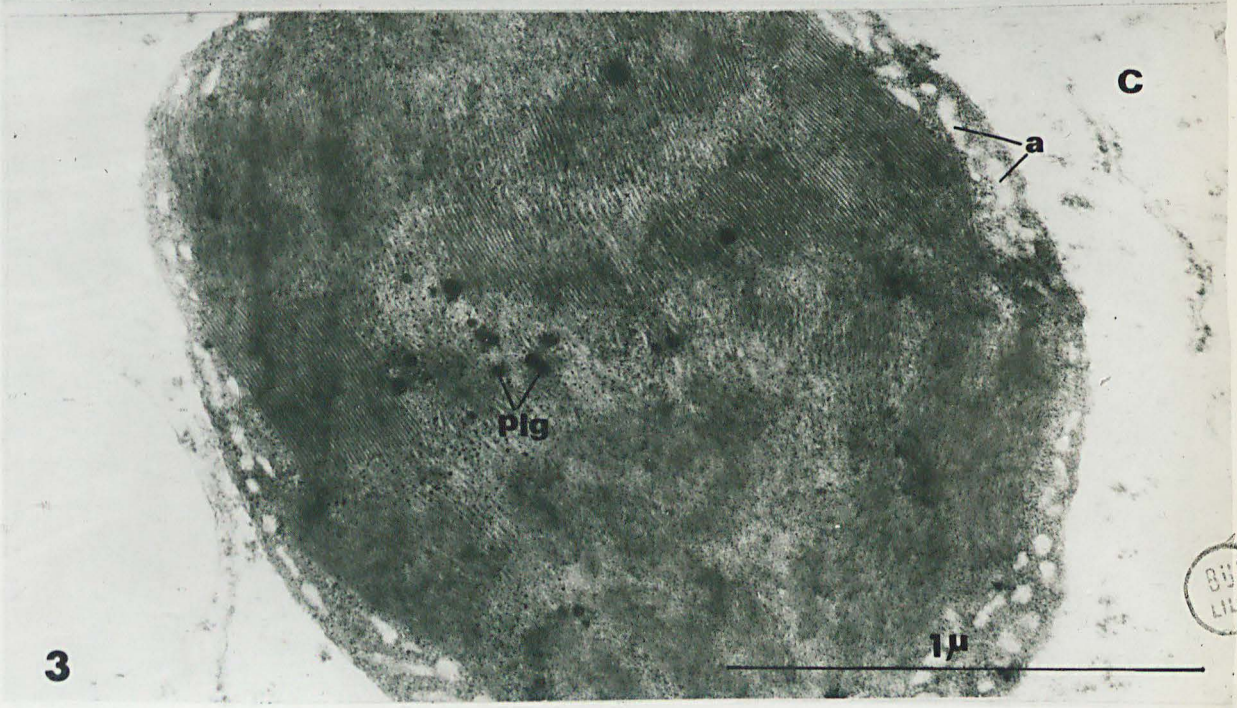
PLANCHE XIII : *CHLOROPLASTES*



1



2



3

BUS LILLE

qui forment les granums. Entre ceux-ci subsistent des lamelles intergranaires. Ces dernières peuvent même exister à l'état isolé dans le stroma.

Dans notre matériel , les chloroplastes élaborent tous de l'amidon qui se présente sous la forme d'enclaves d'aspect vacuolaire, mais sans membrane limitante.

L'appareil de Golgi

L'appareil de Golgi est représenté par un nombre réduit de dictyosomes, chacun de ceux-ci étant constitué par un empilement de saccules incurvés, au nombre de six (fig. 1, pl. XIV) à 10 (fig. 2, pl. XIV). Dans leur voisinage immédiat (fig. 2, pl. XIV), on observe des profils arrondis provenant de leurs marges dilatées en ampoules qui se seraient isolées dans le cytoplasme par un phénomène d'abscission. Celui-ci est encore plus discernable sur la fig. 3, pl. XIV.

Cette ultrastructure si particulière ne permet aucune confusion entre les dictyosomes et les autres constituants cellulaires.

Les mitochondries (le chondriome)

Dans notre matériel, les mitochondries sont généralement de forme globuleuse (fig. 4, pl. XIV), mais on observe parfois des figures insolites très allongées (fig. 5, pl. XIV) dont la forme correspond à celle des chondriocontes des anciens cytologistes. Elles sont limitées par une double membrane à feuillets denses aux électrons enserrant un feuillet clair. Le feuillet interne émet en direction de la substance fondamentale des invaginations se terminant par de grosses "vésicules ampoulées" (VIVIER, 136, 1966). Elles sont très nombreuses et de diamètre inégal. Entre ces vésicules on peut distinguer, dans la matrice mitochondriale, des granules ressemblant aux ribosomes du cytoplasme. D'une manière générale, les mitochondries se répartissent surtout au voisinage des chloroplastes.

Les corps multivésiculaires

Il est fréquent d'observer un type d'organites particuliers se présentant comme des groupes de petites vésicules sphériques, allongées ou en forme de V, entourés d'une membrane double (fig. 1, pl. XV). A l'intérieur, les vésicules baignent dans une substance fondamentale ne paraissant pas différente du hyaloplasme. Ces corps multivésiculaires, libres dans le cytoplasme, ont un diamètre

PLANCHE XIV : Les dictyosomes et les mitochondries

Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : mélange de SPURR.

Fig. 1. - S. centrale. Dictyosome (D) constitué par un empilement de 6 saccules golgiens (sg). G x 28 000.

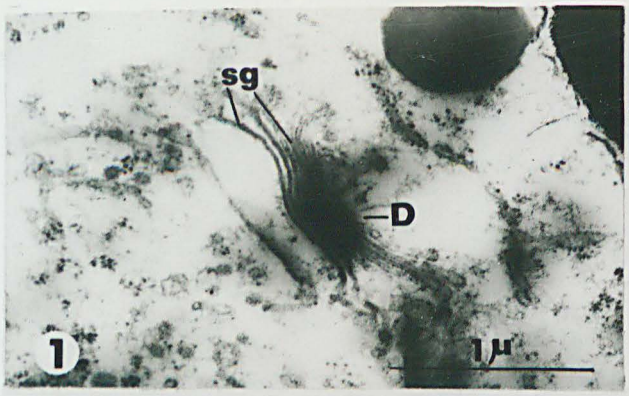
Fig. 2. - S. centrale. Dictyosome émettant de nombreuses vésicules golgiennes (vg) dans le cytoplasme. G x 23 000.

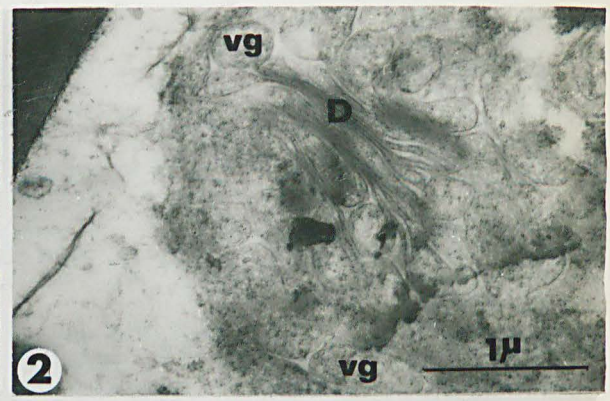
Fig. 3. - S. palustre. Emission de vésicules golgiennes (vg) profuses, peuplant densément le cytoplasme (c). G x 48 000.

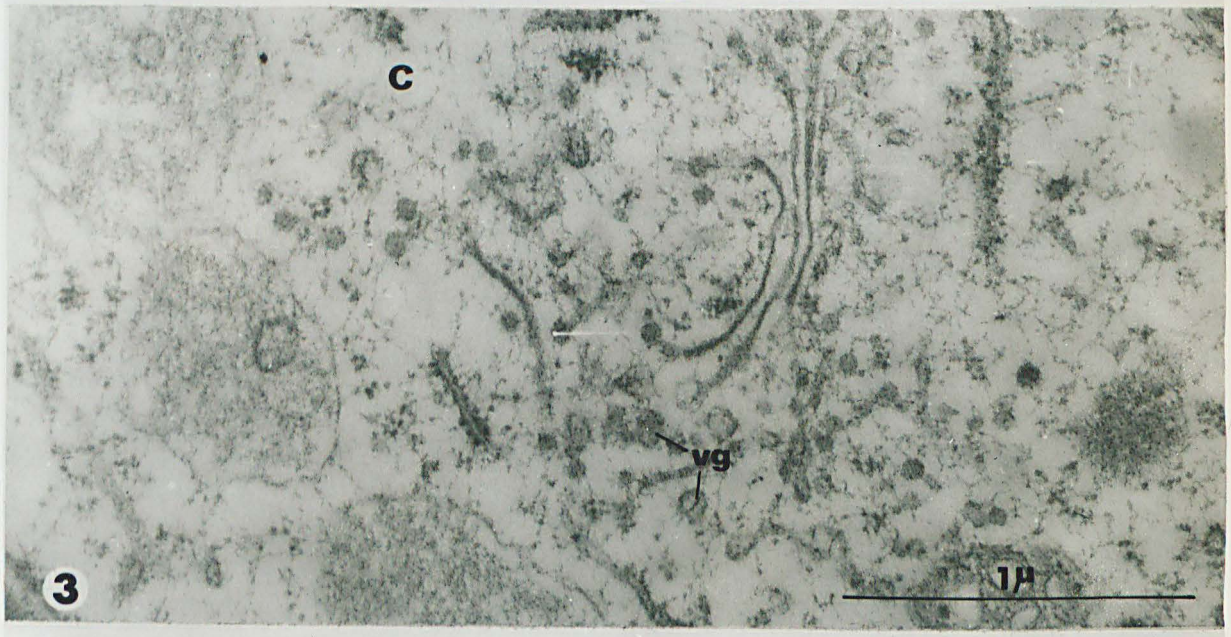
Fig. 4. - S. palustre. Mitochondrie globuleuse (M), à grosses et très nombreuses vésicules ampoulées (va). G x 30 000.

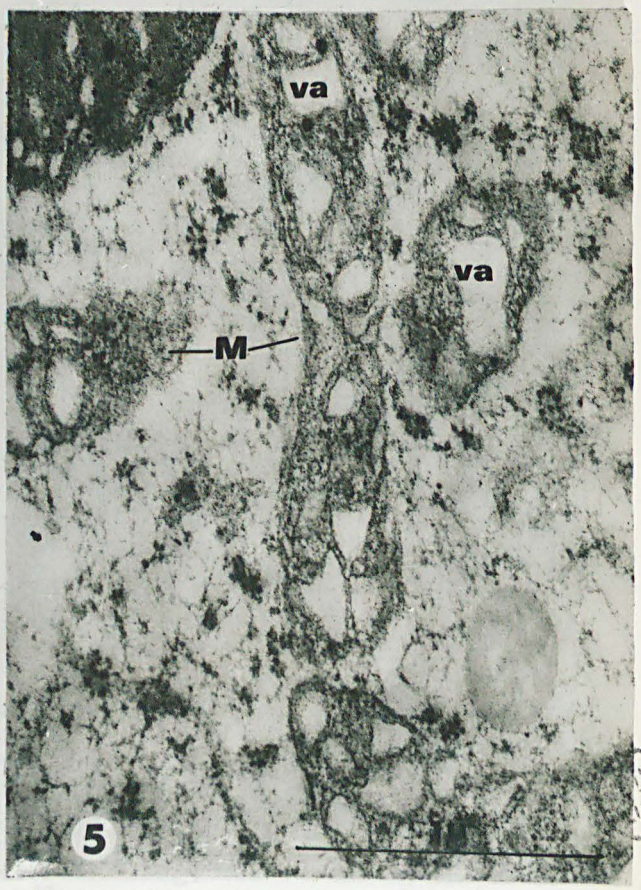
Fig. 5. - S. palustre. Chez la même espèce on trouve des mitochondries (M) allongées, à vésicules ampoulées encore plus grosses. G x 41 000.

PLANCHE XIV : *APPAREIL DE GOLGI. MITOCHONDRIES*









total pouvant atteindre un micromètre.

Les corps multilamellaires

Des éléments lamellaires, associés en sphères concentriques, constituent des figures remarquables imprimant à la cellule un caractère très original. Il s'agit de corpuscules formés de lamelles emboîtées, plus ou moins régulières, centrées autour d'une vésicule pourvue d'un contenu dense avec diverses inclusions (fig. 2 et 3, pl. XV). On peut compter jusqu'à 20 lamelles, chacune comportant un double feuillet (fig. 4, pl. XV). Un telle micrographie correspond aux "structures myéliniques" souvent décrites. On peut en observer une ou plusieurs par cellule, souvent deux.

Les lomasomes

Chez les organismes inférieurs, l'existence de vésicules associées au plasmalemme a été signalée pour la première fois dans les hyphes de Polystictus versicolor (GIRBARDT, 61, 1958 et 62, 1961), Ces mêmes structures ont été appelées lomasomes par MOORE et McCALEAR (102, 1961), qui les ont considérées comme étant caractéristiques des Champignons, mais elles ont été signalées plus tard chez les Algues par différents auteurs et chez les Mousses par BONNOT (19, 1968). MANOCHA et SHAW (93, 1964) les observent pour la première fois dans les plantes supérieures (Triticum dicoccum var. "Khaphi").

Dans notre matériel sphagnologique, les lomasomes semblent correspondre à des invaginations de la membrane plasmique et sont situés entre cette dernière et la paroi. Ils sont constitués par un ensemble d'éléments arrondis, remplis de matériel homogène, assez dense aux électrons, et par de petits fragments de réticulum endoplasmique (fig. 5, pl. XV).

Le réticulum endoplasmique , l'ergastoplame et les ribosomes

Peu fréquemment, on peut observer dans notre matériel des cytomembranes composées de deux feuillets denses aux électrons séparant un espace hyalin. Les surfaces des feuillets sont entièrement nues : c'est le réticulum endoplasmique (fig. 2, pl. XVI).

Le cytoplasme contient également tout un système de membranes sur lesquelles sont fixés des ribosomes (= grains de PALADE). Dans ce cas, ils forment l'ergasto-

PLANCHE XV : Les corps multivésiculaires, les corps multilamellaires et les lomasomes

Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : épon - araldite.

Fig. 1. - S. centrale. Corps multivésiculaire (cmv) situé dans une vacuole (V) et contenant de grosses vésicules sphériques ou tubulaires (v). G x 32 000.

Fig. 2. - S. centrale. Corps multilamellaire (cml) irrégulier avec vésicules à contenu dense. G x 36 000.

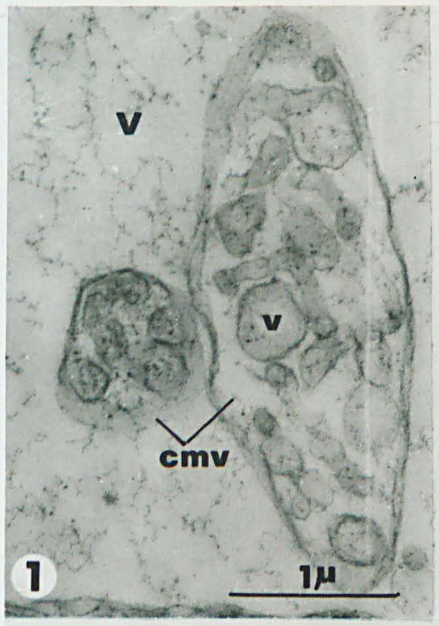
Fig. 3. - S. centrale. Les lamelles (l) sont devenues concentriques et renferment de nombreux ribosomes. G x 36 000.

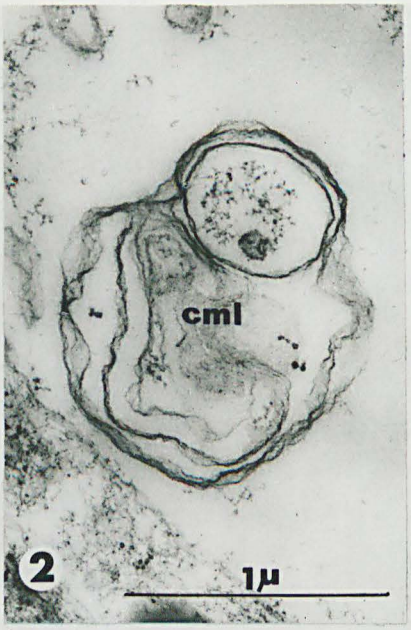
Fig. 4. - S. centrale. Corps multilamellaires (cml) à structure myélinique. On compte très nettement 20 feuillets. G x 48 000.

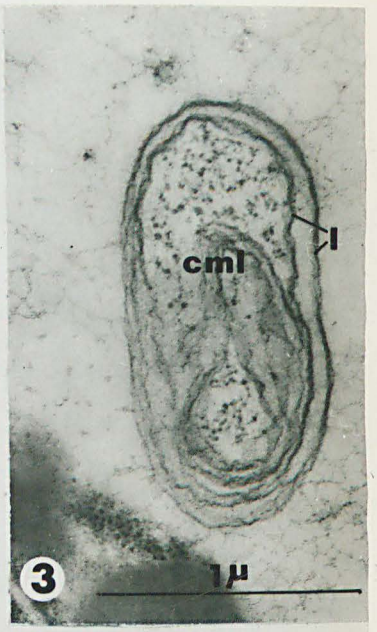
Fig. 5. - S. palustre. Lomasome (L) situé entre la paroi (P) et le plasmalemme (pl). Noter les nombreuses vésicules (v) qui constituent le lomasome. G x 67 000.

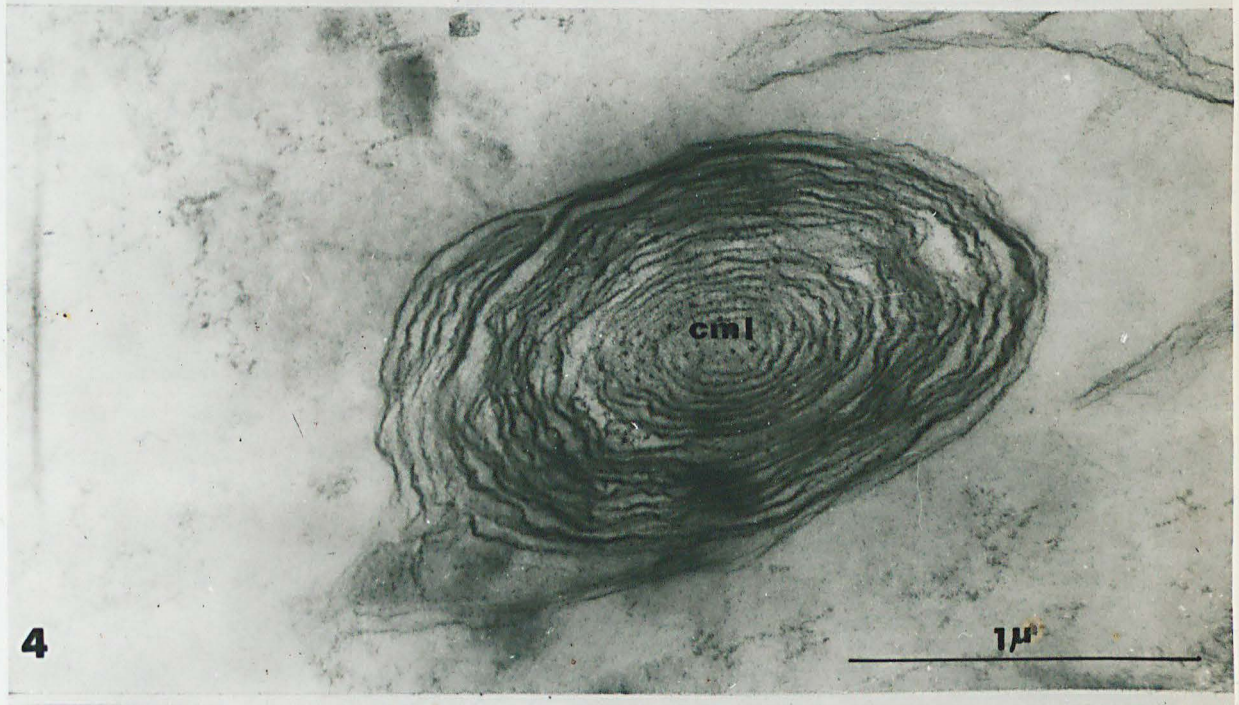
238

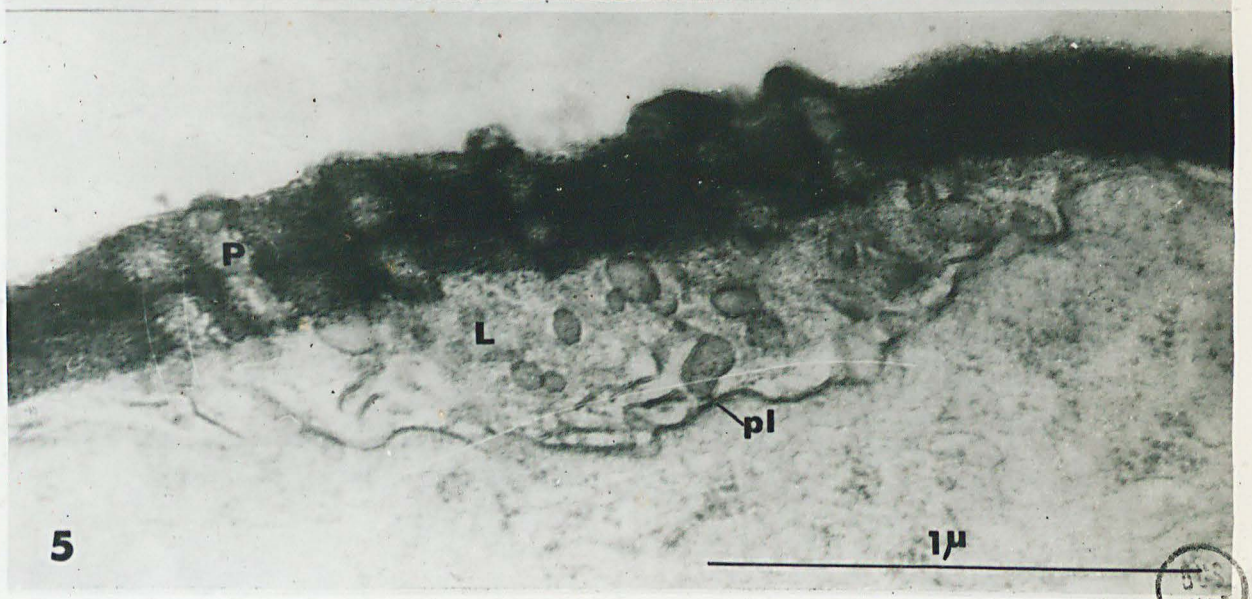
PLANCHE XV : *CORPS MULTIVESICULAIRES. CORPS MULTILAMELLAIRES. LOMASOMES.*











plasme (fig. 1, pl. XVI). PALADE et SIEKEVITZ ont démontré que ce sont des granules de ribonucléoprotéines que l'on peut tenir pour responsables de la basophilie du cytoplasme.

On rencontre également des ribosomes très nombreux et dispersés dans le cytoplasme. Ils peuvent être groupés en petits ilôts arrondis (fig. 2, pl. XVI) : les polyribosomes.

Les corpuscules gris

Dans toutes les cellules, nous avons observé des corpuscules remarquables par leur osmiophilie moyenne et leur aspect plus ou moins proche de celui des gouttelettes lipidiques. Par suite de leur morphologie et de cette densité assez forte aux électrons qui leur confère une "demi-teinte" sur les micrographies électroniques, nous proposons de les appeler les "corpuscules gris".

Ils ont une forme régulière, sphérique, et leur principale caractéristique est leur localisation en bordure interne du plasmalemme (fig. 3, pl. XVI). On n'en rencontre jamais à l'état dispersé dans le cytoplasme. On en compte une dizaine en moyenne par coupe. Leur caractéristique la plus remarquable, selon nous, consiste en leur localisation préférentiellement au niveau d'amincissements de la paroi (fig. 1 et 2, pl. XXIV).

Sur certaines d'entre elles, on a pu en observer jusqu'à 25. Chez les cellules jeunes, leur taille varie de 0,25 à 0,75 micromètre . Chez les cellules en dégénérescence, les corpuscules gris s'hypertrophient considérablement.

Ils ont généralement une structure homogène sur toute leur surface. Certains ont un centre osmiophile séparé du cytoplasme par une zone mince moins dense. Souvent, ils se montrent associés à des fragments d'ergastoplasme (fig. 5, pl. XVI).

Sphagnum palustre et S. centrale possèdent toutes deux des corpuscules gris ayant un aspect identique chez les deux espèces.

Le système vacuolaire (=vacuome)

Il constitue essentiellement le lieu d'accumulation des produits paraplasmiques élaborés par la cellule. Contenant toutes ces substances, la vacuole est intimement liée à l'état vivant par l'intermédiaire de la membrane à simple feuillet qui la sépare du cytoplasme : le tonoplaste. Dans ces vacuoles, il exist

PLANCHE XVI : Les ribosomes, l'ergastoplasme et les corpuscules gris

Sphagnum centrale Jens.

Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : mélange de SPURR.

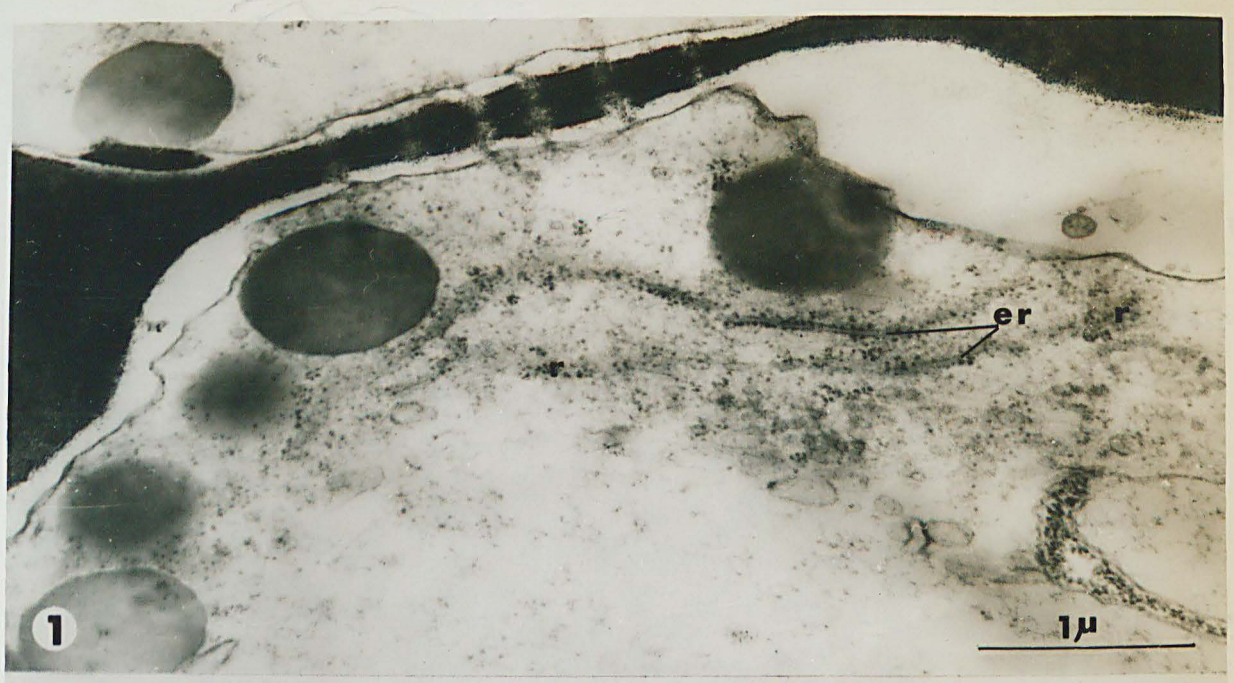
Fig. 1. - Le réticulum endoplasmique est ici associé à de nombreux ribosomes (r) formant l'ergastoplasme (er). G x 30 000.

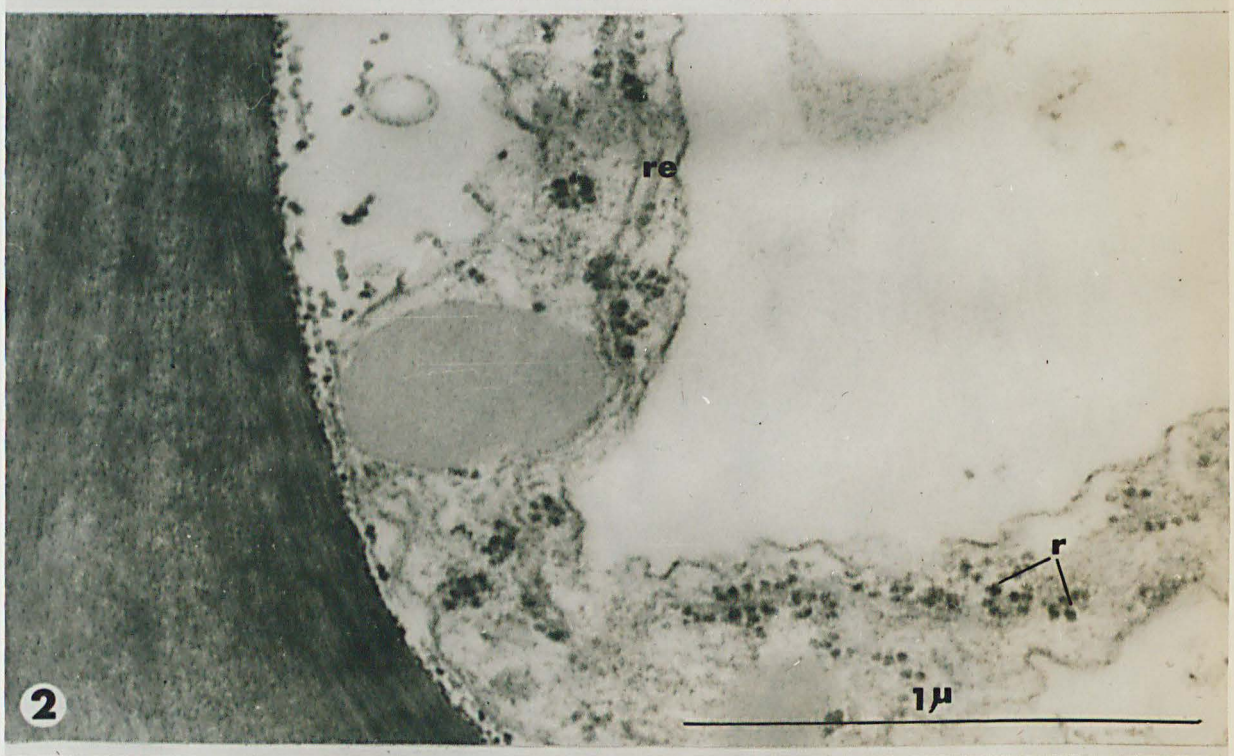
Fig. 2. - Les ribosomes (r) sont très abondants dans la cellules et sont situés dans le cytoplasme pariétal. On observe également un fragment de réticulum endoplasmique (re). G x 72 000.

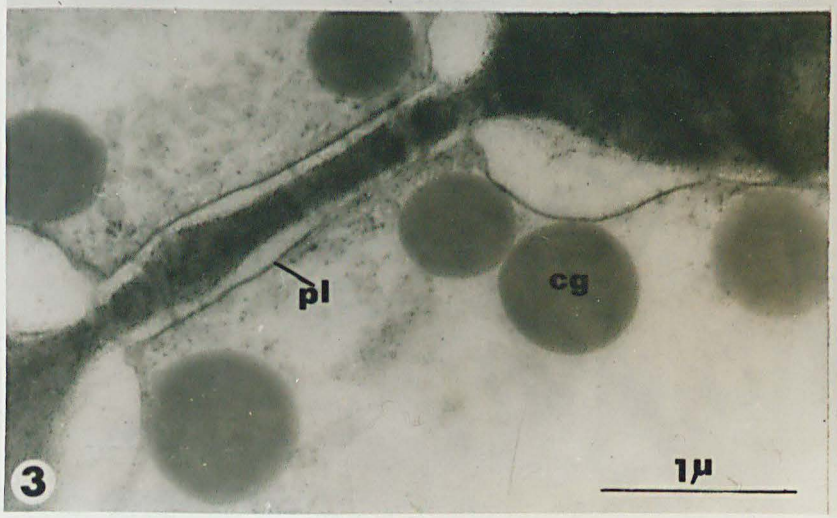
Fig. 3. - Les corpuscules gris (cg), denses aux électrons, sont toujours situés contre le plasmalemme (pl). G x 25 000.

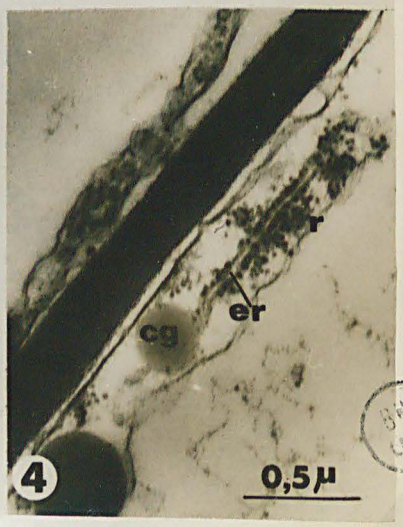
Fig. 4. - Corpuscules gris (cg) associés à de l'ergastoplasme (er). Les ribosomes (r) sont très nombreux à cet endroit. G x 32 000.

PLANCHE XVI : *RETICULUM ENDOPLASMIQUE. ERGASTOPLASME. RIBOSOMES*









souvent des structures réticulées ou de petites vésicules internes (fig. 1, pl. XVII).

III. Le noyau

L'ultrastructure du noyau ne présente aucune originalité par rapport au noyau des cellules typiques des autres êtres vivants (fig. 2, pl. XVII). La membrane nucléaire est double et les deux feuillets qui la constituent sont très osmiophiles. Cette enveloppe est percée de nombreux pores circulaires (fig. 2, pl. XVII). Le nucléoplasme est finement granuleux et montre des plages de densité différente qui traduisent une constitution hétérogène. Le nucléole présente souvent deux zones (fig. 3, pl. XVII) : l'une centrale claire, granuleuse et de même ultrastructure que le nucléoplasme ; l'autre dense aux électrons et homogène. La limite entre les deux zones est bien distincte. A la périphérie du noyau, on observe des granules qui sont peut-être des fragments de chromosomes, la cellule étant probalement en début de prophase.

Dans les cellules méristématiques, le noyau est globuleux et occupe le centre de la cellule. Lorsqu'elles se différencient et que leur contenu dégénère, le noyau se trouve repoussé contre la paroi. Il faut noter que le noyau semble particulièrement malléable ; il est souvent déformé par les plastes et les mitochondries situés à proximité immédiate de cet organite.

On observe également, en assez grand nombre, des ribosomes plaqués contre la membrane nucléaire, que l'on peut considérer comme un ergastoplasme spécialisé.

B) Discussion

I. Sur les différents constituants cellulaires

Les structures que nous venons de décrire apportent des faits biologiques nouveaux et donnent une idée plus précise de la morphologie des hyalocystes et des chlorocystes, éléments de l'architecture hétérodictyée du tissu foliaire des Sphaignes. Mais diverses particularités de ces structures posent des problèmes complexes que nous allons tenter de discuter maintenant.

PLANCHE XVII : Les vacuoles, le noyau

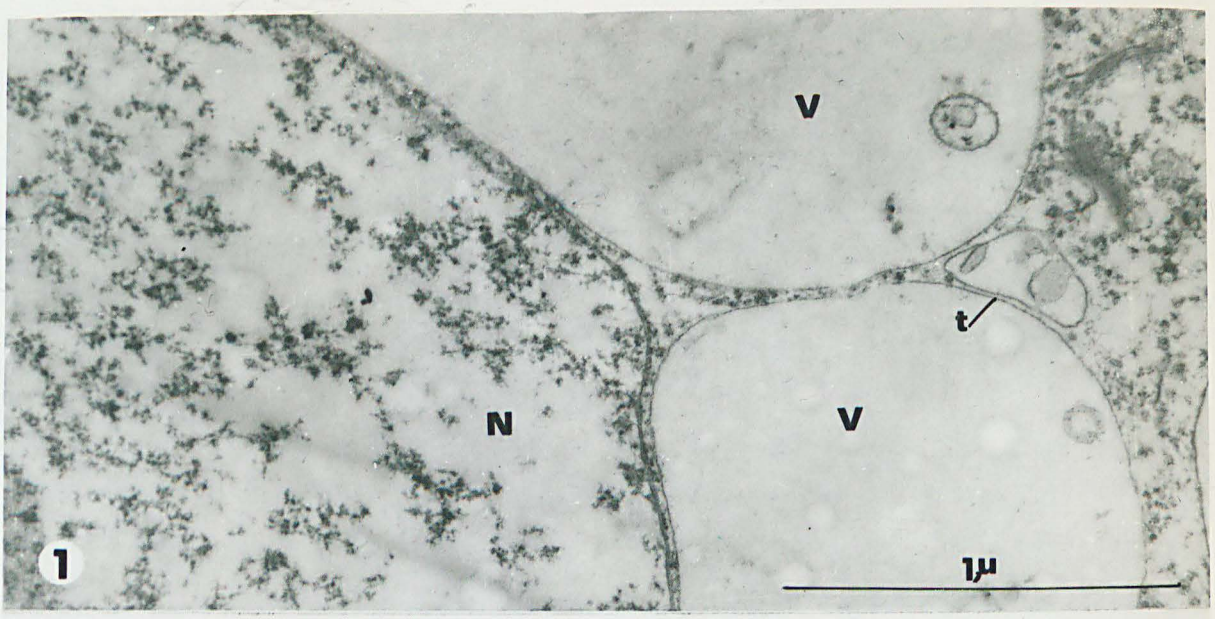
Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : mélange de SPURR.

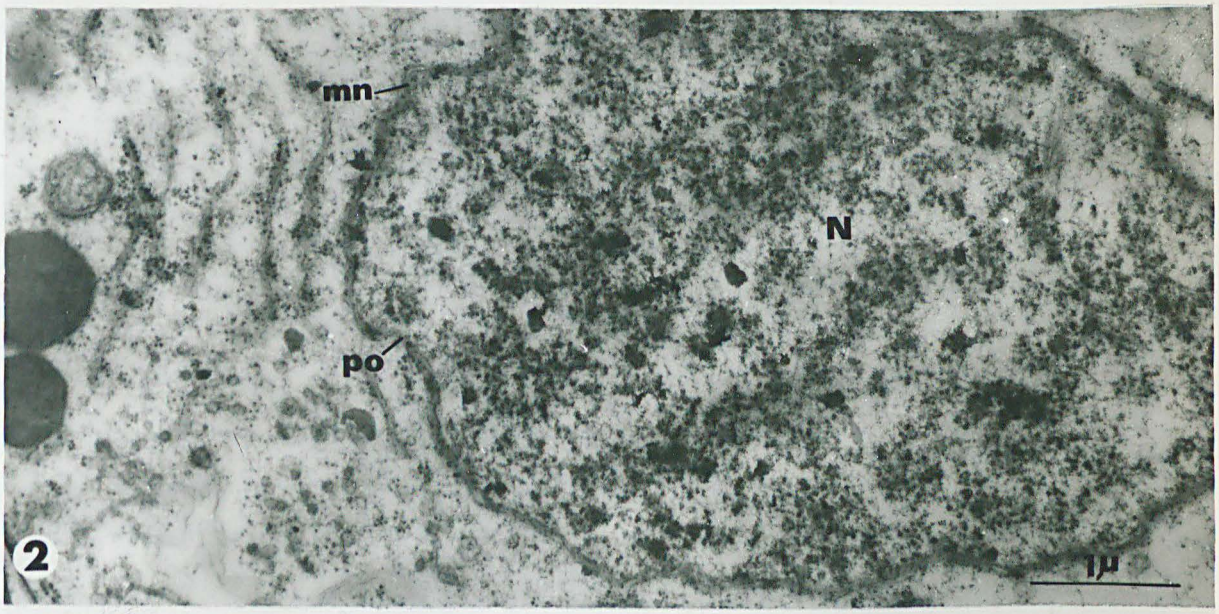
Fig. 1. - S. palustre. De nombreuses vacuoles (V) sont situées autour du noyau (N). Un tonoplaste (t) bien défini délimite les vacuoles. G x 55 000.

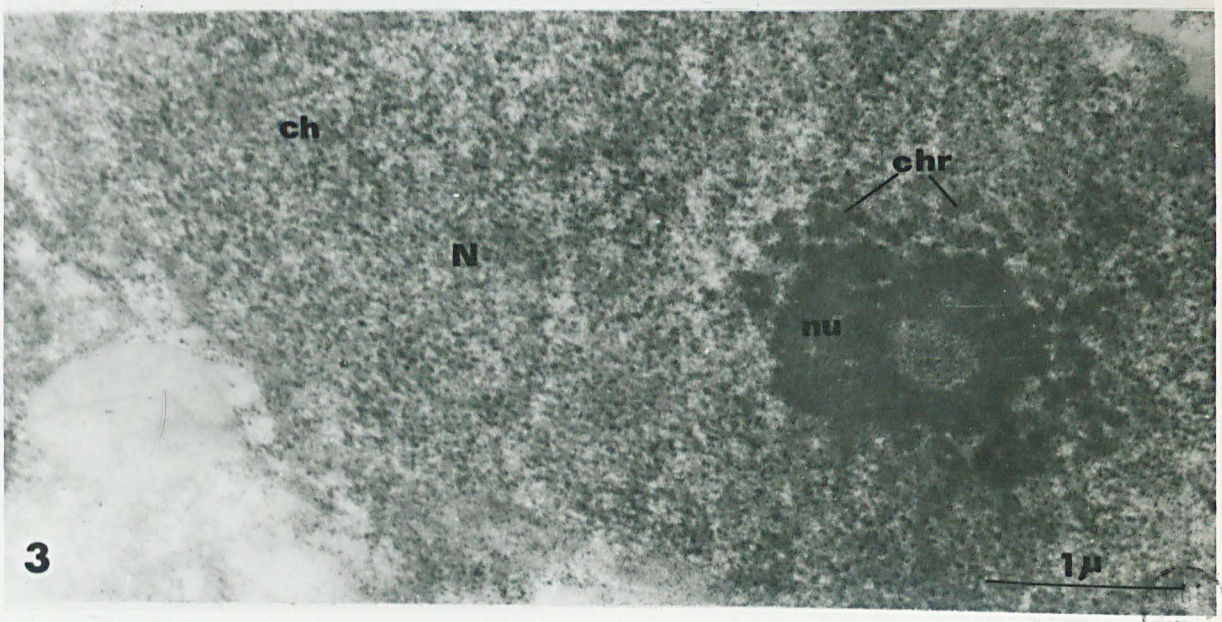
Fig. 2. - S. centrale. Aspect du noyau (N). Il est limité par une membrane nucléaire (mn) interrompue par des pores (po). G x 20 000.

Fig. 3. - S. palustre. Dans le noyau (N) on reconnaît le nucléole (nu) constitué de 2 zones, la chromatine (ch) et les fragments de chromosomes (chr). G x 27 000.

PLANCHE XVII : *VACUOLES. NOYAU.*







La paroi

L'aspect de la paroi de Sphagnum palustre et de S. centrale est très varié. Elle est formée soit de granules, soit de fibrilles parallèles ou non à la membrane plasmique. BERKALOFF (7, 1963), décrivant les parois des cellules méristématiques d'Himanthalia lorea (Phéophytes), montre que celles-ci possèdent également une structure finement fibrillaire.

Chez les Sphaignes, l'épaisseur de la paroi est assez importante, de l'ordre de deux micromètres. Elle apparaît faite d'une couche de substance pectique dense aux électrons et d'une couche de nature cellulosique ou callosique. Quant à la lamelle mitoyenne, elle se distingue de la paroi par sa très forte densité aux électrons, après action des substances contrastantes.

Par comparaison de ces parois de cellules de Bryales étudiées par BONNOT avec celles de notre matériel sphagnologique, aucune différence morphologique n'a pu être mise en évidence. Quant aux piliers révélés par certaines micrographies de S. centrale, on peut penser dès maintenant que ce sont peut-être les points d'attache des futures fibrilles.

Le cytoplasme et ses inclusions

a) Le plasmalemme

Dans notre matériel, le plasmalemme est identique à celui des autres cellules végétale et animales. Il présente donc toutes les caractéristiques d'une membrane unitaire. Cette structure typique est mise en évidence d'une manière encore plus nette si les coupes ont subi un traitement au DAB préalable à la caractérisation des peroxydases (voir plus loin).

b) Les plastes

Toutes les cellules étudiées sont riches en chloroplastes assez semblables les uns aux autres. Ceux-ci sont caractérisés par une forme lenticulaire ou ovoïde, une grande taille qui atteint deux à trois micromètres, et une structure complexe. On retrouve en particulier les saccules plastidaux internes ou thylacoïdes, découverts et nommés par MENKE (97, 1961) chez une Bryophyte du genre Anthoceros.

Les problèmes de contiguïté nucléo-plastidale seront discutés dans l'étude consacrée au noyau. Ce sont des phénomènes qui pourraient jouer un rôle très important dans la vie de la cellule. On peut ainsi penser à certains mécanismes cellulaires dans lesquels ces liaisons structurales interviendraient. BONNOT

(19, 1968) suggère qu'il pourrait y avoir :

- "transmission au plaste d'une information génétique". Parmi les facteurs influençant la différenciation plastidale, on sait que le génome joue un grand rôle ;
- "transport d'un équipement enzymatique dans le chloroplaste" ;
- enfin présence, dans les plastes, d'ARN provenant du noyau, car on a mis en évidence l'existence d'ARN plastidaux, comme d'ARN mitochondriaux.

c) L'appareil de Golgi

L'aspect des dictyosomes dans les cellules des Sphaignes rappelle beaucoup celui des autres végétaux. Il est analogue, d'une manière générale, à celui des corps de Golgi de la cellule animale.

La plupart des cytologistes nièrent pendant longtemps l'existence d'un appareil de Golgi dans les cellules végétales jusqu'à ce que BUVAT (23) en apporte la preuve en 1957.

Peu après les découvertes de BUVAT, HEITZ (70, 1958) décrit les dictyosomes de cinq Bryales auxquelles s'ajoutent une Sphaigne, six Hépatiques et une Fougère. Dans tous les cas, ils sont formés par l'empilement de saccules golgiens aplatis.

Le nombre varie, chez Sphagnum centrale, de 5 à 11 saccules golgiens par dictyosomes. Ceux-ci ne sont pas limités par une membrane : le cytoplasme peut donc pénétrer entre les saccules. Les dictyosomes, chez les Mousses, ne sont pas rassemblés autour du noyau (BONNOT). Il en est de même chez les Sphaignes. Ils sont répartis plutôt à la périphérie des cellules des ébauches foliaires. Ils ont une activité très grande qui se manifeste par l'émission de vésicules golgiennes que l'on retrouve très nombreuses dans le cytoplasme.

d) Les mitochondries

La description faite dans la première partie de ce chapitre s'applique à des mitochondries développées, mais elle ne donne aucun renseignement sur leur origine. De plus, l'abondance de leurs vésicules internes prouve que les cellules sont très actives. En effet, les mitochondries sont le siège de nombreuses activités. Leurs énormes "vésicules ampoulées" contiendraient des traces d'ADN. Cette hypothèse a été démontrée par NASS et AFZELIUS en 1965.

Des coupes ultra-minces de chondriosomes d'animaux montrent :

- deux feuillets séparés par un espace clair ;
- une substance homogène ou "matrix" ;
- un système de crêtes provenant des replis du feuillet interne et qui s'insinue dans la matrix.

Chez les végétaux, la structure interne des chondriosomes est peu différente de celle des mitochondries animales. Il arrive plus fréquemment que les crêtes soient remplacées par des tubules ou de grosses vésicules, comme dans notre matériel. Mais il se peut aussi que l'on observe des mitochondries à grosses vésicules chez les animaux. C'est le cas des Protozoaires. La structure interne des mitochondries chez les Sphaignes se rapproche de celle des Protozoaires. BONNOT (19, 1968) avait déjà mis en évidence cette ressemblance des mitochondries des Bryales avec les mêmes organites chez les Protozoaires.

e) Les corps multivésiculaires

Par leur morphologie, ces corpuscules offrent quelque ressemblance avec des mitochondries à tubules. En effet, leur membrane est double et les vésicules qu'ils contiennent sont de forme très variable, comme les tubules mitochondriaux. Mais ils s'en distinguent car ces derniers sont çà et là en continuité avec le feuillet interne de la membrane mitochondriale. Dans les corps multivésiculaires, les vésicules sont libres et dispersées dans la substance matricielle du corpuscule.

Les corps multivésiculaires sont connus dans les cellules animales. HERLANT (71, 1964) en observe dans les cellules hypophysaires de Taupe. Chez les végétaux, MOLLENHAUER et coll. (100, 1961) montrent que dans les cellules de la coiffe de Zea mays, après la phase d'hypersécrétion, des corps multivésiculaires sont visibles près de la paroi. Dans une étude sur les poils mucigènes, BONNOT (13, 1966) suggère qu'ils pourraient prendre naissance aux dépens de l'appareil de Golgi. "Un système membranaire, apparemment issu d'un ou plusieurs saccules golgiens, englobe des vésicules d'origine golgienne également et pourrait ainsi réaliser la genèse d'un corps multivésiculaire".

CHARDARD (31, 1966) observe, chez Cosmarium, dans la concavité des saccules golgiens, des corps multivésiculaires. D'après cet auteur, il est vraisemblable que ces corps multivésiculaires proviennent d'amas de microvésicules golgiennes qui s'entourent d'une membrane.

Chez Sphagnum centrale, il existe de nombreuses vésicules golgiennes, mais on ne peut affirmer l'existence d'un processus similaire car on n'a pas pu suivre une filiation directe entre les microvésicules et les corps multivésiculaires.

L'ergastoplasme est très abondant dans les cellules étudiées et paraît manifester une grande activité. Il n'est pas impossible que ces microvésicules proviennent de l'ergastoplasme. Une micrographie électronique (fig. 5, pl. XII) montre une vésicule formée à partir de l'ergastoplasme.

Quant au rôle à attribuer à ces organites particuliers, il est diffile à élucider. Des travaux effectués par BUVAT (26, 1966) ont montré que des vésicules cytoplasmiques (probablement d'origine golgienne) peuvent être déversées à l'extérieur du plasmalemme et incorporées dans la paroi en formation. Des observations structurales récentes faites par LEHMANN et SCHULZ (86, 1969) sur des cellules méristématiques de Funaria hygrometrica et de Riella helicophylla ont démontré l'intervention, dans l'édification des parois cellulaires, de ces organites que sont les lomasomes. Ils ont l'aspect de ces corps multivésiculaires et sont en relation avec la paroi. BONNOT pense alors que ces corps multivésiculaires pourraient être, en quelque sorte, les précurseurs des lomasomes. Cela n'est pas impossible, mais nous n'avons pu le démontrer dans notre matériel sphagnologique. Dans son étude sur Scorzonera hispanica, COULOMB (33, 1973) signale également que les lomasomes se formeraient à partir de corps multivésiculaires nés dans le cytoplasme et venus secondairement fusionner avec la membrane plasmique.

f) Les corps multilamellaires

Découverts chez Triticum vulgare et provisoirement nommés "corps en écailles", ces formations furent retrouvées et systématiquement étudiées par ARNAUD-LAMARDELLE (3, 1955) dans le même matériel végétal, ainsi que chez d'autres plantes. Cet auteur souligne l'analogie entre ces formations et les figures ergastoplasmiques concentriques décrites dans les cellules animales.

Reprenant cette étude sur le méristème radiculaire de Hyacinthus orientalis, VIGNEAU (135, 1959) assimile ces corps aux formations ergastoplasmiques du type décrit par GARNIER (58, 1899) dans les cellules glandulaires et dont l'existence a été confirmée en microscopie électronique par F. HAGUENAU (65, 1958). Celle-ci leur donne le nom de "Nebenkerns" mais le terme, hérité du vocabulaire des anciens cytologistes, est abandonné actuellement car il correspond à des structures très variées.

Peu après, se fondant sur une diminution apparente du nombre des mitochondries, GAVAUDAN et coll. (59, 1959) proposent de considérer ces formations comme des dérivés mitochondriaux. Leurs résultats ne permettent pas de donner à ce problème une solution satisfaisante.

Dans notre matériel, il n'est pas possible non plus d'attribuer une origine précise à ces corps multilamellaires. Nous n'avons jamais obtenu de figures de transition entre les chondriosomes et ce type de corpuscules. Il n'est donc pas possible de conclure sur ce point. COULOMB montre, dans un travail sur le méristème radiculaire de Courge, que les cellules végétales entreprennent la dégradation de leur propre substance au moyen d'un dispositif essentiellement vacuolaire provenant soit de portions de tractus de réticulum endoplasmique, soit de saccules golgiens qui, isolant une région du cytoplasme, se transforment peu à peu en vacuoles autophagiques. Les différentes étapes de cette transformation ont été étudiées par MARTY (96, 1972) sur des méristèmes radiculaires d'Euphorbia characias. Récemment, COULOMB (34, 1973) observe des phénomènes d'autophagie liés à la différenciation cellulaire dans les jeunes racines de Scorzonera hispanica. Les transformations de matériel à l'intérieur de la vacuole sont décrites avec précision. Il se produit des figures à structure myéliniques : les corps multilamellaires. "Ces formations lamellisées ne représentent pas le terme ultime du remaniement ; elles subissent encore une lente dégradation qui solubilise vraisemblablement une partie de leur substance".

Dans notre matériel sphagnologique, nous assistons à la dégénérescence des hyalocystes qui se vident de leur protoplasme et qui meurent. Ces corps multilamellaires sont certainement en relation aussi avec ce phénomène lors de la différenciation cellulaire.

g) Les lomasomes

Ils n'ont été observés qu'une seule fois. Leur structure de type multivésiculaire ainsi que leur localisation en contact étroit avec la paroi s'accordent avec le fait qu'ils sont impliqués dans la synthèse de cette dernière. Dans le même ordre d'idées, certains auteurs leur ont attribué un rôle identique à celui des vésicules golgiennes dans la formation de la paroi, mais on sait , sur le plan biochimique, que les lomasomes (longtemps considérés comme des artéfacts) jouent un rôle essentiel dans le transport de certaines enzymes spécifiques de la paroi (méthylpectinestérase).

Certaines hypothèses actuelles (THIBAUT, 128, 1970), faisant intervenir la ressemblance lomasomes-mésosomes bactériens ainsi que le processus de multiplication de surface qu'ils réalisent, confèrent aux lomasomes une fonction respiratoire ou sécrétrice.

Il n'apparaît pas possible, dans l'état actuel de nos connaissances, d'assigner un rôle précis aux lomasomes. Cependant, on peut penser qu'ils sont étroite-

ment associés au métabolisme de la cellule et tout particulièrement de la paroi.

Toutes ces vésicules associées aux parois cellulaires ont pendant longtemps été considérées comme des artéfacts (FOWKE et SETTERFIELD, 54, 1969). Cependant, elles ont été trouvées chez de nombreuses espèces appartenant aux groupes végétaux les plus variés et selon MESQUITA (98, 1970) doivent être considérées comme des structures réelles de la cellule végétale.

h) L'ergastoplasme et les ribosomes

Les ribosomes sont très nombreux dans tout le cytoplasme. L'ergastoplasme, observé à proximité du noyau, des corpuscules gris et surtout du plasmalemme, est très abondant. On peut voir là l'indice d'une grande activité cellulaire.

i) Les corpuscules gris

Ces corpuscules posent des problèmes quant à leur nature et leur origine, car ils constituent, dans l'état actuel de nos connaissances, une structure particulière aux Sphagnales. Plusieurs types de remarques peuvent être faites à leur sujet :

1°) ils rappellent les granulations étudiées par FERREIRA (52, 1957) dans les cellules du pancréas endocrine de l'embryon de Rat. Mais on ne peut les assimiler à ces granulations. Celles-ci sont toujours localisées à proximité de l'appareil de Golgi. Aussi FERREIRA leur attribue-t-il une origine golgienne. D'autre part, ces granulations ont un rôle de sécrétion qu'il faut probablement exclure dans le cas des ébauches foliaires de Sphagnum.

2°) ils rappellent également les corps de WORONIN. Mais, selon CAROLL (30, 1967), ces derniers sont particuliers aux Ascomycètes. SCHRANTZ (123, 1970) en confirme l'existence dans ce même groupe de Champignons. Il décrit les corps de WORONIN comme étant toujours denses aux électrons, quels que soient les fixateurs employés, et limités par une membrane simple visible seulement si la coupe passe à proximité de leur centre. POULAIN (111, 1972) en décrit de très typiques chez Trichophyton mentagrophytes. Dans notre matériel, certains des corpuscules possèdent une membrane simple, mais celle-ci paraît manquer chez la plupart d'entre eux. Concernant leur origine, SCHRANTZ note que les membranes du réticulum endoplasmique sont abondantes au voisinage du pore avant que ne paraisse les corps de WORONIN et qu'il se peut donc que ces membranes participent à leur formation. Nous avons noté, chez les deux Sphagnum étudiés, que les corpuscules gris sont surtout situés contre des membranes d'ergastoplasme qui jueraient peut-être aussi un rôle dans la genèse des pores.

L'étude des perforations septales des Ascomycètes a été largement poursuivie depuis qu'on utilise le microscope électronique. La continuité cytoplasmique entre les articles voisins est soulignée par MOORE et McALEAR (103, 1962). MOORE (101, 1963) montre comment se forme le septum. Chez Peziza aurantia et Ciliaria hirta, SCHRANTZ (122, 1964) insiste sur la présence constante, au voisinage des septums, des granulations para-synaptiques appelées corps de WORONIN, en relation avec la formation de ces pores. Ceux-ci sont engendrés chez les Sphaignes lorsque les hyalocystes ont dégénéré et l'on remarque que, pendant la dégradation progressive de ces derniers, les corpuscules gris se localisent toujours en bordure de la paroi;

3°) VERDIER (134, 1965), étudiant les propagules de Lunularia cruciata, remarque la présence de globules osmioréducteurs dans le cytoplasme pariétal des cellules parenchymateuses. Ils y sont très abondants et ont un diamètre compris entre 0,2 et 1 micromètre. Ils correspondent aux granulations mises en évidence en microscopie photonique par le Noir Soudan. Leur caractère osmioréducteur en microscopie électronique indique aussi leur nature lipidique;

Nous rapprochons les corpuscules gris des Sphaignes des globules observés chez Lunularia cruciata, car ils ressemblent à des globules lipidiques. Toutefois, nous ne pouvons pas conclure à leur nature lipidique. En effet, en microscopie photonique, le Soudan III n'a donné aucun résultat positif. Il n'a pas été possible de retrouver les corpuscules gris, disposés d'une façon si particulière contre le plasmalemme. Au contraire, nous avons vu des globules lipidiques colorés en rouge dispersés dans toute la cellule. En microscopie électronique, aucun globule lipidique proprement dit n'a été observé et aucun corpuscule gris n'a été remarqué à l'état isolé dans le cytoplasme;

4°) dans le strema des chloroplastes existent des inclusions osmiophiles que l'on peut rapprocher des globules lipidiques des végétaux supérieurs : ce sont les plastoglobules, terme appliqué pour la première fois à la structure des Mousses par BONNOT (19, 1968). Chez les Sphaignes, lorsque le chloroplaste dégénère, sa membrane éclate, les thylacoïdes et les plastoglobules s'épanchent dans la cellule. La micrographie (fig. 5 , pl. XIX) montre des plastoglobules sortant d'un chloroplaste. On pourrait penser que les corpuscules gris sont de tels plastoglobules. Mais il faut abandonner cette idée car on ne devrait pas en observer dans les cellules jeunes. Au contraire, ils sont aussi abondants dans les cellules méristématiques que dans les cellules se différenciant en hyalocystes.

Il semble que ces corpuscules possèdent cependant une partie lipidique car, fixés au tétroxyde d'osmium, ils apparaissent avec une certaine densité aux électrons. Il faudrait entreprendre des réactions cytochimiques pour le démontrer.

Quant au rôle qu'ils peuvent jouer, on peut émettre deux hypothèses :

- dans les cellules méristématiques, leur présence près du plasmalemme et leur tendance à pénétrer dans les plasmodesmes donnent à penser qu'ils interviennent dans la formation de la paroi ;

- dans les cellules différenciées, en dégénérescence, ils participent probablement à la genèse des pores et des fibrilles (ces dernières étant des épaississements spiralés de la paroi).

j) Le système vacuolaire

Les vacuoles des cellules des ébauches foliaires sont de taille très réduite et de forme plus ou moins circulaire sur les coupes. Elles sont nombreuses dans le cytoplasme pariétal. Le tonoplaste apparaît nettement, surtout lorsque les coupes ont été traitées au DAB. Parfois, le contenu vacuolaire est parfaitement transparent, mais souvent il montre des structures réticulées, voire de petites vésicules. Un corps multivésiculaire a également été observé dans une vacuole d'une cellule d'ébauche foliaire, à vocation de hyalocyste (fig. 1, pl. XV).

Le noyau

Les premières recherches au microscope électronique (CALLAN et TOMLIN, 27, 1950) avaient porté sur des fragments isolés et desséchés de membrane nucléaire d'oocytes d'Amphibiens. Elles ont permis de constater que cette membrane se compose de deux feuillets denses séparés par un espace étroit et clair. D'autres recherches, poursuivies sur des Amibes par BAIRATI et LEHMANN(4, 1952) et sur des oocytes de Triton par GALL (56, 1954), confirment cette dualité de structure.

Chez les végétaux, les études sur la membrane nucléaire sont également nombreuses. Citons au sujet des groupes dits inférieurs quelques travaux, comme ceux de TURIAN et KELLENBERGER (131, 1956) sur les gamètes des Allomyces (Champignons), de SAGER et PALADE (118, 1957) sur Chlamydomonas (Algues vertes), de BONNOT (19, 1968) sur Hylocomium splendens, Thuidium tamariscinum et Polytrichum formosum (Bryales), précédant les nôtres sur Sphagnum. Toutes les observations montrent que la membrane nucléaire des cellules végétales a unestructure analogue à celle des cellules animales.

Quant au nucléole, ESTABLE et SOTELO (48, 1951) l'ont étudié en microscopie photonique dans les noyaux de divers tissus animaux (ovocytes d'Invertébrés, cellules nerveuses de Vertébrés). Ils ont pensé avoir démontré que cet organite

comporte deux parties : l'une filamenteuse ou "nucléolonéma" ; l'autre homogène ou "pars amorpha". LETTRE (90, 1955) a retrouvé cette structure filamenteuse. Cependant, tous les cytologistes ne sont pas d'accord sur la structure double du nucléole et beaucoup le voient encore plus complexe.

Au moment où ces faits étaient établis en microscopie photonique, les premières recherches de BORYSKO et BANG (21, 1951) aux U.S.A. et de BERNHARD, HAGUENAU et OBERLING (10, 1952) en France confirmaient la structure hétérogène et très complexe du nucléole examiné en microscopie électronique. Des recherches plus récentes de BERNHARD (9, 1955) ont apporté des précisions.

Chez les végétaux, LAFONTAINE (83, 1958) a fait une étude approfondie des nucléoles des cellules méristématiques d'Allium cepa et de Vicia faba. Il distingue trois catégories de nucléoles :

- "ceux qui ont une structure homogène. La substance nucléolaire est alors constituée de granules." ;
- "ceux qui sont caractérisés par une écorce dense et un coeur central beaucoup plus clair, avec limite tranchée entre les deux. Ils sont également formés de granules, mais répartis d'une façon hétérogène." ;
- "les nucléoles dont la structure est intermédiaire entre les deux types cités. Ils sont caractérisés par un gradient de densité qui va en augmentant du centre vers la périphérie."

Dans notre matériel, le nucléole appartient à la deuxième catégorie, c'est-à-dire qu'il apparaît formé de deux régions. En fait, dans les deux règnes animal et végétal, il semble difficile d'établir des catégories tranchées de nucléoles, car plusieurs micrographies démontrent que, si le nucléole a parfois un aspect homogène, sa structure doit varier selon le stade auquel se trouve la cellule du végétal ou de l'animal à laquelle il appartient.

Chez les Sphaignes, nous avons observé dans le cytoplasme, au voisinage de la membrane nucléaire, de petits grains denses. Ceux-ci, que l'on considère comme des ribosomes, tapissent cette dernière qui ainsi n'est pas "nue" sur l'ensemble de son pourtour.

La micrographie 2, pl. XVII montre, en certains endroits, des granules disposés en cercles, près d'une interruption de la membrane nucléaire, semblables à ceux que ANDRE et ROUILLER (2, 1956) ont signalés sur la membrane nucléaire de l'ovocyte de l'Araignée. On peut se demander, devant leur localisation, si on ne se trouve pas en présence de granules d'origine nucléaire. Les recherches cytochimiques de BRACHET et CASPERSSON, entre autres, ont montré que les

ribonucléoprotéines (R.N.P.) formées dans le noyau "diffusent" à travers sa membrane pour constituer les R.N.P. cytoplasmiques. BERNHARD (8, 1959) retient le même argument.

Les liaisons entre la membrane nucléaire et l'ergastoplasme sont bien visibles aussi. L'ergastoplasme est présent près du noyau sous forme de membranes doubles tapissées de ribosomes et pouvant avoir une grande extension dans le cytoplasme. Ce ne sont pas des cas particuliers aux Sphagnum car, dans les cellules embryonnaires des végétaux et des animaux, les communications entre la membrane nucléaire et l'ergastoplasme sont très nettes.

Très fréquemment, à l'intérieur des cellules, les chloroplastes ne sont pas répartis au hasard dans le cytoplasme. Ils apparaissent groupés en couronne autour du noyau. Certains sont à une faible distence de celui-ci. La figure 1, pl. XVIII montre que les membranes nucléaire et plastidale sont presque en contact.

Déjà, la figure de proximité décrite ci-dessus fait penser à une possible contiguïté des membranes nucléaire et plastidale. Effectivement, des liaisons par contact intime entre les deux types d'organites sont visibles sur la figure 2, pl. XVIII. Les investigations concernant les ultrastructures de la cellule végétale n'ont que très rarement mis en évidence des relations intimes entre plastes et noyau. GIBBS (60, 1962) en signale quelques exemples chez les algues unicellulaires. BONNOT (16, 1967) démontre le dispositif structural de relations nucléo-plastidales dans les cellules méristématiques de Polytrichum formosum. En effet, il décrit avec précision des relations de proximité. On remarque, sur ses micrographies, qu'aux points de plus grande proximité "la périphérie du noyau est déformée et émet un cône minuscule en direction du plaste". BONNOT observe également des relations de contiguïté. Sur une de ses micrographies, les membranes nucléaire et plastidale donnent chacune "un prolongement en forme de bec et semblent se toucher".

Ces nouveaux faits démontrés nous paraissent intéressants; ils s'intègrent dans un domaine très important de la Biologie cellulaire. La cellule vivante n'apparaît plus comme un système d'organites indépendants mais comme un ensemble, avec ce que cela implique de possibilités de corrélations et de relations entre organites.

PLANCHE XVIII : Relations nucléo-plastidales chez Sphagnum centrale

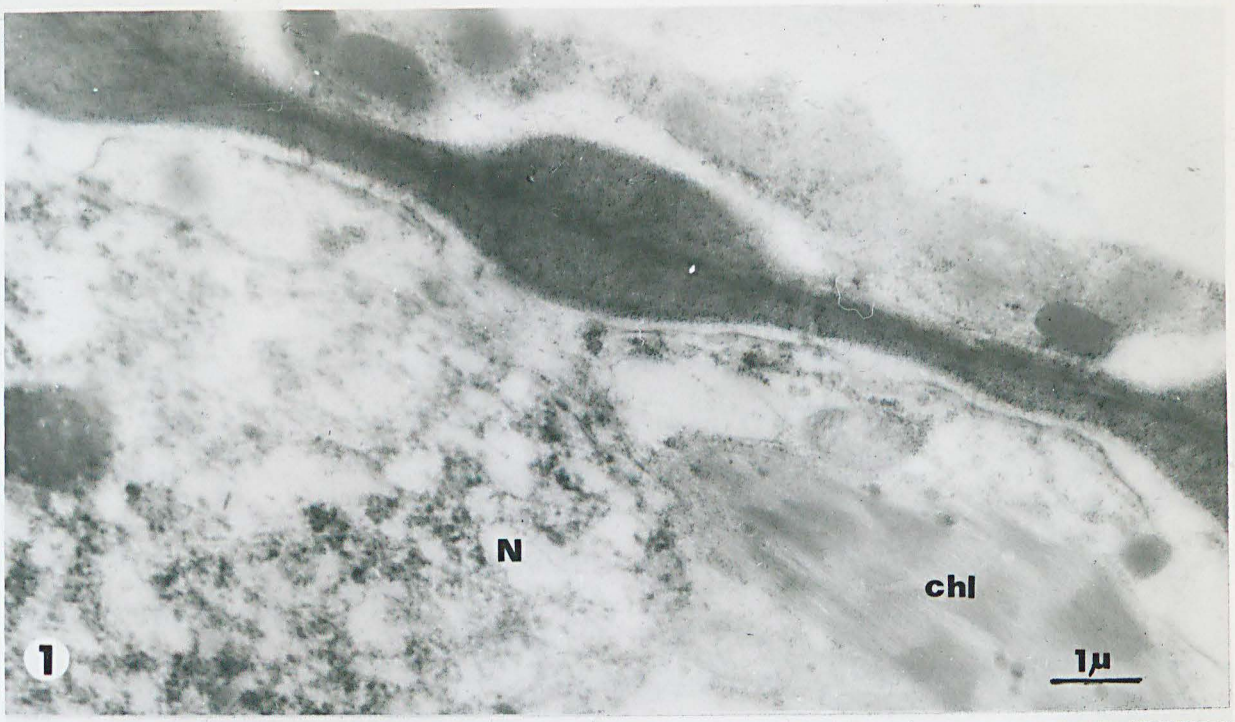
Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : épon - araldite.

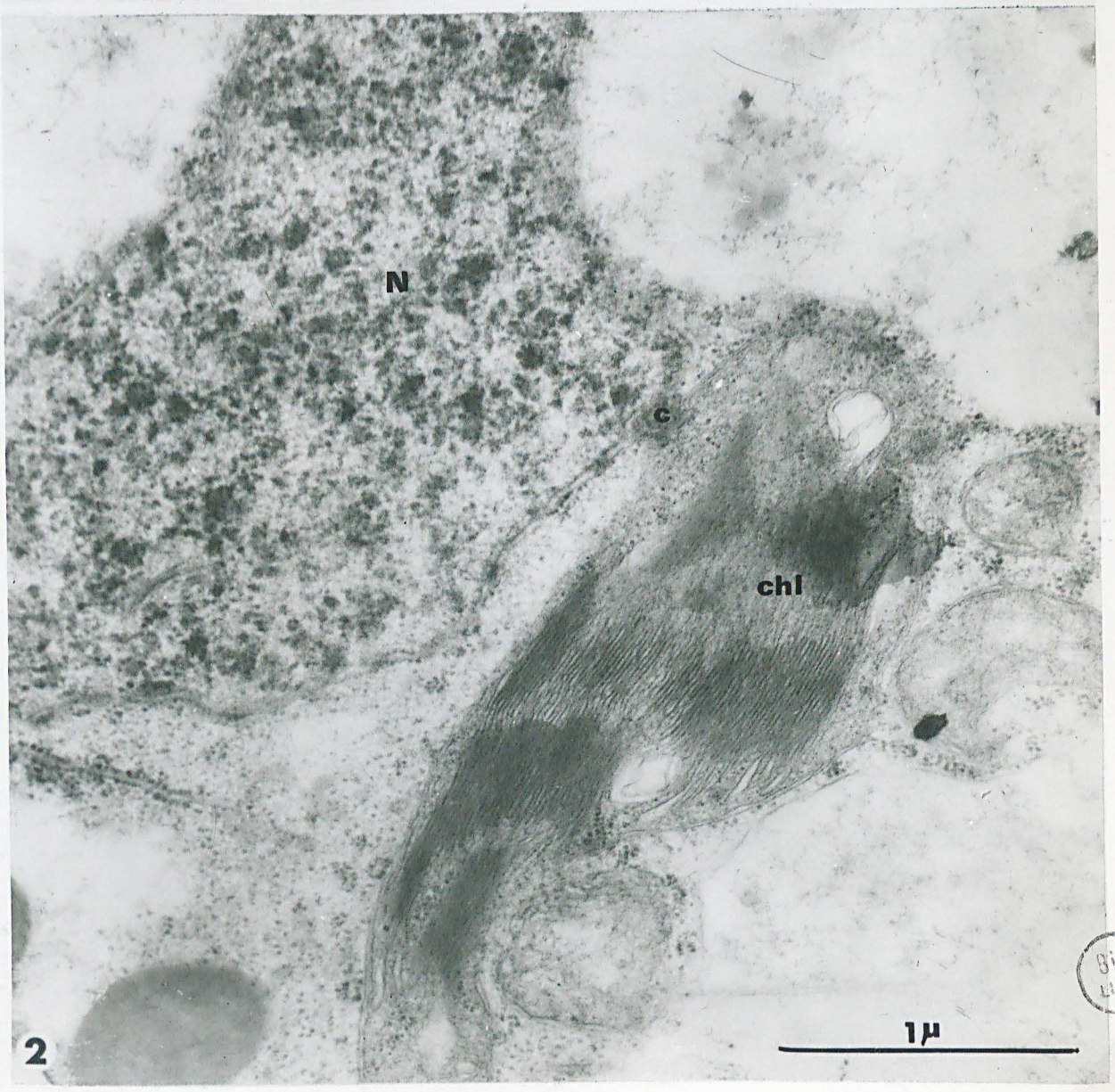
Fig. 1. - Proximité nucléo-plastidale avec un cône nucléaire (c). G x 20 000.

Fig. 2. - Contiguïté nucléo-plastidale ; développement des granums à l'intérieur du plaste ; substance chromatique très hétérogène. G x 46 000.

BIBL

PLANCHE XVIII : *RELATIONS NUCLEO-PLASTIDALES*





BUS LILLE

II. Sur les problèmes de dégénérescence conduisant aux hyalocystes

Comme nous l'avons vu, les ébauches foliaires de Sphagnum n'ont, au début, qu'un seul type de cellules. Celles-ci sont toutes semblables et possèdent tous les constituants classiques des cellules végétales, y compris les chloroplastes. Au moment de la différenciation, une partie des structures cellulaires d'une certaine catégorie de cellules dégénèrent. La feuille adulte possède alors deux types de cellules : les chlorocystes, vivants, ayant conservé tous leurs constituants et les hyalocystes, morts, vides de tout protoplasme. Que sont devenus les différents organites ? Nous tenterons de suivre leur dégénérescence ou de définir leur destinée.

Le phénomène se manifeste en premier lieu au niveau du plasmalemme qui se décolle de la paroi. Il peut rester quelque temps fixé à celle-ci au niveau des plasmodesmes (fig. 1, pl. XIX). Puis les corpuscules gris situés à la périphérie de la cellule se trouvent liés entre eux par l'intermédiaire du plasmalemme (fig.2, pl. XIX) auquel s'ajoutent des ribosomes et de l'ergastoplasme (fig. 3, pl.XIX).

Pendant ce temps le noyau se déforme, s'allonge. Il entre en contact avec les corpuscules gris (fig. 4, pl. XIX). Les chloroplastes dégénèrent également. La membrane plastidale se déchire et le stroma ainsi que les thylacoïdes s'épanchent dans le cytoplasme. Sur la figure 5, pl. XIV, on retrouve çà et là des fragments de chloroplastes représentés par des lamelles intergranaires et des granums plus ou moins dissociés.

Le noyau et les chloroplastes peuvent fusionner (fig. 1, pl. XX). Il existe à cet instant une véritable continuité entre ces deux types d'organites.

Les corpuscules gris s'agglomèrent. La figure 2, pl. XX, montre ces derniers formant de gros amas gris au voisinage du plasmalemme. Le noyau et les chloroplastes fusionnent à leur tour avec les corpuscules gris et le tout prend des positions non déterminées dans la cellule (fig. 3, pl. XX). Il ne reste plus que quelques amas en certains endroits (fig. 4, pl. XX). Puis ces "trains d'organites" s'amincissent et donnent naissance, semble-t-il, aux fibrilles (fig. 5, pl. XX) que l'on observe sur les parois des hyalocystes. Dans les chlorocystes par contre aucune fibrille ne se différencie.

PLANCHE XIX : La dégénérescence des constituants cellulaires conduisant aux hyalocystes

Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : épon - araldite.

Fig. 1. - S. centrale. Début de la dégénérescence d'un futur hyalocyste. Le plasmalemme (pl) s'écarte de la paroi (P) entraînant avec lui les corpuscules gris (cg) et d'autres constituants cellulaires. G x 9 000.

Fig. 2. - S. centrale. Les corpuscules gris (cg) se trouvent tous reliés entre eux par le plasmalemme (pl). G x 15 000.

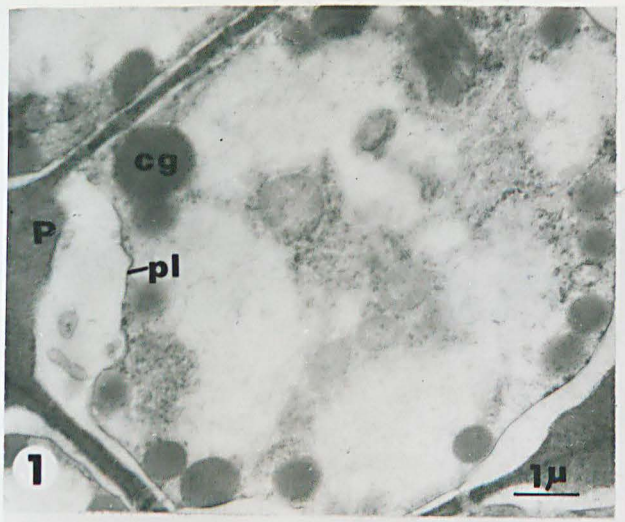
Fig. 3. - S. centrale. A cet ensemble de corpuscules gris (cg) viennent s'ajouter les ribosomes (r) et l'ergastoplasme (er). G x 17 000.

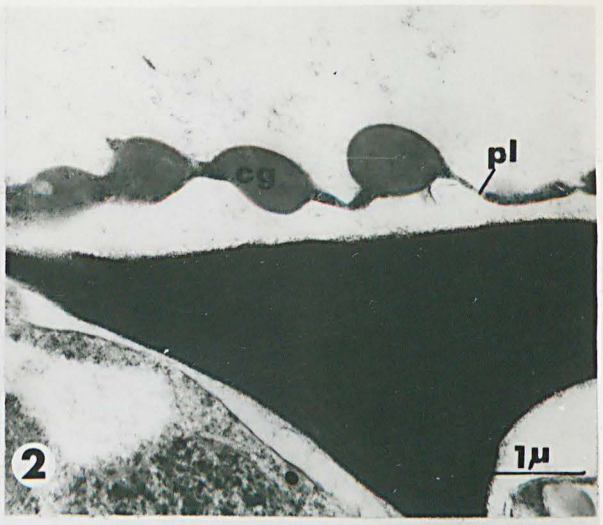
Fig. 4. - S. palustre. Le noyau (N) se déforme et entre en contact avec les corpuscules gris (cg). G x 17 000.

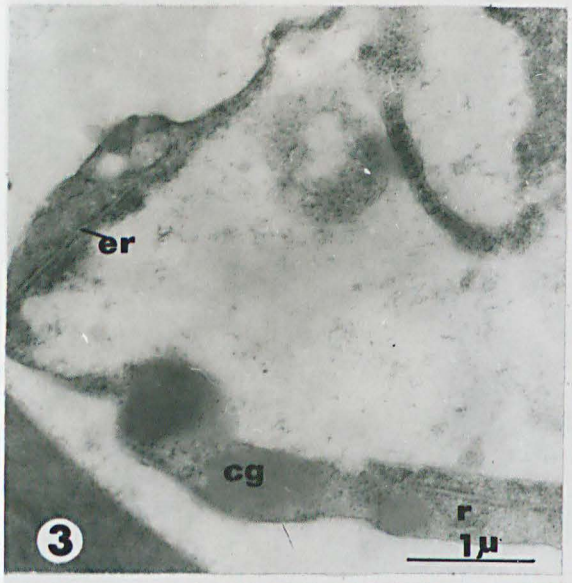
Fig. 5. - S. palustre. Chloroplaste dégénérant. La membrane plastidale (mp) a éclaté. On en retrouve un fragment non loin du plaste. G x 32 000.

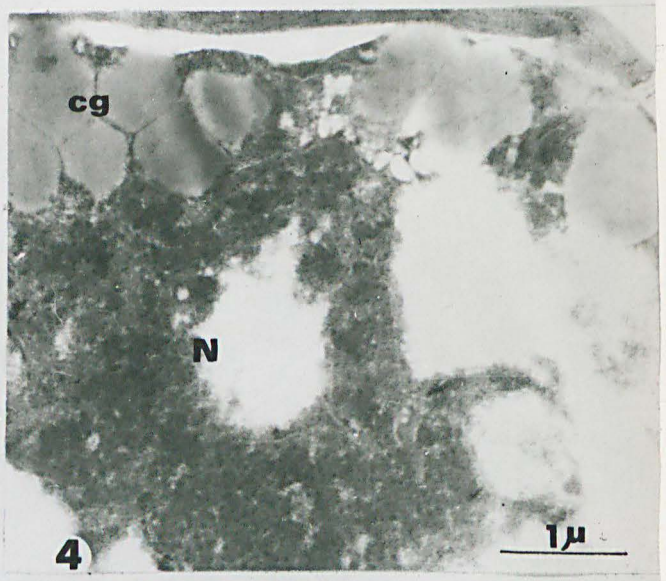
200

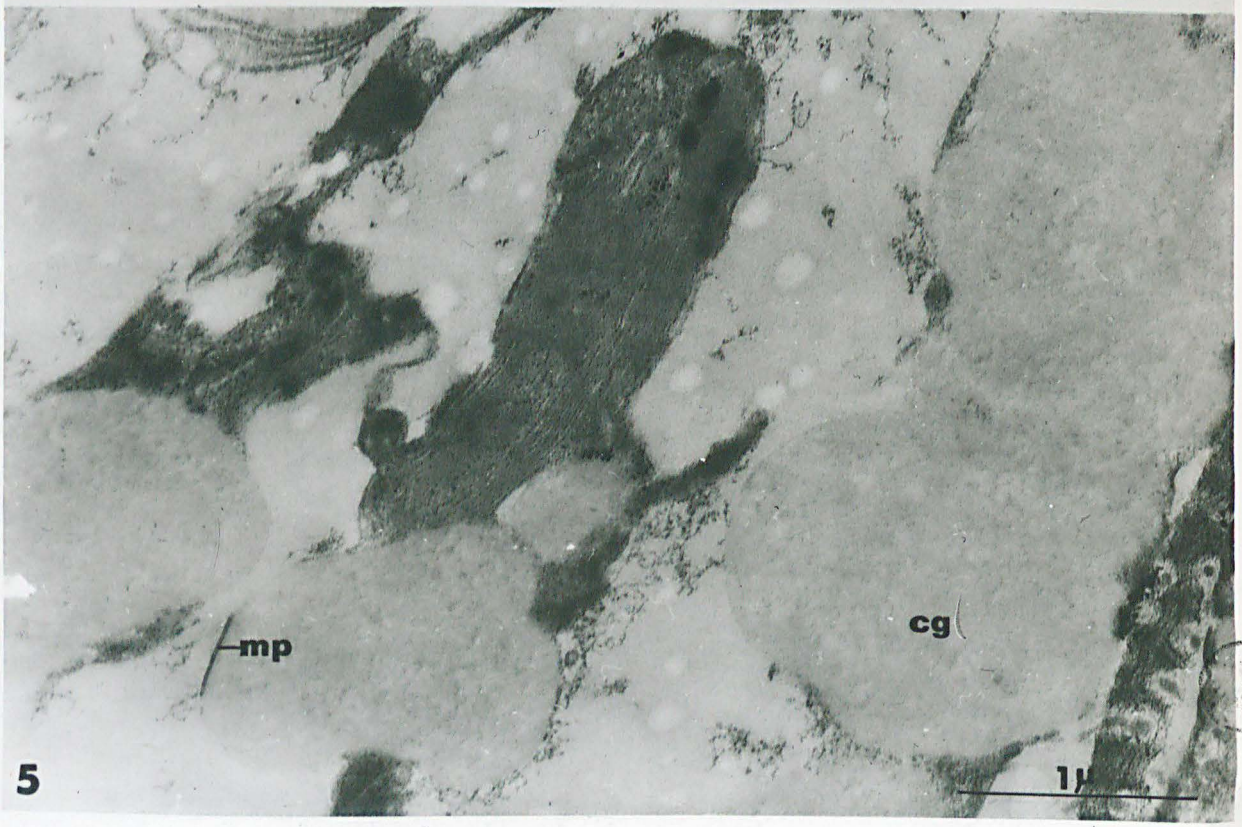
PLANCHE XIX : *DEGENERESCENCE CYTOPLASMIQUE*











C'est pendant cette dégénérescence que les corps multilamellaires jouent leur rôle. Les organites qui ont disparu sont digérés et ces corps réalisent de ce fait un processus manifeste d'autophagie.

Ainsi, l'étude au microscope électronique a permis de préciser la structure des divers constituants dans les cellules des ébauches foliaires.

En dehors des corpuscules gris et des lomasomes, nous avons décrit d'autres organites tels que mitochondries, dictyosomes, ergastoplasme, chloroplastes et noyau dont l'aspect est classique.

Cette technique nous a montré également la genèse des fibrilles à laquelle participent la plupart des organites.

Une telle étude, en complétant certains résultats acquis antérieurement, ne donne cependant pas une réponse précise et définitive à certaines questions posées.

ETUDE DE L'APPAREIL SECRETEUR MUCIGENE

A) L'appareil sécréteur des Bryophytes

Lorsqu'on dissèque l'apex végétatif d'un gamétophyte feuillé de Bryophyte on observe, en intercalation avec les ébauches foliaires et les jeunes feuilles, des formations piliformes pluricellulaires unisériées. Ce sont les poils mucigènes ainsi nommés par BONNOT (13, 1966). Ils existent aussi au niveau de l'apex sexualisé, à côté des organes fertiles (gamétanges) et des organes stériles (paraphyses).

Ces poils mucigènes ont été étudiés depuis longtemps et on en attribue la découverte à SCHIMPER (120, 1848). Effectivement, cet auteur donne des dessins précis de ces poils accompagnant une anthéridie de Polytrichum juniperinum, mais il les appelle "paraphyses". En fait, c'est HEDWIG (69, 1792) qui fut le premier à les figurer. Il représente une anthéridie d'Hypnum viticulosum à côté d'un filament où la morphologie permet de reconnaître aujourd'hui un poil. THURET (129, 1851), au cours de recherches chez Polytrichum commune, remarque la présence de ces formations stériles à côté des anthéridies.

Toutefois HEDWIG, SCHIMPER et THURET ont seulement noté la présence de poils spéciaux au niveau de l'apex fertile. GÜMBEL (1854) les découvre chez

Amblyodon dealbatus au niveau d'un apex végétatif, à l'aisselle d'une feuille. Plus tard, ces formations seront observées chez la plupart des Mousses. LEITGEB (88, 1869) les trouve chez les Sphagnales. CAMPBELL (28, 1905) les décrit aussi chez Sphagnum palustre et chez Leptodictyum riparium (Bryale). On peut même étendre leur existence aux Andreaeales.

BONNOT (13, 1966) les figure et les photographie chez Thuidium tamariscinum, préalablement à une étude morphogénétique et cytologique de grande extension.

I.Caractères morphologiques

La position des poils mucigènes

GÜMBEL (1854) l'a ainsi définie : "à l'aisselle des feuilles", justifiant ainsi l'appellation de poils axillaires quelquefois employée. Le niveau exact d'insertion est difficile à préciser par la simple dissection. Si l'on prélève une jeune feuille jusqu'à son extrême base, on enlève un certain nombre de poils qui restent adhérents à la face interne ; mais il n'est pas possible de dire s'ils sont en relation directe avec la feuille ou insérés sur des cellules appartenant à la tige et entraînés au cours de l'arrachage.

WANSTALL (138, 1950) admet que ces poils se forment "à partir des cellules les plus inférieures de la feuille", mais il en voit également attachés aux noeuds de la tige ("attached to the stem at the nodes").

DANGEARD (38, 1925), dans une étude cytologique, parle de "poils foliaires" à forme de paraphyses. La position de ces poils à "l'aisselle des feuilles" explique, malgré son imprécision, l'expression de poils foliaires. On retrouve cette position à l'aisselle des feuilles chez toutes les Mousses et chez toutes les Sphaignes (CAMPBELL, 28, 1905). Pourtant des exceptions ont été notées. Ainsi CORRENS les trouve "en situation tout à fait irrégulière" chez Bryum bulbillosum et "au-dessous de l'insertion de la feuille" chez Thuidium tamariscinum.

L'organisation des poils et le mucilage

Les poils mucigènes des Mousses sont constitués par un nombre variable de cellules. Ils ne sont presque jamais ramifiés. BONNOT (19, 1968) les décrit chez Polytrichum formosum, Pogonatum aloides, Hylocomnium splendens et Thuidium tamariscinum. Les poils mucigènes montrent : une cellule basale, courte, évasée vers le haut. BONNOT l'appelle "cellule de séparation ou cellule séparatrice".

La cellule basale se prolonge par une, deux, trois et jusqu'à vingt cellules à mucilage, rectangulaires, allongées, remplies d'un contenu dense, hétérogène.

Chez Sphagnum palustre, CAMPBELL (28, 1905) découvre à l'aisselle des feuilles raméales des poils bicellulaires qu'il appelle "poils glandulaires". Ils consistent en une cellule basale courte et une cellule terminale élargie contenant une substance densément granuleuse qui, vu son comportement vis-à-vis des colorants, semble mucilagineuse. La cellule sécrétrice est ovale, allongée, et le poil est inséré près de la base de la feuille sur sa face interne".

Chez une Hépatique primitive, Takakia lepidozioides, PROSKAUER (112, 1962) décrit deux types de poils mucigènes :

- sur les axes feuillés, des filaments unisériés de deux, trois cellules se terminant par des cellules fermées, mucilagineuses, qui ne se colorent pas par une solution diluée de bleu de méthylène : le mucilage est sécrété à travers les parois cellulaires ;

- sur les axes feuillés et sur les rhizomes aériens, des poils terminés par un long bec ouvert exsudant une grande quantité de mucilage dans lequel vivent des champignons.

En effet, ces cellules contiennent du mucilage. C'est SCHIMPER (120, 1848) qui le premier en a parlé mais ses prédécesseurs avaient toutefois eu la notion de l'exsudation d'une substance hyaline au sommet de la tige des Mousses. GOEBEL (63, 1930) indique la région apicale et les jeunes feuilles chez Diphyscium foliosum puis chez Atrichum undulatum.

En 1950, WANSTALL (138) entreprend, sur le mucilage sécrété par ces poils, les premières études cytochimiques. Il remarque que le mucilage est insoluble dans l'eau chaude et colorable par le bleu de méthylène.

Variations morphologiques , valeur systématique

La comparaison des différents poils mucigènes fait apparaître une grande diversité morphologique. Cette dernière est en rapport avec les différences se trouvant à la base des grandes coupures systématiques des Bryophytes. Ainsi BONNOT (19, 1968) a dégagé de l'étude descriptive des poils mucigènes un grand nombre de conclusions générales qui lui paraissent correspondre à des tendances évolutives à l'intérieur du groupe, et qui étaient jusque là parfaitement méconnues. BONNOT pense que :

- "le caractère multicellulaire des poils est primitif par rapport au caractère paucicellulaire". Ainsi les poils des Polytrichales sont très longs, comportant souvent vingt cellules et au-delà, alors que ceux des Hypnales sont très courts, paucicellulaires. Chez Thuidium tamariscinum, BONNOT compte souvent trois cellules ; chez Philonotis fontana deux cellules .

-"un nombre élevé de poils mucigènes à l'aisselle des feuilles est primitif par rapport à un nombre faible". Là encore, il y a évolution par réduction. Une photographie réalisée par BONNOT montre bien, sur une coupe transversale d'apex de Polytrichum formosum, le nombre élevé de poils (jusqu'à vingt et plus) à l'aisselle de chaque feuille juvénile. Chez les Hypnales, au contraire, on n'observe souvent que deux ou trois poils mucigènes à l'aisselle de chaque feuille.

- "dans un groupe à poils mucigènes multicellulaires (Nématodontes notamment et en particulier les Polytrichales), le caractère ramifié semble primitif par rapport au caractère unisérié". Chez Polytrichum on observe exceptionnellement des poils présentant une courte ramification unicellulaire.

- "la différenciation d'une partie basale séparatrice est un caractère évolué". Chez Thuidium tamariscinum, il existe un type cellulaire particulier : "la cellule séparatrice". Il peut y avoir plusieurs (deux ou trois) cellules séparatrices à la base du poil (Mnium hornum). Par contre, chez les Polytrichum et Pogonatum, qui appartiennent au phylum ancien des Nématodontes, il n'y a pas de cellule séparatrice.

Chez les espèces qui en sont pourvues, la différenciation de la cellule séparatrice est localisée surtout au niveau de la paroi cellulaire qui, par sa couleur brune, permet de repérer très facilement les cellules séparatrices sur le vivant. BONNOT les observe très nettement chez Mnium hornum et Rhodobryum roseum.

II. Structure cytologique

DANGEARD (38, 1925) est le premier à se consacrer à l'étude cytologique des poils mucigènes de Polytrichum formosum. Les cellules des poils présentent vers le milieu de leur longueur "un noyau ovalaire nucléolé". Dans le cytoplasme se trouvent "plusieurs sortes d'éléments reconnaissables immédiatement : les plus gros, les plus apparents sont des plastes qui présentent un certain intérêt". Dans les cellules basilaires, les plastes sont ovales. DANGEARD observe qu'à mesure que l'on se rapproche de l'extrémité du poil, on voit les chloroplastes

prendre des formes très différentes et se transformer en bâtonnets complètement incolores. Il les nomme mitoplastes. A côté de ces plastes, il existe une assez grande abondance de gouttelettes lipidiques. Quant aux vacuoles, elles ne sont pas absentes. Il faut une coloration vitale pour les mettre en évidence. DANGEARD emploie à cet effet le rouge neutre. Il met en relief des vacuoles en forme de filaments et en réseau.

Beaucoup plus tard, BONNOT (19, 1968) décrit aussi les poils mucigènes de Polytrichum formosum. Un poil mucigène adulte, au moment où commence sa phase fonctionnelle, comprend :

- à la base, une région méristématique constituée par un ensemble de quelques cellules à cytoplasme dense, munies de petits chloroplastes globuleux et d'un noyau sphérique, volumineux. Le vacuome, après coloration, apparaît sous forme de minuscules vacuoles arrondies. Le laquage à l'hématoxyline de REGAUD y rend observables des granulations sidérophiles représentant le chondriome ;

- plus haut, une région d'allongement des cellules. Le cytoplasme y est caractérisé par des modifications morphologiques des organites : les vacuoles se développent en réseau. BONNOT pense à une intervention golgienne dans le développement de ce vacuome. Le noyau est de plus en plus ovoïde. Des mitochondries sont mises en évidence par l'hématoxyline ;

- dans la partie supérieure, correspondant à environ deux à quinze cellules, la taille de ces dernières n'augmente plus, mais leur constitution morphologique est considérablement modifiée. Le cytoplasme comporte de grandes vacuoles et des gouttelettes lipidiques. Les plastes sont très allongés, conformes à ceux décrits par DANGEARD (38, 1925). Le noyau est encore plus allongé.

III. Ultrastructure et fonctionnement des cellules sécrétrices

Ultrastructure

Peu d'études en microscopie électronique ont été entreprises sur les poils mucigènes.

BONNOT (19, 1968) suit, chez Thuidium tamariscinum, Hylocomium splendens, Pogonatum aloides et Bryum capillare, le degré progressif de la différenciation des poils mucigènes en relation avec leur spécialisation fonctionnelle.

A l'état peu différencié, les cellules d'un poil mucigène possèdent un cytoplasme relativement compact. La densité des ribosomes y est importante.

Plastidome et chondriome sont présents sous une forme normale. L'appareil de Golgi y est considérablement développé. Le fonctionnement des dictyosomes est inséparable de la production de vésicules : "vésicules golgiennes qui sont les éléments essentiels de la sécrétion, coated vesicles et corps multivésiculaires". BONNOT observe et décrit aussi les mitoplastes qui avaient déjà retenu l'attention de DANGEARD (38, 1925) et d'EYME (49, 1954). L'étude de BONNOT a permis d'apporter des précisions sur la constitution ultrastructurale de ces mitoplastes et de montrer qu'ils se distinguent des chloroplastes muscinaux typiques.

A la phase de "spécialisation cytologique", on assiste à une multiplication extraordinaire des dictyosomes.

La phase fonctionnelle correspond à l'excrétion du mucilage. Il y a dépouillement cuticulaire. La cuticule se rompt en de nombreux endroits et le mucilage s'échappe à l'extérieur.

Tests biochimiques

Un liquide hyalin englue les formations de l'apex. C'est le mucilage extracellulaire bien vu par SCHIMPER (120, 1848).

Un certain nombre de colorations électives permettent de rendre bien visible la substance sécrétée par les cellules mucigènes. Grâce à des tests biochimiques, BONNOT (19, 1968) a pu en préciser la nature :

- le bleu de méthylène colore le mucilage, lequel est insoluble dans l'eau.

- le rouge de ruthénium colore en rose le mucilage, prouvant la nature au moins partiellement pectique de ce matériel ;

- le mucilage est insoluble dans la potasse diluée froide et la potasse diluée chaude provoque un gonflement : BONNOT en conclut que les acides pectiques ne représentent pas le constituant majeur ;

- la coloration bleue du mucilage par le chlorure de Zn prouve la présence des hémicelluloses.

Ainsi BONNOT conclut que le mucilage des espèces qu'il a étudiées (Atrichum undulatum et Polytrichum formosum) est constitué d'un mélange de pectose et d'hémicelluloses.

- le test de Thiéry

BONNOT et HEBANT (20, 1970) démontrent la nature polysaccharidique du

mucilage par l'application du test à la thiocarbohydrazide-protéinate d'Ag. Le matériel utilisé par ces deux auteurs est constitué par l'appareil mucigène de Polytrichum juniperinum. Les dictyosomes, en particulier, impliqués dans l'élaboration du mucilage, sont "marqués" grâce à la réduction du protéinate d'Ag. BONNOT avait déjà indiqué dans des études antérieures que les dictyosomes jouent un rôle essentiel dans la phase d'élaboration du produit de sécrétion.

Le test fait apparaître également, pendant la phase d'émission, l'exsudation polysaccharidique. Il confirme en même temps l'intervention de ruptures cuticulaires favorables à l'excrétion.

B) Recherches personnelles:le tissu sécréteur des Sphagnales

Lorsqu'on dissèque l'apex d'un gamétophyte feuillé végétatif de Sphaigne , on observe à la base des feuilles des formations bicellulaires unisériées. Ce sont les poils mucigènes déjà décrits, comme nous l'avons vu, par CAMPBELL (28, 1905) chez Sphagnum palustre.

I. Caractères morphologiques

Localisation

Le niveau exact d'insertion des poils mucigènes est difficile à préciser. Sur certaines micrographies, il n'est pas possible de savoir s'ils sont en relation avec la feuille ou avec des cellules appartenant à la tige. La figure 8, pl. IX, montre très bien le départ d'un poil mucigène à partir d'une cellule caulinaire.

Organisation

Une coupe longitudinale d'apex de Sphaigne permet de mettre en évidence de très nombreux poils mucigènes unisériés. Leur taille varie de 25 à 35 micromètres. Ils sont constitués de deux cellules. La cellule basale est longue, rectangulaire, évasée vers le haut et présente une paroi d'un typeparticulier. Elle correspond à ce que BONNOT appelle chez les Mousses "cellule séparatrice". C'est au niveau de cette paroi que se fait la rupture entraînant la chute du poil mucigène après

la phase fonctionnelle de ce dernier. Cette cellule basale se prolonge par une autre cellule en forme de massue et remplie d'un contenu dense : le mucilage. Celle-ci est la cellule mucigène (fig. 1, pl. XXI) ou cellule sécrétrice.

Chez Sphagnum magellanicum et Sphagnum palustre nous avons constaté la présence de deux sortes de poils mucigènes :

- le premier type est un filament unisérié terminé par une cellule mucigène ovoïde, arrondie au sommet ou même légèrement pointue (fig. 3 et fig. 4, pl. XXI). Le mucilage est sécrété à travers toute la paroi cellulaire ;

- le deuxième type de poil mucigène est également un filament unisérié dont la cellule mucigène est toujours ovoïde mais terminée par un pore (fig. 1 et fig. 2, pl. XXI). Le mucilage est ainsi exsudé par ce pore apical.

Il n'est pas rare d'observer dans ce deuxième type de cellule mucilagineuse de nombreuses hyphes mycéliennes (fig. 5, pl. XXI et fig. 3, pl. XXXI, en couleurs Dans une étude consacrée au genre Takakia (Hépatique), PROSKAUER (112, 1962)avait déjà remarqué la présence de filaments mycéliens dans les poils mucigènes terminés par un pore. On retrouve le même phénomène chez Haplomitrium et Calobryum (Hépatiques).

Aspect phylogénétique , valeur systématique

Chez S. palustre, S. magellanicum et S. centrale on a toujours compté deux cellules. Si, comme l'indique BONNOT (19, 1968), le caractère multicellulaire des poils mucigènes est primitif par rapport à l'état paucicellulaire, on remarque alors pour notre matériel la parfaite concordance entre ce caractère évolué des poils mucigènes et celui du tissu hétérodictyé. Tout ceci renforce le point de vue selon lequel les Sphaignes constituent un groupe relativement récent, dérivé d'ancêtres à tissu foliaire homodictyé se rangeant sans doute dans le rameau des Dicranales.

Le nombre élevé de poils à l'aisselle de chaque feuille est un caractère primitif par rapport à un nombre faible. Les Sphaignes, qui possèdent deux à trois poils cellulaires par aisselle de feuilles, se placent également comme les Hypnales dans les groupes les plus évolués. Là aussi il y a eu évolution par réduction.

Chez les trois Sphaignes étudiées il existe, comme chez les Hypnales, à la base de chaque poil, un type cellulaire particulier : la cellule séparatrice qui entraîne et explique la caducité du poil après sa phase fonctionnelle. Chez les

PLANCHE XXI : Morphologie des poils mucigènes

Fig. 1. - S. magellanicum. Poil mucigène composé d'une cellule basale (cb) et d'une cellule sécrétrice ovoïde (cm). A l'extrémité de la cellule mucigène, on observe un pore apical. Fixation : OsO_4 . G x 1 400.

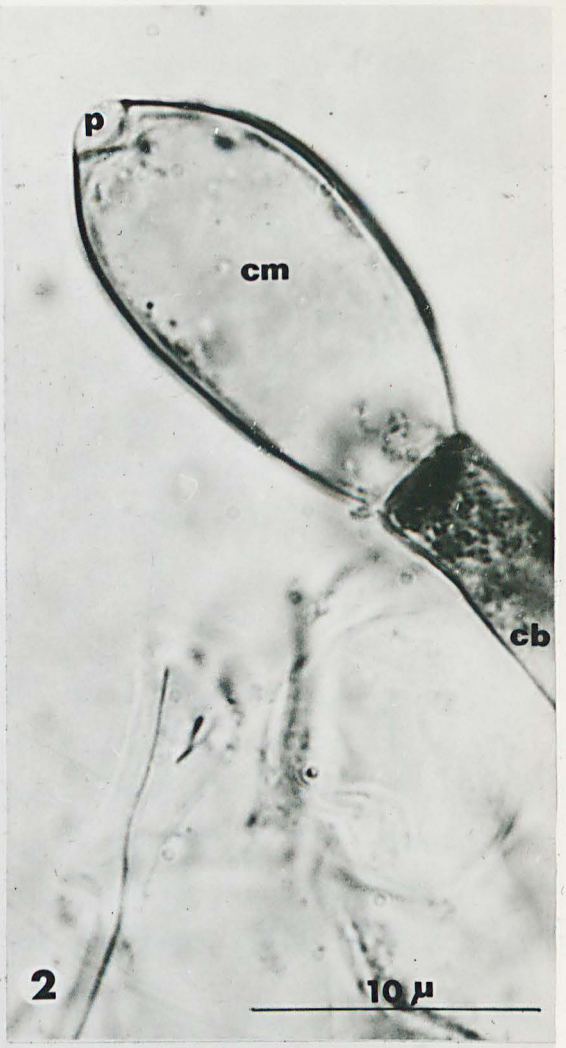
Fig. 2. - S. palustre. Poil mucigène à cellule sécrétrice (cm) possédant un pore apical (p). Coupe traitée au DAB pour la mise en évidence des peroxydases. G x 4 000.

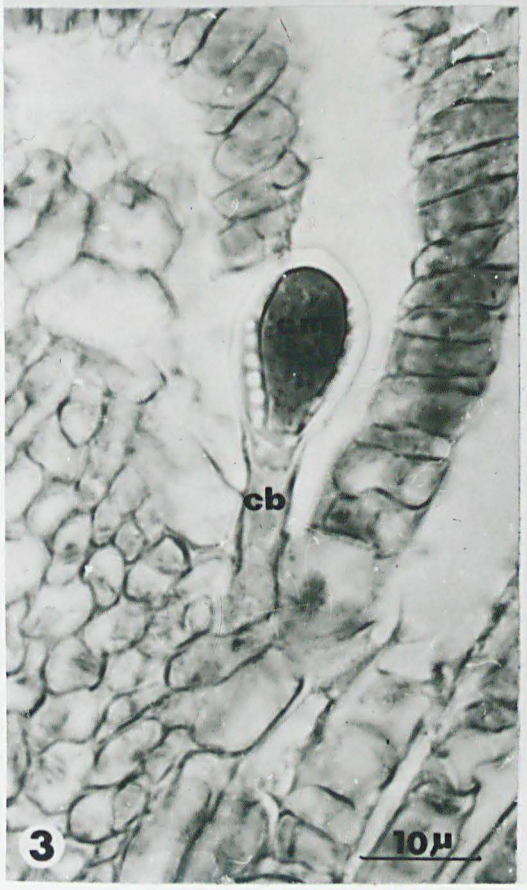
Fig. 3. - S. magellanicum. Poil mucigène à cellule sécrétrice (cm) sans pore. Fixation : OsO_4 . G x 1600.

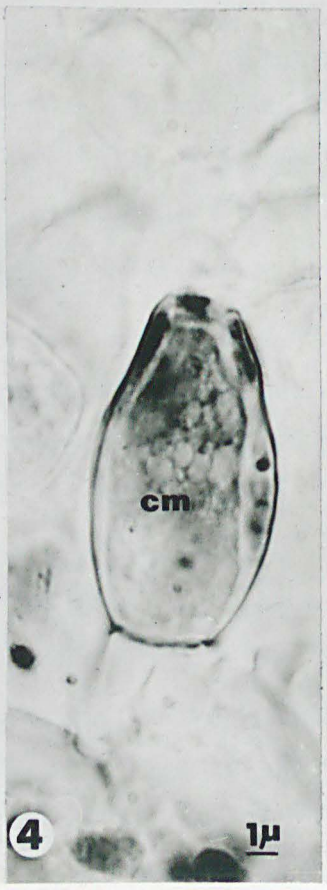
Fig. 4. - S. palustre. Poil mucigène à cellule sécrétrice (cm) sans pore. Coupe traitée pour la mise en évidence de la phophatase acide : méthode de GOMORI. G x 3400.

Fig. 5. - S. palustre. Mycélium (ch) sortant de la cellule mucigène par le pore apical(p). Coupe traitée pour la mise en évidence de la phosphatase acide : méthode de GOMORI. G x 1 600.

PLANCHE XXI : *POILS MUCIGENES*







BUS LILLE

Polytrics par contre il n'y a pas de cellule séparatrice à la base des poils mucigènes. La différenciation d'une partie basale séparatrice est un caractère évolué.

Structure en microscopie photonique

Les photographies en microscopie photonique n'apportent pas beaucoup de résultats. Les poils mucigènes observés présentent un cytoplasme granuleux dans lequel on note l'existence de plusieurs vacuoles. Le noyau, en général en position centrale dans la cellule mucigène, occupe un volume assez important par rapport aux autres constituants. Les chloroplastes ne sont pas visibles.

Ultrastructure des poils mucigènes

Les données de la microscopie photonique ne nous ont pas permis de connaître les caractères cytologiques fondamentaux des cellules des poils mucigènes. Une étude en microscopie électronique nous a aidée à identifier les différents constituants cellulaires. On est parvenu à distinguer deux stades dans l'évolution d'un poil mucigène : état méristématique ou peu différencié et phase fonctionnelle. En réalité, il est difficile d'observer en continuité, sur des coupes ultrafines, l'évolution d'un poil mucigène.

a) la phase méristématique

La forme de section des cellules de poils mucigènes, soit transversale, soit longitudinale, permet de reconnaître facilement leur appartenance au tissu mucigène. En effet, la paroi d'un poil mucigène de S. palustre, au stade indifférencié, montre une stratification bien nette (fig. 1, pl. XII). On distingue :

- une couche interne, granuleuse, représentant la paroi proprement dite ;

- une couche externe, cuticulaire, composée de deux feuillets : un feuillet externe mince et un feuillet interne plus épais, irrégulier. On retrouve ainsi la structure cuticulaire bilamellaire décrite par BAUER (6, 1956) sur des feuilles de Physcomitrium acuminatum (Mousses).

On observe un espace clair, assez large, entre la paroi proprement dite et la couche externe cuticulaire. A l'extérieur de la cuticule existe une couche représentant le mucilage exsudé sur toute la surface du poil mucigène.

Le cytoplasme de telles cellules est relativement compact. Les mitochondries présentent des crêtes internes de type "vésicules ampoulées" (fig. 3, pl. XXII) et ressemblent tout à fait aux mitochondries observées dans les cellules des

ébauches foliaires. Les ribosomes y sont très abondants et ces derniers se voient surtout réunis en polyribosomes (fig. 2, pl. XXII). Des fragments d'ergastoplasme sont discernables dans le cytoplasme pariétal. Les vacuoles, de taille moyenne, ont un contenu présentant un aspect finement réticulé. Les dictyosomes, peu nombreux, émettent d'innombrables petites vésicules que l'on observe dans le cytoplasme. En général, ils possèdent dix saccules golgiens (fig. 2, pl. XXII). On remarque enfin des vésicules sphériques avec un contenu plus dense que les vésicules golgiennes. Ce sont les "coated vesicles" signalées pour la première fois par BONNOT (19, 1968) chez les Muscinées.

b) la phase fonctionnelle

C'est une phase d'élaboration et de sécrétion du mucilage. Les organites commencent à dégénérer à l'intérieur du poil mucigène. Les chloroplastes devenus des amyloplastes se plaquent contre la paroi (fig. 1, pl. XXIII). Des corpuscules gris se trouvent ainsi intercalés entre les chloroplastes. Au centre de la cellule, on reconnaît une énorme vacuole. Autour de cette dernière se trouve la couche de mucilage, à structure microfibrillée, prêt à sortir de la cellule(fig.1,pl.XXIII). A la fin, les organites ne sont plus reconnaissables (fig. 2 et fig. 3, pl.XXIII). Puis tout le mucilage s'épanche à l'extérieur de la cellule. La cuticule se rompt et le mucilage s'échappe au dehors sous forme de traînées denses, d'aspect microfibrillaire très net sur la fig. 2, pl. XXIII. A ce moment, le poil mucigène est apte à jouer son rôle protecteur. La sécrétion mucigène retient l'eau et empêche la dessication de l'apex.

L'état enzymologique des cellules mucigènes fera l'objet d'une étude à la fin de ce même chapitre.

II. Discussion

Il ne nous a pas été possible de suivre la deuxième phase de sécrétion, appelée par BONNOT spécialisation cytologique. Elle aurait certainement apporté des éléments nouveaux en ce qui concerne le matériel sphagnologique étudié.

A l'état méristématique, chez S. palustre, le nombre de dictyosomes est peu élevé ; par contre, l'activité s'y manifeste par l'émission intense de vésicules golgiennes. Il est probable que le nombre des dictyosomes, dans la phase de "spécialisation cytologique", augmente. BONNOT pense qu'il peut y en avoir 2 à 300 dans chaque cellule mucigène de Thuidium tamariscinum par exemple. Le nombre de dictyosomes varie par cellule avec l'état physiologique de cette dernière.

PLANCHE XXII : Poils mucigènes

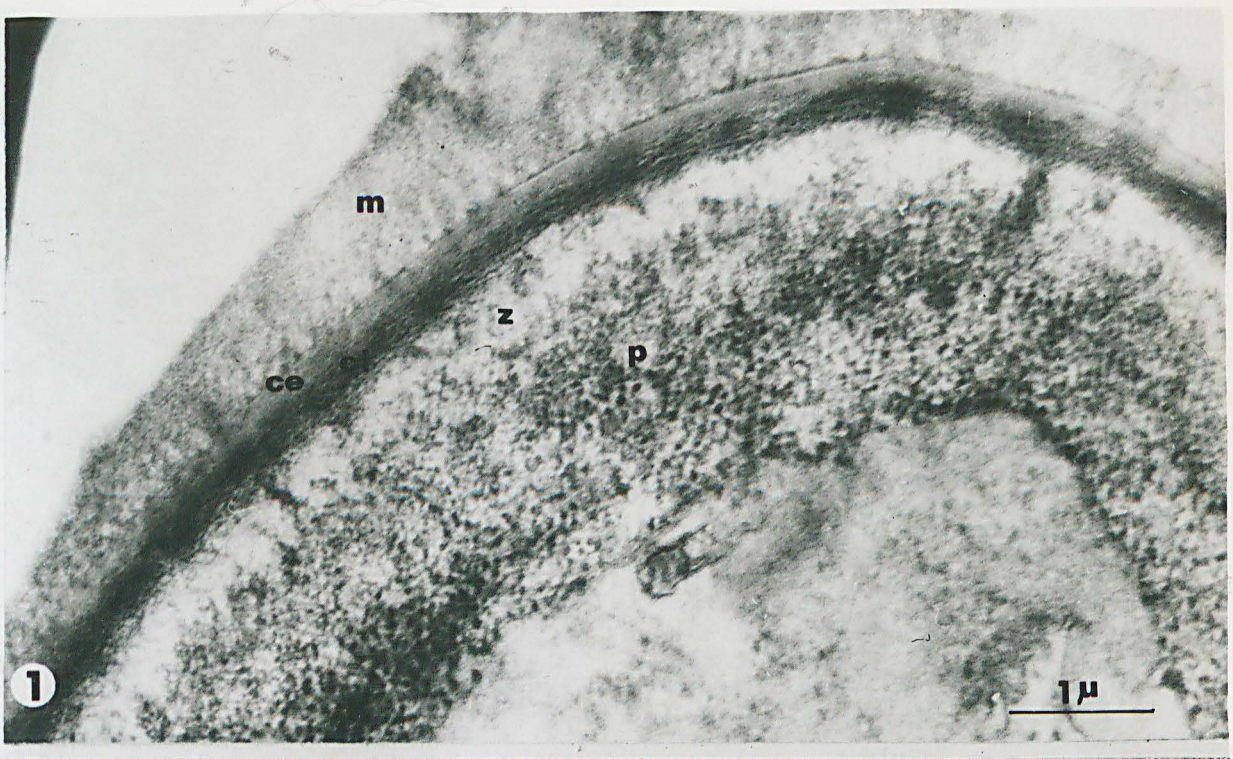
Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : épon - araldite.

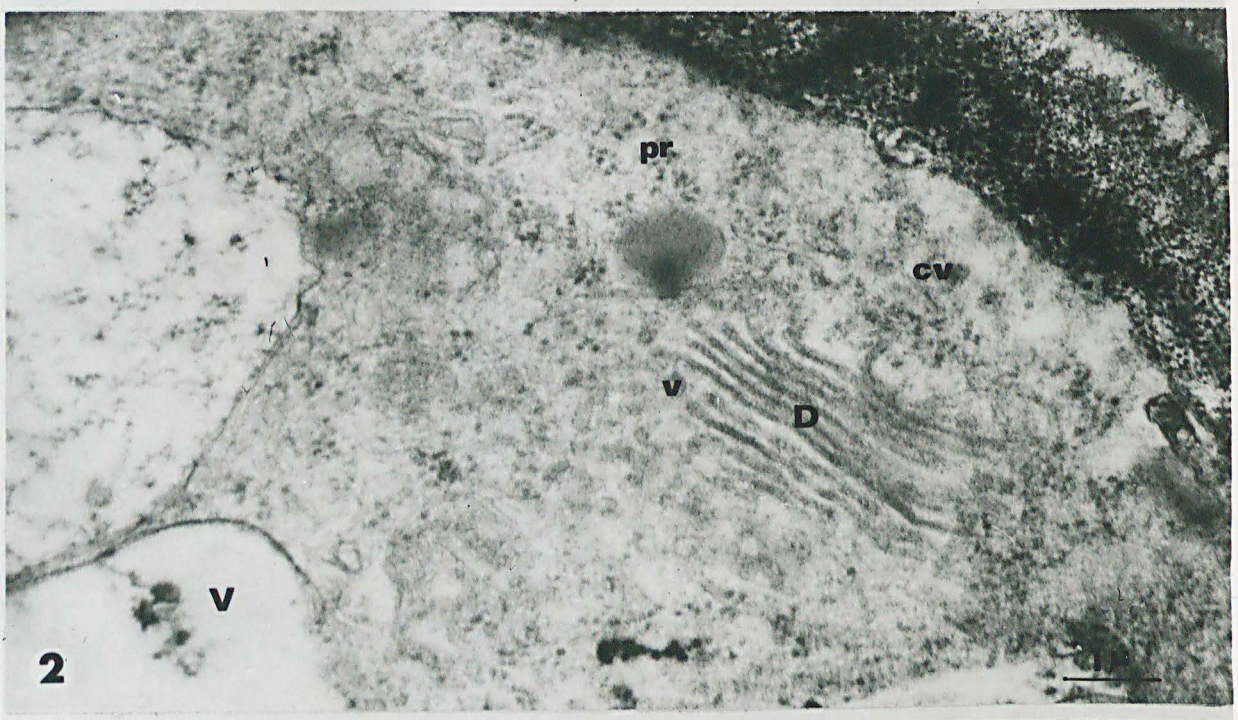
Fig. 1. - S. palustre. Stratification de la paroi d'un poil mucigène. On reconnaît de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule: le mucilage (m), la cuticule avec face externe (ce) et face interne (ci), une zone claire (z) et la paroi proprement dite, granuleuse (p). G x 20 000.

Fig. 2. - S. palustre. Ultrastructure d'un poil mucigène. On y observe des polyribosomes (pr) très nombreux, des vacuoles (V), un dictyosome (D) à 11 saccules golgiens émettant des vésicules (v) et des "coated vesicles". G x 13 000.

Fig. 3. - S. palustre. De nombreuses mitochondries (M) de type "vésicules ampoulées" sont visibles dans le cytoplasme d'une cellule à mucilage. G x 16 000.

PLANCHE XXII : *POILS MUCIGENES*





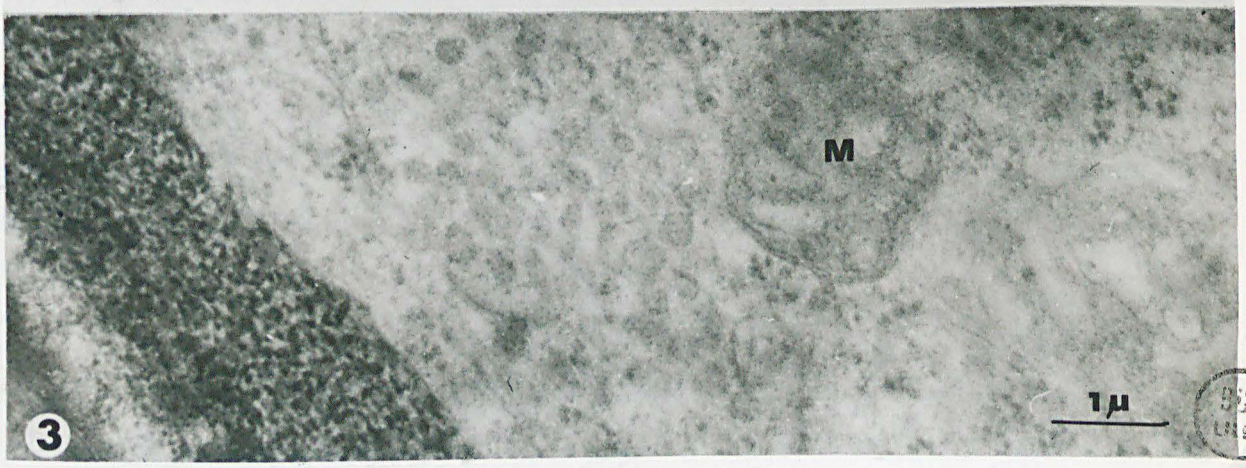


PLANCHE XXIII : Poils mucigènes

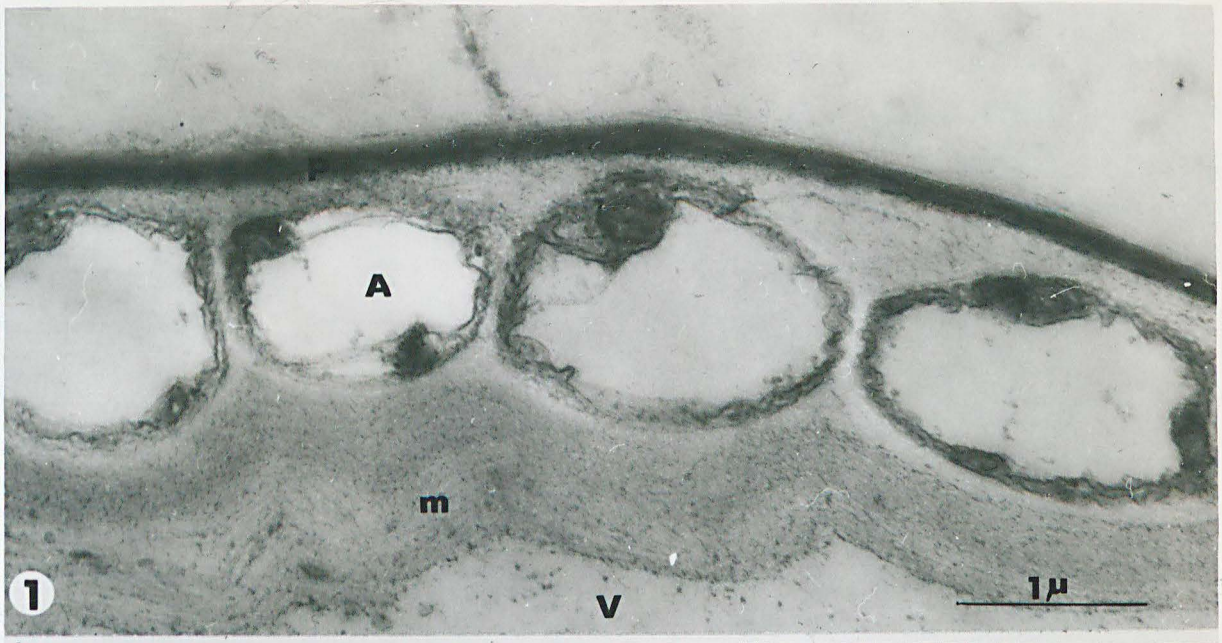
Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : épon - araldite.

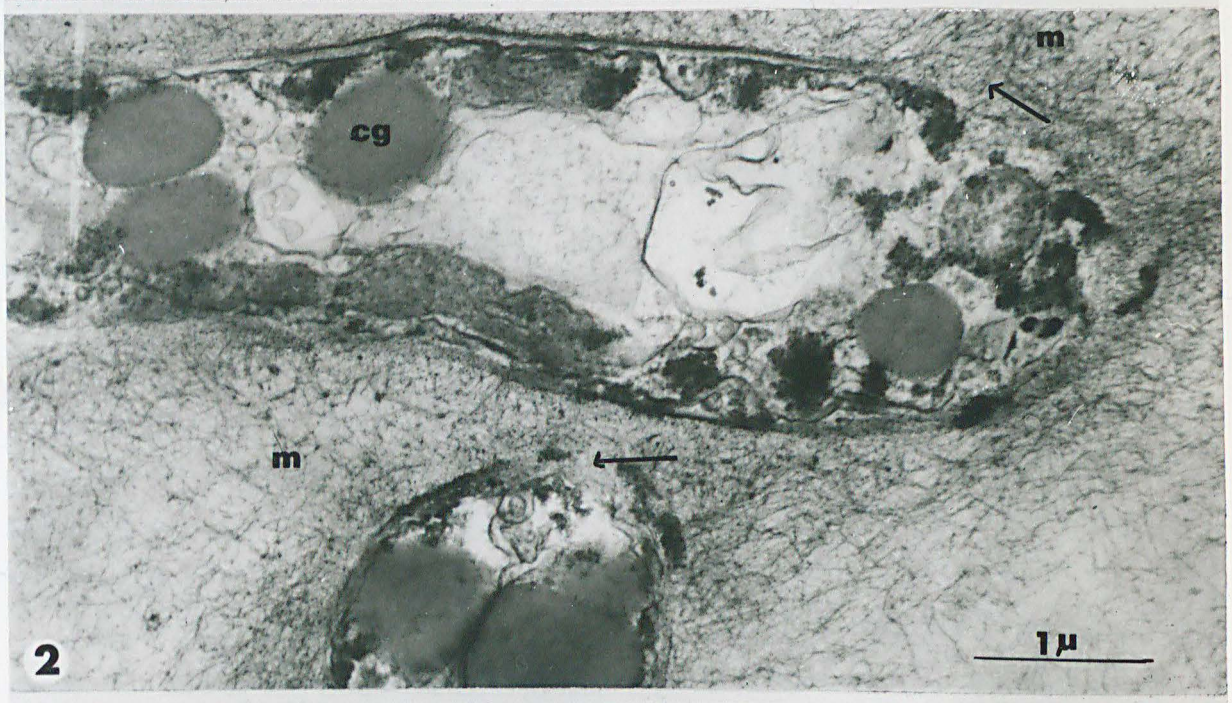
Fig. 1. - S. centrale. Les chloroplastes , devenus des amyloplastes (A), se plaquent contre la paroi (P) de la cellule mucigène. Au centre de la cellule on observe une vacuole unique (V). Une couche assez large de mucilage (m) est visible à la périphérie de la vacuole. G x 26 000.

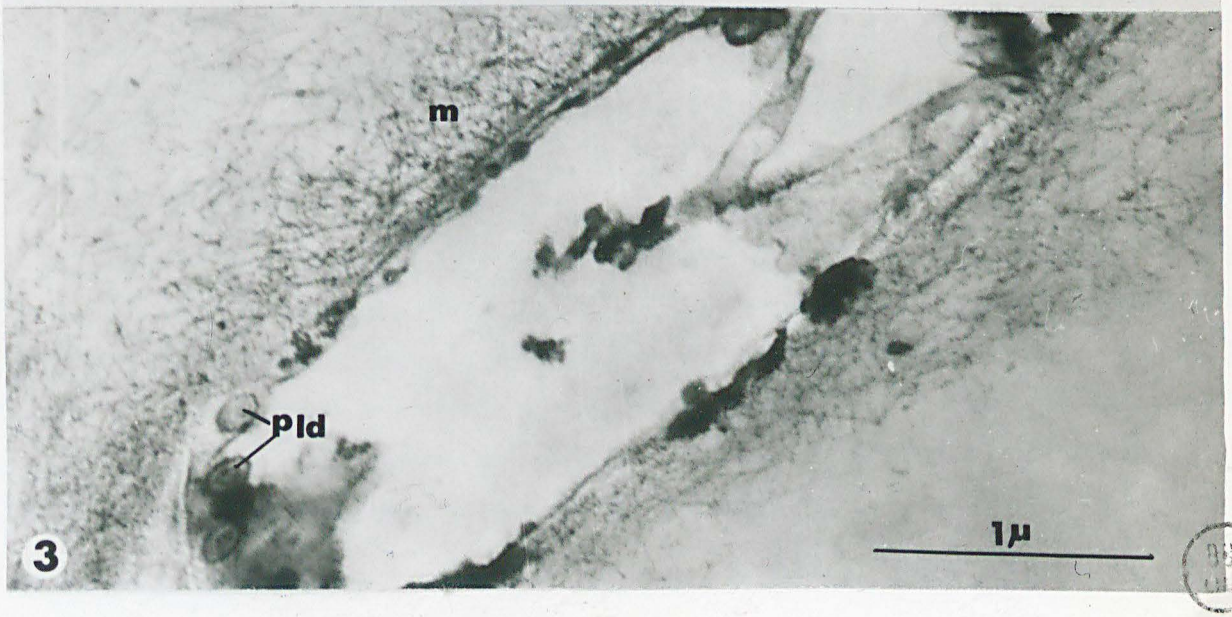
Fig. 2. - S. centrale. Le mucilage est au stade de la phase fonctionnelle. On reconnaît les corpuscules gris (cg) contre la paroi. Le mucilage (m) s'est échappé à l'extérieur. Noter la rupture de la cuticule (flèche) sur 2 poils mucigènes. G x 24 000.

Fig. 3. - S. centrale. Le poil mucigène s'est vidé de son mucilage qui se trouve à l'extérieur. Aucun organite n'y est reconnaissable. Seuls quelques plasmodesmes (pld) sont visibles sur la paroi. G x 38 000.

PLANCHE XXIII : *POILS MUCIGENES*







BES

FINERAN (53, 1966) l'évalue à 8 par cellule proméristématique chez Ranunculus hirtus, SITTE (124, 1958) à 30 chez le Pois, WHALEY et al. (141, 1959) à plusieurs centaines dans les cellules de la coiffe de Zea mays. Cette dernière remarque est d'ailleurs intéressante car les cellules de la coiffe sécrètent du mucilage protecteur de l'apex des racines. HERLANT (71, 1964) rappelle de nombreux exemples de phénomènes golgiens liés à la sécrétion dans divers cas de cellules animales. Chez les végétaux, les études ultrastructurales de tissus sécréteurs arrivent à une conclusion identique.

Nos études sur les poils mucigènes de Sphagnum viennent donc s'inscrire dans le cadre d'un mécanisme biologique cellulaire général. A l'intérieur du groupe même des Bryophytes, l'étude descriptive des poils mucigènes nous a permis de dégager un certain nombre de conclusions générales et de rechercher des caractères évolutifs. Ces derniers avaient déjà été mis en évidence par BONNOT pour la classe des Mousses. Avec tous ces résultats nous pensons que les Sphaignes constituent, dans les Bryophytes, l'ordre le plus évolué.

LES ORIFICES DE LA PAROI

Emprisonnées dans leur cadre pecto-cellulosique, les cellules végétales typiques ne sont cependant pas des entités vivantes isolées. Cette paroi squelettique comporte des solutions de continuité, de taille et de structure variées, dont la signification physiologique ou biologique est fort diverse.

Les plus généraux de ces orifices sont les plasmodesmes, les ponctuations, les perforations et les pores.

A) Les plasmodesmes

I. Historique

Les premières observations ont été faites par KIENITZ-GERLOFF (77, 1891) qui signale ainsi l'existence de communications intercellulaires. La même année, KOHL (79, 1900) étudie les plasmodesmes chez les Algues. Mais, étant donnée la taille de ceux-ci, les auteurs ont mis en évidence non pas des liaisons cytoplasmiques mais des ponctuations remplies de cytoplasme. Certains d'entre eux les désignent improprement sous le nom de pores (terme qui, comme nous le verrons

plus tard, doit être réservé au véritable orifice de grande taille traversant une paroi).

Les vrais plasmodesmes ont été étudiés plus tard en microscopie photonique chez les Hépatiques par WIEGAND (142, 1954). Les premières images en microscopie électronique ont été occasionnelles. Ainsi HEITZ (1957) est le premier à les photographier chez Riccardia pinguis. C'est le cas aussi des documents donnés par FALK et SITTE (51, 1963) sur Atrichum undulatum. On y trouve une micrographie électronique de cellule foliaire comportant trois plasmodesmes. Plus tard, en 1967, BONNOT (17) fait l'étude des plasmodesmes dans un méristème caulinaire de Thuidium tamariscinum, Hylocomium splendens, et dans le tissu spermatogène de Pogonatum aloides.

Plusieurs auteurs ont évalué la densité plasmodesmique chez différents groupes de végétaux. Ainsi on trouve de 10 à 38 plasmodesmes chez les cellules cambiales de Viscum album (KUHLA, 82, 1900) ; de 600 à 700 dans les cellules méristématiques radiculaires d'Allium cepa (STRUGGER, 127, 1957) ; de 1500 à 6000 dans les cellules corticales de Viscum album (KRULL, 81, 1960) ; de 5600 à 6400 chez Thuidium tamariscinum et de 5350 à 6400 chez Hylocomium splendens (BONNOT, 19, 1968).

Des mesures du diamètre des plasmodesmes ont également été réalisées chez différents groupes de végétaux. Les études ont donné les résultats suivants :

- phloème de Sorbus aucuparia : 20-500 nm (VOLZ, 137, 1952);
- phloème de Metasequoia glyptostroboides : 50 à 60 nm (KOLLMANN et SCHUMACHER, 80, 1962);
- cellules de Nitella translucens : 62-121 nm (SPANSWICK et coll., 125, 1967);
- poils foliaires de Tillandsia usneoides : 50-70 nm (DOLZMANN,45, 1965);
- hyphes-trompettes de Laminaria : 50-100 nm (ZIEGLER et RUCK, 144, 1967) ;
- cellules-mères des microspores de tomates : 200 nm-380 nm (CIOBANU, 32, 1969).

II. Recherches personnelles

Nos observations ont porté sur deux espèces : Sphagnum palustre et Sphagnum centrale. Nous avons étudié des plasmodesmes de cellules méristématiques et de cellules en dégénérescence.

Les observations

a) Répartition

La figure 1 de la pl. XXIV montre des cellules de Sphagnum centrale à plasmodesmes répartis avec une certaine uniformité sur toute la coupe de la paroi. Ce sont des plasmodesmes solitaires au sens de KOHL (79, 1900). Ce terme ne nous satisfait pas et nous adoptons l'expression de plasmodesmes isodispersés régulièrement sur toute la paroi (BONNOT, 17, 1967). Parfois, au contraire, ils sont localisés en des endroits déterminés de la paroi (fig. 2, pl. XXIV). Ce sont les plasmodesmes agrégés (KOHL, 78, 1891). Entre ces groupes de plasmodesmes, la paroi est renflée.

b) Densité plasmodesmique

Lorsque la paroi est coupée tangentiellement, les plasmodesmes sont vus de face. On peut alors évaluer la densité plasmodesmique. Les exemples illustrés ont donné les résultats suivants, en nombre de plasmodesmes pour 100 µ2 :

Sphagnum centrale (fig. 2, pl. XXV) = 2000 plasmodesmes/100 µ2
Sphagnum palustre (fig. 3, pl. XXIV) = 2700 plasmodesmes/100 µ2

La densité plasmodesmique s'établit autour de 2300 pour les deux espèces de Sphagnum. Elle est inférieure à celle trouvée chez les exemples de Mousses donnés par BONNOT; néanmoins, ces chiffres montrent combien les relations entre cellules sont importantes.

c) Dimensions

Les mesures sur les micrographies électroniques permettent de déterminer les dimensions moyennes suivantes (fig. 3, pl. XXIV ; fig. 1 et 2, pl. XXV) :

Diamètre : 100 nm
Longueur : 300 nm

Les grandeurs indiquées sont, comme nous l'avons vu dans la première partie, rarement inférieures à 20 nm et rarement supérieures à 70 nm. Ceux des cellules de tomates ont au contraire des plasmodesmes dont le diamètre dépasse 100 nm. C'est justement leur très grand diamètre qui permet le passage, sur leur trajet, non seulement du cytoplasme et des ribosomes, mais aussi d'autres organites cellulaires (mitochondries et proplastes) comme nous le voyons sur l'illustration du travail de CIOBANU. En fait, ce ne sont pas de vrais plasmodesmes mais des canaux.

Seuls ceux des Characées et des Champignons peuvent atteindre aussi une valeur supérieure à 100 nm. Mais il convient de préciser ce que l'on mesure

PLANCHE XXIV : Les plasmodesmes

Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : épon - araldite.

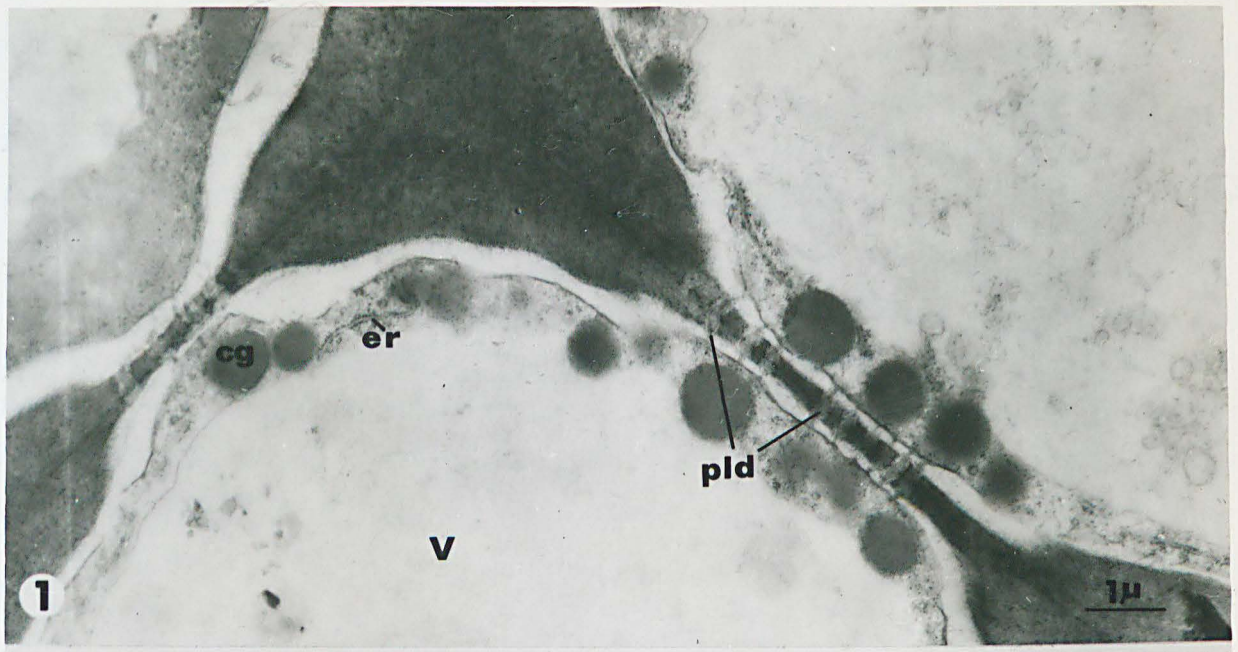
Fig. 1. - S. centrale. Les deux cellules sont séparées par une paroi à plasmodesmes (pld) isodispersés. Le contenu de ces derniers est très dense aux électrons. On reconnaît dans les cellules : les vacuoles (V), les corpuscules gris (cg), l'ergastoplasme (er). G x 11 000.

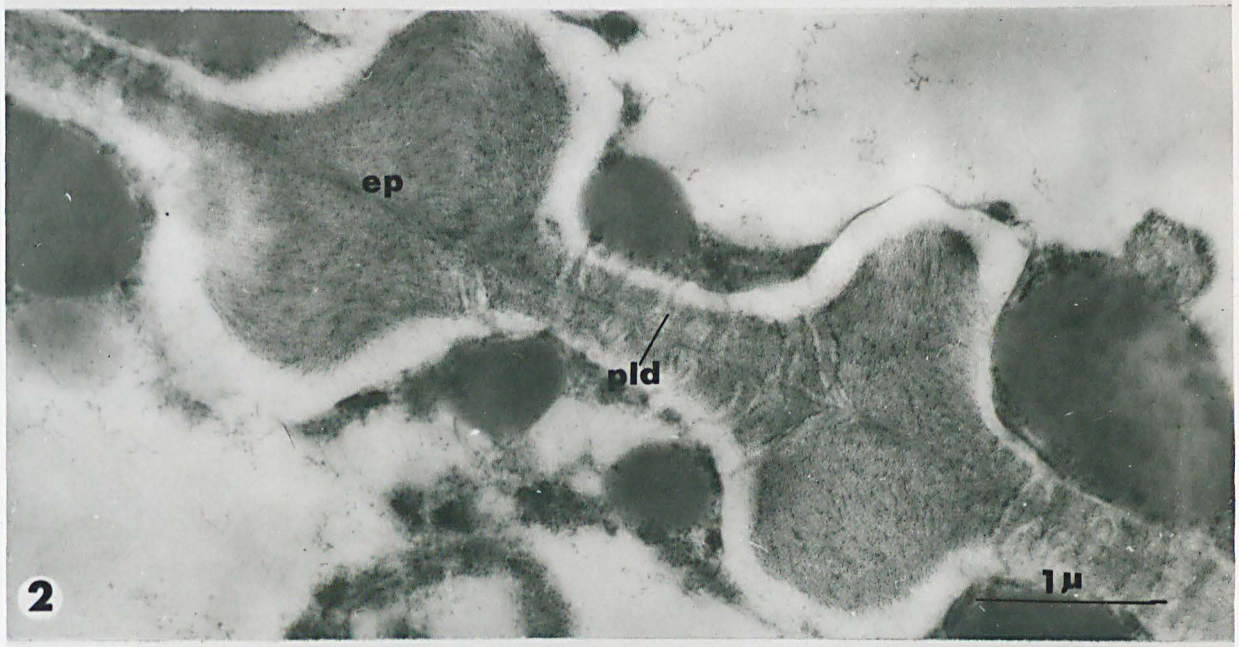
Fig. 2. - S. centrale. Plasmodesmes agrégés (pld). On observe des épaississements pariétaux (ep) sans plasmodesmes. G x 26 000.

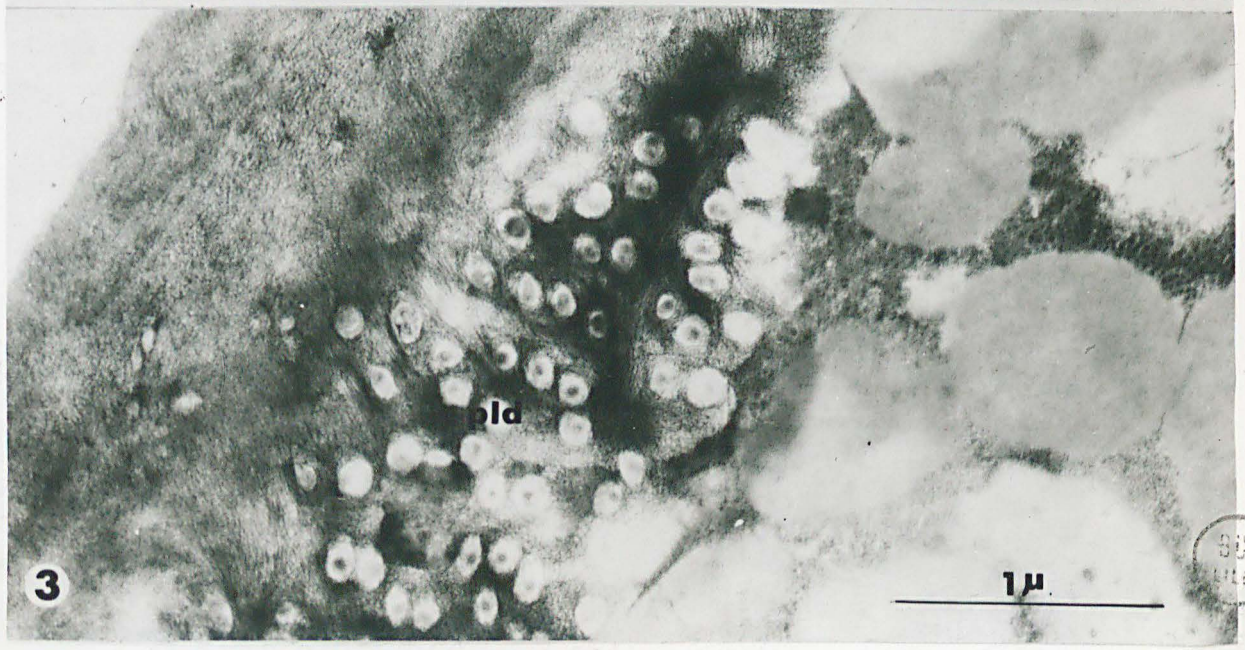
Fig. 3. - S. palustre. Plasmodesmes (pld) vus en coupe transversale. G x 37 000.

250 3810

PLANCHE XXIV : *PLASMODESMES*







BUS LILLE

PLANCHE XXV : Les plasmodesmes

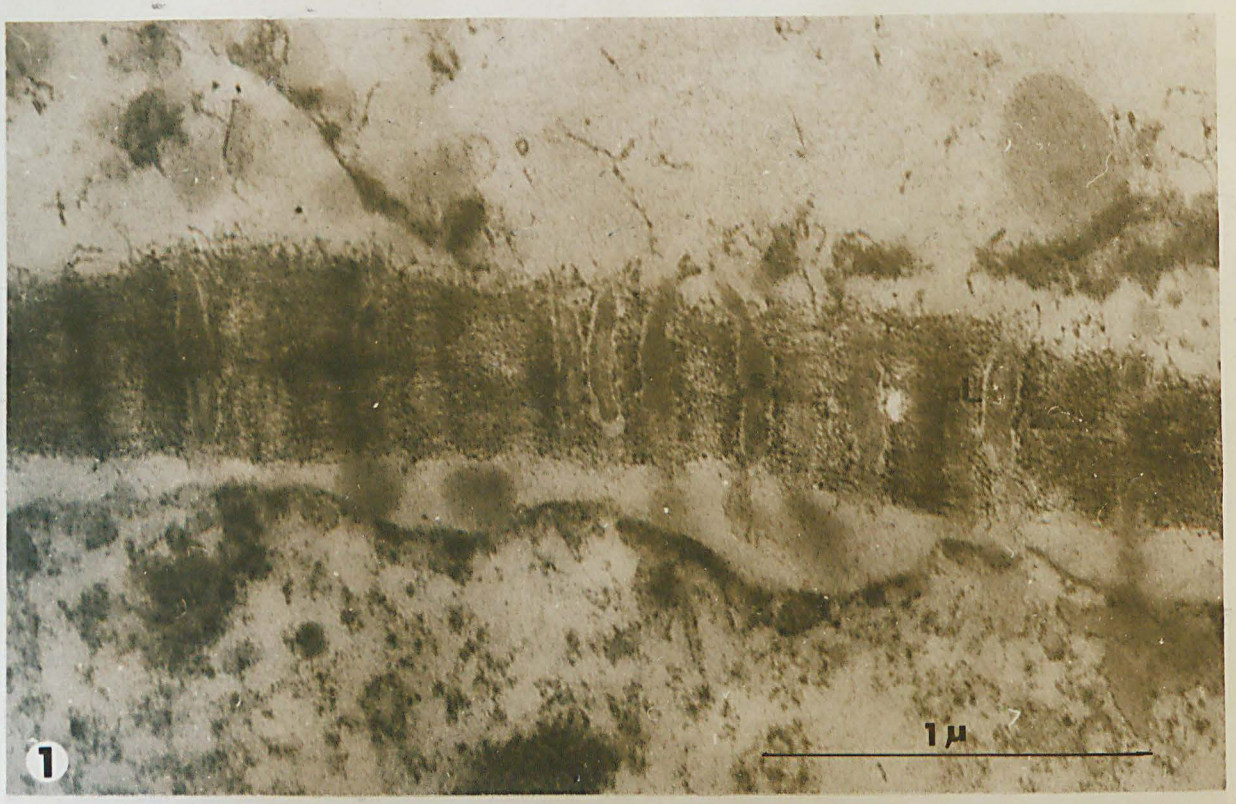
Fixation : glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : épon - araldite.

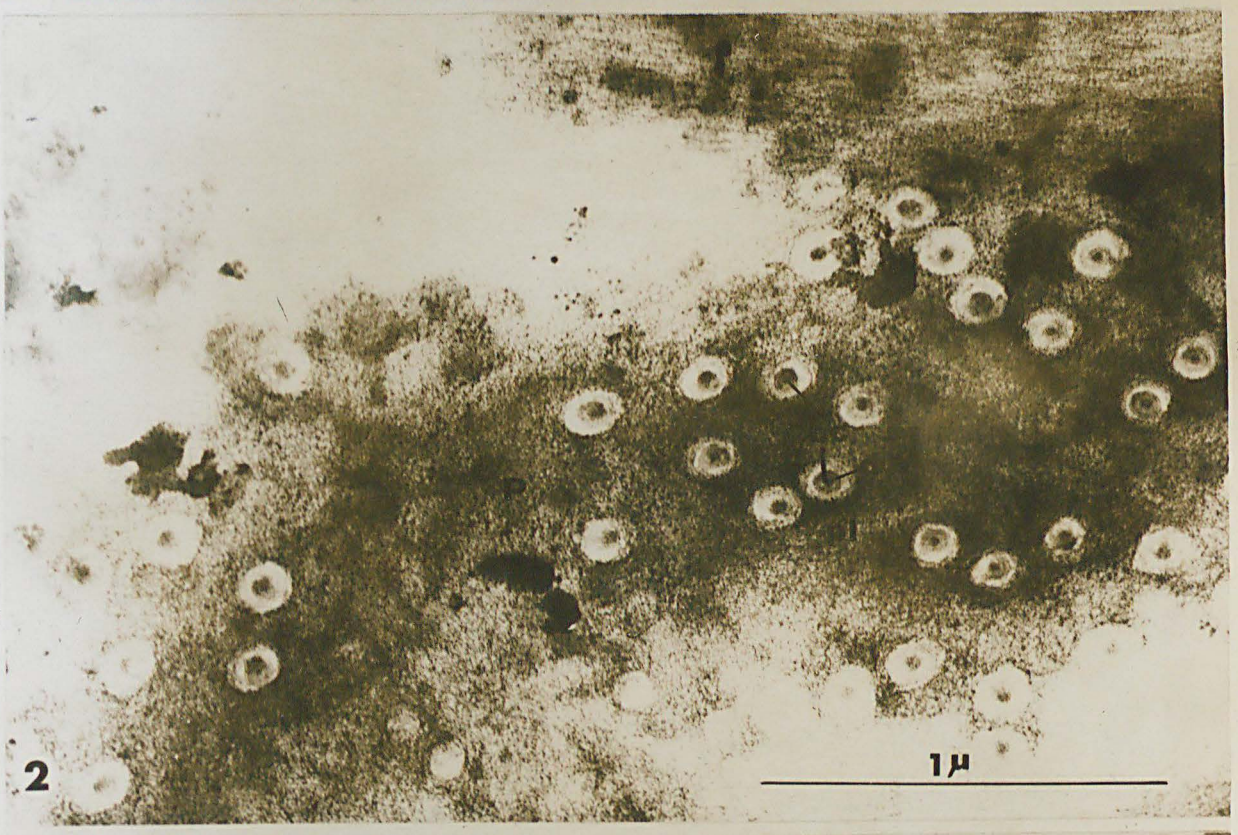
Fig. 1. - S. centrale. Structure des plasmodesmes sur une paroi coupée longitudinalement. Les canalicules sont remplis d'une substance osmiophile (s) et sont tapissés par le plasmalemme (pl). G x 54 000.

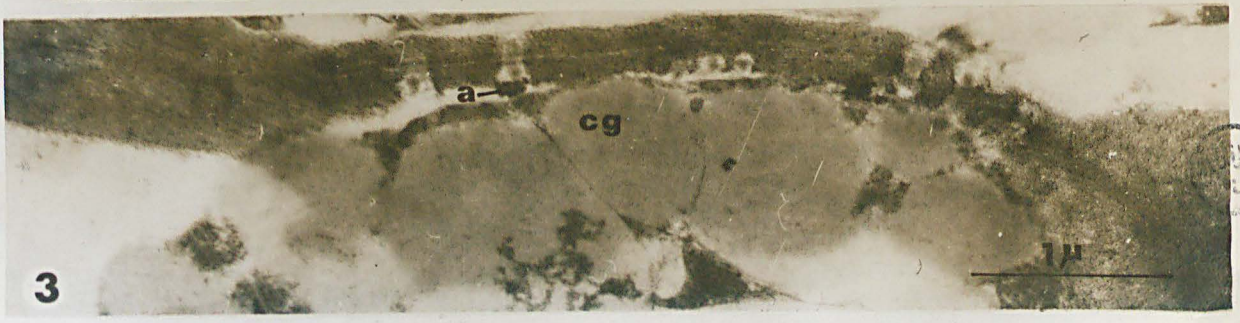
Fig. 2. - S. centrale. Structure des plasmodesmes sur une paroi coupée tangentiellement. P, paroi ; d, desmotubule ; bc, baguette centrale ; pl, plasmalemme. G x 55 000.

Fig. 3. - S. palustre. Une extrémité d'un plasmodesme est bouchée par l'anneau de BUVAT (terme employé par BONNOT) ; cg, corpuscules gris. G x 27 000.

PLANCHE XXV : *PLASMODESMES*







- par leur relation avec divers éléments de la cellule, ils jouent certainement un rôle dans les processus d'élaboration de la paroi pecto-cellulosique (hypothèse émise par BUVAT, 25, 1963).

B) Les ponctuations

Les ponctuations, de formation plus tardive, sont des orifices incomplets en ce sens qu'une partie de la paroi intercellulaire subsiste dans leur structure.

C) Les perforations

Les perforations, de taille élevée, dont les plus évoluées sont des trous simples, assurent chez les Trachyéophytes la liaison entre le lumen de deux cellules mortes, vides de matière vivante : les éléments de vaisseaux ligneux.

D) Les pores

Les orifices étudiés ici semblent bien différents de ces trois structures : ils font communiquer le lumen d'une cellule morte avec le milieu extérieur. C'est à eux qu'il faut réserver le nom de pores ; les cellules qui en possèdent sont dites poreuses (FABRE, 50, 1973).

Chez les Bryophytes, de telles différenciations d'une paroi externe sont l'apanage des Sphagnales et de certaines Dicranales évoluées (Leucobryacées) dont on admet justement qu'elles représentent un certain palier d'évolution sur la voie phylogénétique ayant conduit aux Sphagnales.

La porosité des Sphaignes n'est pas répartie d'une manière quelconque. Elle est en corrélation avec la structure hétérogène des tissus, notamment au niveau des feuilles. Ce tissu foliaire comporte comme nous l'avons vu deux types de cellules, les chlorocystes et les hyalocystes. Ce sont ces derniers, uniquement, qui présentent le caractère de porosité, ainsi que le montre l'observation du tissu foliaire au microscope photonique chez Sphagnum palustre, surtout après coloration des parois au vert d'iode. Ces pores possèdent, par leur morphologie et leur répartition, une grande valeur systématique largement utilisée, depuis RUSSOW suivi par WARNSTORF, dans la distinction des coupures taxonomiques à l'intérieur du genre Sphagnum. Quatre types morphologiques essentiels ont été reconnus : pores immarginés, annelés, aréolés, et pseudopores.

Ils existent au niveau des feuilles, ainsi que des tiges et des rameaux lorsque ces organes sont pourvus d'un hyaloderme. Par contre, leur mode d'apparition et de formation au cours de l'ontogenèse n'est pas encore élucidé. Une première tentative dans le dessein de contribuer à résoudre le problème a consisté à préciser la morphologie et la structure des pores par une étude en microscopie électronique à balayage.

Les micrographies électroniques obtenues font apparaître le relief externe, fort complexe, des faces foliaires (fig. 1, pl. XXVII).

I. Données morphologiques

Chez l'espèce étudiée, Sphagnum palustre, il existe deux des quatre types de pores de la terminologie classique : des pores immarginés et des pores annelés.

Les trous immarginés

Ils ressemblent à des perforations simples de Trachéophytes, mais ils font communiquer la cellule avec le milieu extérieur. Ils n'ont ni marge, ni épaississement annulaire, d'où leur nom. Les plus typiques sont circulaires (fig. 2, pl. XXVII), mais sur certaines feuilles la paroi externe (abaxiale) des hyalocystes est presque totalement résorbée. Dans ce cas, le rayonnement électronique pénètre dans la cellule et permet la mise en évidence des fibrilles spiralées de soutien disposées à la face interne de la paroi (fig. 3, pl. XXVII).

Les pores annelés

Les pores annelés sont limités par un rebord plus ou moins épais, sorte de marge renforcée paraissant jouer un rôle de protection contre les déchirures comme l'indique LORCH (92, 1931). Leur forme circulaire est toujours très régulière. Souvent la rigidité de cet "anneau" induit à son niveau la formation de stries ou de plis rayonnants de la cuticule (fig. 4, pl. XXVII).

II. La genèse des pores

Le mécanisme de formation de ces différenciations pariétales est loin d'être élucidé. Les anciens auteurs, ne pouvant guère aborder ce problème avec le seul microscope photonique, se sont limités à rechercher l'existence éventuelle

d'une relation entre la densité porale et les conditions écologiques, notamment le facteur hydrique. Pour SCHIMPER, l'anneau se forme aux dépens de la paroi qui occupait la place du pore annelé ; mais cela ne peut s'appliquer qu'aux pores annelés et non aux pores immarginés. DURHAM (47, 1937) observe, chez Sphagnum recurvum, la formation d'amincissements ponctiformes (thin spots) colorables au brun Bismarck et au niveau desquels la paroi disparaît. Ce phénomène se fait soit par résorption par la cellule, soit par destruction d'origine bactérienne ou autre.

ZEPF (143, 1952), dans une importante étude sur les feuilles de Sphagnum palustre, met en évidence une différenciation interne des hyalocystes, la densité du cytoplasme étant la plus faible au niveau de la zone d'apparition du pore. MOZINGO et coll. (105, 1969) obtiennent des micrographies électroniques à balayage de ces aires circulaires ; mais ils n'en tirent aucune conclusion ontogénique. Ils pensent que la paroi se déchire par rétrécissement dû à la dessication, les stries rayonnantes pouvant être une conséquence de cette dernière.

Selon nos observations, il existe des pores d'origines différentes :

- pore d'origine externe

Chez Sphagnum palustre, le site de formation d'un pore se présente sous forme d'une dépression circulaire (fig. 5 et 6, pl. XXVII) dont le contour peut être souligné par une fibrille (fig. 7, pl. XXVII). La minceur du diaphragme qui obture cette aire est indiquée par son aspect ondulé, plissé, déchiré en boutonnière (fig. 6, pl. XXVII) ou irrégulièrement (fig. 7, pl. XXVII). On conçoit que cette zone circulaire puisse se trouver détruite, éliminée non seulement par suite de sa fragilité, mais aussi de sa moindre différenciation par rapport à la paroi générale.

- pore d'origine interne

Les images détaillées (fig. 4, pl. XXVII) des pores annelés conduisent à admettre pour certains pores un mode de formation différent, en relation avec la position, dans le hyalocyste, du site de genèse du pore. Lorsqu'on observe la surface foliaire abaxiale, des pores y sont jumelés et même souvent associés par trois (fig. 4 et fig. 9, pl. XXVII). Leur disposition, leur taille et leur jonction partielle démontrent que leur formation n'est pas indépendante. Elle s'explique par le fait que, au cours de l'ontogenèse foliaire, il existe une phase pendant laquelle deux hyalocystes voisins (parfois trois) sont partiellement en contiguïté. Au moment où la surface foliaire s'épanouit, ces hyalocystes s'écartent par une sorte de délamination de cette paroi commune ; les pores se séparent (fig. 4, pl. XXVII). Il faut donc admettre que, d'une cellule à

PLANCHE XXVII : Les pores chez Sphagnum palustre

Fig. 1. - Feuille raméale cymbiforme typique de la section Palustria. G x 760.

Fig. 2. - Pore immarginé (p) à la base d'un hyalocyste d'une feuille caulinaire. G x 2 800.

Fig. 3 - Lacunes pariétales de la face dorsale des hyalocystes ; fibrilles (f) internes spiralées rendues visibles par la résorption de la paroi. G x 3 800.

Fig. 4. - Deux pores jumelés provenant de la délamination de la paroi commune à deux hyalocystes ; an, anneau ; st, stries rayonnantes à la périphérie de de l'anneau. G x 12 000.

Fig. 5. - Dépression correspondant à l'emplacement d'un pore. Diaphragme intact. G x 9 000.

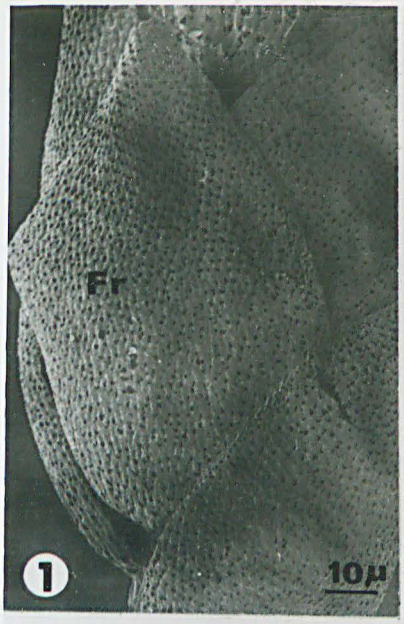
Fig. 6. - Déchirement "en boutonnière" du diaphragme. G x 4 000.

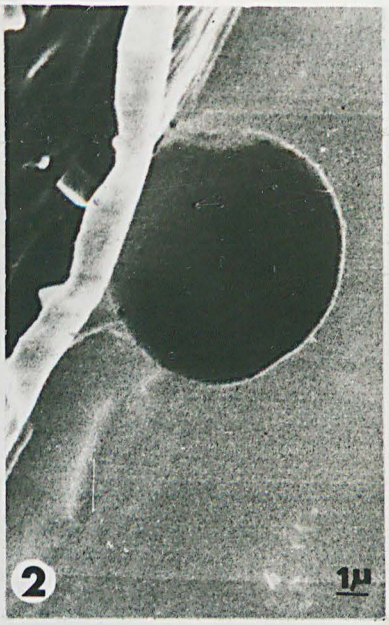
Fig. 7. Fibrille limitante d'un pore en voie de formation. Cette fibrille n'est pas véritablement circulaire ni fermée (flèche) ; elle correspond plutôt à l'extrémité d'une spirale. G x 7 600.

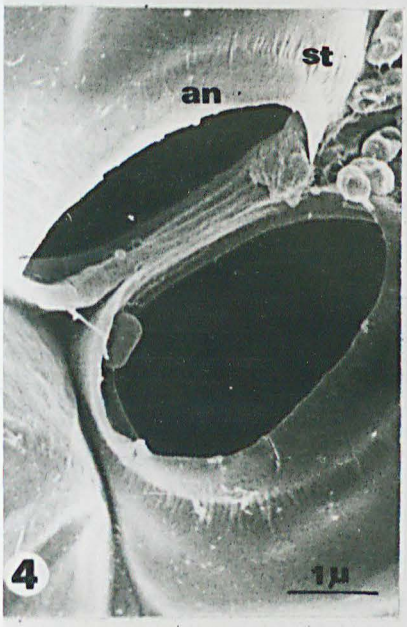
Fig. 8. - Pore achevé provenant d'une structure semblable à celle que représente la fig. 7. G x 9 000.

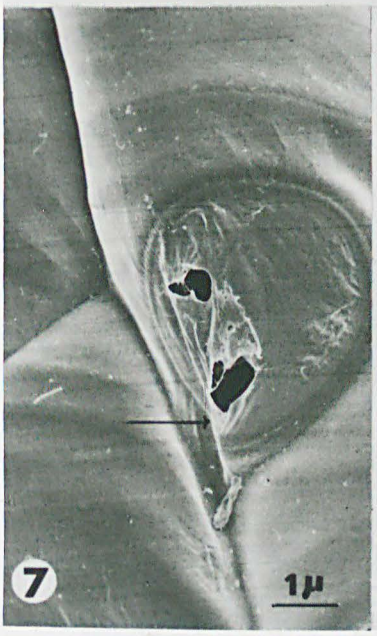
Fig. 9. - Pores (p) associés par 2 ou 3 et provenant de cellules différentes. G x 2 000.

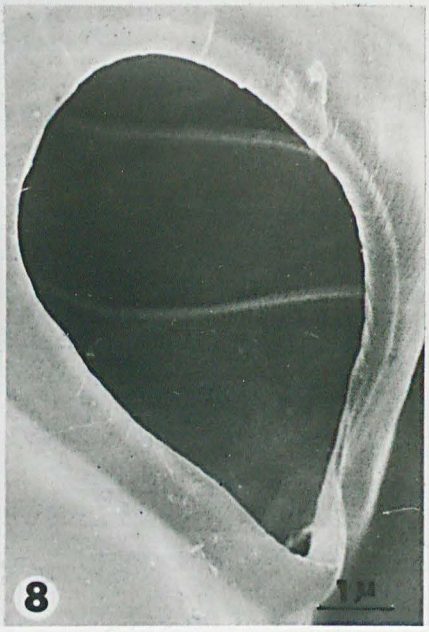
Technique : microscopie électronique à balayage.

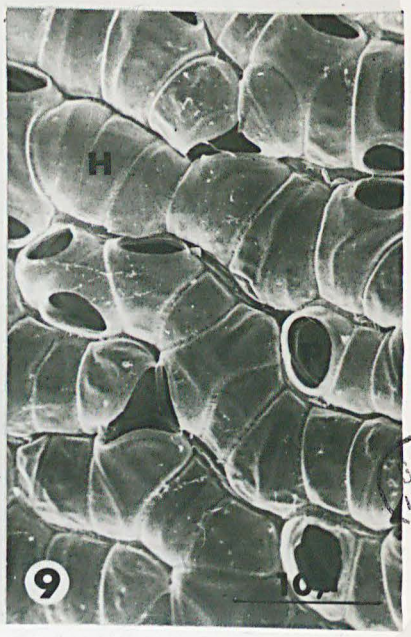












BUS LILLE

l'autre, les cytoplasmes présentaient des différenciations correspondantes.

Ce fait biologique est important. Ainsi se trouve singulièrement accentuée la convergence remarquable entre les hyalocystes des Sphaignes et les éléments xylémiens peu différenciés. Ce sont des cellules :

- en voie d'allongement ;
- munies d'épaississements internes spiralés ;
- sièges de la formation de perforations ;
- mortes et vides de tout contenu protoplasmique ;
- et, sur le plan physiologique et de façon passive, jouant un rôle dans le transit de l'eau.

On peut ne voir dans ces faits que de simples convergences, mais elles n'en sont pas moins un argument confirmant le caractère évolué du type Sphagnum par rapport aux autres Mousses. C'est à cette conclusion qu'arrive également J. BERTHIER (11, 1972) à partir d'un raisonnement morphogénétique bien différent.

CYTOCHIMIE

- en microscopie photonique

Sachant que la structure des cellules de l'apex est très différenciée, on peut s'attendre à trouver chez certaines d'entre elles un métabolisme très actif. Il est possible d'en avoir une idée par la démonstration de quelques aspects de l'activité enzymatique des cellules, tout spécialement des cellules mucigènes.

A) La recherche des phosphatases

I. L'activité phosphatasique acide (méthode de Gomori)

L'incubation a lieu dans le milieu de GOMORI (1952), pour la mise en évidence de la phosphatase acide, en tenant compte de quelques modifications apportées à ce milieu par LOGDA (1961).

Cette méthode montre des précipités de plomb très abondants qui suggèrent une activité enzymatique importante dans les cellules mucigènes. Par contre,

les cellules séparatrices réagissent négativement (fig. 1, pl. XXVII). Dans les cellules mucigènes, le marquage est surtout localisé au niveau des nucléotides. Le reste du nucléoplasme n'apparaît pas coloré aussi fortement. Cela indique un métabolisme nucléolaire intense. On peut penser que le poil mucigène est à un stade encore jeune (fig. 1, pl. XXVIII). Un dépôt de plomb s'observe au niveau du tonoplaste mais ne remplit pas la cavité vacuolaire. Parfois, le cytoplasme est couvert d'abondants précipités diffus qui masquent la réaction au niveau des organites cellulaires (effet plomb).

Dans tous les cas, la paroi pectocellulosique de la cellule mucigène n'est pas colorée. Par contre la paroi qui sépare la cellule mucigène de la cellule basale est très marquée.

Des ébauches foliaires en "gaufre", traitées pour la mise en évidence de la phosphatase acide, montrent également des résultats positifs. La réaction est très nette au niveau des volumineux nucléoles et du cytoplasme (fig. 2, pl.XXVIII).

II. L'activité phosphatasique acide (méthode de Burstone)

Le substrat fourni à la cellule est un naphtol-phosphate (GABE, 55, 1968). Si l'enzyme est présente et fonctionnelle, la molécule est coupée et le naphtol libre peut se combiner avec le sel de diazonium utilisé. La couleur de l'azoïque obtenu dépend de la nature de ce sel. Pour notre matériel, nous avons choisi le Fast Red Garnet (Sigma). La couleur rouge foncée que prennent les cellules mucigènes montre que les résultats sont très positifs (fig. 1, pl. XXXI, en couleurs). La cellule mucigène réagit en bloc et on ne reconnaît plus aucune structure cellulaire (fig. 3, pl. XXVIII). La paroi, très épaisse, ne montre aucun marquage. Il n'y a pas d'activité phosphatasique non plus au niveau de la cellule séparatrice (fig. 4, pl. XXVIII).

Pour être sûr que l'enzyme est impliquée, il est nécessaire de procéder à un contrôle par usage d'un inhibiteur spécifique de l'enzyme. Nous avons employé le fluorure de sodium 0,01 M. Dans ce cas, aucune formation de l'azoïque rouge ne se produit dans la cellule mucigène. Toutefois, quelques rares précipités peuvent s'y manifester (fig. 5, pl. XXVIII et fig. 2, pl. XXXI, en couleurs).

B) La recherche des oxydo-réductases

I. L'activité peroxydasique

Les peroxydases sont universellement répandues chez les végétaux. Elles sont particulièrement abondantes dans les méristèmes terminaux des tiges et des racines ainsi que dans le phloème (CZANINSKI et CATESSON, 36, 1969). Leur présence a été reconnue également au niveau des parois cellulaires (RIDGE et OSBORNE, 1971).

Nos observations ont porté sur des poils mucigènes de S. palustre et de S. magellanicum. Le matériel, vivant, est traité à la 3,3'-diaminobenzidine (D A B). Les cellules mucigènes possèdent une faible activité peroxydasique. Nous l'avons surtout mise en évidence au niveau des parois et de la membrane plasmique. Dans le cas présent, les poils mucigènes possèdent un pore apical. Le mucilage a peut-être été exsudé et il ne reste dans la cellule que des amas irréguliers de cytoplasme où la réaction est positive (fig. 6, pl. XXVIII). Par contre, la cellule séparatrice est pourvue d'une activité peroxydasique (fig. 7, pl. XXVIII).

Nos expériences ont également porté sur des feuilles raméales adultes. La réaction montre que les chlorocystes possèdent une grande activité peroxydasique (fig. 8, pl. XXVIII). Les hyalocystes, vides de tout protoplasme à ce stade différencié, ne sont pas marqués.

Une préparation témoin (milieu d'incubation sans H_2O_2) apporte une réponse négative pour l'enzyme. Seuls quelques chloroplastes sont faiblement marqués (fig. 9, pl. XXVIII).

Il a été reconnu, chez de nombreuses espèces de végétaux, que cette activité est essentiellement associée à la paroi (VAN FLEET, 132, 1947 ; DE JONG, 42, 1967 ; VAN FLEET, 133, 1959 et JENSEN, 75, 1955). Nos observations confirmeraient ces résultats, mais elles ne sont pas suffisantes pour permettre d'apporter des arguments concernant le rôle possible des peroxydases dans l'élaboration des parois cellulaires.

PLANCHE XXVIII : Réactions enzymatiques

Fig. 1. - S. palustre. Activité phosphatasique acide d'un poil mucigène (pm). Le nucléole (nu) marqué positivement occupe un volume assez important dans le noyau (N). Méthode de GOMORI. G x 3 400.

Fig. 2. - S. palustre. Activité phosphatasique acide d'un primordium foliaire. Les nucléoles (nu) sont fortement colorés. Méthode de GOMORI. G x 4 000.

Fig. 3. - S. palustre. Activité phosphatasique acide d'un poil mucigène (pm). La cellule mucigène (cm) réagit en bloc au traitement. La paroi (P) n'est pas marquée. Méthode de BURSTONE. G x 3 500.

Fig. 4. - S. palustre. Activité phosphatasique acide. La cellule mucigène (cm) est colorée tandis que la cellule séparatrice (cs) n'est pas marquée. Méthode de BURSTONE. G x 3 800.

Fig. 5. - S. palustre. Activité phosphatasique acide. Après l'emploi d'un inhibiteur, le fluorure de sodium, les cellules ne sont pas marquées. Méthode de BURSTONE. G x 3 700.

Fig. 6. - S. magellanicum. Préparation traitée au DAB. La cellule mucigène (cm) est très peu marquée. Le mucilage (m) sort par le pore apical (p). G x 3 000.

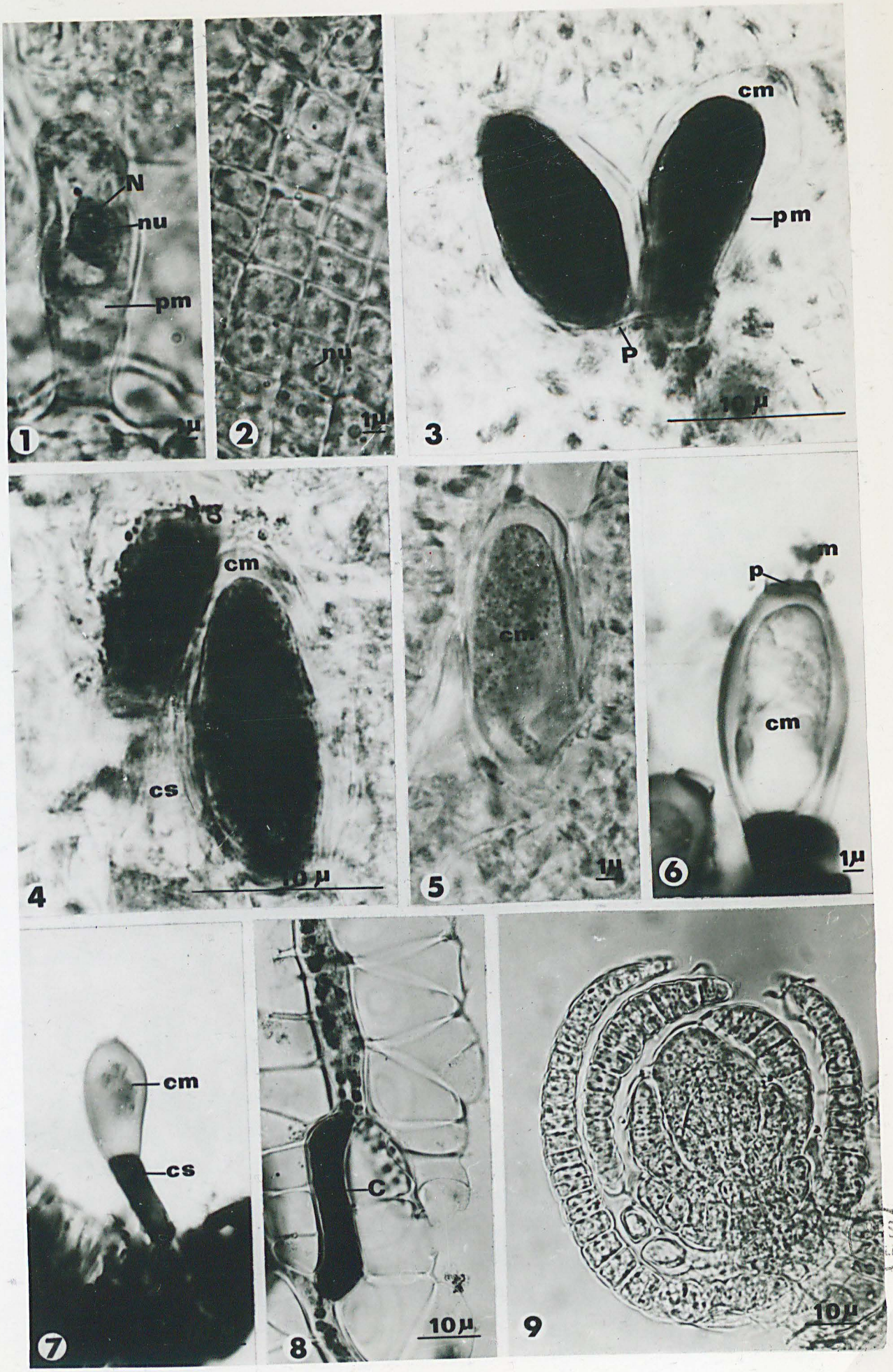
Fig. 7. - S. magellanicum. Préparation traitée au DAB. La cellule séparatrice (cs) est très marquée. Dans la cellule sécrétrice (cm) le mucilage est déjà exsudé. G x 1 500.

Fig. 8. - S. palustre. Feuille traitée au DAB. Le marquage est très prononcé au niveau des chlorocystes. G x 1 200.

Fig. 9. - S. palustre. Préparation témoin. Apex traité au DAB sans H_2O_2. Seuls quelques chlorocystes sont colorés. G x 1 000.

288

PLANCHE XXVIII : *REACTIONS ENZYMATIQUES*



II. La cytochrome-oxydase

Cette enzyme est mise en évidence en utilisant comme substrat une substance organique à fonction amine. Ici, la réaction est effectuée à l'aide de la 8-aminotétrahydroquinoléine à pH 5,2. Le résultat est meilleur quand le produit de la réaction est fixé par chélation avec un métal tel que le cobalt.

Sur des poils mucigènes jeunes, le marquage est léger (fig. 1, pl. XXXII, en couleurs) tandis que des poils mucigènes âgés réagissent plus fortement (fig. 2, pl. XXXII, en couleurs). Sur un apex traité en bloc, l'ensemble est coloré très intensément mais sans liaison avec une structure définie (fig. 3, pl. XXXII, en couleurs).

III. La succino-déshydrogénase

Un autre exemple est consacré à une enzyme respiratoire : la succino-déshydrogénase impliquée dans le cycle de KREBS. Le substrat employé est un succinate de sodium à pH 7,2 en présence d'un dérivé du bleu nitro-toluidine (nitro-bleu BT). La réaction est positive au niveau des cellules mucigènes (fig. 1, pl. XXIX et fig. 4, pl. XXXII, en couleurs). Les apex traités en bloc réagissent également très fortement (fig. 2, pl. XXIX).

Nous pouvons conclure des réactions précédentes que les cellules sécrétrices respirent activement, ainsi que toutes les jeunes cellules de l'apex. Ce phénomène est tout à fait normal. Ces cellules se développent intensément, se divisent fréquemment et ont une activité respiratoire élevée.

Comme inhibiteurs il est possible d'utiliser des substances telles que l'iodo-acétate ou le diamine-phénylène.

C) Les groupements sulfhydriles

L'étude des groupements sulfhydriles a suscité très tôt un vif intérêt si l'on en croit les recherches déjà anciennes de BUFFA (1904), GIROUD (1930) et BINET et WALLA (1937). Ces travaux montrent que toutes les cellules renferment des groupements sulfhydriles et que leur taux semble en étroite liaison avec l'activité métabolique et les phénomènes de croissance. Parmi les thiolprotéines, le plus grand nombre d'entre elles sont des enzymes et ce sont leurs groupements -SH qui assurent leur activité. On comprend dès lors leur impor-

tance dans le métabolisme cellulaire. Si les groupements -SH catalysent de très nombreux mécanismes biochimiques, on doit s'attendre à les voir participer aux phénomènes physiologiques impliquant une grande activité cellulaire. En effet, ils doivent jouer un grand rôle dans la mitose et dans la croissance. L'intervention des radicaux -SH dans la mitose a surtout été démontrée par HAMMET (66, 1929) et RAPKINE (114, 1931). Ce dernier auteur montre que la mitose dépend de la présence des groupements thiols. Elle est en effet arrêtée par le sublimé dilué.

Nous utilisons pour l'étude de notre matériel des méthodes biochimiques permettant l'évaluation des groupements -SH liés aux protéines. Les premiers essais sont basés sur le test de CHEVREMONT et FREDERIC (LANCE, 84, 1958). Les résultats se montrent positifs. Les essais suivants font intervenir la méthode de BARNETT et SELIGMAN (5, 1952). Elle permet d'obtenir, dans les cellules mêmes, une teinte rose.

I. Le test de Chèvremont

La coloration du cytoplasme dépend du stade évolutif des méristèmes. Le nucléoplasme est très peu coloré, les nucléoles le sont par contre beaucoup plus (fig. 3, pl. XXIX). Les jeunes primordiums foliaires constituent des zones actives et organogènes. C'est aussi dans ces régions que les groupements -SH, caractérisés par une teinte bleutée, sont les plus abondants. Ils le sont également dans les cellules mucigènes. L'ensemble du cytoplasme est granuleux et bleu sur les préparations. On distingue peu les différents organites. La cellule séparatrice réagit négativement (fig. 4, pl. XXIX).

II. Le test de Barnett et Seligman

Les groupements -SH se localisent préférentiellement dans les jeunes ébauches foliaires (fig. 5 et 6, pl. XXIX) surtout au niveau du nucléole, et dans les cellules mucigènes. La réaction donne une belle teinte rose, ce qui indique une certaine teneur en groupements -SH. Par contre, les parties où l'activité mitotique est réduite ne sont pas colorées. La détection histochimique des groupements -SH liés aux protéines montre donc que ceux-ci existent en quantité plus abondante dans les régions méristématiques et organogènes.

Des Sphaignes placées au froid et à l'obscurité ont subi le test de BARNETT et SELIGMAN. Les résultats se révèlent négatifs. En effet, la photosynthèse n'a pas eu lieu et le froid a réduit le métabolisme cellulaire. Les préparations

PLANCHE XXIX : Réactions enzymatiques

Fig. 1. - S. palustre. Poil mucigène traité pour la mise en évidence de la succino-déshydrogénase. La réaction est positive au niveau de la cellule mucigène (cm). G x 3 600.

Fig. 2. - S. palustre. Apex traité en masse pour la mise en évidence de la succino-déshydrogénase. L'ensemble est intensément coloré. G x 580.

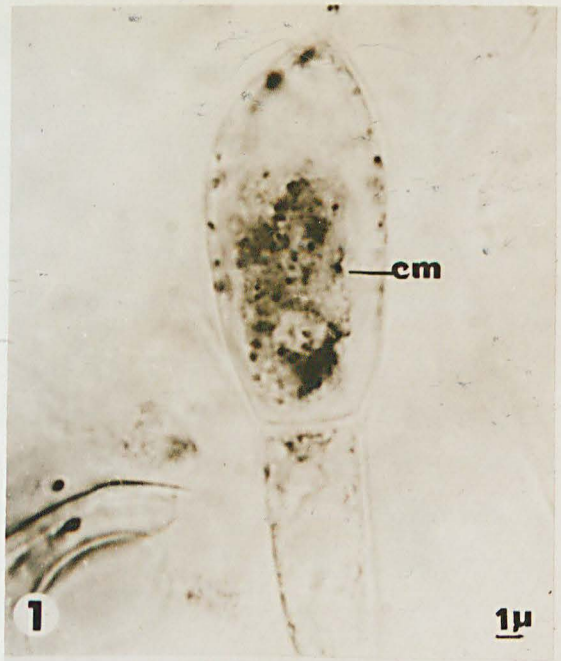
Fig. 3. - S. centrale. Apex traité par le test de CHEVREMONT. Les noyaux des cellules des ébauches foliaires (eb) ainsi que l'apex (ap) possèdent des nucléoles (nu) très marqués. Ce sont des zones très actives et organogènes. G x 780.

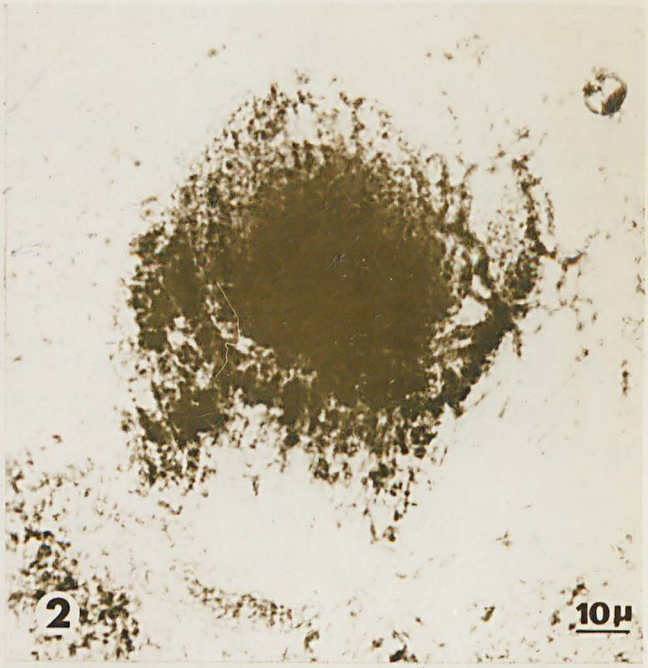
Fig. 4. - S. centrale. Poils mucigènes traités par le test de CHEVREMONT. Le cytoplasme des cellules mucigènes (cm) réagit positivement. La cellule séparatrice n'est pas colorée. G x 1 275.

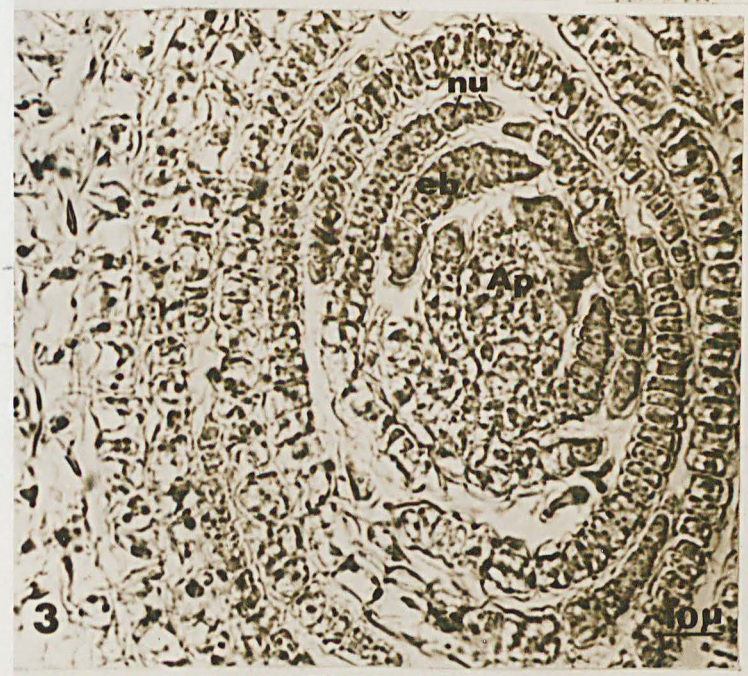
Fig. 5. - S. centrale. Test de BARNETT et SELIGMAN. Les groupements -SH sont répartis dans les cellules des ébauches foliaires surtout au niveau des nucléoles (nu). G x 1 275.

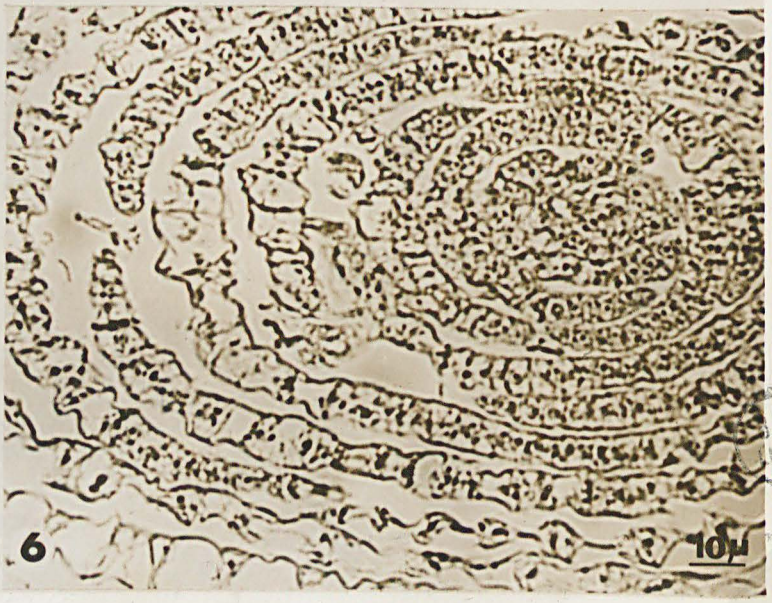
Fig. 6. - S. centrale. Test de BARNETT et SELIGMAN. Les cellules sont à un stade plus différencié. Les chloroplastes (chl) et les noyaux (N) sont marqués. G x 700.

PLANCHE XXIX : *REACTIONS ENZYMATIQUES*









ainsi traitées servent de témoin. Aucun constituant cellulaire n'est marqué.

- en microscopie électronique

La recherche des peroxydases

Nos observations effectuées à l'aide de techniques de cytochimie photonique ne donnent aucune indication sur la localisation des peroxydases. Il est donc intéressant d'entreprendre une étude au niveau des organites cellulaires.

Afin d'identifier ces lieux d'activité, nous avons soumis des apex de Sphaignes à la 3 , 3' - diaminobenzidine, méthode mise au point par GRAHAM et KARNOVSKI (64, 1966) pour la détection de la peroxydase en microscopie électronique. Récemment, cette méthode a été appliquée aux végétaux supérieurs par DART (39, 1968) sur des nodules de Légumineuses ; par MARTY (95, 1969) sur des apex de tiges d'Euphorbia characias ; par CZANINSKI et CATESSON (37, 1969) sur tissus conducteurs de Robinia pseudacacia et Acer pseudoplatanus, et par RAA (113, 1973) sur des grains de pollen de Tradescantia. Dans cette publication, de très belles micrographies en couleurs sont présentées. En parallèle, des recherches étaient effectuées sur les Bryophytes. Citons l'étude de NURIT (1971) sur des spores de quelques espèces de Bryales et plus récemment un travail de HEBANT et MARTY (68, 1973) sur le gamétophyte de Polytrichum commune. Dans ce matériel, ils décrivent des "microbodies" arrondis ou ovales avec une membrane simple. Ils observent une certaine activité peroxydasique au niveau des vacuoles et des mitochondries.

Le système vacuolaire

Généralement, les vacuoles apparaissent dépourvues du produit de la réaction. Celui-ci souligne fortement les tonoplastes (fig. 1, pl. XXX) qui sont peu visibles en l'absence de DAB.

Les plastes

Les chloroplastes réagissent positivement, surtout au niveau des thylacoïdes (fig. 2, pl. XXX).

Les ribosomes et l'ergastoplasme

Les ribosomes, qu'ils soient libres ou associés au réticulum endoplasmique, acquièrent un fort contraste après action du peroxyde d'hydrogène. Cette observation s'accorde bien avec les résultats de PENON et de ses collabora-

teurs (109, 1967) qui ont montré la présence de peroxydases dans la fraction ribosomique. Il arrive parfois de constater, sur les micrographies électroniques, que les ribosomes les plus contrastés forment une auréole autour des chloroplastes (fig. 2, pl. XXX). Nous ne pouvons pas exclure l'hypothèse d'une diffusion des enzymes hors des chloroplastes lors des manipulations des échantillons. Ces enzymes pourraient se fixer alors de préférence sur les ribosomes et provoquer une réaction positive à leur niveau.

L'appareil de Golgi

Dans les cellules qui présentent une réaction au niveau de l'ergastoplasme, les dictyosomes sont également marqués par le produit de la réaction. Celui-ci est déposé en plus ou moins grande abondance sur les saccules golgiens, ainsi que sur la plupart de leurs extrémités renflées (fig. 3, pl. XXX). Toutes les vésicules golgiennes portent également des précipités.

La paroi et la membrane plasmique

Des dépôts du produit de la réaction s'observent généralement au niveau de la membrane plasmique et de la paroi pectocellulosique. Dans les parois un peu épaisses, le dépôt est plus intense dans la partie médiane, c'est-à-dire au niveau de la lamelle mitoyenne. Dans les parois plus épaisses, il présente une certaine stratification qui correspond en fait aux fibrilles.

Les peroxysomes

A côté des mitochondries d'aspect normal, le cytoplasme renferme des corpuscules arrondis ou ellipsoïdaux à contenu finement granuleux, homogène. Ils sont généralement plus petits que les mitochondries, mais peuvent atteindre parfois des dimensions voisines ou supérieures. Leur densité électronique est habituellement plus forte que celle des mitochondries ; de toute manière, ils s'en distinguent par l'absence de crêtes internes ou de tubules , caractéristiques de ces dernières. En outre, dans les cas les plus typiques, ils sont limités par une membrane simple (fig. 4 et 5, pl. XXX).

Des organites morphologiquement semblables ont été décrits dans les cellules rénales du tubule contourné de Souris (RHODIN , 1954), puis dans le foie et le rein de diverses espèces animales. Ils ont été désignés sous le terme de "microbodies". L'étude des particules isolées, chez des espèces animales, confirme les résultats morphologiques (AFZELIUS, 1, 1965) et révèle le contenu

PLANCHE XXX : Réactions enzymatiques

Fixation : glutaraldéhyde ; incubation : DAB + H_2O_2 ; post-fixation : OsO_4 ; post-imprégnation : acétate d'uranyle - citrate de plomb ; inclusion : mélange de SPURR.

Fig. 1. - S. palustre. Le tonoplaste (t) limitant les vacuoles (V) est nettement souligné par le produit de réaction. Noter le marquage très intense des chloroplastes (chl) et des mitochondries (M) à "vésicules ampoulées". G x 25 000.

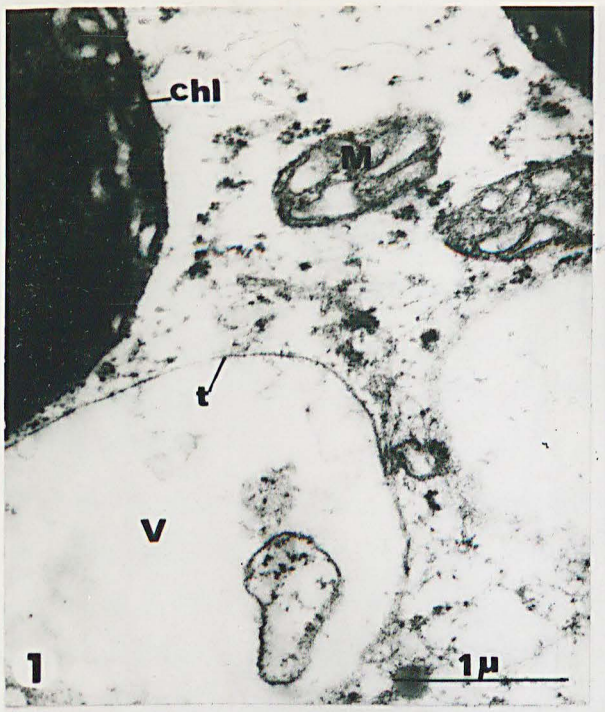
Fig. 2. - S. palustre. Les ribosomes (r) fortement marqués forment une auréole autour du chloroplaste (chl). G x 38 000.

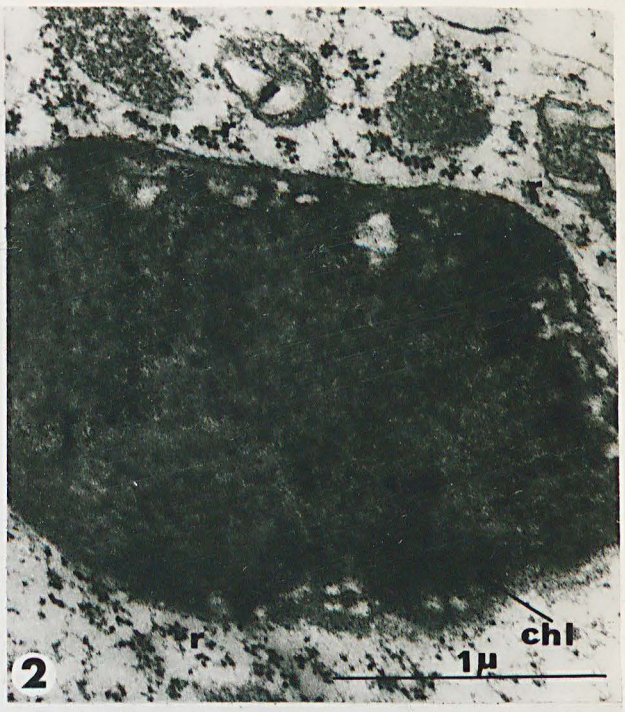
Fig. 3. - S. palustre. Les dictyosomes (D) et les vésicules golgiennes (vg) sont marqués par le précipité de peroxydation. G x 30 000.

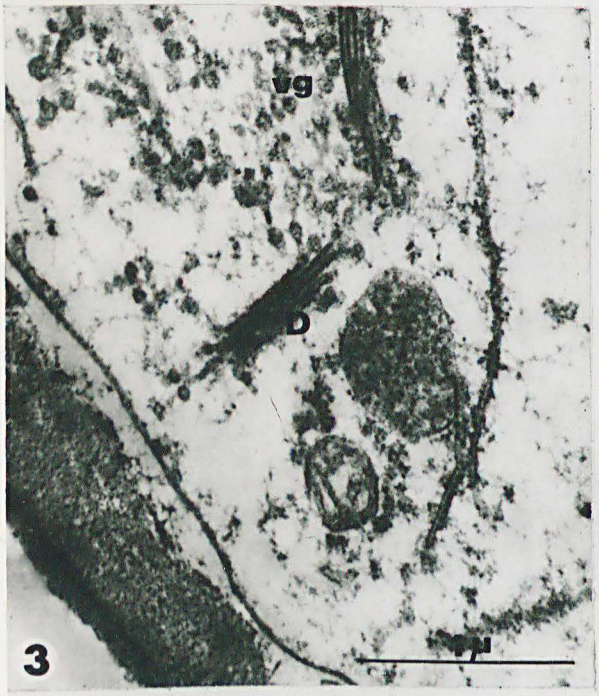
Fig. 4. - S. palustre. Ultrastructure des peroxysomes (Px), ovoïdes, à contenu finement granuleux et homogène. G x 30 000.

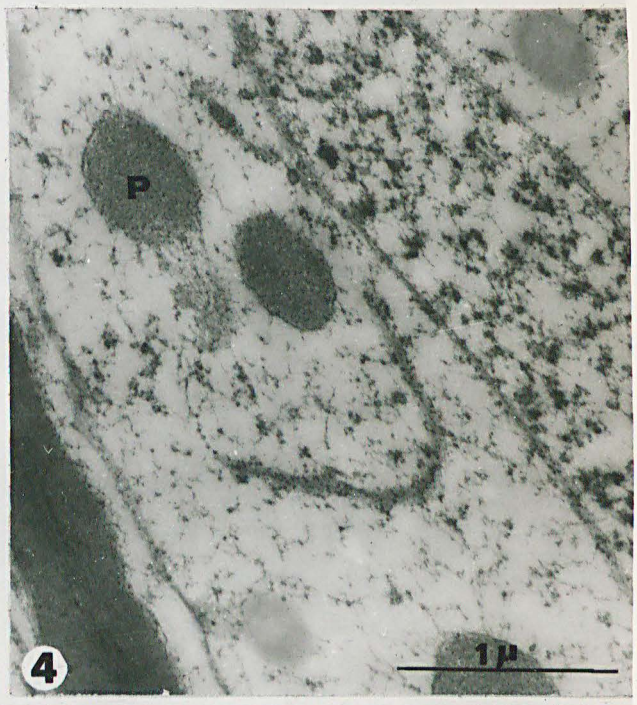
Fig. 5. - S. palustre. Peroxysomes grossis (Px). G x 72 000.

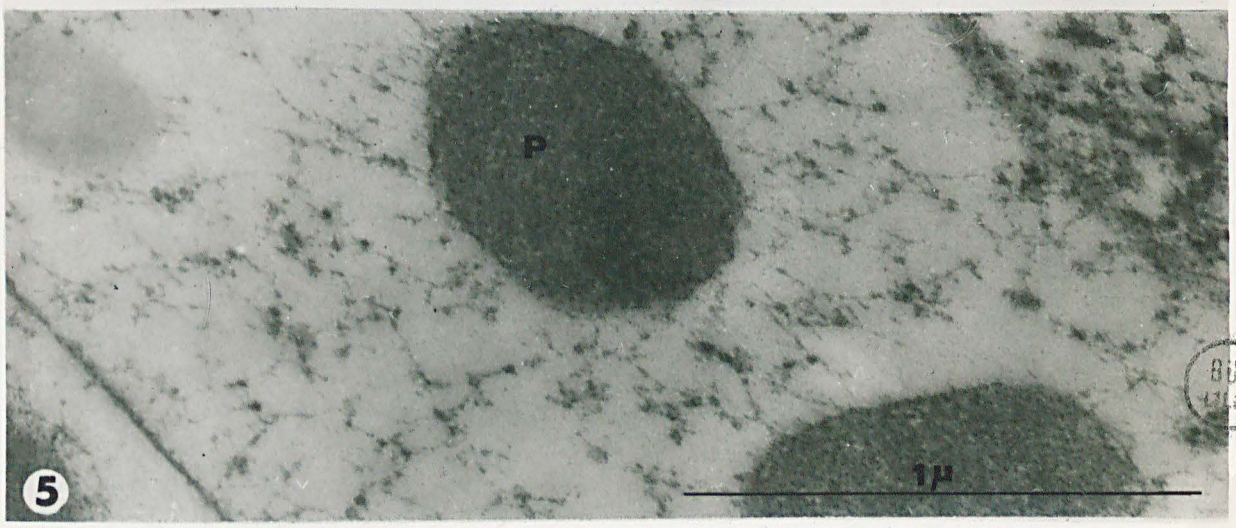
PLANCHE XXX : *REACTIONS ENZYMATIQUES*











BUS LILLE

enzymatique, riche en oxydases. En particulier, l'intensité de l'activité peroxydasique (DE DUVE et BAUDHUIN, 41, 1966) justifie le terme de "peroxisomes" en langue anglaise (="microbodies" sensu stricto, DE DUVE, 40, 1965).

Les recherches faites jusqu'à présent sur les peroxysomes ont montré qu'ils renfermaient, outre les peroxydases, diverses oxydases et en particulier de la catalase (DE DUVE et BAUDHUIN). En effet, ROELS et WISSE (116, 1973), en faisant varier les conditions de fixation, de pH, de température et de concentration en peroxyde, affirment qu'il est possible de faire la distinction entre catalase et peroxydases.

Dans notre matériel, nous n'avons pas fait de coupes témoins. De nouvelles recherches nous paraissent donc indispensables avant de pouvoir dégager une idée précise sur l'existence de peroxydases vraies à l'intérieur de ces organites. Ce serait d'autant plus intéressant que les peroxysomes végétaux semblent jouer un rôle dans les phénomènes de photorespiration (TOLBERT et coll., 130, 1968).

Un réel rôle sécréteur existe au niveau de l'apex du gamétophyte feuillé des Bryophytes. Il présente une vocation biologique de protection, surtout contre la sécheresse. Cette fonction se produit par l'élaboration et la sécrétion d'un abondant mucilage polysaccharidique chez les Mousses. Il nous reste à en démontrer la nature, en ultrastructure cytochimique, chez les Sphaignes. Ce mucilage englue tous les jeunes et fragiles organes engendrés par l'apex du gamétophyte feuillé.

Cette étude montre que le métabolisme des cellules sécrétrices est très actif, spécialement au point de vue des réactions enzymatiques. Il faut toutefois noter que le caractère positif des mises en évidence enzymatiques que nous avons effectuées est indépendant du niveau évolué des Sphagnales. En effet, très récemment, HEBANT et BONNOT (67, 1974) ont réalisé une investigation histochimique comparable, avec les mêmes résultats au niveau du tissu mucigène, sur le groupe primitif des Polytrichales (Polytrichum, Dawsonia).

Les résultats positifs au niveau des cellules des ébauches foliaires de Sphaignes ne sont pas surprenants ; ils sont en rapport avec l'activité vitale et la fréquence de la division cellulaire dont ces cellules sont le siège.

CONCLUSIONS GENERALES

Arrivée au terme de ce travail, il nous paraît indispensable d'en résumer les principales étapes et de dégager les aspects les plus intéressants de ses résultats. Les investigations ont porté sur un groupe végétal très particulier : celui des Sphaignes. L'importance du travail technique était telle que nous avons cru devoir limiter le matériel biologique à une seule section : celle des Palustria, c'est-à-dire à 5 espèces sur les 36 que comporte la sphagnoflore française. Les espèces appartenant à cette section sont très représentatives du genre Sphagnum ; elles ont en outre le mérite de posséder dans leur structure un type de cellules mortes soutenues par des fibrilles spiralées caractéristiques du sous-genre Inophloea.

Les coupures spécifiques des Palustria ont été précisées. L'application de méthodes statistiques à l'analyse de caractères quantifiables (nombre de pores des cellules hyalodermiques, diamètre des pores) a grandement éclairci la discrimination de Sphagnum palustre et de Sphagnum centrale. La présence de ce dernier en France est définitivement établie. Un essai de phylogénie de la section est proposé.

Au point de vue structural, la région la plus intéressante à étudier est l'apex caulinaire. Il est le siège du développement et de la croissance de ces végétaux dont on sait depuis longtemps que, dans les tourbières qu'ils édifient,"ils croissent par le sommet et meurent par la base". Le développement ontogénique intervient par le jeu d'une initiale apicale singulière totipotente. Les organes engendrés et la ramification qui les accompagne déterminent, à l'intérieur de l'embranchement des Bryophytes, le type morphologique et biologique "Sphaigne".

Les ébauches foliaires sont constituées par un modèle cellulaire représentant assez bien la cellule végétale méristématique à vocation chlorophyllienne et photosynthétique. Mais, très rapidement, les jeunes feuilles sont le siège d'une différenciation cellulaire en réseau original édifiant le tissu hétérodictyé, juxtaposition régulière de chlorocystes et de hyalocystes. La dégénérescence du contenu de ces derniers constituait un problème dont l'étude paraissait souhaitable au niveau ultrastructural. La formation des fibrilles intervient, d'une manière encore incomplètement précisée, à partir du cytoplasme en dégénérescence. La paroi se troue de pores dont la genèse met en jeu un type d'organite

particulier que nous avons appelé "corpuscules gris", dont l'étude devra être poursuivie. Leur aspect et leur localisation au voisinage de pores en formation ne peut manquer d'évoquer les corps de WORONIN impliqués dans la genèse des pores septaux des Ascomycètes. Pour la connaissance précise de ses caractères structuraux, la porosité des tiges et feuilles des Palustria a largement bénéficié des techniques de microscopie électronique à balayage.

Les Sphaignes possèdent un véritable appareil sécréteur, à l'instar des Bryales où ce dispositif sécréteur de mucilage polyosidique a été étudié ces dernières années de manière exhaustive par BONNOT. Des arguments phylogéniques intéressants peuvent être tirés de l'étude morphoanatomique des structures sécrétrices : ils confirment le caractère évolué du groupe des Sphaignes qui semble bien provenir du phylum des Dicranales par l'intermédiaire des Leucobryacées. L'ultrastructure des cellules sécrétrices a démontré que leur fonctionnement est de type golgien, ainsi que cela a été reconnu dans un grand nombre d'exemples de tissus sécréteurs végétaux. Morphologiquement, ce tissu sécréteur des Sphaignes se présente sous forme de poils appartenant à deux types différents.

Enfin, dans le but de saisir certains aspects biochimiques accompagnant la différenciation cellulaire, des tentatives de caractérisation enzymatique ont été entreprises. Malgré la grande prudence dont il convient de faire preuve dans l'interprétation des bio-tests et la difficulté de réaliser des contrôles adéquats, il semble que des résultats positifs aient été obtenus en ce qui concerne les phosphatases, les oxydo-réductases (cytochrome - oxydase, succino-déshydrogénase, peroxydases) et les groupements sulfhydriles des thiolprotéines. La présence de peroxysomes a été démontrée dans les chlorocystes foliaires.

Afin de préciser, de confirmer et de développer les résultats que ce travail a permis d'obtenir, il nous semble souhaitable de l'étendre à l'ensemble des Sphaignes, tout en perfectionnant et en affinant les diverses techniques qu'il nous a été possible d'appliquer à la connaissance biologique et cellulaire de ces organismes passionnants que sont les Sphaignes.

BIBLIOGRAPHIE

1. AFZELIUS B.A. (1965). - The occurence and structure of microbodies. J. Cell Biol., 26 : 835-843.

2. ANDRE J. et ROUILLER Ch. (1956). - L'ultrastructure de la membrane nucléaire des ovocytes de l'Araignée (Tegeneria domestica). Proceed. Conf. électr. Micr., Stockholm : 162-164.

3. ARNAUD-LAMARDELLE P. (1955). - Recherches sur quelques problèmes relatifs à l'action des substances cinétoclasiques. Thèse, Poitiers.

4. BAIRATI A. und LEHMANN F.E. (1952). - Ueber die submikroskopische Struktur der Kernmembrane bei Amoeba proteus. Experientia, 8 : 60-61.

5. BARNETT R.J. and SELIGMAN A.M. (1952). - Histochemical demonstration of protein-bound sulfhydryl groups. Science, 116 : 323-327.

6. BAUER L. (1956). - Elektronenmikroskopische Beobachtungen an der Cuticula des Laubmooses Physcomitrium acuminatum. Z. Naturforsch., 11 b : 673-675, 2 pl.

7. BERKALOFF C. (1963). - Les cellules méristématiques d'Himanthalia lorea (L.) S.F. Gray. Etude au microscope électronique. J. Microscopie, 2 : 213-228, 8 pl. h.t.

8. BERNHARD W. (1959). - Ultrastructural aspects of nucleo-cytoplasmic relationship. Exptl. Cell Res., Suppl., 6 : 17-50.

9. BERNHARD W., BAUER A., GROPP A., HAGUENAU F. et OBERLING Ch. (1955). - L'ultrastructure du nucléole de cellules normales et cancéreuses. Exptl. Cell Res. , 9 : 88-100.

10. BERNHARD W., HAGUENAU F. et OBERLING Ch. (1952). - L'ultrastructure du nucléole de quelques cellules animales révélée au microscope électronique. Experientia, 8 : 58.

11. BERTHIER J. (1972). - Etude descriptive et expérimentale de l'organisation du gamétophyte feuillé des Mousses. Thèse, Clermont-Ferrand.

12. BISALPUTRA J. (1966). - Electron microscopic study of the protoplasmic continuity in certain brown Algae. Canad. J. Bot., 44 : 89-93, 6 pl. h.t.

13. BONNOT E.-J. (1966). - Poils mucifères et paraphylles chez Thuidium tamariscinum (Hedw.) B.S.G. Rev. bryol. lichénol., 34 : 331-335, 1 pl. h.t.

14. BONNOT E.-J. (1967). - Sur la structure de l'apex du gamétophyte feuillé de la mousse Anomodon viticulosus (L.) Hook. et Tayl. Bull. Soc. bot. France, 114 : 4-11, 1 pl. h.t.

15. BONNOT E.-J. (1967). - Sur la valeur et la signification des paraphylles chez les Bryales. Mém. Soc. bot. France, Coll. Grenoble : 236-248.

16. BONNOT E.-J. (1967). - Relations structurales nucléo-plastidales dans les cellules méristématiques du gamétophyte feuillé de Polytrichum formosum Hedw. C.R. Acad. Sc. Paris, 264 : 2255-2258, 2 pl. h.t.

17. BONNOT E.-J. (1967). - L'infrastructure des plasmodesmes de deux Bryales. Ibid., 264 : 2276-2279, 2 pl. h.t.

18. BONNOT E.-J. (1968). - Sur la structure et les propriétés de la cellule apicale du gamétophyte feuillé des Bryales. Soc. bot. France, Mém., Coll. Angers, 115 : 208-222.

19. BONNOT E.-J. (1968). - Contributions à la connaissance structurale de l'apex du gamétophyte feuillé des Bryales. Thèse, Dijon.

20. BONNOT E.-J. et HEBANT Ch. (1970). - Précisions sur la structure et le fonctionnement des cellules mucigènes de Polytrichum juniperinum Willd. C.R. Acad. Sc. Paris, 271 : 53-55.

21. BORYSKO E. and BANG F.B. (1951). - Structure of the nucleolus as revealed by the electron microscope. Proceed. 9 th Congr. electr. Micr. : 11.

22. BUREAU E.et CAMUS F. (1896). - Les Sphaignes de Bretagne. Bull. Soc. Sc. nat. Ouest France, 6 : 31-55 et 247-305.

23. BUVAT R. (1957). - Formations de Golgi dans les cellules radiculaires d'Allium Cepa. C.R. Acad. Sc. Paris, 244 : 1401-1403.

24. BUVAT R. (1957). - L'infrastructure des plasmodesmes et la continuité des cytoplasmes. Ibid., 245 : 198-201, 2 pl. h.t.

25. BUVAT R. (1963). - Infrastructure et différenciation des cellules criblées de Cucurbita pepo. Relations entre la membrane pectocellulosique et les membranes plasmiques du cytoplasme. Ibid., 257 : 221-224.

26. BUVAT R. (1966). - Quelques modalités de la différencion des vaisseaux secondaires du xylème de Cucurbita pepo. 6th int. Congr. electr. Microsc. Kyoto, 2 : 311-312.

27. CALLAN H.G. and TOMLIN S.G. (1950). - Experimental studies on Amphibian oocyte nuclei. I. : Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. Proceed. Roy. Soc. London, 137 : 367-378.

28. CAMPBELL D.H. (1905). - The structure and development of mosses and ferns. ed. 2, London. BALFOUR trad. : 1-228.

29. CARDOT J. (1897). - Répertoire sphagnologique. Soc. Hist. nat. Autun, Bull., 10 : 235-432.

30. CAROLL G.C. (1967). - The ultrastructure of ascospore delimitation in Saccobolus Kerveni. J. Cell Biol., 33 : 218-224.

31. CHARDARD R. (1966). - Aspects infrastructuraux de l'autoantagonisme chez deux Desmidiales (Algues Zygophycées). Rev. Cytol., 29 : 335-356.

32. CIOBANU I. (1969). - Observations électro-microscopiques sur les plasmodesmes des cellules-mères des microspores de tomates (Lycopersicum esculentum Mill.). Rev. roum. Biol., Bot., 14 (5) : 269-273.

33. COULOMB C. (1973). - Diversité des corps multivésiculaires et notion d'hétérophagie dans le méristème radiculaire de Scorsonère (Scorzonera hispanica). J. Microscopie, 16 (3) : 345-360.

34. COULOMB C. (1973). - Phénomènes d'autophagie liés à la différenciation cellulaire dans les jeunes racines de Scorsonère (Scorzonera hispanica). C. R. Acad. Sc. Paris, 276 : 1161-1164.

35. CRAPLET C. (1954). - Statistique appliquée à la Biologie. Ed. Vigot, Paris.

36. CZANINSKI Y. et CATESSON A.M. (1969). - Localisation ultrastructurale d'une activité peroxydasique dans les tissus conducteurs végétaux. J. Microscopie, 8 : 43 a.

37. CZANINSKI Y. et CATESSON A.M. (1969). - Localisations ultrastructurales d'activités peroxydasiques dans les tissus conducteurs végétaux au cours du cycle annuel. J. Microscopie, 8 : 875-886.

38. DANGEARD P. (1925). - Plastes et cytosomes chez le Fontinalis antipyretica. Bull. Soc. bot. France, 72 : 5-8.

39. DART P.J. (1968). - Localization of peroxidase activity in legume root nodules. 4th europ. reg. Conf., Electron Microscopy, Rome, 2 : 69-70.

40. DEDUVE C. (1965). - Functions of microbodies (peroxisomes). J. Cell Biol., 27 : 25 a.

41. DEDUVE C. and BAUDHUIN P. (1966). - Peroxisomes (Microbodies and related particles). Physiol. Rev., 46 : 323-357.

42. DEJONG D.W. (1967). - An investigation of the role of plant peroxidase in cell wall development by the histochemical method. J. Histochem. Cytochem., 15 : 335-346.

43. DISMIER G. (1927). - Flore des Sphaignes de France. Arch. Bot., I, Mém. 1.

44. DIXON N.H. (1954). - The Student's Handbook of British Mosses, éd. 3.

45. DOLZMANN P. (1965). - Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Saughaaren von Tillandsia usneoides (Bromeliaceae). II : Einige Beobachtungen zur Feinstruktur der Plasmodesmen. Planta, 64 : 76-80.

46. DUNCAN U. (1961). - Illustrated Key to Sphagnum Mosses. Trans. bot. Soc. Edinburgh, 39 : 290-300.

47. DURHAM J.M. (1937). - Observations of the branch leaves of Sphagnum. Bryologist, 40 : 17-20.

48. ESTABLE C. and SOTELO J.R. (1951). - Una nueva estructura celular, el nucleolonema. Publ. Inst. Cienc. Biol. Montevideo, 1 : 105-126.

49. EYME J. (1954). - Recherches cytologiques sur les Mousses. Thèse, Bordeaux.

50. FABRE M. Ch. (1973). - Etude en microscopie électronique à balayage de la porosité des hyalocystes de quelques Sphaignes (Sphagnum div. sp., Bryophytes, Sphagnales). C.R. Acad. Sc. Paris, 276 : 513-516, 2 pl. h.t.

51. FALK H. und SITTE P. (1963). - Zellfeinbau bei Plasmolyse. I : Der Feinbau der Elodea Blattzellen. Protoplasma, 57 : 290-303.

52. FERREIRA D. (1957). - L'ultrastructure des cellules du pancréas endocrine chez l'embryon et le rat nouveau-né. J. Ultrastr. Res., 1 : 14-25.

53. FINERAN B.A. (1966). - Fine structure of meristem and differentiating root cap cells in Ranunculus hirtus. Phytomorphology, 16 : 1-16.

54. FOWKE L.C. and SETTERFIELD G. (1969). - Multivesicular structures and cell wall growth. Canad. J. Bot., 47 : 1873-1877.

55. GABE M. (1968). - Techniques histologiques, Paris.

56. GALL J.G. (1954). - Observations on the nuclear membrane with the electron microscope. Exptl. Cell Res., 7 : 197-200.

57. GAMS H. (1957). - Kleine Kryptogamenflora, éd. 4., Stuttgart.

58. GARNIER C. (1899). - Contribution à l'étude de la structure et du fonctionnement des cellules glandulaires séreuses. Du rôle de l'ergastoplasme dans la sécrétion. Thèse, Nancy.

59. GAVAUDAN P., GUYOT M. et POUSSEL H. (1959). - Sur l'action antimitotique et cinétoclasique des substances chimiques. Coll. int. C.N.R.S. Montpellier.

60. GIBBS S.P. (1962). - Nuclear enveloppe chloroplast relationship in Algae. J. Cell Biol., 14 : 433-444.

61. GIRBARDT M. (1958). - Ueber die Substruktur von Polystictus versicolor L. Arch. Mikrobiol., 28 : 255-269.

62. GIRBARDT M. (1961). - Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Polystictus versicolor L. Ibid., 39 : 351-359.

63. GOEBEL K. (1930). - Organographie der Pflanzen. II. Teil, Bryophyten-Pteridophyten, 3. Aufl., Iena : 643-1038.

64. GRAHAM R.C. and KARNOVSKY M.J. (1966). - The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney : ultrastructural cytochemistry by a new technique. J. Histochem. Cytochem., 14 : 291-302.

65. HAGUENAU F. (1958). - The ergastoplasm : its History, Ultrastructure and Biochemistry. Int. Rev. Cytol., 7 : 425-483.

66. HAMMET F.S. (1929). - The chemical stimilus essential for growth by increase in cell number. Protopl., 7 : 297-322.

67. HEBANT Ch. and BONNOT E.-J. (1974). - Histochemical studies on the mucilage-secreting hairs of the apex of the leafy gametophyte in some Polytrichaceous mosses. Z. Pflanzenphysiol., sous presse (10 fig.).

68. HEBANT Ch. and MARTY F. (1972). - Fine structural identification of peroxisomes in the cells of the photosynthetic lamellae of the leaf of Polytrichum commune gametophytes. J. Bryol., 7 : 195-199.

69. HEDWIG J. (1782). - Fundamentum Historiae naturalis muscorum frondosorum. I : XXIII + 112 p., 10 pl. ; II : XI + 107 p., 10 pl., Leipzig.

70. HEITZ E. (1958). - Weitere Belege für das Vorkommen plasmatischer Lamellensysteme bei Pflanzen und ihre identische Struktur mit dem Golgi- Apparat bei Tieren. Z. Naturforsch., 13 b : 663-665, 5 pl. h.t.

71. HERLANT M. (1964). - Le rôle de l'appareil de Golgi dans la sécrétion glandulaire. In : Histophysiologie des phénomènes sécrétoires. Biol. méd., 53 : 593-619.

72. HILLIER L. (1943). - Catalogue des Sphaignes de Franche-Comté. Bull. Soc. Hist. nat. Doubs : 84 p.

73. HUSNOT T. (1882). - Sphagnologia europaea. Descriptions et figures des Sphaignes d'Europe. 1 vol. : 16 p., 4 pl.

74. ISOVIITA P. (1966). - Studies on Sphagnum L. I : Nomenclatural revision of the European taxa. Ann. bot. Fennici, 3 : 199-264.

75. JENSEN W.A. (1955). - The histochemical localization of peroxidase in roots and its induction by indoleacetic acid. Plant Physiol., 30 : 426-432.

76. JOHANSEN D.A. (1940). - Plant microtechnique. New York-London : XI + 523 p.

77. KIENITZ-GERLOFF F. (1891). - Die Protoplasmaverbindungen zwischen benachbarten Gewebselementen in der Pflanze. Bot. Z., 49 : 2-10, 17-26, 33-46, 48-59, 65-74.

78. KOHL F.G. (1891). - Protoplasmaverbindungen bei Algen. Ber. dtsch. bot. Ges., 9 : 9-17, 1 pl. h.t.

79. KOHL F.G. (1900). - Dimorphismus der Plasmaverbindungen. Ibid., 18 : 364-372.

80. KOLLMANN R. und SCHUMACHER W. (1962). - Über die Feinstruktur des Phloems von Metasequoia glyptostroboides und seine jahreszeitlichen Veränderungen. II : Vergleichende Untersuchungen der plasmatischen Verbindungsbrücken in Phloemparenchymzellen und Siebzellen. Planta, 58 : 366-386.

81. KRULL R. (1960). - Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Plasmodesmen in Rindenparenchym von Viscum album. Planta, 55 : 598-629.

82. KUHLA F. (1900). - Die Plasmaverbindungen bei Viscum album. Bot. Z., 59 : 29-58.

83. LAFONTAINE J.G. (1958). - Structure and mode of formation of the nucleolus in meristematic cells of Vicia faba and Allium cepa. J. biophys. biochem. Cytol., 4 : 777-784.

84. LANCE A. (1958). - Recherches cytologiques sur l'évolution de quelques méristèmes apicaux et sur ses variations provoquées par des traitements photopériodiques. Thèse, Paris, et Ann. Sc. nat., Bot., 11ème série, 19 : 89-421, 37 pl. h.t.

85. LANGERON M. (1942). - Précis de Microscopie. Ed. 6, Paris : 1340 p.

86. LEHMANN H. und SCHULZ D. (1969). - Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Differenzierungsvorgängen bei Moosen. II : Die Zellplatten und Zellwandbildung. Planta, 85 : 313-325.

87. LEITGEB H. (1868). - Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Pflanzenorgane. I : Wachstum des Stämmchens von Fontinalis antipyretica. Sitz.-ber. Kaiserl. Akad. Wiss., math. naturwiss. Kl., 57 : 308-342, 4 pl. h.t.

88. LEITGEB H. (1869). - Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Pflanzenorgane. III : Wachstum des Stämmchens und Entwicklung der Antheridien bei Sphagnum. Ibid., 59 : 294-320, 3 pl. h.t.

89. LEROY ANDREWS A. (1951). - Studies in the Warnstorf-Sphagnum Herbarium. VI : The Subgenus Inophloea in the Eastern Hemisphere. Bryologist, 54.

90. LETTRE H. (1955). - Observations on the behaviour of the nucleolus of cells in vitro. Symp. fine struct. Cells, Gröningen : 141.

91. LIMPRICHT K.G. (1890). - Die Laubmoose Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz. Leipzig : 836 p.

92. LORCH W. (1931). - Anatomie der Laubmoose (in LINSBAUER K., Handbuch der Pflanzenanatomie, VII/1, Berlin : 1-359).

93. MANOCHA M.S. and SHAW M. (1964). - Occurence of lomasomes in mesophyll cells of "Khapli" Wheat. Nature, 203 : 1402-1403.

94. MANTON I. (1957). - Observations with the electron microscope on the cell structure of the antheridium and spermatozoid of Sphagnum. J. exptl. Bot., 8 : 382-400.

95. MARTY F. (1969). - Caractérisation cytochimique infrastructurale de peroxysomes (= microbodies sensu stricto) chez Euphorbia characias. C. R. Acad. Sc. Paris, 268 : 1388-1391.

96. MARTY F. (1972). - Distribution des activités phosphatasiques acides au cours du processus d'autophagie cellulaire dans les cellules du méristème radiculaire d'Euphorbia characias. Ibid., 274 : 206-209.

97. MENKE W. (1961). - Über die Chloroplasten von Anthoceros punctatus. 5. Mitt.: Zur Entwicklungsgeschichte der Plastiden. Zeitschr. Naturforsch., 16 b : 334-336.

98. MESQUITA J.F. (1970). - Etude ultrastructurale de vésicules associées aux parois cellulaires dans les racines d'Allium cepa L. et de Lupinus albus L. (vésicules plasmalemmiques et plasmalemmasomes). Rev. Cytol. et Biol. vég., 33 : 235-264.

99. MEYLAN E. (1934). - Sur la valeur spécifique de Sphagnum papillosum Lindb. Rev. Bryol. lichénol., 7 : 3-4.

100. MOLLENHAUER H.H., WHALEY W.G. and LEECH J. H. (1961). - A function of the Golgi apparatus in outer root cap cells. J. Ultrastr. Res., 5 : 193-200.

101. MOORE R.T. (1963). - Fine structure of Mycota. I : Electron microscopy of the Discomycete Ascodesmus. Nova Hedwigia, 5 : 263-278.

102. MOORE R.T. and McALEAR J.M. (1961). - Fine structure of Mycota. V : Lomasomes, previously uncharacterized hyphal structures. Mycologia, 53 : 194-200.

103. MOORE R.T. and McALEAR J.M. (1962). - Fine structure of Mycota. Observations on septa of Ascomycetes and Basidiomycetes. Amer. J. Bot., 49 : 86-94.

104. MOTTE J. (1928). - Contribution à la connaissance cytologique des Muscinées. Thèse, Ann. Sc. nat., Bot., 10ème série, 10 : 293-543, 11 pl. h.t.

105. MOZINGO H.N., KLEIN P., ZEEVI Y. and LEWIS E.R. (1969). - Scanning electron microscopy Studies on Sphagnum imbricatum. Bryologist, 72 : 484-488.

106. NÄGELI C. (1845). - Wachsthumsgeschichte der Laub- und Lebermoose. Zeitschr. Wiss., Bot., 2 : 138-210, 4 pl. h.t.

107. NYHOLM E. (1969). - Moss Flora of Fennoscandia. II : Musci, fasc. 6. Stockholm.

108. PAUL H. (1931). - Sphagnales (Torfmoose), in : Die Süsswasserflora Mitteleuropas, Heft 14 : Bryophyta.

109. PENON P., TEISSERE M., CECCHINI J.P., NARI J. et RICARD J. (1967). - Contributions à l'étude des peroxydases associées aux ribosomes dans la racine de lentille (Lens culinaris Med.). C. R. Acad. Sc. Paris, 265 : 276-278.

110. POTTIER J. (1925). - Nouvelles recherches sur le développement de la feuille des Muscinées. Bull. Soc. bot. France, 72 : 629-689, 34 pl. h.t.

111. POULAIN D. (1972). - Contribution à l'étude ultrastructurale de l'invasion des téguments par les Dermatophytes. D.E.A. Biol. cell., Lille.

112. PROSKAUER J. (1962). - On Takakia, especially its mucilage hairs. J. Hattori bot. Lab., 25.

113. RAA J. (1973). - Cytochemical localization of peroxidase in plant cells. Physiol. Plant., 28 : 132-133.

114. RAPKINE L. (1931). - Sur les processus chimiques au cours de la division cellulaire. C. R. Acad. Sc. Paris, 91 : 871-874.

115. ROBARDS A.W. (1968). - A new interpretation of plasmodesmatal ultrastructure. Planta, 82 : 200-210.

116. ROELS F. et WISSE E. (1973). - Distinction cytochimique entre catalase et peroxydases. C. R. Acad. Sc. Paris, 276 : 391-393.

117. RUSSOW E. (1889). - Sphagnologische Studien. Sitz. Dorpat Nat. Ges., 9 : 94-113.

118. SAGER R. and PALADE G.E. (1957). - Structure and development of the chloroplasts in Chlamydomonas. J. biophys. biochem. Cytol., 3 : 463-488.

119. SAVICZ-LJUBITZKAJA L.I. and SMIRNOVA Z.N. (1968). - The Handbook of Sphagnaceae of the U.S.S.R. Inst. Komarova éd., Acad. Sc. U.S.S.R., Leningrad.

120. SCHIMPER W.P. (1848). - Recherches anatomiques et morphologiques sur les Mousses. Mém. Soc. Hist. nat. Strasbourg, 92 p., 12 pl. h.t.

121. SCHIMPER W.P. (1858). - Versuch einer Entwickelungs-Geschichte der Torfmoose (Sphagnum). Stuttgart, 97 p., 27 cuprogravures.

142. WIEGAND F.M. (1954). - Plasmodesmata in some Hepaticeae. Bryologist, 57 : 217-225.

143. ZEPF E. (1952). - Über die Differenzierung des Sphagnum-Blattes. Zeitschr. Bot., 40 : 87-118, 25 fig.

144. ZIEGLER H. und RUCK I. (1967). - Untersuchungen über die Feinstruktur des Phloems. III : Die "Trompetzellen" von Laminaria-Arten. Planta, 73 : 62-73.

TABLE DES MATIERES

AVANT PROPOS

HISTORIQUE 1

CHAPITRE PREMIER - MATERIEL BIOLOGIQUE ET METHODES D'ETUDE 3

CARACTERES GENERAUX DES SPHAIGNES .

A) Le gamétophyte .

I. L'appareil végétatif .

Morphologie. - Anatomie .

II. L'appareil reproducteur 5

Morphologie. - Anatomie .

B) Le sporophyte 6

C) Le cycle biologique 7

MATERIEL ET TECHNIQUES .

A) Le matériel .

B) Les techniques 8

I. Microscopie photonique .

La fixation. Le lavage. La déshydratation. L'inclusion. La coupe. Le déparaffinage et la réhydratation. Les colorations et le montage. L'étude des coupes .

II. Microscopie électronique à transmission 12

La fixation aldéhydique. La postfixation osmique. La déshydratation. L'inclusion. La coupe. La post-imprégnation. L'observation .

III. Microscopie électronique à balayage 15

IV. Cytochimie .

Les lipides .

Les groupements sulfhydriles .

La recherche des enzymes .

CHAPITRE DEUXIEME - LA SECTION DES PALUSTRIA L. 22

A) Etude systématique 23

Sphagnum palustre L. (= S. cymbifolium Hedw.) .

Sphagnum papillosum Lindb. .

Sphagnum centrale Jens. (= S. subbicolor auct., non Hampe) .

Sphagnum magellanicum Brid. (= S. medium Limpr.) .

Sphagnum imbricatum Russow .

B) Apport de la biométrie 27

Méthodes et résultats .

Discussion .

CHAPITRE TROISIEME - ETUDE DE L'APEX VEGETATIF CAULINAIRE DE SPHAGNUM SP. (SECTION PALUSTRIA L.) 37

STRUCTURE GENERALE DE L'APEX FEUILLE DES SPHAIGNES DE LA SECTION PALUSTRIA 38

A) L'apicale caulinaire des Sphaignes .

B) Les jeunes organes de l'apex .

I. Les ébauches foliaires 40

II. Les poils .

III. Les anthéridies .

IV. Les archégones .

C) Discussion .

ULTRASTRUCTURE DES CELLULES DES EBAUCHES FOLIAIRES 41

A) Etude des composants figurés de la cellule .

I. La paroi .

II. Le cytoplasme 43

Le plasmalemme. Les plastes. L'appareil de Golgi. Les mitochondries (= chondriome). Les corps multivésiculaires. Les corps multilamellaires. Les lomasomes. Le réticulum endoplasmique, l'ergastoplasme et les ribosomes. Les corpuscules gris. Le système vacuolaire (=vacuome) .

III. Le noyau 47

B) Discussion .

I. Sur les différents constituants cellulaires .

La paroi .

Le cytoplasme et ses inclusions .

Le noyau .

II. Sur les problèmes de dégénérescence conduisant aux hyalocystes 58

ETUDE DE L'APPAREIL SECRETEUR MUCIGENE 59

A) L'appareil sécréteur des Bryophytes .

I. Caractères morphologiques 60

La position des poils mucigènes .

L'organisation des poils et le mucilage .

Variations morphologiques ; valeur systématique .

II. Structure cytologique 62

III. Ultrastructure et fonctionnement des cellules sécrétrices 63

Ultrastructure .

Tests biochimiques .

B) Recherches personnelles : le tissu sécréteur des Sphagnales 65

I. Caractères morphologiques .

Localisation .

Organisation .
Aspect phylogénétique, valeur systématique .
Structure en microscopie photonique .
Ultrastructure des poils mucigènes .
II. Discussion 68

LES ORIFICES DE LA PAROI 69
A) Les plasmodesmes .
I. Historique .
II. Recherches personnelles 70
Les observations .
Etude ultrastructurale .
B) Les ponctuations 74
C) Les perforations .
D) Les pores .
I. Données morphologiques 75
Les trous immarginés .
Les pores annelés .
II. La genèse des pores .

CYTOCHIMIE 77
- en microscopie photonique .
A) La recherche des phosphatases .
I. L'activité phosphatasique acide (méthode de GOMORI) .
II. L'activité phosphatasique acide (méthode de BURSTONE) 78
B) La recherche des oxydo-réductases 79
I. L'activité peroxydasique .
II. La cytochrome-oxydase 80
III. La succino-déshydrogénase .
C) Les groupements sulfhydriles .
I. Le test de CHEVREMONT 81
II. Le test de BARNETT et SELIGMAN .
- en microscopie électronique .
La recherche des peroxydases 82
Nos résultats .
Le système vacuolaire .
Les plastes .
Les ribosomes et l'ergastoplasme .

L'appareil de Golgi •
La paroi et la membrane plasmique •
Les peroxysomes •

CONCLUSIONS GENERALES 85

BIBLIOGRAPHIE 87

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE
Section de SCIENCES
LILLE