

50376
1978
231

N° d'ordre : 696

50376
1978
231

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

POUR OBTENIR LE TITRE DE

DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE

Spécialité :

Amélioration des productions végétales et microbiennes

PAR
Meriem HARCHE



Contribution à l'étude de l'alfa
(Stipa tenacissima L. d'Algérie) : Germination,
croissance des feuilles et différenciation des fibres

1978
Soutenue le 4 Juillet 1978 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury : M. R. BOURIQUET, Président

M. J. L. BONNEMAIN, Directeur de travail et rapporteur

Mlle C. PAUPARDIN, Examineur.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Biologie et Physiologie végétales de l'Université de Poitiers sous la direction de Monsieur le Professeur BONNEMAIN.

Nous exprimons nos sincères remerciements à Monsieur le Professeur BONNEMAIN qui a bien voulu nous accepter dans son Laboratoire pour nous permettre de poursuivre nos recherches sur un sujet que nous avons à peine abordé au Laboratoire de Botanique de l'Université d'Oran. Grâce à ses conseils et à ses encouragements et grâce au matériel qu'il a mis à notre disposition, nous avons pu mener à bien notre travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Monsieur le Professeur BOURIQUET qui a bien voulu accepter notre inscription dans son Laboratoire, ainsi que pour ses encouragements et son soutien moral. Il nous fait l'honneur de présider notre Jury. Qu'il trouve ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

Nous remercions Madame le Professeur PAUPARDIN qui a bien voulu juger notre travail.

Notre dette de reconnaissance s'adresse également à Monsieur ROBLIN, Chargé de Recherches au C.N.R.S., pour la part active qu'il a pris à notre travail et pour les critiques constructives dont il nous a fait bénéficier. Qu'il soit chaleureusement remercié.

Nos remerciements s'adressent également à Monsieur le Professeur SCHREVEL qui nous a permis d'avoir accès au Laboratoire de Microscopie électronique appliquée à la Biologie dont il est le Directeur.

Nous ne saurions oublier Madame BESSE, Technicienne, qui nous a initié aux techniques de microscopie électronique et nous a encouragée pendant toute la durée de ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de nos sentiments amicaux et de nos remerciements.

Notre reconnaissance va également à Monsieur BESSON, Maître-Assistant à l'Université de Poitiers à qui nous avons fait appel pour la partie mathématique de notre travail.

Nous remercions vivement Madame LACOTTE pour les soins qu'elle a apportés à la dactylographie du texte, ainsi que Monsieur CHARPRENET pour la réalisation des photographies.

Notre reconnaissance et notre gratitude s'adressent aussi à tous ceux qui, à divers titres, nous ont apporté leur concours.

PLAN

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU DEVELOPPEMENT DE L'ALFA (Stipa tenacissima L.)
D'ALGERIE : GERMINATION, CROISSANCE DES FEUILLES ET DIFFERENCIATION DES
FIBRES.

AVANT-PROPOS

INTRODUCTION p. 1

PREMIERE PARTIE

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ALFA (Stipa tenacissima L.)

CHAPITRE I - SYSTEMATIQUE, REPARTITION ET HISTORIQUE SOMMAIRE . .	p. 3
I - RAPPEL SUR LA SYSTEMATIQUE	p. 3
II - REPARTITION GEOGRAPHIQUE	p. 7
III - INTERET ECONOMIQUE	p. 7
CHAPITRE II - CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT DE LA PLANTE	p. 9
I - GERMINATION	p. 9
A/ <u>Matériels et méthodes</u>	p. 9
1 - Matériel	p. 9
2 - Méthodes	p. 9
a) Action de la température	p. 9
b) Action d'un prétrempage	p. 10
c) Action de la lumière	p. 10
α - Lumière naturelle	p. 10
β - Rouge - Rouge lointain	p. 10

B/ <u>Résultats</u>	p. 11
1 - La température	p. 11
2 - La prétrempage	p. 13
3 - La lumière	p. 14
a) La lumière naturelle	p. 14
b) Rouge et Rouge-lointain	p. 14
C/ <u>Observations morphologiques des premiers</u>	
<u>stades de la germination</u>	p. 15
D/ <u>Conclusion à l'étude de la germination</u>	p. 16
II - CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT EN SERRE	p. 17
A/ <u>Conditions de culture</u>	p. 17
1 - Le sol et l'eau	p. 17
2 - La température	p. 17
3 - Energie lumineuse fournie aux plantes	p. 18
B/ <u>Observations</u>	p. 19
1 - Techniques statistiques	p. 19
a) Calcul de l'écart-type	p. 19
b) Comparaison des moyennes de l'échantillon	p. 19
2 - Evolution du nombre de rameaux au cours du développement en serre	p. 19
3 - Comparaison de la longueur des feuilles	p. 20
C/ <u>Conclusions</u>	p. 22

DEUXIEME PARTIE

ORIGINE ET DIFFERENCIATION DE LA FIBRE DE Stipa tenacissima L.

CHAPITRE III - GENERALITES. PROBLEME GENERAL DE LA DIFFERENCIA-

TION DES FIBRES CHEZ LES DICOTYLEDONES ET CHEZ

LES MONOCOTYLEDONES p. 23

I -- DIFFERENCIATION DES FIBRES CHEZ LES

DICOTYLEDONES p. 23

II -- DIFFERENCIATION DES FIBRES CHEZ LES

MONOCOTYLEDONES p. 24

A/ Références générales p. 24

B/ Différenciation des fibres d'alfa p. 25

CHAPITRE IV - MATERIELS ET TECHNIQUES p. 27

I - MATERIELS p. 27

II - TECHNIQUES p. 27

A/ Microscopie photonique p. 28

1 - Fixation p. 28

2 - Déshydratation p. 28

3 - Imprégnation dans le toluène p. 28

4 - Imprégnation dans la paraffine p. 28

5 - Inclusions p. 28

6 - Réalisation des coupes p. 28

7 - Coloration des coupes p. 29

a) Mise en évidence des constituants
cellulaires p. 29

b) Mise en évidence des constituants
des parois p. 30

B/ Microscopie électronique p. 31

1 - La fixation et le lavage p. 31

2 - Post-fixation et lavage p. 33

3 - Déshydratation p. 33

A/ <u>Structures des cellules-mères de fibres</u>	
<u>sous-épidermiques</u>	p. 45
B/ <u>Différenciation des fibres sous-épidermiques</u>	p. 46
C/ <u>Conclusions</u>	p. 46
III - ULTRASTRUCTURE ET MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES	
DES CELLULES-MÈRES DE FIBRES SOUS-ÉPIDERMQUES .	p. 47
A/ <u>Ultrastructure des cellules-mères de fibres</u>	
<u>sous-épidermiques</u>	p. 47
1 - Les infrastructures cellulaires	p. 47
a) Hyaloplasme, ribosome, réticulum	
endoplasmique et appareil de Golgi . .	p. 47
b) Le noyau	p. 47
c) Le chondriome	p. 47
d) Le vacuome	p. 47
e) Le plasmalemma et la paroi	p. 47
B/ <u>Modifications ultrastructurales dans les</u>	
<u>cellules-mères de fibres sous-épidermiques</u> .	p. 48
1 - Introduction	p. 48
2 - Stades étudiés	p. 48
C/ <u>Conclusions</u>	p. 52

CHAPITRE VII- STRUCTURE, ULTRASTRUCTURE ET MODIFICATIONS ULTRA-

STRUCTURALES DES CELLULES SITUÉES ENTRE LES FIBRES	
SOUS-ÉPIDERMQUES ET LE FAISCEAU CONDUCTEUR DU LOBE	
MÉDIAN DE LA FEUILLE D'ALFA	p. 54
I - INTRODUCTION	p. 54
II - STRUCTURE DES CELLULES SITUÉES ENTRE LES FIBRES	
SOUS-ÉPIDERMQUES ET LE FAISCEAU CONDUCTEUR . .	p. 54
A/ <u>Observations</u>	p. 54
B/ <u>Conclusions</u>	p. 55
III - ULTRASTRUCTURE ET MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES	p. 55
A/ <u>Ultrastructure</u>	p. 55
1 - Stades étudiés	p. 55
2 - Conclusions	p. 57

4 - Imprégnation	p. 34
a) Imprégnation à l'Epon-Araldite	p. 34
b) Imprégnation à l'Araldite	p. 34
5 - Inclusion	p. 35
6 - Ultramicrotomie	p. 35
7 - Observations	p. 36
C/ <u>Dissociation des fibres</u>	p. 36

CHAPITRE V - ANATOMIE ET REPARTITION DU TISSU FIBREUX CHEZ

LA FEUILLE D'ALFA AU COURS DU DEVELOPPEMENT	p. 37
I - INTRODUCTION	p. 37
II - STADES ETUDIES	p. 37
A/ <u>Mise en place et évolution du tissu fibreux</u>	
<u>dans la feuille d'ordre 1</u>	p. 38
B/ <u>Mise en place et évolution du tissu fibreux</u>	
<u>dans la feuille d'ordre 2</u>	p. 40
C/ <u>Mise en place et évolution du tissu fibreux</u>	
<u>dans la feuille d'ordre 3</u>	p. 41
D/ <u>Conclusions</u>	p. 42
III - QUELQUES DONNEES SUR LES CONSTITUANTS DES	
PAROIS DES FIBRES	p. 43
A/ <u>Observations</u>	p. 43
B/ <u>Résultats</u>	p. 43
C/ <u>Conclusions</u>	p. 43

CHAPITRE VI - STRUCTURE, ULTRASTRUCTURE ET MODIFICATIONS ULTRA-

STRUCTURALES DE CELLULES-MERES DE FIBRES SOUS-	
EPIDERMiques AU COURS DE LA DIFFERENCIATION	p. 45
I - INTRODUCTION	p. 45
II - STRUCTURE ET DIFFERENCIATION DES CELLULES-	
MERES DE FIBRES SOUS-EPIDERMiques	p. 45

B/ <u>Modifications ultrastructurales</u>	p. 57
1 - Dégénérescence des plastes	p. 57
2 - Dégénérescence du noyau	p. 58
3 - Dégénérescence du chondriome	p. 58
4 - Dégénérescence de l'ensemble des organites cellulaires	p. 58
C/ <u>Conclusions</u>	p. 58

TROISIEME PARTIE

CONCLUSIONS GENERALES ET PROBLEMES POSES
--

CHAPITRE VIII - LA GERMINATION ET LE DEVELOPPEMENT DE

Stipa tenacissima L. p. 61

CHAPITRE IX - LA DIFFERENCIATION DE LA FIBRE DANS LES

JEUNES FEUILLES D'ALFA p. 61

PIANCHES

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

La superficie occupée par l'alfa (Stipa tenacissima L.) en Afrique du Nord et les qualités présentées par cette plante ont très tôt incité l'homme à une exploitation intensive.

En effet, les feuilles de cette graminée présentent un intérêt socio-économique tout particulier car elles possèdent des fibres qui ont des propriétés réputées de finesse, résistance et souplesse permettant d'obtenir un papier de très haute qualité. Par ailleurs, cette plante alimente aussi des industries de sparterie : celles des cordages, des tresses, des nattes et des tapis (KIRBY, 1963).

En outre, l'exploitation de l'alfa nécessite une main-d'oeuvre importante ce qui assure à la population locale un emploi et empêche ainsi l'exode rural.

Mises à part ces applications industrielles, le Stipa tenacissima L. est un élément dominant de la flore des régions steppiques arides d'Afrique du Nord en raison de l'adaptation morphologique et anatomique de sa partie aérienne au xérophytisme (feuille aciculaire, tissu fibreux très développé, parenchyme assimilateur très réduit). Par ailleurs, il fixe le sol par son système racinaire bien développé.

Considérée depuis les anciens temps comme une plante inépuisable, la production actuelle est néanmoins en baisse; bien que les moyens mis en oeuvre en vue d'une meilleure exploitation industrielle soient en progrès continuels, soulignons que cette diminution va de paire avec l'accroissement du phénomène de l'érosion en Algérie. Sa disparition aurait des conséquences très graves.

Les recherches fondamentales actuelles en vue d'une meilleure connaissance de ce précieux végétal en sont encore à un stade embryonnaire. Ces recherches fondamentales devraient être accélérées pour aboutir rapidement à un certain nombre d'applications pratiques et notamment une amélioration de la production.

Loin de donner une étude complète de ce matériel, nous nous proposons de connaître quelques aspects biologiques.

Selon les observations de TRABUT (1889) et BOUDY (1950) la germination des caryopses de Stipa tenacissima L. est rare, en conditions naturelles, dans les régions où se développe cette plante. Aussi avons-nous recherché dans la première partie de ce travail les conditions optimales de la germination et les conditions de développement en serre.

Au cours de son développement la feuille d'alfa présente un accroissement important du "tissu fibreux" selon la nomenclature de DUVAL-JOUE (1875) dans lequel les fibres sont caractérisées par l'épaisseur de leur paroi et un allongement important. Aussi, tous les auteurs qui ont étudié l'espèce Stipa tenacissima L. n'ont pas manqué de décrire ce tissu. Toutefois ils l'ont observé par des méthodes anatomiques statiques.

Un aspect dynamique du problème a été apporté dans la deuxième partie de notre travail par une étude de l'évolution histologique du tissu fibreux au moyen des techniques de microscopie photonique et une observation des modifications cellulaires par les techniques ultrastructurales.

Enfin, dans la troisième partie de ce présent mémoire, nous avons regroupé les résultats obtenus et les questions qui restent posées.

PREMIERE PARTIE

Contribution à l'étude de l'alfa

CHAPITRE I

SYSTEMATIQUE, REPARTITION ET HISTORIQUE SOMMAIRE

I - RAPPELS SUR LA SYSTEMATIQUE

Le genre Stipa L. qui appartient à la famille des Graminées, possède d'après BATTANDIER et TRABUT (1895) les caractéristiques suivantes "épillets uniflores en panicule; glumes 2, plus longues que la fleur, longuement acuminées ou aiguës, mucronées, glumelle inférieure coriace, enroulée ou submembraneuse, bifide, longuement aristée, arête articulée sur le sommet de la glumelle, glumellules 2; étamines 3, styles 2, rarement 3, caryops libres munis d'un léger sillon mais enveloppés par les glumelles", (loc. cit. 161).

L'espèce Stipa tenacissima L. est classée par BATTANDIER et TRABUT (1895) dans la section Machrochloa (glumelle membraneuse à sommet bifide). Ces auteurs en ont donné la description suivante "vivace à rhizome très rameux formant des souches d'abord compactes homogènes mais devenant circulaires par le dépérissement des rameaux anciens du centre; innovations par 2-3 au sommet des rameaux; chaumes de 6 à 10 décim., feuillés, recouverts par les gaines très longues de 3-4 feuilles qui naissent sur les 5 centim. inférieurs, si bien que le chaume ne présente pas de noeuds dans toute sa partie émergée, il est solide, plein". "... feuilles à gaines lisses, luisantes, ligule biauriculée velue, prolongée de chaque côté par une subule de 10 à 12 millim. limbe variant de 3 à 12 décim. plein, rubané pendant la période

de végétation à face supérieure relevée de sept fortes nervures, face inférieure unie luisante par la sécheresse, les deux moitiés de la feuille se rencontrent et forment un limbe, dur, sec, jonciforme, la pointe est fine, piquante; panicule allongée, compacte de 25 à 35 centim.; épillets portés sur des rameaux inégaux et dont les primaires sont insérés par 3-6 sur l'axe principal, toutes les ramifications présentent au-dessous de leur origine un faisceau de poils, glumes égales de 25 millim. membraneuses subulées, quatre fois plus longues que la fleur (loc. cit. p. 162)".

MAIRE (1953) qui classe Stipa tenacissima L. dans la section Machrochloa K. en donne la description suivante : "rhizome très rameux, formant des touffes d'abord compactes puis devenant annulaires; innovations renflées à la base, portant à l'opposé de la feuille axillante une préfeuille constituée par une gaine biauriculée portant deux prolongements linéaires, mous, soyeux, plumeux, de 2,5-3 centim., qui font saillie à la gorge de la gaine de la feuille axillante ... sclérenchyme formant un tissu hypodermique continu sur la face externe du limbe..." (loc. cit., p. 63).

D'après OZENDA (1958), le genre Stipa appartient à la famille des Graminées, sous-famille des Agrostidées, tribu des Stipées, possède les caractéristiques suivantes "Une lemme prolongée par une très longue arête qui est coudée en son milieu, tordue en spirale et généralement poilue au-dessous du coude, glabre et arquée en fouet au-dessus ..." (loc.cit. p. 164).

Le tableau I place les Stipeae dans la classification de HUTCHINSON (1959). Les caractères distinctifs apparents permettant de reconnaître facilement les Graminées sont regroupés dans le tableau II.

TABLEAU I - Place des Graminées dans la classification de HUTCHINSON (1959)

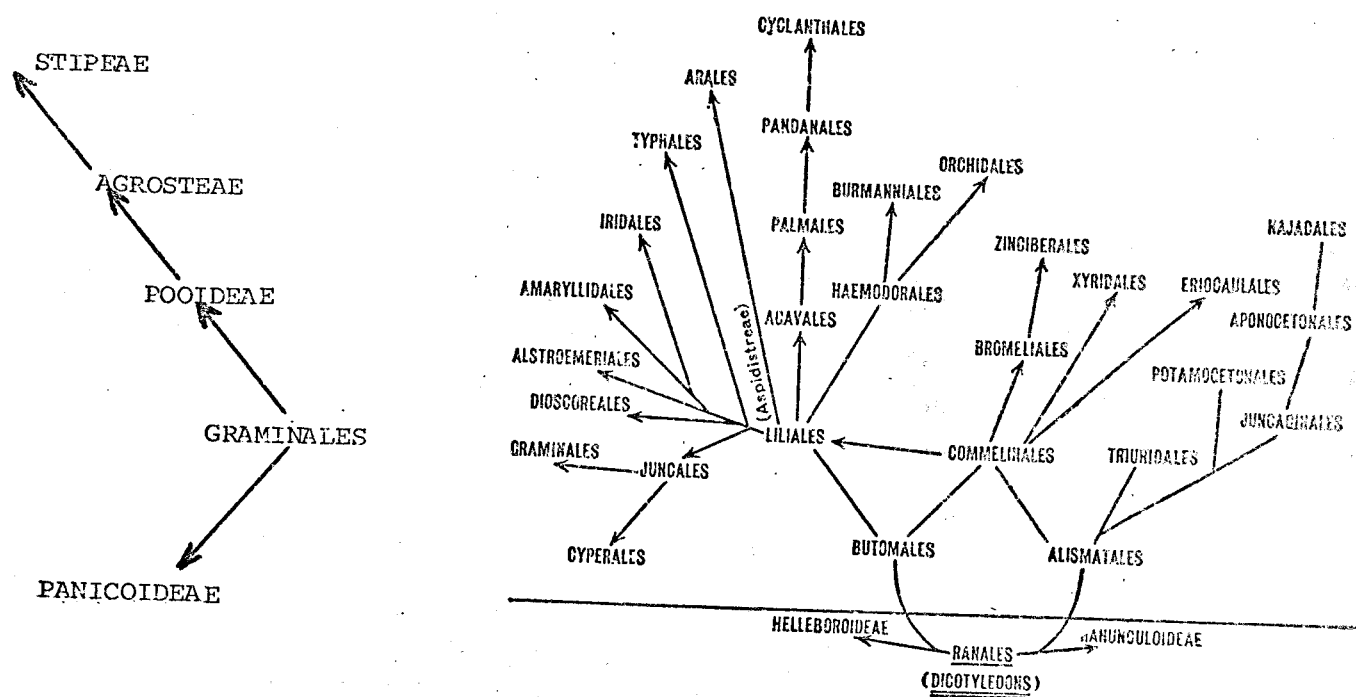
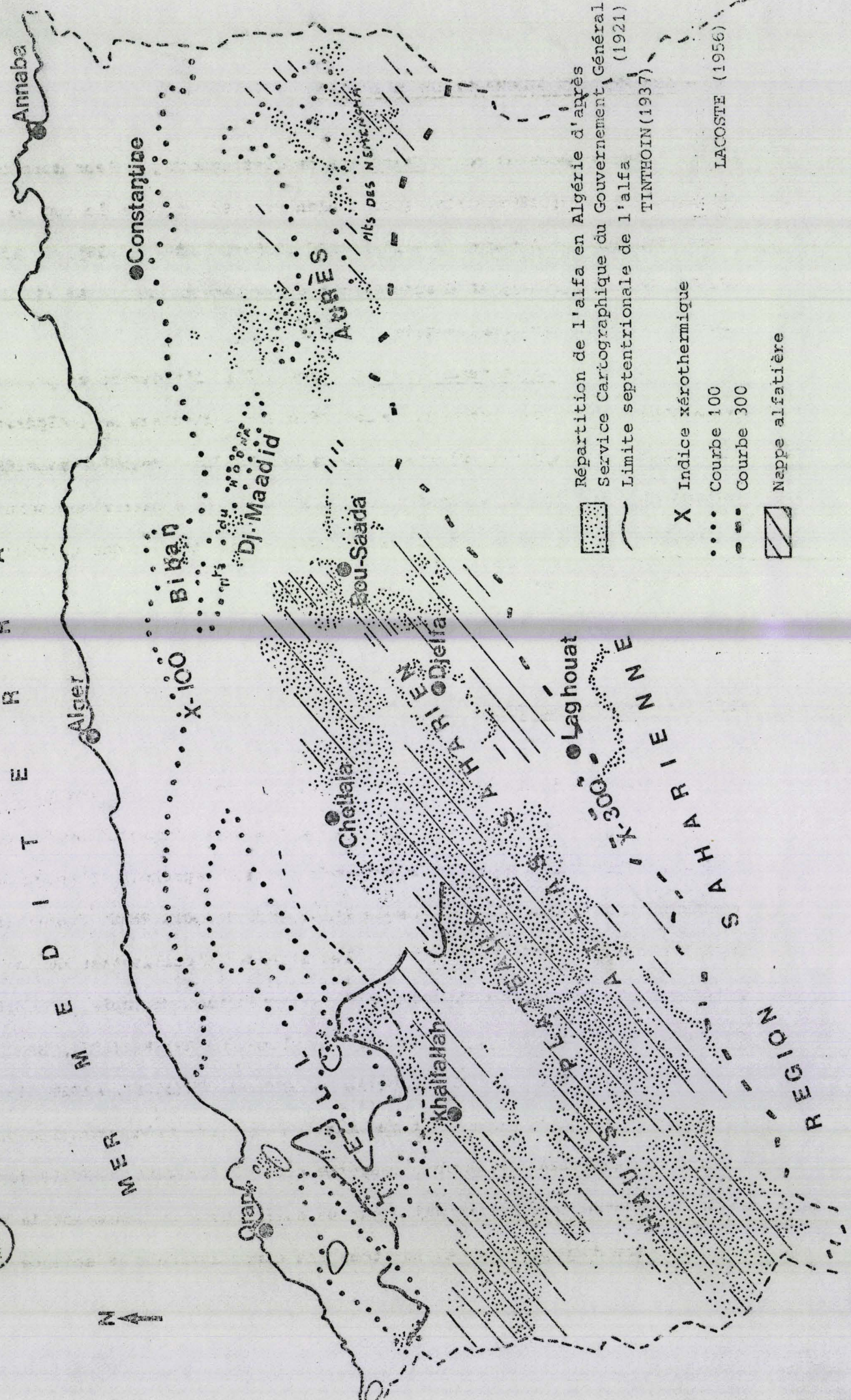


TABLEAU II - CARACTERES DISTINCTIFS APPARENTS PERMETTANT DE RECONNAITRE
FACILEMENT LES GRAMINEES

	Caractères	Références
<u>Famille</u> GRAMINEES	<u>Tige</u> 1. Souche longue, rampante portant tige dressée (<u>Lygeum spartum</u>) 2. Chaume ramifié jusque dans leur partie moyenne et supérieure (<u>Aristida acutiflora</u>) 3. Noeuds garnis d'un anneau de cils blancs (<u>Aristida ciliata</u>) 4. Plantes de grandes tailles dépassant 1 mètre (<u>Stipa tenacissima</u> L.) <u>Dans les inflorescences</u> 1. Inflorescence entremêlées de feuilles (<u>Panicum turgidum</u>) 2. Epis à la fois simple et très grêle (<u>Oropetium</u>) <u>Dans les fleurs</u> 1. Glumes portant des épines crochues : <u>Tragus</u> 2. Lemme portant une très longue arête (<u>Avena</u>) Arête coudée et tordue en spirale à la base (<u>Stipa</u>) Arête trifurquée (<u>Aristida</u>) 3. Lemme à 9 pointes (<u>Enneapogon</u>)	OZENDA (1958)
<u>Sous famille</u> AGROSTIDEES	- Glumelle supérieure à 2 nervures ou manquant - Lemme portant 3 à 5 nervures libres - Glume plus longue que le lemme - Graine adhérent au péricarpe	BATTANDIER, TRABUT (1895) HUTCHINSON (1959)
<u>Tribu des</u> STIPEES	- Ligule de la feuille membraneuse - Lemme munie d'arêtes au sommet - Arête simple, très longue au moins dix fois plus longue que la lemme, tordue en spirale à sa base et coudée vers son milieu	OZENDA (1958)



BUS
LILLE



96 km

Fig. 1 : REPARTITION DE L'ALFA EN ALGERIE

II - REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE L'ALFA

Les espèces du genre Stipa qui se distinguent par leur morphologie et leur anatomie [MAZOYER (1936)], sont bien représentés dans le sud de l'Europe (Espagne) en Afrique du Nord, [MAIRE (1953), OZENDA (1958)], en Afrique du Sud, [WINTER (1965)], et d'après les travaux récents de BLANKA (1973) en Europe centrale (Tchécoslovaquie).

L'espèce Stipa tenacissima L. qui a fait l'objet de ce présent travail pousse dans les zones semi-arides des Hauts-Plateaux de l'Algérie, dans les régions de Laghouat, Djelfa et du Djebel Maadid, dans les massifs des Bibans et dans les Aurès. La figure 1 a été établie à partir des données du service cartographique du Gouvernement général (1921) et des travaux de TINTHOIN (1937), BOUDY (1950), LACOSTE (1955). (COUDERC, 1944)

III - INTERET ECONOMIQUE

Alfa que l'on a écrit parfois "Halfa" (TRABUT, 1889) est un mot arabe. Le mot d'origine latine "spartum" qui a donné "sparto" ou "esparto" (TURREL, 1876) est l'appellation employée par les espagnols. L'usage de l'alfa remonte à l'antiquité puisque PLIN (cf. TRABUT, 1889) énumérait déjà les opérations de la récolte et les méthodes d'utilisation de la plante. L'alfa est très recherché pour la fabrication de tapis, de cordes, de nattes et surtout de papier de haute qualité, [CHARRIER (1873), MARIANO (1876), TURREL (1876), De MONTESSUS de BALLORE (1907) (1909), KIRBY (1963)]. D'ailleurs, ses qualités en tant que matière première très appréciée ont suscité une exploitation parfois exagérée comme l'écrivait CHARRIER dès 1873. "... Notre textile travaillé par un outillage convenable est la véritable matière du papier. Il a, sur tous les corps auxquels la science s'est

adressée l'avantage d'être un produit spontané ... de plus, il ne laisse prévoir aucune limite à sa production car il existe en grandes plantations qui, bien conduites peuvent être comme inépuisables ..." (loc. cit. p. 16).

L'exploitation de cette plante devrait être plus rationnelle au risque de la voir disparaître un jour, danger que signalait TURREL dès 1876 :

"... La récolte du sparte en Algérie se fait abusivement pendant toute l'année. Il serait prudent qu'elle fut réglementée pour que la source de cette industrie ne soit pas prochainement compromise ..." (loc. cit. p. 489).

CHAPITRE II

CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT DE LA PLANTE

I - GERMINATION

A/ Matériel et méthodes

1/ Matériel

Le fruit de l'alfa est un caryopse qui adhère fortement à ses téguments séminaux, durs et coriaces; il est entouré à maturité par les glumelles (la lemme et le paléole) auxquels cependant il n'adhère pas (Pl. I, fig. 1 a,b,c). Les caryopses mûrs ont été débarrassés de leurs glumelles avant d'être utilisés.

2/ Méthodes

Les caryopses* mûrs sont utilisés directement, c'est-à-dire sans avoir subi de traitement préalable tel que immersion dans l'eau chaude (KELLERMANN, 1890), traitement mécanique (ATTERBERG, 1907), chauffage (WOROBIOW, 1915), traitement à l'acide sulfurique (ARRINGTON, 1923) moyens qui, d'après ces auteurs, facilitent la germination d'une manière générale, en rendant les téguments plus perméables. Une fois débarrassés de leurs glumelles, les caryopses ont été mis à tremper dans l'eau distillée pendant 20 heures à l'abri de la lumière; ils ont été répartis en lot de 40 et placés sur du papier filtre humidifié, dans des boîtes carrées en verre.

a) Action de la température

Les lots ont été placés à l'obscurité aux températures respectives

* Ces caryopses nous ont été gratuitement fournis par l'Office national de l'alfa algérien (ONALFA). Ils ont été récoltés en mai 1976 dans la région de Khalfallah (cf. fig. 1).

de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40°C. Dans tous les cas nous avons expérimenté sur 2 lots de 40 caryopses; pour le décompte des germinations nous avons adopté le critère suivant : tout caryopse, dont la pellicule tégumentaire enveloppant l'embryon est soulevée ou fendue dans sa partie médiane, laissant apparaître le coléoptile ou la coléorhize, est considéré comme un caryopse germé.

b) Action d'un prétrempage

Les lots ont été mis à tremper pendant 24 heures dans de l'eau distillée, tandis que les lots témoins sont placés directement en condition expérimentale. (La température de 15°C ayant donné de bons résultats, nous avons opéré à cette température).

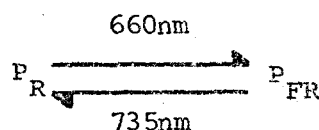
c) Action de la lumière

α - Lumière naturelle

Les boîtes carrées contenant les caryopses ont été laissées à la lumière naturelle. Les lots témoins ont été maintenus à l'obscurité. La température de 15°C ayant donné des résultats excellents, nous avons opéré à cette température.

β - Rouge - rouge lointain (Infra-rouge)

Depuis les travaux de BORTWICK, HENDRICKS et PARKER (1952) on sait qu'il existe chez les végétaux supérieurs un pigment appelé phytochrome. Ce pigment a la propriété de contrôler de nombreux aspects du développement de la plante, en particulier la germination de certaines graines. Selon ces auteurs ce pigment existe sous 2 formes : P_R et P_{FR} . Il y a possibilité de passer d'une forme à l'autre sous l'effet d'une irradiation de longueur d'onde particulière selon la réaction.



Ainsi BORTHWICK et al., (1952) ont montré que la forme P_{FR} jouit de propriété inductrice sur la germination des graines de salade variété Grand rapid alors qu'au contraire la forme P_R possède des propriétés inhibitrices.

Nous avons étudié l'action des radiations Rouge et Rouge-lointain (Infra-rouge) sur la germination des caryopses de Stipa tenacissima L. Les sources lumineuses émettant la lumière rouge sont des tubes fluorescents Philips TL 15 fournissant une énergie de $1750 \text{ ergs.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$. L'Infra-rouge a été obtenu à partir de la lumière émise par des ampoules à incandescence MAZDA 200W. Une couche d'eau de 5cm d'épaisseur placée au-dessous de la lampe, supprime les longueurs d'ondes supérieures à 1400nm. Quant aux longueurs d'onde inférieures à 700nm, elles sont éliminées au moyen d'un verre coloré de 3mm d'épaisseur type RGN 9 SCHOTT et Gén. La valeur de l'éclairement énergétique dans cette manipulation était de $1300 \text{ ergs.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ dans la bande spectrale allant de 710 à 750nm.

Le premier lot a reçu successivement un éclairage Infra-rouge (IR) pendant 15 minutes suivi d'un éclairage Rouge (R) de durée identique. Le second lot a reçu des éclairages de même durée dans l'ordre inverse (R-IR). Puis les lots ont été placés en serre à l'obscurité et à la température de 20°C.

B/ Résultats

1/ La température

La germination des caryopses de Stipa tenacissima L est influencée par la température comme le montrent les résultats illustrés par les courbes de la figure 3 et les histogrammes de la figure 2; ces derniers qui représentent le pourcentage de germination AG dans les intervalles de temps $\Delta t = 1$ jour, laissent apparaître qu'il n'y a pas de température franche pour l'optimum. Il est obtenu pour des températures comprises entre 15° et 25°.

Il apparaît aussi que les températures comprises entre 5° et 10°C retardent le phénomène. Les températures supérieures à 25°C ont une action sur la capacité germinative des caryopses d'alfa.

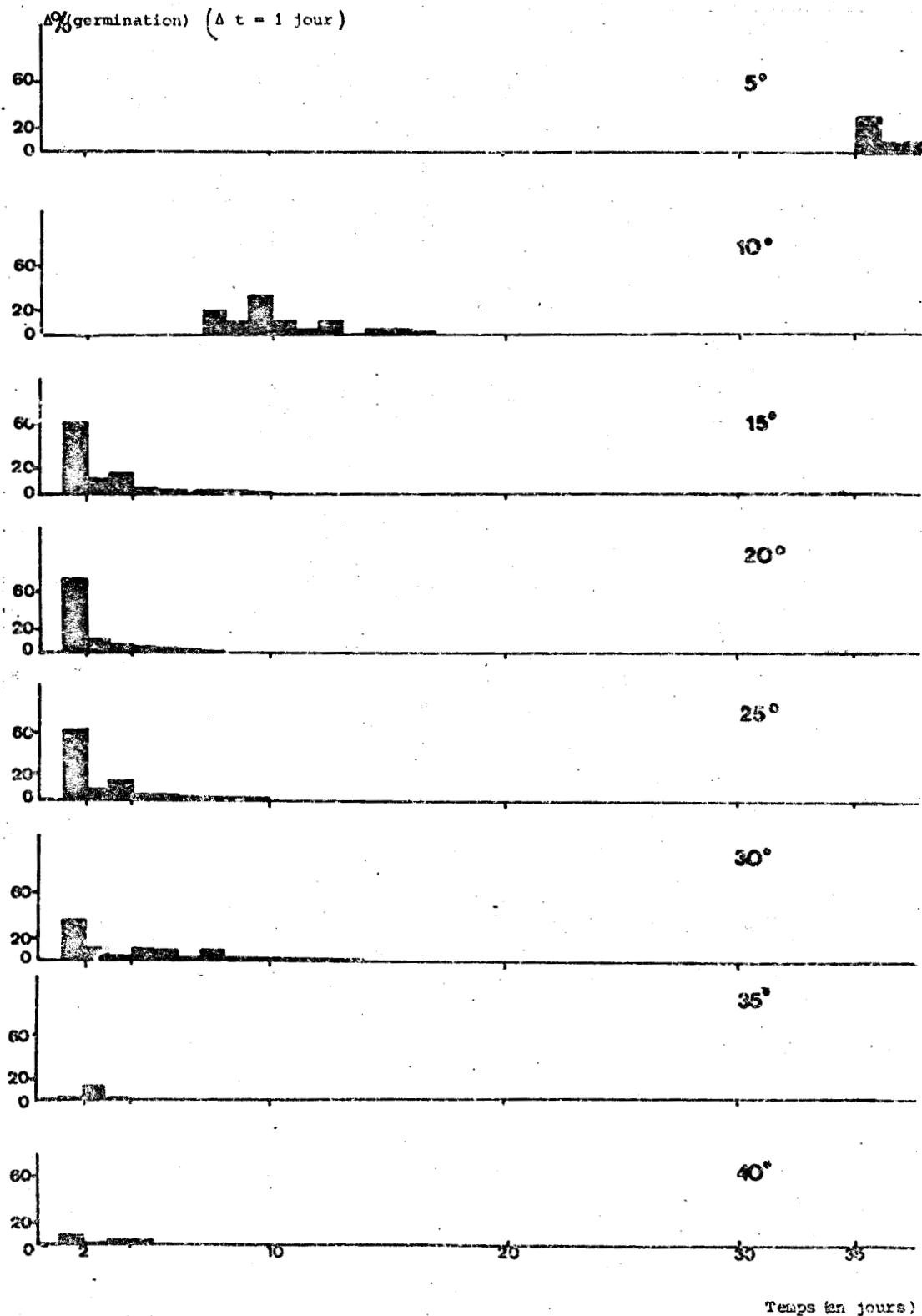


Fig. 2 - Histogrammes représentant l'évolution de la vitesse de germination $\frac{\Delta G}{\Delta t}$ ($\Delta t = 1j$) au cours du temps pour diverses températures.

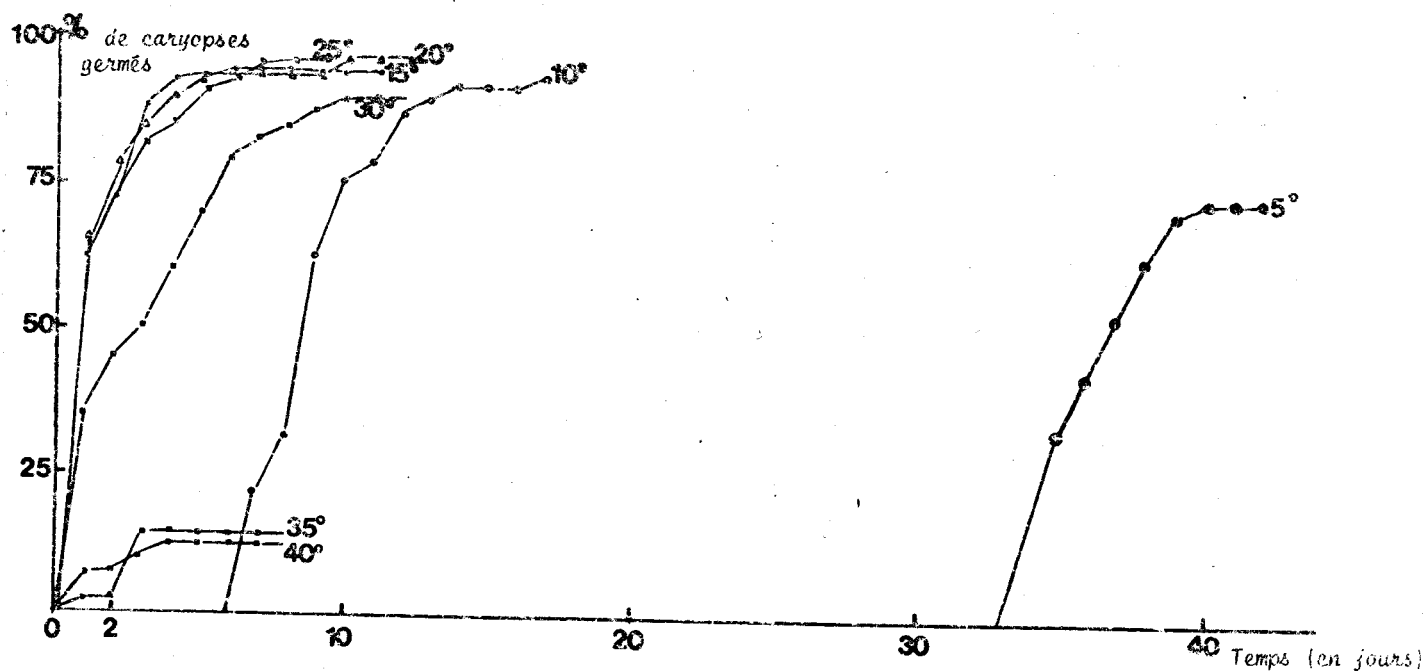


Fig. 3 - Pourcentage de germination des caryopses d'alfa (*Stipa tenacissima* L.) au cours du temps pour diverses températures.

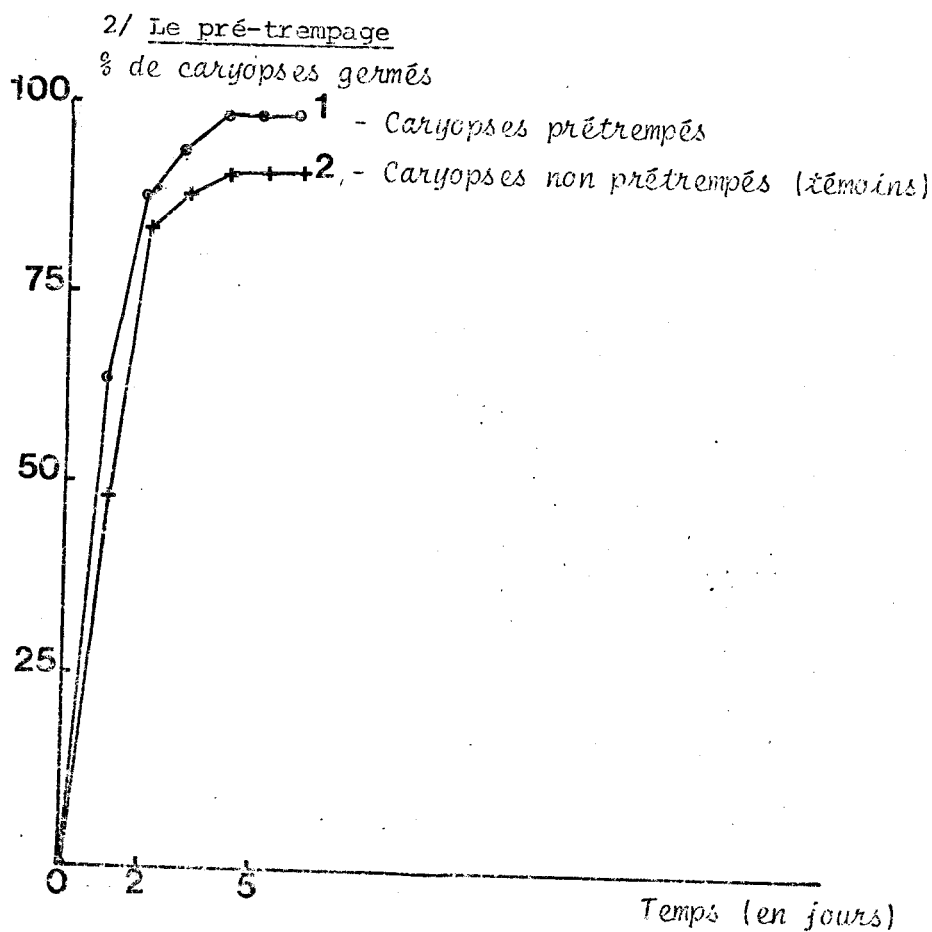


Fig. 4 - Effet d'un pré-trempage sur la germination de l'alfa (*Stipa tenacissima* L.).

Les résultats obtenus, représentés par les courbes de la figure 4 laissent apparaître qu'un prétrempage de 24 heures dans l'eau distillée n'a pas d'influence sur le pourcentage de germination des caryopses d'alfa.

3/ La lumière

a) La lumière naturelle

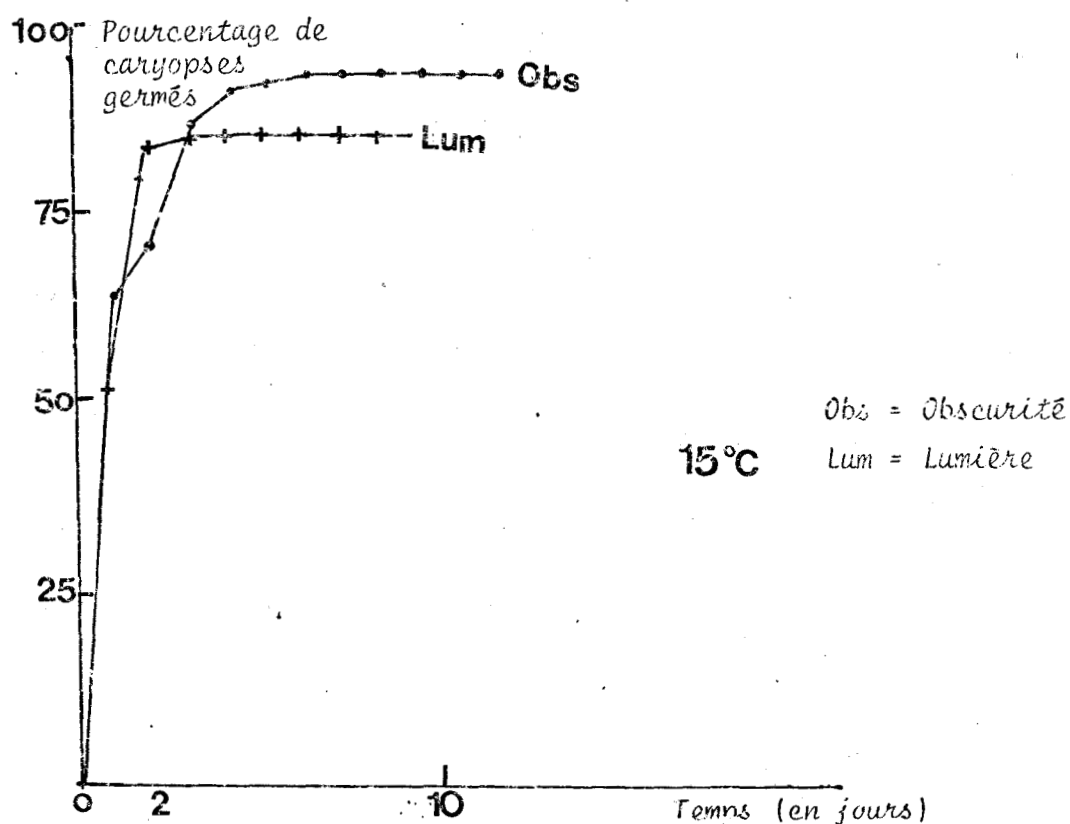


Fig. 5 - Effet de la lumière naturelle et de l'obscurité sur la germination des caryopses de l'alfa (*Stipa tenacissima* L.).

Les résultats représentés par les courbes de la figure 5 indiquent que la lumière naturelle n'a pas d'effet direct sur la germination des caryopses d'alfa.

b) Rouge et Rouge lointain

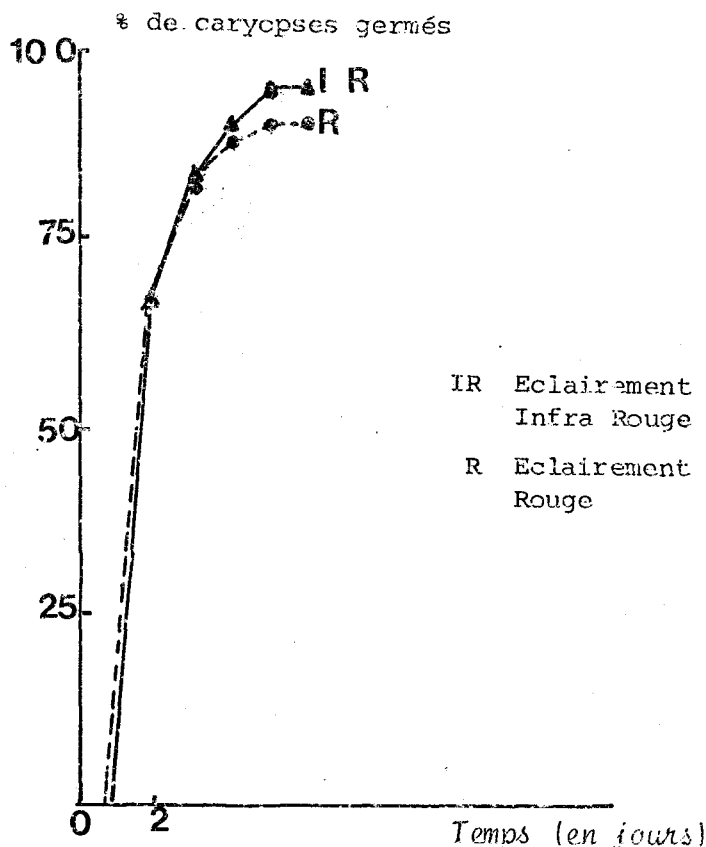


Fig. 6 - Effet de radiations Rouge et Infra Rouge sur la germination de l'alfa (*Stipa tenacissima* L.).

Les résultats obtenus (fig. 6) montrent qu'à la température de 15°C, les radiations Rouge (R) et Rouge lointain (IR) sont apparemment sans effet sur la germination des caryopses.

C/ Observations morphologiques des premiers stades de la germination

Dès le premier jour de germination (Pl. I, fig. 2a) la pellicule tégumentaire enveloppant l'embryon se soulève ou se fend à sa partie médiane laissant apparaître le coléoptile, protubérance en forme d'étui (Pl. I, fig. 2b). Au troisième jour de germination émerge à l'opposé du coléoptile, la coléorhize (Pl. I, fig. 2c).

Au quatrième jour le coléoptile s'accroît, la radicule perce la coléorhize (Pl. I, fig. 3) et s'allonge (Pl. I, fig. 4). Au huitième jour

de germination le coléoptile atteint une longueur maximale (2 centimètres), se fend pour laisser apparaître la première feuille (Pl. I, fig. 5). A ce stade les plantules sont repiquées et placées dans les conditions de cultures nouvelles.

D/ Conclusion à l'étude des conditions optimales de la germination

L'étude des conditions optimales de la germination des caryopses d'alfa montre que la germination exige des températures comprises entre 5 et 25°C. Cependant les meilleurs pourcentages de germination obtenus au bout d'un temps minimal (3 jours), sont obtenus pour les températures de 15, 20 et 25°C. Les températures plus basses 5 et 10°C retardent le phénomène mais n'ont qu'une action faible sur la capacité germinative. Les températures supérieures à 30°C inhibent les processus de germination.

La lumière naturelle et les radiations Rouge et Rouge lointain, sont sans effet direct sur la germination des caryopses d'alfa.

L'action du prétrempage n'a pas d'influence activatrice sur le pourcentage de germination.



TABLEAU III - ANALYSE MECANIQUE ET CHIMIQUE DU SOL EXPERIMENTAL A LA STATION BIOLOGIQUE DE BEAU-SITE
ET DU SOL DE KHALFALLAH (Algérie)

ANALYSE MECANIQUE			ANALYSE CHIMIQUE					
%	sol expérimental	sol de Khalfallah	base échangeable m.eq. 100 g. terre	sol expérimental	sol de Khalfallah	sels solubles	sol expérimental	sol de Khalfallah
Humidité	1,01	1,86		17,77	33,69	SO_4^{2-}	traces	néant
Argile	7,93	12,86	Ca	0,93	1,43	Ca^{2+}	0,77	1,06
Limon fin	7,93	12,52	Mg					
Limon grossier	4,85	12,74	K	0,20	1,09	Mg^{2+}	0,22	0,11
Sable fin	13,13	55,55	Na	0,18	0,15	Na^+	0,17	0,10
Sable grossier	64,14	2,24	S	19,08	36,16	K^+	0,10	0,07
Calcaire total	3,97	5,98	T	6,01	12,38			
Matière organique	0,93	2,05	S/T	saturé	saturé			

Légende : T : capacité d'échange

S : somme des bases échangeables

i.m.eq : milliequivalent : $\frac{\text{poids moléculaire}}{\text{valence} \times 1000}$

II - CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT EN SERRE

A/ Conditions de culture

Les plantules ont été placées dans une serre et ont subi de ce fait des variations d'éclairement et de température que nous avons d'ailleurs notées avec le maximum de soin.

1/ Le sol* et l'eau

Les plantules ont été transplantées dans un bac en bois ayant une surface de 1 m² et une hauteur de 1 mètre, contenant un mélange terre de jardin-sable, à part égale. La composition est représentée dans le tableau III.

Le pH du sol expérimental est de 7,9. Les plantes ont été arrosées à l'eau du robinet tous les 2 jours.

2/ La température

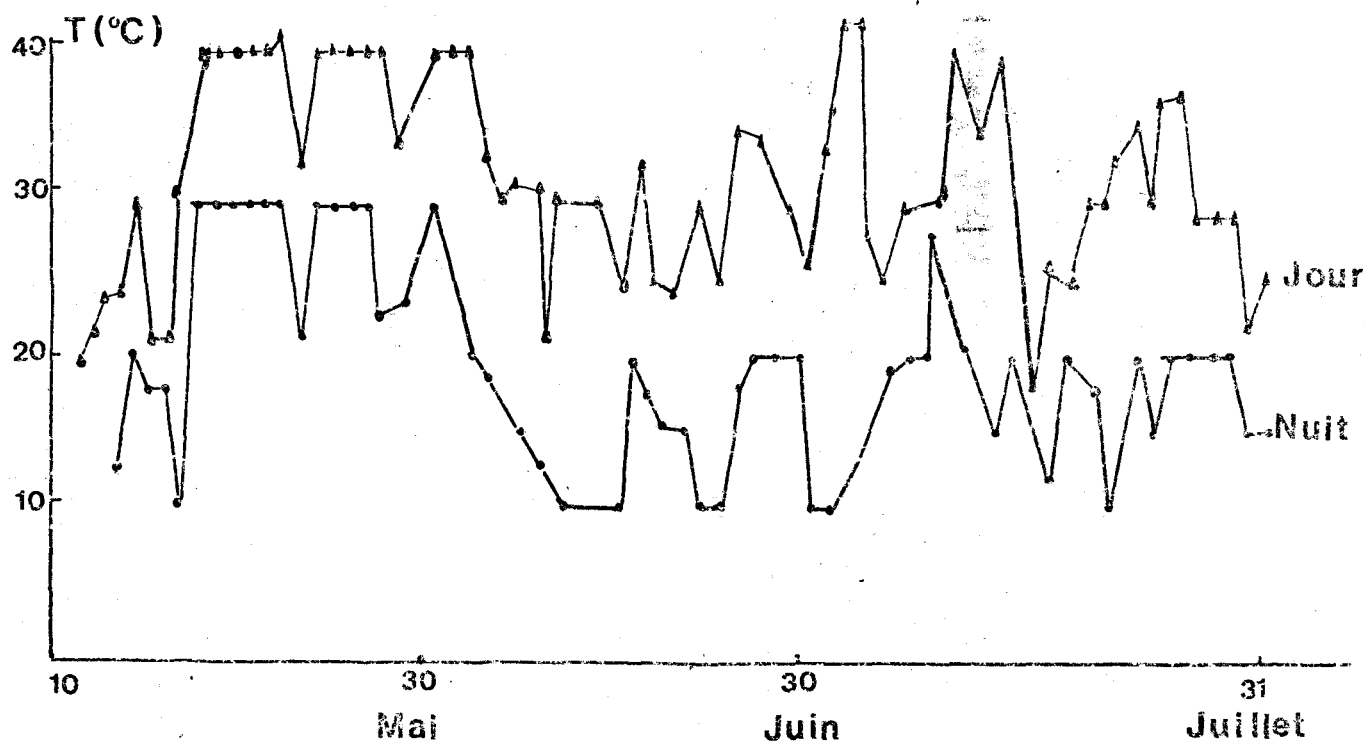


Fig. 7 - Valeurs maximales quotidiennes (jour et nuit) des températures enregistrées au cours des mois de Mai, Juin, Juillet 1977.

* Nous remercions Monsieur GARAI du Laboratoire de Pédologie de la Faculté des Sciences de Poitiers qui a bien voulu procéder à l'analyse chimique et mécanique du sol.

Les variations de température au cours de la culture ont été enregistrées à l'aide d'un thermomètre enregistreur. La figure 7 donne les valeurs maximales quotidiennes au cours des mois de Mai, Juin, Juillet 1977.

3/ Energie lumineuse fournie aux plantes

En plus de l'éclairement solaire, une lampe HQI-TS 400W dont la courbe de répartition spectrale est donnée par la figure 8 placée à 80 centimètres de la surface du sol fournit un éclairage d'appoint quotidien pendant 4 heures réparti de 6 heures à 8 heures le matin et de 20 heures à 22 heures le soir.

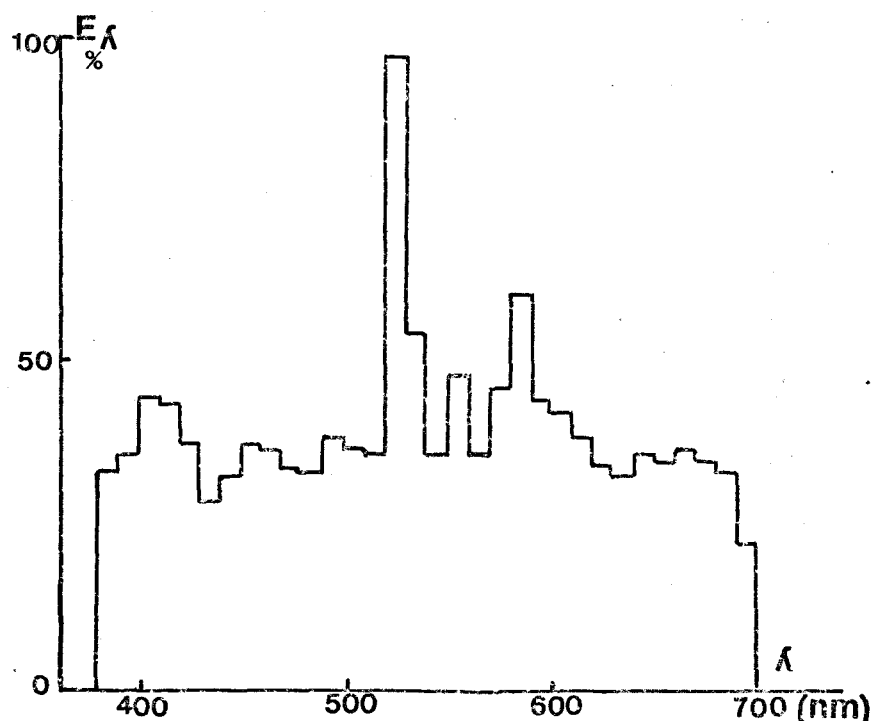


Fig. 8 - Courbe de répartition spectrale de la lampe HQI-TS 400W OSRAM (d'après le fournisseur)

La valeur énergétique d'un tel éclairage calculée avec la collaboration de Monsieur ROBLIN (Chargé de Recherche à la Station Biologique de Beau-Site), selon la méthode de MATHON et STROUIN (1960) est de 7300 ergs. $\text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, correspondant à une valeur de 10000 Lux mesurée au Luxmètre Guerpillon type 490.

B/ Observations

1. Techniques statistiques utilisées dans cette étude

a) Calcul de l'écart-type

Les différentes valeurs x_i obtenues pour une mesure donnée permettent de calculer la moyenne m pour n observations.

La variance σ^2 de l'échantillon est telle que :

$$\sigma^2 = \frac{\sum (x_i - m)^2}{n}$$

et l'écart-type est : $\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - m)^2}{n}}$; cet écart-type représente une mesure de la dispersion absolue de la distribution que nous étudions à l'intérieur de l'échantillonnage.

b) Comparaison des moyennes de deux échantillons

Le nombre d'échantillons considérés étant supérieur à 30, nous avons employé le test classique de comparaison des moyennes :

$$Z = \frac{m_A - m_B}{\sqrt{\frac{S_A^2}{n} + \frac{S_B^2}{n}}}$$

où m_A désigne la longueur moyenne de l'échantillon A mesuré;

m_B est la longueur moyenne de l'échantillon B mesuré.

S_A^2 représente la variance de la population estimée à partir de l'échantillon

A. Elle se calcule par la formule suivante :

$$S_A^2 = \frac{1}{n_A - 1} \cdot \sum (x - m)^2$$

2. Evolution du nombre des rameaux au cours du développement

Au cours de son développement le rhizome d'alfa présente un développement végétatif qui se manifeste par l'augmentation du nombre des rameaux ou "innovations" selon la nomenclature de TRABUT (1889) donnant à la plante un port en "touffe".

TABLEAU V - NOMBRE, MOYENNE ET ECART-TYPE DES FEUILLES D'ORDRE
1, 2, 3, 4, 5

Ordre d'apparition des feuilles	Nombre de feuilles mesurées	Longueur moyenne des limbes (m) en (cm)	Ecart-type (cm)
1*	27	35	9
2	166	36	11
3	202	38	10
4	171	34	15
5	161	47	13

TABLEAU VI - COMPARAISON DE LA LONGUEUR DES FEUILLES

Numéro d'ordre d'apparition des feuilles		valeurs des comparaisons des moyennes	test
feuille (1)	feuille (2)	0,52	-
feuille (1)	feuille (3)	1,07	-
feuille (1)	feuille (4)	0,48	-
feuille (1)	feuille (5)	5,64	+
feuille (2)	feuille (3)	1,75	-
feuille (2)	feuille (4)	1,36	-
feuille (2)	feuille (5)	7,24	+
feuille (3)	feuille (4)	2,81	+
feuille (3)	feuille (5)	6,10	+
feuille (4)	feuille (5)	7,45	+

- non significative

+ significatif au seuil de 5%

Le test de comparaison des moyennes des longueurs laissent apparaître que la feuille d'ordre 5 présente un accroissement plus important au cours du développement en serre.

* Le nombre faible d'échantillon pour la feuille d'ordre 1 vient de l'observation unique réalisée après 22 mois de culture, et de la durée de vie plus faible des feuilles de ce rang.



Les figures représentées dans la planche II illustrent quelques aspects du développement en serre.

Dans le tableau IV nous avons représenté le nombre moyen d'innovations par touffes développées après 5, 11, 15, 22 et 27 mois de culture.

TABLEAU IV - NOMBRE MOYEN D'INNOVATIONS PAR TOUFFE DEVELOPPÉES AU BOUT DE 5, 11, 15, 22, 27 mois de CULTURE EN SERRE

Age des touffes	Nombre de touffes considérées	Nombre moyen d'innovations	Ecart-type
5 mois	11	4	± 2
11 mois	11	22	± 1
15 mois	11	26	± 1
22 mois	5	32	± 2
27 mois	5	32	± 2

Ces résultats indiquent que l'alfa a présenté une ramification importante dès la première année (18 innovations formées), tandis qu'elle devient plus faible la deuxième année (10 innovations formées).

Nous avons également noté le départ d'un cas de floraison après 20 mois de culture, alors que dans les conditions naturelles la plante met au minimum 5 ans pour donner ses premières floraisons (TRABUT, 1889; BOUDY, 1950).

3. Comparaison de la longueur des feuilles

Au stade de 22 mois de culture, chaque rameau a développé en moyenne 5 à 6 feuilles. Des examens préliminaires laissent apparaître une différence de longueur entre les différentes feuilles. Le tableau V représente le nombre (n), la moyenne (m) et l'écart-type des feuilles prélevées sur 5 touffes.

C/ Conclusions

Ces premiers résultats sur la croissance et le développement en serre ont permis d'observer une variabilité du nombre d'innovations au cours de la culture. D'autre part, la longueur des feuilles développées au cours de cette période de culture a atteint en moyenne 38cm ce qui est satisfaisant par rapport aux résultats obtenus dans les conditions naturelles où les feuilles ne dépassent pas 12cm durant la première année de développement (BOUDY, 1950).

Ces premiers essais de culture en serre ont donné des résultats intéressants. Ils méritent d'être précisés.

DEUXIEME PARTIE

Origine et différenciation des fibres de la feuille d'alfa

CHAPITRE III

GENERALITES. PROBLEME GENERAL DE LA DIFFERENCIATION DES FIBRES CHEZ LES LES DICOTYLEDONES ET CHEZ LES MONOCOTYLEDONES

I - DIFFERENCIATION DES FIBRES CHEZ LES DICOTYLEDONES

Le problème de l'origine et de la différenciation des fibres préoccupe les chercheurs depuis fort longtemps puisque les travaux les plus anciens datent du XIXème siècle.

Dès 1852, TRECUl étudie l'origine des fibres ligneuses de certaines espèces de Dicotylédones telles que l'orme, le peuplier, le robinier. Pour cet auteur, les fibres n'auraient pas d'origine commune avec les cellules vasculaires mais résulteraient du dédoublement des cellules corticales les plus internes.

Pour FOSTER (cf. ESAU, 1943), les fibres auraient une origine péricyclique. Si ces auteurs mentionnent les zones où apparaissent les premières fibres, ils donnent peu de détails sur la structure de ces fibres. Ce problème sera abordé plus tard par d'autres chercheurs tels que DANGEARD (1889), KRUCH (1889) (1891), BELLI (1896), BRIOSI et TOCNINI (1897), LEGER (1897) puis ESAU (1943). Ces derniers auteurs rejettent le concept d'une origine péricyclique : chez plusieurs espèces les fibres situées apparemment dans le cortex proviennent du remaniement de la partie externe du phloème. C'est ainsi que ESAU (1943) en étudiant la différenciation des éléments vasculaires dans le point végétatif du lin, définit les fibres comme des éléments du protophloème dont le développement en diamètre et en longueur s'exercerait

aux dépens des premiers tubes en provoquant leur disparition par écrasement formant alors un tissu homogène composé de fibres.

CHODAT et DANG (1958) remarquent que les conclusions de ESAU ne montrent pas comment peut s'organiser la structure caractéristique de la paroi de ces fibres.

L'emploi de colorant sélectif a permis de préciser la position du tissu fibreux par rapport au phloème et de vérifier sa nature histologique. Ainsi, par ce procédé JACQUEMART et FOURCROY (1961) réintroduisent le concept d'origine péricyclique. Ces auteurs précisent que dans la tige de lin, les fibres qui se différencient les premières sont localisées dans la zone la plus externe, alors que les premiers tubes criblés apparaissent dans une région nettement plus interne que le tissu fibreux.

A travers cet historique sommaire des études réalisées sur l'origine et la différenciation des fibres chez les Dicotylédones, nous pouvons observer que ce problème est encore loin d'être résolu.

II - DIFFERENCIATION DES FIBRES CHEZ LES MONOCOTYLEDONES

A/ Références générales

Le problème de l'origine et de la différenciation des fibres a également été abordé chez les Monocotylédones. On peut citer les travaux de HABERLANDT (1879), de GREVE (1909) et de MEEUSE (1938). Ces auteurs en donnent une origine parenchymateuse. Pour MEEUSE (1938), dans son étude sur les fibres périvasculaires des feuilles et des tiges de certaines Monocotylédones (Sansevieria, Agave et Musa sinensis), les fibres résulteraient de la division des cellules parenchymateuses.

Dans le cas des limbes et des gaines de l'Agave et de Musa, ces cellules sont situées dans les zones de croissance.

ESAU (1946) remarque le développement considérable des fibres dans la feuille de Graminées vivaces; ces éléments forment selon l'auteur un an-

neau périvasculaire où sont disposés en un axe fibreux qui relie l'épiderme inférieur au faisceau conducteur.

B/ Différenciation des fibres d'alfa

L'origine et la différenciation des fibres d'alfa n'ont guère été abordées. Cependant tous les auteurs qui se sont intéressés à l'anatomie de la feuille n'ont pas manqué de signaler le développement important du "tissu fibreux". Dès 1875, DUVAL-JOUVE écrit à ce propos "...sur les limbes de Stipa tenacissima L., le tissu fibreux arrive à son développement extrême et envahit tout ce qui n'est pas occupé par le parenchyme vert..." (loc.cit. p. 339). L'auteur remarque que chez les Graminées le tissu fibreux est peu développé chez les espèces annuelles. Tandis qu'il est très développé chez les espèces vivaces. DUVAL-JOUVE (1875) attribue à ce tissu un rôle important dans la rétention de l'eau.

TRABUT (1889), qui a décrit le Stipa tenacissima L. d'Algérie observe dans la feuille de cette plante un tissu fibreux très développé. "Aucune feuille de Graminées ne présente une telle quantité de ces éléments fibreux" (loc.cit.p. 11).

PEE-LABY (1898) décrit dans le tissu de soutien de certaines Graminées Avena pratensis, Ampelodesma tenax, deux sortes de fibres : des fibres longues à parois épaissies, très lignifiées et des fibres courtes à parois minces peu lignifiées. Selon l'auteur, ces fibres "...Donnent à la feuille la rigidité nécessaire pour se maintenir dans l'atmosphère et accomplir ses fonctions..." (loc.cit.p. 343).

MAZOYER (1936), dans son travail sur la morphologie et l'anatomie foliaires des Stipa de l'Afrique du Nord observe dans la feuille de Stipa tenacissima L. une couche de fibres hypodermiques située dans la surface externe du limbe. La surface interne du limbe est occupée par un sclérenchyme particulièrement abondant et en relation avec le tissu hypodermique. Pour METCALFE (1960) le tissu fibreux du limbe de Stipa tenacissima L. se compose

d'une couche de fibres localisée sous l'épiderme inférieur et d'un sclérenchyme qui pénètre dans le parenchyme, entoure le faisceau conducteur et regagne l'épiderme supérieur.

Ces auteurs qui ont beaucoup décrit le tissu fibreux au stade final de son développement donnent peu d'information sur son évolution et sur l'origine des éléments cellulaires qui le constituent.

CHAPITRE IV

MATERIELS ET TECHNIQUES

I - MATERIELS

L'étude structurale et ultrastructurale des cellules de la feuille d'alfa a porté sur des jeunes plantes à divers stades de leur développement : plantules âgées de 48 heures à 9 jours et jeunes plantes âgées de 24 et 240 jours. Les premières qui sont obtenues à partir de caryopses germés en atmosphère humide et à la température de 20°C se développent dès le 2ème jour de germination. La première feuille qui apparaît se compose du limbe uniquement. Les autres jeunes plantes sont cultivées en serre dans les conditions expérimentales décrites précédemment.

Pour l'examen anatomique du tissu fibreux, les sections sont effectuées dans les parties basales des gaines et des limbes des feuilles d'ordre 1, 2 et 3.

L'origine et la différenciation des fibres de la feuille d'alfa posent le problème de la localisation des cellules mères de fibres. L'observation au microscope photonique et électronique ne mettant pas en évidence de différence de structure dans les régions médianes des feuilles d'ordre 1, 2, 3 considérées; pour des raisons d'intérêt pratique, nous n'avons étudié en détail la différenciation des fibres que dans la feuille d'ordre 1.

II - TECHNIQUES

L'étude structurale et ultrastructurale des fibres de Stipa tenacissima L. n'a guère attiré l'attention des cytologistes. Notre premier objectif

TABLEAU VII

Fixateurs	Composition	Temps de fixation	Référence
- à base d'acide picrique BOUIN HOLLANDE	Eau distillée 100cm3 acétate de cuivre 2g50 acide picrique 4g formol à 40% 10cm3 acide acétique 1,5cm3	24 heures	(LANGERON, 1934, p. 284)
mélange de CARNOY ou de VAN GEUCHTEN	chloroforme 3vol alcool absolu 6vol acide acétique 1vol	24 heures	(LANGERON, 1934, p. 284)
- à base d'alcool mélange de DUBOSQ- BRASIL	alcool 80 150cm3 formol 60% 60cm3 acide acétique 15cm3 cristallisable 1g acide picrique 1g	24 heures	(LANGERON, 1934, p. 285)
- à base d'acide osmique mélange de FLEMING	acide chromique (1%) 15ml acide osmique (2%) 4vol acide acétique 1vol	24 heures	(LANGERON, 1934, p. 280)
Mélange de SERRA (FAA)	alcool 70% 90cm3 formol 5cm3 acide acétique 5cm3	1 heure	(GABE, 1965)

a eu pour but de rechercher les bonnes conditions d'utilisation de ces procédés.

A/ Microscopie photonique

1 - Fixation

Plusieurs fixateurs ont été employés : ce sont le Bouin de Hollande, le mélange de CARNOY, le mélange de DUBOSQ-BRASIL, le mélange de FLEMMING (LANGERON, 1934). Le mélange formol-alcool-acide acétique, (FAA) (GABE, 1965) a également été utilisé. Le temps de fixation est de 1 à 24 heures selon le fixateur utilisé. Le tableau VII indique la composition de ces mélanges.

2 - Déshydratation

Les échantillons sont ensuite déshydratés dans les bains d'alcool suivants :

Alcool 50%	30mn
Alcool 75%	30mn
Alcool 90%	30mn
Alcool 95%	45mn
Alcool 100 (1er bain)	50mn
Alcool 100 (2ème bain)	60mn

3 - Imprégnation dans le toluène

L'imprégnation est faite successivement dans 3 bains de toluène pur de 30 minutes chacun.

4 - Imprégnation dans la paraffine

Les échantillons sont ensuite placés dans 3 bains de paraffine pure maintenue fondue à l'étuve à 56°C. Le temps de passage dans chaque bain est successivement de 30mn, 60mn, 90mn.

5 - Inclusion

Les échantillons sortis du dernier bain de paraffine sont transportés dans des verres de montre remplis de paraffine fondue.

6 - Réalisation des coupes

Des coupes séries transversales de 7 μ m et de 12 μ m d'épaisseur

sont effectuées au moyen d'un microtome REICHERT à avance manuelle; elles sont ensuite étalées sur les lames avec de l'eau albumineuse.

7 - Coloration des coupes

a) Mise en évidence des constituants cellulaires.

L'hématoxyline de Regaud a été employé pour l'examen cytologique des cellules mères de fibres. Ce colorant imprègne en rouge l'ADN nucléaire.

Les coupes déparaffinées par passages successifs dans 3 bains de toluène, puis hydratées dans 3 bains d'alcool de degré décroissant, 100°, 90°, 70°, 50° et rincées à l'eau distillée, sont mordancées dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 3% pendant 6 heures, puis colorées à l'hématoxyline de Regaud à 1% pendant 24 heures; elles sont ensuite différenciées pendant 2 à 3 minutes dans la solution d'alun de fer ammoniacal (à 3%) puis dans l'alcool absolu 2 à 3mn. Enfin, les coupes sont éclaircies au toluène et montées entre lame et lamelle dans le baume de Canada. Pour la détection des acides ribonucléiques, les coupes ont été soumises au test de BRACHET utilisant la coloration au vert de méthyle pyronine de Unna Pappenheim (POLICARD et al., 1957). Les ribonucléoprotéines sont colorées en rose par la pyronine. Le vert de méthyle imprègne en vert les désoxyribonucléoprotéines. Les échantillons fixés pendant 20 heures dans le mélange (FAA) sont traités pendant 10 minutes par le vert de méthyle pyronine tamponné par du véronal pH 4,7. La coloration est suivie d'un lavage à l'eau distillée puis d'une différenciation à l'alcool absolu. Les coupes sont éclaircies au toluène montées entre lame et lamelle dans le baume de Canada. La coloration par la pyronine n'étant pas toujours spécifique, on confirme la localisation des ribonucléoprotéines par le test à la ribonucléase. On utilise alors 3 séries de coupes déparaffinées. La première est le témoin. On colore la 2ème au vert de méthyle pyronine pendant 10mn. On traite la 3ème par une solution de ribonucléase à 0,01% pendant 20mn et on effectue la coloration au vert de méthyle pyronine pendant 7 à 10mn comme précédemment. Dans les coupes traitées à la ribonucléase la coloration a disparu au niveau du cytoplasme des cellules car la ribonucléase "a digéré"

l'acide ribonucléique du cytoplasme. Le noyau reste coloré en vert.

b) Mise en évidence des constituants de la paroi.

L'étude des constituants des parois a été réalisée au moyen de plusieurs colorations cytochimiques.

- Réaction de MAULE (1900)

MAULE (1900) découvrit qu'une couleur rouge vif apparaît lorsqu'on traite les éléments lignifiés successivement par le permanganate de potassium (KMnO_4), l'acide chlorhydrique et l'ammoniaque. SHARMA (1922) montra que la lignine du bois de toutes les Angiospermes examinées prennent une coloration rouge, tandis que la lignine des Gymnospermes prend seulement une coloration jaunâtre.

La réaction de MAULE est très couramment employée en cytochimie (GENEAU de LAMARLIERE, 1903; MORQUER, 1929; KRAFT, 1948). Les coupes ont été traitées par une solution de KMnO_4 et d'acide chromique à 1% dans l'eau distillée pendant 5 minutes. Elles ont été lavées à l'eau distillée puis traitées par une solution d'acide chlorhydrique à 12% pendant 4 heures avant d'être colorées par l'ammoniaque pendant 2 à 3 minutes. La lignine se colore en rouge dans le cas des coupes traitées par le KMnO_4 tandis qu'elle prend une teinte jaune brun dans celles traitées par l'acide chromique.

- Coloration à la phloroglucine

Ce colorant employé pour la première fois par WIESNER (1878) puis couramment par d'autres auteurs (MORQUER, 1929; RAHMAN, 1967), imprègne les éléments lignifiés en rouge. Nous l'avons utilisé sur les coupes obtenues à partir d'échantillons frais; ces coupes immergées pendant deux minutes dans une solution de phloroglucine préparée à 1% dans l'alcool à 50° sont ensuite traitées par une solution d'acide chlorhydrique normal puis montées entre lame et lamelle dans une goutte de glycérine.

- Double coloration vert d'iode-rouge de Ruthénium

Cette technique de coloration reste la technique de choix pour la mise en évidence des constituants des parois des cellules végétales. En effet

le vert d'iode imprègne en vert la lignine, tandis que le rouge de Ruthénium colore en rouge vif la cellulose. Les coupes sont immergées pendant 5 minutes dans le vert d'iode préparé à 1% dans l'alcool à 50°, rincées dans de l'eau distillée, colorées par le rouge de Ruthénium à nouveau rincées à l'eau distillée, déshydratées dans les alcools de degré croissant puis différenciées par passage dans le toluène. Elles sont ensuite montées entre lame et lamelle dans le baume du Canada.

- Coloration Safranine -Vert lumière

Elle a été utilisée selon la technique classique employée par GENEVES (1962). La safranine imprègne en rouge la lignine tandis que le vert lumière colore en vert les constituants celluloses de la paroi. Immergées dans une solution de safranine préparée à 1% dans l'alcool à 50°, les coupes ont été traitées par le vert lumière préparé à 2% dans l'alcool absolu, rincées dans de l'eau distillée, déshydratées dans l'alcool absolu et imprégnées par le toluène. Elles sont alors montées entre lame et lamelle dans le baume du Canada.

La recherche des polysaccharides des parois a été entreprise; la coloration à l'acide périodique de Schiff (PAS) selon la technique préconisée par HARVEN (1956) a été employée. Les préparations utilisées proviennent de coupes semi-fines de 1 à 2 μm d'épaisseur de matériel fixé au glutaraldéhyde post-osmié. Après un traitement par l'acide périodique à 5% pendant 5 minutes, suivi d'un rinçage, les coupes sont placées dans du réactif de Schiff pendant 15 minutes puis passées dans 3 bains d'une solution de métabisulfite de sodium à 10%. Après un rinçage les coupes sont observées au microscope.

B/ Microscopie électronique

1 - Fixation et lavage

Le fixateur employé a été l'aldéhyde glutarique (glutaraldéhyde) de TAAB à 25 et 50% en solution aqueuse. La fixation a été l'étape la plus délicate. Nous avons dû faire varier divers paramètres tels que la concentration

TABLEAU VIII - CONCENTRATION, OSMOLARITE DES SOLUTIONS FIXATRICES ET DE
LAVAGE EMPLOYEES POUR LA FIXATION DES ECHANTILLONS D'ALFA

Agent fixateur Tampon Osmolarité finale pH final	Solution fixatrice	Osmolarité	Temps de fixation	Solution de lavage	Osmolarité	Temps de lavage
Agent fixateur Tampon Osmolarité finale pH final	Glutaraldéhyde 3% Cacodylate de sodium 0,05M (A) *	300 100 400 7,4	60mn, 90mn, 360mn à (4°C)	Cacodylate de sodium 0,1M Saccharose 7,5%	200 200 400 7,4	1 heure + 1 nuit à 4°C
Agent fixateur Tampon Osmolarité finale pH final	Glutaraldéhyde 3% Cacodylate de sodium 0,15M (B)	300 300 600 7,4	60mn, 90mn, 360mn à (4°C)	Cacodylate de sodium 0,2M Saccharose 7,5%	400 200 600 7,4	1 heure + 1 nuit à 4°C
Agent fixateur Tampon Osmolarité finale pH final	Glutaraldéhyde 6% Cacodylate de sodium 0,05M (C)	600 100 700 7,4	60mn, 90mn, 360mn à (4°C)	Cacodylate de sodium 0,1M Saccharose 15,5%	200 500 700 7,4	1 heure + 1 nuit à 4°C
Agent fixateur Tampon Osmolarité finale pH final	Glutaraldéhyde 3% Cacodylate de sodium 0,15M (D)	600 300 900 7,4	60mn, 90mn, 360mn à (4°C)	Cacodylate de sodium 0,2M Saccharose 15%	400 500 900 7,4	1 heure + 1 nuit à 4°C

du fixateur, l'osmolarité de la solution fixatrice (MAZER, 1967) ainsi que celles des solutions tampons employées.

Le tableau VIII indique les concentrations et l'osmolarité des solutions fixatrices et de lavage employées. Les fixations dans le glutaraldéhyde dilué à 3% et développant une osmolarité de 700 et 900 milliosmoles (Tableau VIII, C,D) ont entraîné des altérations affectant tous les constituants cellulaires. Les vacuoles sont plasmolysées, le plasmalemmme est rétracté. Les fixations dans la solution de glutaraldéhyde dilué à 3% et développant une osmolarité de 400 et 600 milliosmoles (Tableau VIII, A*,B) ont donné les meilleurs résultats. Ces formules ont été le plus souvent employées pour la fixation de nos échantillons. Les principales étapes concernant la préparation de ces solutions sont les suivantes:

a) Première étape. Préparation de la solution mère de tampon Cacodylate (0,2 M). Elle sera utilisée pour la préparation de la solution fixatrice et de lavage. On dissout 2,16g de cacodylate dans 50ml d'eau bidistillée puis on ajoute 2,5ml de HCl 0,2M et on ramène l'ensemble au volume final de 200ml. Le pH final est de 7,4.

b) Deuxième étape. Préparation de la solution de lavage. A 50ml de Tampon cacodylate à 0,2M on ajoute 50ml d'eau bidistillée (concentration finale de 0,1M) soit 200 milliosmoles et 7,5% de saccharose développant une osmolarité de 200 milliosmoles. L'osmolarité finale de la solution de lavage est 400 milliosmoles.

c) Troisième étape. Préparation de la solution fixatrice. Elle s'obtient en diluant 1ml de solution mère de glutaraldéhyde à 25% dans 2ml de solution de cacodylate de sodium à 0,1M plus 5ml d'eau bidistillée. Les concentrations finales sont :

Concentration initiale	Concentration finale	Osmolarité
5ml d'eau bidistillée		
2ml de Tampon cacodylate de sodium 0,2M	tampon cacodylate de sodium 0,05M	100 mosM
1ml de glutaraldéhyde à 25%	glutaraldéhyde 3%	300 mosM

soit 8ml de solution fixatrice développant une osmolarité de 400 milliosmoles. Le pH est vérifié et réajusté à 7,4 en ajoutant quelques gouttes de NaOH à 0,2M.

2 - Post-fixation et lavage

La post-fixation a été faite à 0°-4°C dans le tétroxyde d'osmium (OsO_4) dilué à 1,5% dans la solution de lavage. Elle a duré une heure. Puis les échantillons ont été lavés rapidement pendant 15 minutes dans le tampon de lavage utilisé précédemment.

3 - Déshydratation

Elle suit immédiatement le lavage. Le principe consiste à chasser l'eau et à la remplacer très progressivement par un liquide dans lequel les résines seront solubles ce qui permettra l'imprégnation progressive du matériel par les résines sans altérer les structures cellulaires. Les échantillons sont introduits comme suit dans des bains d'alcool éthylique de concentration croissante jusqu'à l'éthanol absolu.

Alcool 20	1 bain de 10mn
Alcool 50	1 bain de 10mn
Alcool 70	1 bain de 10mn
Alcool 95	1 bain de 10mn
Alcool 100	3 bains de 15mn

La pénétration de la résine est facilitée en faisant suivre la déshydratation à l'alcool par des bains d'oxyde de propylène selon la technique de LUFT (1961).

- Oxyde de propylène-alcool 100 1V/1V pendant 30 minutes.
- Oxyde de propylène pur : 2 bains de 30 minutes chacun.

4 - Imprégnation

Nous avons utilisé deux résines : le mélange Epon Araldite, l'Araldite pure.

a) Imprégnation à l'Epon-Araldite (MOLLENHAUER, 1964).

Ce mélange contient de l'Epon, du D.D.S.A. (Dodecynil Succinic Anhydride), de l'Araldite M et du Dibutyl-phthalate, dans les proportions 25/55/15/2, mesurées en cm^3 . Le récipient contenant le mélange est placé sur un agitateur magnétique pendant 1 heure. L'accélérateur DMP 30 est ajouté en dernier au mélange devenu homogène. L'imprégnation des échantillons a été effectuée en les laissant séjourner 1 heure, et à la température de la pièce, dans chacun des mélanges suivants :

- 1er bain : oxyde de propylène, Epon-Araldite (3V : 1V).
- 2ème bain : oxyde de propylène Epon-Araldite à volume égal.
- 3ème bain : oxyde de propylène Epon-Araldite (1V : 3V).
- 4ème bain : Epon-Araldite pure pendant 2 heures à la température de la pièce, puis une nuit à la température de 0°-4°C.

b) Imprégnation à l'Araldite pure (GLAUERT et GLAUERT, 1958).

Ce mélange contient :

- Durcisseur 10ml
- Araldite M 10ml

L'accélérateur (DMP 30) est ajouté en dernier au mélange devenu homogène.

Les échantillons sont alors placés dans les mélanges suivants :

- 1er bain : Oxyde de propylène-Araldite (3V : 1V) pendant 1 heure à la température de la pièce.
- 2ème bain : Oxyde de propylène-Araldite (1V : 1V) pendant 1 heure à la température de la pièce.
- 3ème bain : Oxyde de propylène-Araldite (1V : 3V) pendant 1 heure à la température de la pièce.

-- 4ème bain : Araldite pure pendant 2 heures à la température de la pièce, puis pendant 1 nuit à 0°-4°C.

5 - Inclusion

Nous avons pratiqué des inclusions à l'Epon Araldite (MOLLENHAUER, 1964), à l'Araldite pure. Les échantillons ont été soigneusement placés dans des moules en plastique mou contenant la résine. Une polymérisation irréversible a été obtenue après un séjour de 24 heures à l'étuve à 60°C.

Remarque sur le choix du milieu d'inclusion

Nous avons abandonné l'Epon-Araldite en raison de l'observation fréquente de coupes vibrées et déchirées. L'Araldite a été la résine de choix pour ce matériel.

6 -- Ultramicrotome

a) Confection des coupes ultra-fines.

La localisation des tissus étudiés a été faite au moyen de coupes semi-fines (1 µm) d'épaisseur, obtenues à l'ultramicrotome REICHERT OmU2. Ces coupes ont été colorées au Bleu de Toluidine à 0,5% dans le Borate de sodium à 1% à pH 7,8. Une observation au microscope optique permet de délimiter avec précision la région à étudier; le bloc est alors débité en sections ultrafines d'environ 700 Å d'épaisseur qui sont ensuite étalées par des vapeurs de toluène et recueillies sur des grilles de cuivre 200 mesh recouvertes d'une membrane de parlodion carboné.

b) Contraste des sections ultra-fines.

Les sections ultra-fines ont été contrastées par une solution d'acétate d'Uranyle à 1% dans l'alcool à 70% pendant 3 minutes et demi. Cette opération a été effectuée à l'obscurité. Elles ont été ensuite rincées à l'eau bidistillée séchées à l'aide d'un papier filtre, puis contrastées à nouveau par une solution de citrate de plomb selon REYNOLDS (1963) pendant 10 minutes à l'abri du gaz carbonique de l'air.

7 - Observations

Les observations ont été réalisées au microscope électronique Hitachi HU 11 CS du Service général de Microscopie électronique appliquée à la Biologie, de la Faculté des Sciences de Poitiers.

C/ Dissociation des fibres

Des fragments d'échantillons foliaires de 5 millimètres de longueur ont été placés, selon la technique de BONNEMAIN, dans un mélange à volume égale d'eau oxygénée (110 Vol) et d'acide acétique pur, pendant 24 heures à l'étuve à 70°C; ils ont été ensuite rincés à l'eau distillée puis colorés à la safranine pendant 1 heure (ce colorant est pris par les membranes lignifiées qui deviennent rouges). Les fibres sont alors rincées à l'eau distillée, montées entre lame et lamelle dans une goutte d'eau et examinées au microscope.

Nous avons également essayé une variante de la technique utilisée par TRABUT (1889), qui comporte une ébullition du matériel dans une solution alcaline à 20% pendant 1 heure. Nous n'avons pas porté le matériel à ébullition mais nous l'avons laissé à l'étuve à 70°C pendant 24 heures dans une solution alcaline à 20%. Les résultats ont été satisfaisants.

CHAPITRE V

ANATOMIE ET REPARTITION DU TISSU FIBREUX CHEZ LA FEUILLE D'ALFA AU COURS DE SON DEVELOPPEMENT

I - INTRODUCTION

TRABUT (1889) dans son étude sur l'anatomie de la feuille d'alfa a souligné le développement important du tissu fibreux: "aucune feuille de Graminées ne présente une telle quantité de ces éléments fibreux" (loc.cit.p.11). Selon le même auteur, le tissu fibreux de la feuille d'alfa est formé par deux catégories de fibres: des fibres cellulosiques et des fibres lignifiées.

MONTESSUS de BALLORE (1907) qui a également abordé le problème de la nature des fibres signale que les parois des fibres de la feuille d'alfa sont composées de cellulose et d'autres substances. HOEFLER (1941) note que les fibres de la feuille de Stipa tenacissima L. présentent des parois de nature complexe.

Dans la première partie de ce chapitre nous nous sommes proposés de suivre l'évolution du tissu fibreux de la feuille depuis la mise en place des premières fibres jusqu'au développement complet de ce tissu. Nous avons consacré la deuxième partie à l'étude des constituants des parois des fibres de la feuille d'alfa.

II - STADES ETUDIES

Après des examens rapides effectués à différents niveaux des feuilles, nous avons remarqué que l'étendue du tissu fibreux présentait des variations

TABLEAU IX

AGE ET STADE DE DEVELOPPEMENT DES JEUNES FEUILLES CONSIDEREES

	Age des plantules (jours)	Caractéristiques	Niveaux prélevés
Feuille d'ordre 1	2	Apparition du limbe	à la base sur une longueur de 5mm
	3	Développement du limbe	à la base sur une longueur de 5mm
	9	Développement du limbe	à 2cm de la base
	14	Développement du limbe	à 2cm de la base
	24	Différenciation de la gaine	dans le limbe à 2cm de sa base à la base de la gaine
	32	Développement de la feuille	dans le limbe à 2cm de sa base
Feuille d'ordre 2	24	Apparition du limbe de la feuille	à la base sur une longueur de 5mm
	32	Développement du limbe	à la base sur une longueur de 2cm
	39	Développement du limbe	à 2cm de la base
	90	Différenciation de la gaine	à 2cm de la base du limbe
	120	Allongement du limbe	à 2cm de la base
Feuille d'ordre 3	39	Apparition du limbe de la feuille	à la base
	90	Développement du limbe Différenciation de la gaine	à 2cm de la base du limbe
	120	Développement de la la feuille	à 2cm de la base
	240		à 2cm de la base



avec l'âge des feuilles et le niveau de prélèvement considéré. Aussi avons-nous précisé dans le tableau IX l'âge, le stade de développement de chaque feuille considérée. Les niveaux de prélèvement ont été également notés.

Nos observations ont porté sur les feuilles d'ordre 1, 2, 3, afin de tenter une généralisation du problème de la mise en place du tissu fibreux dans les feuilles de jeunes plantes de Stipa tenacissima L.

A/ Mise en place et évolution du tissu fibreux dans la feuille d'ordre

1 (Pl. III)

L'étude de la mise en place et du développement du tissu fibreux dans la feuille d'ordre 1 a été réalisée à partir de l'observation de cette feuille à divers stades de son développement. Nous présenterons dans chacun des stades les différentes étapes de mise en place de ce tissu. Le tableau IX mentionne les différents stades considérés.

1 - Stade 1. Plantule âgée de 2 jours : apparition de la première feuille.

L'observation des sections transversales réalisées dans la région basale de la feuille, qui mesure à ce stade 1cm, montre 3 régions bien individualisées : une région médiane et 2 régions latérales. Les régions latérales tendent à se rapprocher ce qui donne à la jeune feuille une forme cylindrique (Pl. III, fig. 10).

L'examen cytologique de coupes transversales réalisées dans les régions médiane et latérales externes du limbe laisse apparaître des cellules qui se distinguent des cellules de parenchyme par leurs dimensions beaucoup plus faibles, leur forme et leur association en massifs. Ce sont les cellules-mères des fibres sous-épidermiques (Pl. VI). Ces cellules feront l'objet d'une étude détaillée dans le prochain chapitre. Nous avons également observé dans la région interne du limbe des îlots méristématiques correspondant aux futurs faisceaux conducteurs.

2 - Stade 2. Jeune plante âgée de 3 jours : développement du limbe: 3cm.

Dès le stade de 3 jours, l'accroissement de la surface du limbe se manifeste (Pl. III, fig. 11). D'autres massifs de cellules-mères de fibres situées dans les régions latérales et marginales s'individualisent.

3 - Stade 3. Jeune plante âgée de 9 jours.

Après le 9ème jour de germination, le limbe s'accroît en longueur et en surface. Les premières fibres hypodermiques sont différenciées. Elles sont localisées dans les régions médiane et marginales du limbe. Le faisceau vasculaire de la région médiane est différencié.

4 - Stade 4. Jeune plante âgée de 14 jours (Pl. III, fig. 13).

Ce stade est caractérisé par un allongement du limbe. L'observation des sections transversales réalisées dans le limbe à 2cm de sa base montre que la différenciation des fibres s'étend dans la zone externe des parties médiane et latérales. Dans les régions marginales externes, les fibres forment une assise de plusieurs couches. L'appareil conducteur est différencié et l'on peut compter 7 nervures : 1 médiane, 4 latérales, 2 marginales. Du 14 au 23ème jour après la germination, nous n'avons pas observé de modification dans le développement du tissu fibreux.

5 - Stade 5. Jeune plante âgée de 24 jours. La gaine est différenciée. Elle est rattachée au limbe par une partie membraneuse : la ligule (Pl. III, fig. 14). La ligule n'a pas fait l'objet de notre étude. Pour cette raison, dans les feuilles où elle se différencie, les prélèvements sont effectués à 2cm au-dessus de cette zone.

a) Observations du tissu fibreux dans la gaine de la feuille d'ordre 1
(Pl. III, fig. 14).

Bien que nos observations sur l'évolution du tissu fibreux dans la gaine de la feuille d'alfa n'aient pas été très poussées, nous avons pu retenir les caractères suivants : le tissu fibreux, dans la partie médiane de cette feuille, est réduit à de petits massifs fibreux hypodermiques et qui se trouvent au contact des nervures. Le reste de la surface

de la gaine est occupé par du parenchyme.

b) Observation du tissu fibreux dans la base du limbe à 2cm au-dessus de la ligule (Pl. III, fig. 15). Au niveau du limbe, le tissu fibreux est représenté par des massifs fibreux qui s'étendent depuis l'épiderme inférieur jusqu'au faisceau conducteur.

Dans un stade d'évolution plus avancée, la différenciation des fibres se poursuit. Elles forment quelques assises qui doublent l'épiderme inférieur. Dans les régions médiane et latérales du limbe, les fibres relient l'épiderme inférieur à la nervure (Pl. III, fig. 16).

B/ Mise en place et évolution du tissu fibreux dans la feuille d'ordre 2 (Pl. IV).

Cette étude a été réalisée après examen de la feuille d'ordre 2, après différents temps de germination comme nous l'avons indiqué dans le tableau IX.

1 - Stade 1. Jeune plante âgée de 24 à 32 jours.

Dès le 24ème jour qui suit la germination, les cellules-mères des massifs fibreux sous-épidermiques sont individualisées (Pl. IV, fig. 17). Ces cellules-mères qui ne présentent pas de différence de structure avec les cellules-mères de fibres sous-épidermiques observées dans la feuille d'ordre 1, se différencient dès le 32ème jour de germination (Pl. IV, fig. 18).

2 - Stade 2. Jeune plante âgée de 39 jours.

Au 39ème jour qui suit la germination, les fibres forment quelques assises qui tapissent tout l'épiderme inférieur (Pl. IV, fig. 19).

3- Stade 3. Jeune plante âgée de 90 jours.

Le développement des fibres se poursuit et, dès le 90ème jour qui suit la germination, elles forment un véritable tissu qui borde l'épiderme inférieur, pénètre dans le parenchyme et entoure le faisceau conducteur (Pl. IV, fig. 20).

4 - Stade 4. Jeune plante âgée de 120 jours.

Au 120ème jour qui suit la germination, le tissu fibreux borde l'épiderme supérieur au niveau des lobes médians et latéraux (Pl. IV, fig. 21).

C/ Mise en place et évolution du tissu fibreux dans la feuille d'ordre 3.

L'étude de la mise en place du tissu fibreux dans la feuille d'ordre 3 a été réalisée à partir de l'observation de cette feuille après différents temps de germination (Pl. V). Dans le tableau IX, nous avons indiqué les stades considérés.

Afin d'éviter des répétitions inutiles, seuls les stades montrant des éléments nouveaux ont été considérés.

L'observation de coupes transversales réalisées dans la partie basale d'un limbe de feuille âgée de 120 jours, montre un limbe découpé, dans sa partie ventrale, en lobes selon la nomenclature de MAZOYER (1956). Nous pouvons distinguer des lobes bien développés ou lobes primaires et des lobes rudimentaires ou secondaires (MAZOYER, 1956) (Pl. V, fig. 24). Le tissu fibreux, bien représenté à ce stade, atteint son maximum de développement au 240ème jour qui suit la germination. La figure 25 de la Planche V, qui illustre cet aspect du développement, laisse apparaître un tissu fibreux particulièrement abondant. A ce stade, il borde l'épiderme supérieur et s'étend latéralement dans les lobes primaires.

La technique de la dissociation des fibres a permis d'observer une variabilité dans la longueur de ces éléments cellulaires. Certaines fibres mesurent 0,29mm; d'autres plus longues atteignent 1,20mm. La largeur de ces fibres est de 10 µm environ. Leur forme est également variable. Elles sont allongées et fusiformes. Certaines se terminent par des pointes effilées, d'autres par des extrémités taillées en bec de flûte, d'autres sont tronquées, bifurquées ou arrondies.

L'épaississement des parois est parfois si important que le lumen

s'obstrue. La figure 26 schématise quelques fibres examinées dans la feuille d'ordre 3, 240 jours après la germination.



Fig. 26

D/ Conclusions

A la suite de ces observations nous pouvons conclure que la différenciation des fibres débute avec la croissance de la feuille et se poursuit pendant tout le développement.

Localisées d'abord en petits massifs fibreux à la base foliaire dans les régions médiane et latérales externes, les fibres poursuivent leur développement dans la région sous-épidermique où elles forment un véritable anneau hypodermique, envahissent la région interne du limbe et entourent les faisceaux conducteurs. Le tissu fibreux atteint son maximum de

TABLEAU X

Mise en évidence de quelques constituants des parois par
des colorants cytochimiques

Matériels	Colorants	Temps de coloration	Résultats
Echantillons prélevés sur feuille d'ordre 1,2,3	Réactif de Schiff	15mn	parois primaires se colorent en rose parois secondaires ne sont pas colorées
	Phloroglucinol 1%	4 heures	parois prennent une teinte rouge
	Vert d'iode Rouge de Ruthénium	5mn	parois primaires prennent la coloration bleue
	Safranine Vert lumière	10mn 3mn	parois primaires se teintent en rouge
Echantillons prélevés à la base de feuil- le d'ordre 3 adulte (tissu fibreuse très développé)	Phloroglucinol	4 heures	parois primaires teintées en rouge parois secondaires en jaune
	Vert d'iode	5mn	parois primaires sont colorées en vert
	Rouge de Ruthénium	5mn	parois secondaires présentant des lamellations [†] colorées par le rouge de ruthénium
	Safranine Vert lumière	10mn 3mn	parois primaires se teintent en rouge



développement par la mise en place d'autres éléments lignifiés qui s'étendent du pôle ligneux du côté interne, à l'épiderme supérieur du côté externe.

III -- QUELQUES DONNEES SUR LES CONSTITUANTS DES PAROIS DES FIBRES

A/ Observations

Dans les feuilles jeunes où la mise en place du tissu fibreux est achevée, les fibres sont à des stades évolutifs différents.

Les fibres de la région sous-épidermiques présentent des parois épaissies et un lumen étroit. Les fibres bordant le pôle libérien présentent des parois peu épaissies et un grand diamètre cellulaire. La planche VI, fig. 31 illustre un aspect de cette différenciation cellulaire.

B/ Résultats

La mise en évidence des constituants des parois a nécessité l'emploi de divers colorants chimiques. Le tableau X qui regroupe les résultats obtenus laisse apparaître que les parois présentent une structure complexe. Les principaux constituants sont la lignine et la cellulose. D'autres composés également présents montrent des colorations moins franches.

C/ Conclusions

A la suite de ces résultats, il apparaît que la structure des parois des fibres est complexe et présente des modifications au cours de son évolution.

Dans les premiers stades de la différenciation, les parois présentent une réaction de la cellulose, alors qu'elles s'imprègnent par les colorants de la lignine au cours de leur "vieillissement". Cependant, en aucun cas, nous n'avons retrouvé les résultats de TRABUT (1889) mettant en évidence 2 types de fibres "cellulosiques et lignifiées". L'auteur n'a précisé, en aucun cas, les conditions expérimentales; il est probable que TRABUT a considéré la feuille à 2 stades de son développement, un stade jeune où les fi-

bres présentent des parois riches en cellulose et un stade adulte où les parois des fibres sont en voie de lignification.

CHAPITRE VI

STRUCTURE, ULTRASTRUCTURE ET MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES DES CELLULES-MERES DE FIBRES SOUS-EPIDERMiques AU COURS DE LA DIFFERENCIATION

I - INTRODUCTION

Dans le chapitre antérieur, nous avons décrit rapidement les modalités de mise en place du tissu fibreux au cours de sa différenciation en microscopie photonique, puis nous avons dégagé les caractères de ce tissu au terme complet de son développement. Nous avons retenu les observations suivantes :

Les premières fibres qui se différencient sont situées dans la région externe sous-épidermique et sont issues de cellules-mères à caractères méristématiques, localisées dans la base des feuilles.

Nous décrirons successivement les structures et ultrastructures des cellules-mères ainsi que les modifications ultrastructurales qui s'opèrent au cours de leur différenciation.

II - STRUCTURE ET DIFFERENCIATION DES CELLULES-MERES DE FIBRES SOUS EPIDERMiques (Pl. VI).

A/ Structure des cellules-mères de fibres sous-épidermiques

De forme arrondie, situées sous l'assise épidermique externe ou dorsale, ces cellules sont groupées en un petit massif et sont caractérisées par :

- un diamètre de 5 à 17 μm),
- un aspect méristématique avec un cytoplasme dense, quelques vacuoles et un volumineux noyau central.

Histologiquement, le cytoplasme et le noyau de ces cellules présentent une forte affinité pour les colorants tels que le vert de méthyle pyronine et l'hématoxyline de Regaud. Leurs parois pectocellulosiques sont minces (Pl. VI, fig. 27).

B/ Différenciation des fibres sous-épidermiques

Dès le 2ème jour après la germination, les cellules-mères sont le siège de divisions cellulaires qui se font sans orientation privilégiée. Les mitoses s'étendent latéralement de part et d'autre du massif initial (Pl. VI, fig. 28).

Le 3ème jour après la germination, les fibres sont différenciées et présentent alors les caractères suivants : (Pl. VI, fig. 29)

- une section de 8 μm environ,
- un cytoplasme peu dense appliqué contre la paroi,
- une vacuole centrale développée.

Le 4ème jour après la germination, les fibres présentent des sections ellipsoïques, leurs parois se sont épaissies et leur cavité contient peu de cytoplasme.

A ce stade, certaines fibres apparaissent optiquement vides (Pl. VI, fig. 30).

C/ Conclusions

L'ensemble de ces observations laisse apparaître que les fibres sous-épidermiques sont issues de cellules-mères à caractères méristématiques. Ces cellules sont localisées dans la région externe basale du limbe.

III - ULTRASTRUCTURE ET MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES DES CELLULES-MÈRES DE FIBRES SOUS-ÉPIDERMiques

A/ Ultrastructure des cellules-mères de fibres sous-épidermiques

1 - Les infrastructures cellulaires (Pl. VII).

a) Hyaloplasma, ribosomes, réticulum endoplasmique et appareil de Golgi.

Le cytoplasme des cellules-mères des fibres sous-épidermiques, dense aux électrons, est riche en ribosomes; les ribosomes apparaissent sous la forme libre; le réticulum endoplasmique forme de longs profils le plus souvent localisés dans la région cytoplasmique externe parallèlement aux parois (Pl. VII, fig. 34). Il porte des ribosomes sur sa surface externe. L'appareil de Golgi est constitué par quelques dictyosomes (Pl. VII, fig. 35).

b) Le noyau et l'enveloppe nucléaire, Pl. VIII.

En position centrale, le noyau a une forme sphérique de 1,5 μ m de diamètre environ, il est limité par une enveloppe nucléaire possédant la structure classique avec 2 feuilletts denses aux électrons séparés par un espace clair.

Dans certains endroits, la membrane externe présente des dilatations et invaginations qui se prolongent dans le cytoplasme en direction de la paroi (Pl. VIII, fig. 37, flèche). La chromatine présente une structure hétérogène, avec des amas denses aux électrons, structure classiquement connue chez les Monocotylédones.

c) Le chondriome et le plastidome (Pl. VII, fig. 35; Pl. VIII, fig. 37).

Le chondriome est formé par des éléments arrondis ou allongés riches en crêtes. Ces organites sont nombreux et répartis dans tout le cytoplasme. D'autres organites en nombre moins important sont également présents : ce sont les proplastides. Leur stroma renferme parfois un petit grain d'amidon (Pl. VII, fig. 34, 35).

d) Le vacuome (Pl. VII, fig. 34, 35; Pl. VIII, fig. 37).

De taille variable, les vacuoles sont réparties dans tout le cytoplasme. Elles présentent un contour plus ou moins irrégulier. Leur contenu est transparent aux électrons.

c) Le plasmalemme et la paroi (Pl. VII, fig. 36).

Les cellules-mères de fibres primaires possèdent une paroi pecto-cellulosique peu développée. L'observation au fort grossissement montre une structure fibrillaire. Les microfibrilles de cellulose présentent une structure lâche et enchevêtrée.

Le plasmalemme (pe) possède la structure classique; il présente un profil irrégulier et reste séparé de la paroi par des "espaces extracellulaires" observées par ailleurs par ROLAND (1967) dans les colloctes des végétaux supérieurs.

Sur certaines micrographies, le plasmalemme présente des villosités qui sont en contact avec les profils du réticulum endoplasmique (re) (Pl. VII, fig. 35). Les plasmodesmes (pl) sont disposés sur les parois latérales et transversales (Pl. VII, fig. 36).

B/ Modifications ultrastructurales dans les cellules-mères de fibres sous-épidermiques en différenciation

1 - Introduction

L'ontogénèse et la différenciation des fibres de la feuille d'alfa impliquent des modifications affectant tous les constituants cellulaires. Nous avons pu repérer ainsi quelques étapes de la différenciation, caractérisées chacune par un ou deux points importants. Nous les décrirons successivement et exposerons les résultats obtenus sur l'évolution des ultrastructures cellulaires durant la différenciation de ces cellules.

2 - Stades étudiés

Stade 1. Différenciation de la fibre

Les coupes ultra-fines ont été réalisées dans les bases de limbe âgé de 3 jours. Ce stade est caractérisé comme l'indique la Planche IX par des transformations importantes affectant les cellules-mères des fibres sous-épidermiques. Les premières cellules en différenciation présentent un allongement important, 5 à 6 fois la longueur de la cellule initiale. Les cellules-mères sous-jacentes de taille plus petite présentent les caractères de cellules méristématiques.

Au cours de cette étape, la paroi (M) subit des modifications morphologiques. Les parois transversales deviennent extrêmement sinueuses et allongées aux extrémités. Les figures de la Planche X illustrent bien ces observations.

Les observations les plus spectaculaires concernent le développement de l'appareil de Golgi (Pl. XI, fig. 44). En effet, à ce stade les dictyosomes (di) sont abondants dans le cytoplasme et localisés plus particulièrement à la périphérie. Ils manifestent à ce stade une activité très intense et édifient de nombreuses vésicules (Vg). De dimensions très variables et de contenu peu dense aux électrons, ces vésicules sont orientées le plus souvent vers la périphérie (Pl. XI, fig. 44).

Cette intense activité de l'appareil de Golgi a déjà été décrite par de nombreux auteurs en particulier par ESAU et al., (1966) dans les cellules conductrices de Beta et Cucurbita, ROLAND (1967) dans les cellules de collenchymes en différenciation, ROBARDS (1968) dans les cellules de bois de saule en différenciation, BUVAT (1968) dans les cellules criblés du protophloème de jeunes racines d'Hordeum vulgare, CZANINSKI (1970) dans les cellules de bois du robinier en différenciation, SKIVASTAVA et SINGH (1972) dans les cellules de bois en différenciation de blé ainsi que dans les fibres de coton par ITOH (1974).

Le réticulum endoplasmique (re) se caractérise à ce stade par un

accroissement important; quelques saccules du réticulum endoplasmique présentent par endroits des profils dilatés (sd); les enveloppes limitantes sont en contact avec le plasmalemma (Pl. XI, fig. 44). Nous pouvons observer une abondance de ribosomes disposés sur sa surface externe. Le chondriome est formé de mitochondries de forme ovoïde mesurant 1 μ m de longueur et 0,5 μ m de largeur, et de formes allongées de 2 μ m de longueur et 0,2 μ m de largeur.

A ce stade, les plastes sont rares ou absents. Le vacuome est caractérisé par une augmentation de volume. Certaines vacuoles contiennent des microfibrilles (Pl. IX, fig. 39 et Pl. XI, fig. 43). Leur membrane limitante présente par endroits des interruptions.

- La région ectoplasmique.

Pendant cette étape de la différenciation, le plasmalemma des cellules présente un profil régulier et appliqué contre la paroi. Au fort grossissement, nous observons la structure tripartite des "unit membranes" (ROBERTSON, 1955) avec des feuilletts sombres séparés par un espace clair (encadrée dans la Planche XI, fig. 44). Il présente par endroits des replis qui pénètrent dans le cytoplasme. Ces irrégularités forment des cavités. Ce sont les "lomasomes" des hyphes de champignons de MOORE et Mc ALLEN (1961) et des colloctes des végétaux supérieurs de ROLAND (1967), les structures plasmalemmiques d'Ascoïdes rubescens Brefeld de DOFFIN (1974), les plasmalemmasomes de GENEVE (1964) et les "boundary formations" de ESAU (1966).

L'origine de ces formations est très controversée. Pour certains auteurs et en particulier DOFFIN (1974), ces formations dériveraient du plasmalemma. Pour d'autres auteurs (ROLAND et al., 1967), ces formations ne dérivent pas du plasmalemma lui-même mais de corps multivésiculaires.

D'autre part, nous avons observé des formations vésiculaires et plurivésiculaires (ve) périplasmiques disposées de façon concentriques (Pl. XI, fig. 47) rappelant les structures rencontrées dans divers tissus par divers auteurs : JENSEN (1965) dans le nucelle de coton, SRIVASTAVA et O'BRIEN (1966) dans les faisceaux conducteurs de Pinus strobus, THOMSON (1966) dans le péri-

carpe d'orange, MARCHANT et al., (1967) et MARCHANT et POBARDS (1968) dans les hyphes de champignons, GOOSEN-DE-ROO (1973) dans les cellules vasculaires de courge, BOURRELY (1976) dans les fibres du phloème primaire de l'hypocotyle de l'Hibiscus cannabinus L. et connues sous le nom de formations vésiculaires et multivésiculaires. Ces formations vésiculaires périplasmiques sont particulièrement abondantes à ce stade. La structure de leur membrane peu discernable ne permet pas de conclure sur leur origine.

D'autres observations nous ont permis de noter un autre aspect de la différenciation caractérisée par l'apparition de microtubules (mt) particulièrement abondants à ce stade. D'aspect classique, ces microtubules sont nombreux et répartis le long des parois (Pl. XII, fig. 49 et 50). Ces microtubules deviennent rares et même absents lorsque les fibres achèvent leur différenciation. Ces cellules sont en communication par des plasmodesmes répartis le long des parois (Pl. XII, fig. 50).

Stade 2. La fibre différenciée (Pl. XIII, fig. 51)

A un stade plus avancé de leur différenciation, les fibres présentent des caractères cytologiques bien particuliers. Leur cytoplasme forme une mince couche qui apparaît décollée de la paroi. Les organites cellulaires sont peu abondants et peu discernables. La vacuole occupe une position centrale. Les parois sont bien distinctes (Pl. XIII, fig. 51). Nous pouvons observer que la paroi primaire (externe) (pr_1), peu épaisse, présente une structure fibrillaire très resserrée. Les fibrilles qui constituent la couche interne (pr_2) présentent une structure plus lâche. Cette couche représente la couche externe, ou première couche, de la paroi secondaire et appelée (S_1) par WARDROP et al. (1959), puis par VIELTEZ (1975). La figure 51 de la Planche XIII illustre bien ces observations.

Sur d'autres micrographies, le cytoplasme contient un grand nombre de vésicules de taille variable dont le contenu apparaît plus ou moins dense aux électrons. Les organites cellulaires ne sont plus discernables. Les rares mitochondries qui subsistent présentent des signes d'altérations. Leurs crê-

tes ont disparu et leur stroma paraît peu dense aux électrons (Pl. XIV, fig. 52).

Ces aspects de mitochondries en dégénérescence ont déjà été observés par divers auteurs notamment par BUVAT (1968) dans les cellules criblées du protophloème de racine d'Hordeum sativum, LIBERMAN-MAXE (1971) dans les cellules criblées du Polypodium vulgare.

D'autres formations à contenu clair ou microfibrillaire et de taille variable sont abondantes à ce stade. Ce sont probablement des vacuoles. Leur membrane limitante présente des altérations. Nous pouvons également observer d'autres structures vésiculaires de taille beaucoup plus réduite, et denses aux électrons.

Les micrographies obtenues montrent qu'à ce stade le plasmalemme n'est plus distinct.

Dans des stades de différenciation plus avancée (Pl. XIV, fig. 53), le cytoplasme et le vacuome ne sont plus distincts. Ils constituent un mélange qui se trouve réparti dans toute la cavité cellulaire rappelant le microplasma observé par ENGLEMAN (1965) dans les vaisseaux d'Impatiens sultanii, puis par ESAU et CHADLE (1965) dans le phloème de certaines Angiospermes.

C/ Conclusions

Dans les premières feuilles de Stipa tenacissima L., les fibres sous-épidermiques se différencient très tôt et résultent de cellules-mères présentant des caractères méristématiques, situées dans la région basale de la feuille.

La différenciation des fibres se traduit par de profondes modifications de tous les organites cellulaires. Trois étapes arbitrairement choisies constituent les principales phases de cette évolution.

Au cours de la première étape de ce phénomène, la cellule-mère s'allonge. Nos observations ultrastructurales montrent qu'elle possède un cytoplasme dense, un vacuome formé de nombreuses vacuoles, un réticulum endoplasmique

bien développé, un appareil de Golgi peu abondant, un chondriome et un plastidome bien représentés, un noyau volumineux riche en matériel nucléaire.

La mise en place des épaissements membranaires constitue la deuxième étape de la différenciation.

Au cours de cette phase, l'appareil de Golgi manifeste une activité très intense. Les dictyosomes, très nombreux, émettent une profusion de vésicules qui se trouvent orientées préférentiellement vers la périphérie.

Le réticulum endoplasmique forme de nombreux profils tapissés sur leur surface externe par des ribosomes. Certains dilatés et courts se trouvent en contact étroit avec le plasmalemma.

Le vacuome présente, à ce stade, des inclusions de nature fibrillaire. Au cours de cette étape de la différenciation, nous avons également noté le développement de vésicules périplasmiques et de microtubules disposés le long des parois latérales et terminales. Les autres constituants cellulaires ne montrent pas de modifications par rapport au stade précédent.

La différenciation se poursuit par la mise en place des premiers épaissements secondaires. Les organites cytoplasmiques se raréfient ou disparaissent totalement. Il ne subsiste plus dans la cavité cellulaire que des restes d'organites difficiles à identifier. Enfin, la troisième étape, caractérisée par la dégénérescence de tout le contenu cytoplasmique, constitue la phase finale de la différenciation de la fibre d'alfa. Nous pouvons conclure qu'au cours de son évolution la cellule-mère de fibre d'alfa passe par plusieurs étapes qui sont les étapes classiques de la différenciation observée chez de nombreuses fibres végétales. Toutefois dans ces fibres le protoplasme dégénère bien avant l'épaississement complet des parois.

CHAPITRE VII

STRUCTURE, ULTRASTRUCTURE ET MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES DES CELLULES SITUEES ENTRE LES FIBRES SOUS-EPIDERMiques ET LE FAISCEAU CONDUCTEUR DU LOBE MEDIAN DE LA FEUILLE D'ALFA

I - INTRODUCTION

Au cours du développement de la feuille d'alfa, d'autres fibres se différencient, elles bordent :

- les fibres sous-épidermiques du côté externe,
- le faisceau conducteur du côté interne.

Nous nous proposons, dans cette partie, de rechercher l'origine de ces fibres. Aussi suivrons-nous l'évolution structurale et ultrastructurale des cellules situées entre les fibres sous-épidermiques et le faisceau conducteur depuis les stades jeunes jusqu'aux stades adultes.

II - STRUCTURE DES CELLULES SITUEES ENTRE LES FIBRES SOUS EPIDERMiques ET LE FAISCEAU CONDUCTEUR.

A/ Observations

Sur des coupes transversales réalisées dans les limbes âgés de 24h, ces cellules ne présentent pas de distinction avec les cellules du mésophylle. Leur forme est arrondie et leur diamètre de 10 µm environ (Pl. VI, fig. 27 et 28). Comme les cellules du mésophylle, elles sont séparées par des méats inter-

cellulaires (Pl. VI, fig. 28). Histologiquement, le cytoplasme et le noyau de ces cellules présentent une forte affinité pour les colorants tels que le vert de méthyle pyronine et l'hématoxyline de Regaud. Leurs parois pecto-cellulosiques sont minces et sont faiblement colorées par le Réactif de Schiff.

Après le 3ème jour de germination, ces cellules présentent un vacuome important.

Après le 4ème jour de germination, ces cellules présentent un aspect parenchymateux; elles deviennent plus larges et prennent une forme amiboïde (Pl. VI, fig. 29 (P)). En section longitudinale, elles atteignent une longueur de 18 µm environ (Pl. VI, fig. 32). A ce stade, la vacuole est bien développée et présente un contenu microfibrillaire. Les plastes sont nombreux et répartis à la périphérie. Par ailleurs, les lacunes sont importantes. Dans une autre étape du développement, ces cellules s'allongent. Cet aspect est illustré par la figure 33 de la Planche VI.

E/ Conclusions

Ces observations indiquent que ces cellules sont des cellules méristématiques qui deviennent ensuite parenchymateuses. Par ailleurs ces cellules présentent au cours de leur différenciation des modifications morphologiques et cytologiques qui méritent d'être décrites. A l'aide de quelques stades arbitrairement choisis, nous décrirons certains aspects de leur évolution.

III - ULTRASTRUCTURE ET MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES

A/ Ultrastructure

1 - Stades étudiés

Stade 1. Observation de la cellule-mère (Pl. XV, fig. 55, 56, 57, 58).

Au 2ème jour qui suit la germination, ces cellules sont caractérisées

sées par une taille plus importante (diamètre de 10 μm environ) que les cellules-mères de fibres sous-épidermiques (diamètre de 6 μm).

L'observation au microscope électronique laisse apparaître :

- un cytoplasme riche en ribosomes,
- un réticulum endoplasmique formé de profils plus ou moins dilatés et qui sont disposés parallèlement aux parois,
- des dictyosomes peu abondants,
- un noyau de structure classique avec une enveloppe nucléaire qui présente des pores régulièrement répartis,
- un vacuome formé de quelques vacuoles réparties dans tout le cytoplasme,
- des mitochondries peu différenciées, des proplastes en nombre important.

Stade 2. Evolution du système vacuolaire (Pl. XVI)

Ce stade est caractérisé, comme l'indique la figure 59 de la Planche XVI, par l'évolution du système vacuolaire. Les cellules présentent une large vacuole (V) centrale qui repousse le cytoplasme contre les parois. Le plastidome et le chondriome sont bien représentés. La paroi possède la structure classique et est traversée par des plasmodesmes (pl).

Stade 3. Développement du plastidome et du chondriome (Pl. XVII)

Caractérisées par des formes amiboïdes (Pl. XVII, fig. 60), ces cellules présentent à ce stade :

- un cytoplasme peu dense et qui forme une mince couche périphérique (Pl. XVII, fig. 61-63),
- un grand nombre de proplastes disposés à la périphérie (fig. 61-63) dont la structure laisse apparaître un système prolamellaire et un stroma riche en ribosomes (Pl. XVII, fig. 64),
- des mitochondries, en nombre important et différenciées, dont la structure est classiquement connue (Pl. XVII, fig. 64),
- une ou deux vacuoles développées centrales (Pl. XVII, fig. 61-63),
- le plasmaleme bien appliqué contre les parois minces cellullosiques.

La fin de ce stade est caractérisée par la différenciation des plastes. De forme lenticulaire, les plastes occupent une position périphérique. Les forts grossissements montrent la structure classique avec un stroma (Str) dense aux électrons, limité par 2 membranes périphériques (mp) et contenant en abondance des ribosomes plastidiaux, et des thylakoïdes (th) libres ou empilés en grana (gr). Ces plastes renferment parfois des grains d'amidon (Pl. XVII, fig. 65).

D'autres organites, mesurant 0,5 à 1 μ m de diamètre et denses aux électrons, sont présents à ce stade: ce sont les péroxysomes. Ils sont localisés le plus souvent près des plastes.

Nous pouvons observer d'autres corps de forme allongée ou arrondie (Pl. XVII, fig. 62), de contenu microfibrillaire et dont l'aspect rappelle celui des formations dilatées du réticulum endoplasmique observées par ESAU (1975) dans les cellules conductrices en différenciation de Mimosa pudica L.

2 - Conclusions

A la suite de ces observations, nous pouvons conclure que les cellules situées entre les fibres sous-épidermiques et le faisceau conducteur sont des cellules de parenchyme assimilateur.

B/ Modifications ultrastructurales (Pl. XVIII).

Dans la figure 67 de la Planche XVIII, nous avons encadré la région étudiée. Dans une autre étape de la différenciation, ces cellules présentent des modifications ultrastructurales qui se manifestent en premier au niveau du plastidome, du chondriome, du noyau, puis s'étendent à l'ensemble du contenu cellulaire.

1 - Dégénérescence des plastes (Pl. XVIII, fig. 68)

Elle est marquée par une lyse de l'enveloppe plastidiale. Le stroma n'est plus visible; seule la structure des thylakoïdes persiste. Cet aspect de dégénérescence des plastes a déjà été observé par de nombreux au-

teurs en particulier par ROLAND (1967) dans les cellules de collenchyme en fin de différenciation, BUVAT (1968) dans les cellules du protophloème de jeunes racines d'Hordeum sativum, CZANINSKI (1970) dans les cellules de bois de robinier.

2 - La dégénérescence du noyau (Pl. XVIII, fig. 69)

Elle se manifeste en premier au niveau de l'enveloppe nucléaire. Les deux feuilletts délimitent des dilatations en forme de poche dont le contenu est transparent aux électrons; certaines dilatations s'isolent complètement de la membrane externe formant ainsi des vésicules situées à proximité du plasmalemme (Pl. XVIII, fig. 69, flèche). Le matériel nucléaire, tel qu'il apparaît dans la figure 69, se vacuolise; la chromatine devient rare.

3 - Le chondriome

Des phénomènes de lyse s'opèrent également au niveau des mitochondries. Le stroma présente alors un contenu fibrillaire clair aux électrons. Seules quelques crêtes qui persistent permettent de les identifier (Pl. XVIII, fig. 68).

4 - Dégénérescence de l'ensemble des organites (Pl. XVIII, fig. 70)

D'autres micrographies montrent une dégénérescence de l'ensemble des organites cellulaires. Toute la cavité cellulaire apparaît remplie par un contenu d'aspect fibrillaire dans lequel se trouvent des restes d'organites. Cet aspect de dégénérescence rappelle d'ailleurs des observations faites sur les fibres sous-épidermiques en fin de différenciation.

C/ Conclusions

Nos premiers résultats sur la structure et l'ultrastructure des cellules situées dans la région interne du lobe médian entre les fibres sous-épidermiques et le faisceau conducteur laissent apparaître que ces cellules possèdent au départ des caractères de cellules méristématiques. Au début de la différenciation, ces cellules deviennent parenchymateuses et présentent un allongement.

Des modifications ultrastructurales se manifestent au cours de la différenciation cellulaire. Elles affectent d'abord le chondriome, le plastidome et le noyau puis se généralisent à l'ensemble du contenu cellulaire.

La fin de cette différenciation est marquée par un phénomène de lyse qui affecte tout le protoplasme. Cet aspect de dégénérescence, observé par ailleurs dans les fibres sous-épidermiques en fin de différenciation, les distingue des autres cellules de parenchyme qui les bordent latéralement, et dans lesquelles la structure ne semble pas modifiée.

L'évolution ultérieure de ces cellules, et en particulier le devenir des parois, seront une de nos préoccupations futures.

TROISIEME PARTIE

Discussion et problèmes posés

CHAPITRE VIII

SUR LA GERMINATION ET LE DEVELOPPEMENT DE Stipa tenacissima L.

Le problème relatif à la germination des caryopses de Stipa tenacissima L. et au développement de la plante au moyen de semences a peu retenu l'attention des Botanistes. Toutefois, nous pouvons rappeler les observations de TRABUT (1889) et de BOUDY (1950) selon lesquelles la production naturelle par semis est rare et lente. Ces auteurs donnent cependant peu de précisions sur les conditions climatiques régnant dans les stations choisies pour leur étude ainsi que sur l'âge des caryopses utilisés. D'après TRABUT (1889) et BOUDY (1950), c'est la méthode par plantation qui est la plus employée dans les pays où l'on pratique la culture de l'alfa et notamment en Espagne.

Nos résultats ne corroborent pas les observations de TRABUT (1889) et BOUDY (1950). Ils montrent que la germination des caryopses^{*} d'alfa est bonne pour des températures comprises entre 15° et 25°C. Pour les basses températures (5 et 10°C), le phénomène est retardé tandis que les températures supérieures à 25°C inhibent le processus de germination.

La lumière naturelle et les radiations Rouge et Rouge-lointain semblent sans effet sur le pourcentage de germination des caryopses d'alfa, du moins à 15°C. Ces derniers se placent donc, selon la classification de ROLLIN (1966), parmi les graines "non photosensibles".

Ces résultats montrent donc que, dans les conditions expérimentales

* Il s'agit rappelons-le de caryopses récoltés en mai 1976.

définies, les caryopses d'alfa germent aisément. Il convient donc de rechercher les facteurs responsables de la mauvaise germination observée dans les conditions naturelles.

Le rendement de l'alfa dépend de la ramification de la plante et la croissance globale des feuilles. Dans les conditions naturelles, le développement est lent puisque la plante ne peut être exploitable qu'après une durée de cinq ans (TRABUT, 1889; BOUDY, 1950).

Il nous a paru intéressant de donner quelques points de repères sur l'augmentation du nombre de rameaux et la croissance des feuilles au cours du développement en serre : en 24 mois, la plante a développé en moyenne 30 rameaux et la longueur moyenne des feuilles a atteint, dès la première année 45cm. Ces résultats sont très satisfaisants. Ils méritent d'être complétés par des observations réalisées sur des plantes placées en conditions rigoureusement contrôlées (phytotron).

CHAPITRE IX

SUR L'ORIGINE ET LA DIFFERENCIATION DES FIBRES DANS LES
FEUILLES DE JEUNES PLANTES DE Stipa tenacissima L.

Nos observations sur la mise en place du tissu fibreux dans les premières feuilles de jeunes plantes de Stipa tenacissima L. laissent apparaître comme résultat général que la différenciation des fibres se fait en plusieurs étapes au cours du développement.

Les premières fibres qui se différencient très tôt, forment d'abord des petits massifs sous-épidermiques faisant face aux nervures. Une assise de cellules à parois épaissies et lignifiées tapissant tout l'épiderme inférieur se différencie. D'autres se forment ensuite, en direction du faisceau conducteur assurant le développement du tissu fibreux dans la région interne du limbe. Enfin, le tissu fibreux atteint son maximum de développement par la mise en place d'autres éléments lignifiés, localisés entre chaque pôle ligneux et l'épiderme supérieur.

Chez la feuille de jeunes plantes d'alfa les fibres sous-épidermiques sont issues de cellules-mères à caractères méristématiques localisées dans la base du limbe. Des observations semblables ont été faites par MEEUSE (1938) lors d'une étude de la différenciation des fibres sous-épidermiques de la feuille de Musa ensete. Le moment de la mise en place des parois constitue l'étape la plus importante de leur différenciation. Chez Stipa tenacissima L., cette phase est caractérisée par une intense activité de l'appareil de Golgi, concrétisée par la prolifération des dictyosomes et la présence de nombreuses vésicules golgiennes orientées le plus souvent vers le plasmalemme.

Cette activité golgienne serait en liaison avec la synthèse et l'apport de produits pariétaux, comme l'ont déjà écrit plusieurs auteurs à la suite d'études faites sur d'autres végétaux : (WHALEY et MOLLENHAUER, 1963; FREY WHYSSLING et al., 1964; BUVAT, 1963 et 1964; WHALEY et al., 1966; NORTHCOTE et PICKETT-HEAPS, 1966; NORTHCOTE, 1970; GENEVES, 1971; MURMANIS et SACHS, 1973; RAMSEY et BERLIN, 1976). L'abondance du réticulum endoplasmique et les transformations morphologiques qu'il présente pendant cette étape de la différenciation nous laissent supposer que dans les fibres de Stipa tenacissima L. le réticulum endoplasmique intervient aussi dans la synthèse et l'apport de produits pariétaux. Ces observations corroborent celles de plusieurs auteurs faites sur d'autres végétaux : (PORTER, 1961; WARDROP, 1965; CRONSHAW et al., 1965; ESAU et al., 1966).

Par ailleurs, la prolifération importante de vésicules périplasmi-ques au cours de cette étape de la formation des parois nous suggère de leur attribuer un rôle dans l'édification de la paroi. Au cours de cette étape de la différenciation nous avons pu noter l'abondance de microtubules. Ces derniers sont disposés le plus souvent dans le cytoplasme périphérique au contact de la pellicule ectoplasmique et sont orientés perpendiculairement à l'axe d'allongement de la cellule. Il ne nous a pas été possible de donner plus de précision sur leur évolution au cours des épaisissements des parois. Toutefois leur abondance au début de la mise en place des produits pariétaux puis leur disparition à la fin de cette phase nous incite à leur attribuer un rôle dans l'édification des parois. Cette idée a déjà été avancée par quelques auteurs à la suite d'observations réalisées chez d'autres végétaux (LEDBETTER et PORTER, 1963; WOODING et NORTHCOTE, 1964; PICKETT-HEAPS et NORTHCOTE, 1966): Ces structures interviendraient dans l'acheminement des substances qui entrent dans la synthèse des parois.

La fin de la différenciation se traduit par la dégénérescence des constituants cellulaires. Ce phénomène qui se manifeste en même temps que l'épaississement des parois se traduit par des altérations affectant

tous les organites cellulaires. Le plasmalemme semble se décoller de la paroi et se fragmente, les mitochondries, les dictyosomes et le réticulum endoplasmique ne sont plus distincts. Le noyau disparaît. A ce stade le contenu cytoplasmique est représenté par des restes d'organites lysés, difficiles à identifier. Ces observations ne rejoignent pas celles de VIEITEZ (1975) relatives aux fibres de Castanea sativa Mill. ni celles de BOURRELY (1976) à propos des fibres phloemiennes de l'Hibiscus cannabinus L. où le phénomène de dégénérescence a lieu beaucoup plus tardivement.

Des recherches futures sur le problème de l'origine des épaisissements ultérieurs et la lignification des parois devraient nous permettre de compléter nos résultats.

Les autres éléments lignifiés situés entre les fibres sous-épidermiques et le pôle libérien se différencient plus tard au cours du développement de la feuille. Ces éléments ont été observés par plusieurs auteurs (TRABUT, 1889; PEE-LABY, 1875; MAZOYER, 1936). Le problème de leur origine se pose également.

Une première approche de la question a été tentée en suivant les modifications des cellules dans les feuilles prises à différents stades de leur développement. Nos observations effectuées sur des stades jeunes, indiquent que ces cellules présentent d'abord, les mêmes structures que les cellules-mères de fibres sous-épidermiques. Toutefois elles en diffèrent par leur taille plus grande et par un nombre plus important de proplastides. Un peu plus tard, ces cellules se présentent comme des cellules de parenchyme assimilateur typique et montrent un début d'allongement.

Enfin, dans une autre étape de la différenciation ces cellules sont le siège de modifications, plus particulièrement de lyse, qui affectent l'ensemble des organites cellulaires. Cet aspect de "dégénérescence" rappelle d'ailleurs les observations faites dans les fibres sous-épidermiques à la fin de leur différenciation. Toutefois ces cellules présentent à ce stade des parois peu épaissies. Des recherches complémentaires s'imposent pour

comprendre les modalités de l'épaississement tardif et la lignification des parois.

Pour conclure nous retiendrons que le tissu fibreux de la feuille jeune d'alfa est composé d'éléments cellulaires d'origine différentes : les fibres sous-épidermiques qui sont issues de cellules-mères à caractères méristématiques et les fibres "internes" résultant apparemment de la transformation de cellules parenchymateuses banales.

BIBLIOGRAPHIE

- ATTERBERG A., 1907 - Die Nachreife des Getreides. Handw. Vers. Stat., 67, 120-143.
- BATTANDIER A. et TRABUT L., 1895 - Flora de l'Algérie. Jourdan Ed., Alger, 256 p.
- BELLI S., 1896 - Endoderma e periciclo nel G. Trifolium in rapporto colla teoria della stelia di V. Thieghem (s;c;) Ed. Douliot Mem. della R. Accad. Sci. Torino, 46, 353-443.
- BERSILLON G., 1955 - Recherches sur les Papavéracées. Contribution à l'étude du développement des Dicotylédones herbacées. Ann. Sc. nat. Bot., 16, 225-448.
- BLANKA U., 1973 - Contribution to the ecology of Stipa species in central Europe. Distribution of mineral elements in soils and phytomas. Folia. Geobot. Phytotax., Praha, 8, 367-376.
- BORTHWICK H.A., HENDRICKS S.B., PARKER M.W., 1952 - The reaction controlling floral initiation. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 38, 929-934.
- BOUDY P., 1950 - Economie forestière Nord africaine, II, Larose Ed., Paris, 878 p.
- BOUFELY J., 1976 - Ontogénie des fibres du phloème primaire à la base de l'hypocotyle de l'Hibiscus cannabinus L. (Malvacées). Rev. gén. Bot., 83, 89-185.
- BRIOSI G. and TOGNINI F., 1897 - Intorno alla anatomia della canapa (Cannabis sativa L.). Parte seconda : organi vegetativi. Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, 4, 155-329.

- BUVAT R., 1953 - L'apex de Triticum vulgare : modalités de reprise des mitoses lors de la germination et du fonctionnement du point végétatif. C. R. Acad. Sc., Paris, 236, 1889-1990.
- BUVAT R., 1964 - Observations infrastructurales sur les parois transversales des éléments de vaisseaux (Métaxylème de Cucurbita pepo) avant leur perforation. C. R. Acad. Sc., Paris, 258, 6210-6212.
- BUVAT R., 1968 - Différenciation des cellules criblées du protophloème dans les jeunes racines d'orge (Hordeum sativum). C. R. Acad. Sc., Paris, 267, 406-408.
- CHARRIER, 1873 - L'alfa des Hauts-Plateaux de l'Algérie. Algérie agricole, 32 p.
- CHODAT F. et DANG K.D., 1958 - Modifications tissulaires provoquées par l'effeuillage chez le lin. Commémoration Leo Errera, Uni. libre Bruxelles, 63-67.
- COUDERC R., 1974 - Une cueillette industrielle : l'alfa en Algérie. Méditerranée, 4.
- CRONSHAW J. and BOUCK G.B., 1965 - The fine structure of differentiating xylem elements. J. Cell Biol., 24, 415-431.
- CZANINSKI Y., 1970 - Etude cytologique de la différenciation du bois de robinier. J. Microsc., 9, 389-406.
- DANGEARD P.A., 1889 - Recherches sur le mode d'union de la tige et de la racine chez les Dicotylédones. Le Botaniste, 1, 75-125.
- DOFFIN M., 1974 - Recherches sur la cytologie et la biologie cellulaire d'un champignon Hemiascomycète : l'Ascoïdea rubescens Brefeld. Thèse Fac. Sci. Poitiers, 155 p.
- DUVAL-JOUE J., 1875 - Histotaxie des feuilles de Graminées. Ann. Sc. nat., 1, 294-371.

- ENGLEMAN E.M., 1965 - Sieve elements of Impatiens sultanii. II. Developmental aspects. Ann. Bot., 29, 103-118.
- ESAU K., 1943 - Vascular differentiation in the vegetative shoot of Lirum. III. The origin of the bast fibers. Amer. J. Bot., 30, 579-586.
- ESAU K., 1946 - Plant Anatomy, Wiley and sons Ed., New York, 735 p.
- ESAU K., 1975 - Dilated endoplasmic reticulum cisterna in differentiating xylem of minor veins of Mimosa pudica L. leaf. Ann. Bot., 39, 167-174.
- ESAU K. and CHEADLE V.I., 1965 - Cytologic studies on phloem. Univ. Calif. Publ. Bot., 36, 253-344.
- ESAU K., CHEADLE V.I. and GILL R.H., 1966 - Cytology of differentiating tracheary elements. II. Structures associated with cell surfaces. Amer. J. Bot., 53, 765-771.
- GABE ,1968 - Techniques histologiques, Masson et Cie Ed., Paris, 1113 p.
- GENEVES L., 1962 - Manipulations de Botanique. Dunod Ed., Paris, 440 p.
- GENEVES L., 1964 - Microtubules et invaginations ectoplasmiques dans les racines d'Allium cepa et Raphanus sativus. C. R. Acad. Sc., Paris, 258, 3887-3889.
- GENEVES L., 1971 - Mise en place de polysaccharides membranaires dans le tissu sporogène de l'Hypnum rusciforme (Hypnacées) au cours de la phase de prolifération et au début de la différenciation. C. R. Acad. Sc., Paris, 273, 723-726.
- GLAUERT A.M. and GLAUERT R.H., 1958 - Araldite as an embedding medium for Electron Microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 191-194.
- GOOSEN DE ROO L., 1973 - The relationship between cell organelles and cell wall thickenings in primary tracheary elements of the cucumber. I. Morphological aspects. Acta Bot. Neerl., 22, 279-300.

- GREVE G., 1909 - Beiträge zur physiologischen Anatomie von Musa ensata. In: MEEUSE A.D.J., 1938.- Development and growth of the sclerenchyma fibers and some remarks on the development of the tracheids in some Monocotyledons. Tr. Bot. neer., 35, 289-317.
- HABERLANDT G.F.J., 1879 - Entwicklungsgeschichte des mechanischen Gewebesystems der Pflanzen. Wilhelm Engelmann, Leipzig, 84p.
- HARRINGTON G., 1923 - Forcing the germination of freshly harvested wheat. J. Agr. Res., 23, 79-99.
- HARVEN E. (De), 1956 - A propos de l'application de certaines colorations histologiques à des tissus fixés par l' OsO_4 tamponné et inclus dans le méthacrylate de butyle. C. R. Biol., 150, 63-64.
- HEPLER P.K. and NEWCOMB E.H., 1963 - The fine structure of young tracheary xylem elements arising by redifferentiation of parenchyma in wounded Coleus stem. J. exp. Bot., 14, 496.
- HUTCHINSON J., 1959 - The families of flowering plants. Monocotyledons, 2, Macmillan & Co Ed., Oxford, 510p.
- HOEFER H., 1941 - The structure of esparto (Stipa tenacissima). Faserforschung, 15.
- ITOH T., 1974 - Fine structure and formation of cell wall of developing cotton fiber. Wood research, 56, 49-61.
- JACQUEMART J. et FOURCROY M., 1961 - Origine histologique des premières fibres de la tige du lin. C. R. Acad. Sc., Paris, 252, 2753-2755.
- JENSEN W.A., 1965 - The composition and ultrastructure of the nucellus in cotton. J. Ultrast. Res., 13, 112-128.
- KELLERMANN W., 1890 - Sur la germination du maïs après immersion dans l'eau chaude. Ann. Agr., 18, 132-133.
- KELLIAN C., 1948 - Conditions édaphiques et réactions des plantes indicatrices de la région alfatière algérienne. Ann. Agr., 1, 4-27.
- KIRBY R.H., 1963 - Botany cultivation and utilisation. Leonard Hill (Books) Ltd., London Interscience Ed., 423-424.

- KIVA , 1885 - La mer d'alfa, extrait du "Spectateur militaire".
- KRAFT M.M., 1948 - Contribution à l'étude des processus de lignification.
Bull. Soc. vaud. Sc. Nat., 64, 101-105.
- KRUCH O., 1889 - Sull'origine dei cosi detti fasci di sostegno periciclici dello stello delle cicoriacee. Malpighia, 3, 358-366.
- KRUCH O., 1891 - I. Fasci midollari delle cicoriacee. Annuario del R. Istituto Bot. di Roma, 4, 204-291.
- LACOSTE L., 1955 - Répartition et conditions climatiques des nappes alfatières. Bull. Soc. His. nat., Toulouse, 90, 362-368.
- LACOSTE L. et MONTANT C.H., 1956 - Les acides aminés de l'alfa (Stipa tenacissima L.) et leur distribution. C. R. Soc. Biol., 7, 1465-1467.
- LAMARLIERE L.G., 1903 - Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées. Rev. gén. Bot. 15, 149-158.
- LAMARLIERE L.G., 1903 - Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées. Rev. gén. Bot., 15, 221-233.
- LANGERON M., 1934 - Précis de Microscopie, Masson et Cie Ed., Paris, 1205 p.
- LEDBETTER M.C. and PORTER K.R., 1963 - A microtubule in plant cell fine structure. J. Cell Biol., 19, 239-250.
- LEGER L.J., 1897 - Recherches sur l'origine et les transformations des éléments libériens. Mém. Soc. Linn. Normandie, 19, 51-182.
- LIBERMAN-MAXE M., 1971 - Etude cytologique de la différenciation des cellules criblées de Polypodium vulgare (Polypodiacees). J. Microsc., 12, 271-288.
- LUFT J.H., 1961 - Improvements in epoxy resins embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol., 9, 409-414.
- MAIRE R., 1953 - Flore d'Afrique du Nord, 2, Monocotyledonae, Glumiflorae, Graminae sf., Pooidae. Lechevalier Ed., Paris, p. 63.

- MARCHANT R., PEAT A. and EMBURY G.H., 1967 - The ultrastructural basis of hyphal growth. *New Phytol.*, 66, 623-629.
- MARCHANT R. and ROBARDS A.W., 1968 - Membrane systems associated with the plasmalemma of plant cells. *Ann. Bot.*, 32, 457-471.
- MATHON C.C. et STROUN M., 1960 - Lumière et floraison. *Coll. Que sais-je ? P.U.F.*, 897, 62-65.
- MAULE C., 1900 - Das Verhalten verholzter Membranen gegen Kaliumperanganat, ein Holzreakten Neuer. Art. *Beitr. Wiss. Bot.*, 4, 166-167.
- MAZER M.D., POWELL T.E. and PHILPOTT C.W., 1967 - Relationships among pH osmolality and concentration of fixation solutions. *J. Stain. Techn.*, 42, 175-182.
- MAZOYER G., 1936 - Morphologie et anatomie foliaire des *Stipa* de l'Afrique du Nord. *Bull. Soc. Hist. nat. A.N.*, 27, 287-317.
- MEEUSE A.D.J., 1938 - Development and growth of the sclerenchyma fibers and some remarks on the development of the tracheids in some Monocotyledons. *Tr. Bot. neerl.*, 35, 289-321.
- METCALFE C.R., 1960 - Anatomy of the Monocotyledons I. Gramineae, Oxford University Press, 731p.
- MOLLENHAUER H.H., 1963 - Plastic embedding mixture used for in electron microscopy, *J. Stain Techn.*, 39, 111-114.
- MONTESUS de BALLORE H. (de), 1907 - Fibres végétales utilisables en papeterie. *Rev. Tun.*, 14, 61-67.
- MONTESUS de BALLORE H. (de), 1909 - Alfa et papier d'alfa. Dunod et Pinat Ed., Paris.
- MOORE R.T. and Mc ALEAR J.H., 1961 - Fine structure of mycota. 5. Lomasomes - previously uncharacterised hypha structures. *Mycologia*, 53, 194-200.
- MORQUER R., 1929 - Double réactif des lignines et des celluloses. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 2, 516-520.

- MURMANIS L. and SACHS I.B., 1973 - Cell wall formation in secondary xylem of Pinus strobus L. Wood. Sci. Techn., 7, 173-188.
- NORTHCOTE D.H. and PICKETT-HEAPS J.D., 1966 - A function of the Golgi apparatus in polysaccharide synthesis and transport in the root cap cells of wheat. Biochem. J., 98, 159-167.
- OZENDA P., 1958 - Flore du Sahara septentrional et central. C.N.R.S. Ed., France, 486 p.
- PÉE-LABY E., 1898 - Etude de la feuille des Graminées de la France. Ann. Sc. nat. 8, 227.
- POLICARD A., BESSIS M. et LOCQUIN M., 1957 - Traité de microscopie. Instruments et techniques. Masson et Cie Ed., Paris, 405 p.
- PORTER K.R., 1961 - The endoplasmic reticulum, some current interpretations of its forms and functions in biological structure and function. T.W. Goodwin and O. Lindberg Ed., New York, Academic Press., 1, 127-155.
- RAHMAN S., 1967 - Biosynthèse de la lignine sous l'influence de diverses substances. Thèse Fac. Sci., Lille, 179 p.
- RAMSEY J.C. and BERLIN J.D., 1976 - Ultrastructure of early stages of cotton fiber differentiation. Bot. Gaz., 137, 11-19.
- REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17, 208-212.
- ROLAND J.C., 1966 - Organisation de la membrane paraplasmaïque du collenchyme. J. Microsc., 5, 323-348.
- ROLAND J.C., 1967 - Recherches en microscopie photonique et électronique sur l'origine et la différenciation des cellules du collenchyme. Ann. Sc. nat., Bot., 8, 141-214.
- ROLAND J.C., 1967 - Aspects infrastructuraux des relations existant entre le protoplasme et la paroi des cellules du collenchyme. J. Microsc., 6, 399-412.

ROLLIN P., (1966) - The influence of Light upon seed germination.
Possible interpretation of data. Photochem. Photobiol.,
5, 5 - 6, p. 367 - 371.



- ROLAND J.C. et VIAN B., 1976 - La sécrétion des parois : quelques étapes caractéristiques. Bull. Soc. Fr., 123, 21-32.
- SHARMA P.D., 1922 - The Mäule reaction as a mean of distinguishing between the wood of Angiosperms and Gymnosperms. J. Forestry, 20, 476-477.
- SRIVASTAVA L.M. and O'BRIEN T.P., 1966 - On the ultrastructure of Cambium and its vascular derivatives. I. Cambium of Pinus strobus. Protoplasma, 61, 257-276.
- SRIVASTAVA L.M. and O'BRIEN T.P., 1966 - On the ultrastructure of the cambium and its vacular derivatives. II. Secondary phloem of Pinus strobus L. Protoplasma, 61, 277-293.
- SRIVASTAVA L.M. and SINGH A.P., 1972 - Certain aspects of xylem differentiation in corn. Canad. J. Bot., 50, 1795-1803.
- THOMSON W.W., 1966 - Observation on the ultrastructure of the plasmalemma in oranges. J. Ultrast. Res., 16, 640-650.
- TINTHOIN R., 1937 - Les paysages géographiques de l'Oranie. Bull. Soc. Géographie et Archéologie prov. Oran, 58, 32 p.
- TRABUT L., 1889 - Etude sur l'halfa (Stipa tenacissima L.), Alger, 20p.
- TRECUL M.A., 1852 - Origine et développement des fibres ligneuses. Ann. Sc. nat., 19, 63-73.
- TURREL L., 1876 - Le sparte (Stipa tenacissima). Bull. Soc. Acclim. 7, 489-495.
- VIEITEZ A.M., 1975 - Ultraestructura de las fibras y esclereidas del anillo esclerenquimático del floema en Castanea sativa Mill. An. Edaf. y Agr., 34, 1-10.
- WARDROP A.B., 1964 - The structure and formation of cell wall in xylem. The Formation Wood in Forest trees, 2nd Symp, Petersham, Mass., New York, London, Academic Press, 87-134.
- WARDROP A.B., 1965 - Cellular differentiation in xylem. In : Cellular ultrastructure of woody plants, Coté W.A. Ed., Syracuse Univ. Press, Syracuse, New York, 61-97.

- WHALEY W.G., DAUWALDER M. and KEPHART J.E., 1966 - The Golgi apparatus and early stage in cell plate formation. J. Ultrastr. Res., 15, 169-180.
- WHALEY W.G. and MOLLENHAUER H.H., 1963 - The Golgi apparatus and cell plate formation : a postulate. J. Cell Biol., 17, 216-225.
- WIESNER J., 1878 - Über das Verhalten des Phloroglucins und einiger Verwandten Körper zu verholzten Zellmembranen. Sitzungsber. der Wiener Akad., 77, 60-66.
- WINTER B. (de), 1965 - The south African Stipeae and Aristideae (Gramineae). An anatomical cytological and taxonomic study. Bothalia, 3, 401p.
- WOODING F.B.P. and NORTHCOOTE D.H., 1964 - The development of the secondary wall of the xylem in Acer pseudoplatanus. J. Cell Biol., 23, 327-334.
- WOROBIEW S., 1915 - The effect of heating seeds upon the development of the plant. Intern. Inst. Agron. Rome, 527.

PLANCHES

ABREVIATIONS UTILISEES DANS LES PLANCHES

M	paroi
ME	méat, lacune
pe	plasmalemma
ep	espace extramembranaire
pl	plasmodesme
N	noyau
Nu	nucléole
mN	membrane nucléaire
Ch	chromatine
Chr	chromosome
r	ribosome
V	vacuole
er	réticulum endoplasmique
Sd	sacculé dilaté du réticulum endoplasmique
di	dictyosome
Vg	vésicule golgienne
Ve	formation vésiculaire et multivésiculaire
mi	mitochondrie
mid	mitochondrie en dégénérescence
P	plaste
Pd	plaste dégénérescent
Px	peroxysomes
i	invagination
IF	inclusion fibrillaire
mp	lamelle plastidiale
Str	stroma
gr	granum
th	thylakoïde

Toutes les micrographies proviennent d'échantillons fixés au glutaraldéhyde et post fixés au tétroxyde d'osmium.

PLANCHE I - GERMINATION ET PREMIERS STADES DE DEVELOPPEMENT DE
Stipa tenacissima L., A L'OBSCURITE ET A 20°C.

Fig. 1 - Le fruit de Stipa tenacissima L.

- a- le fruit dans ses enveloppes,
- b- le caryopse, face dorsale, l'embryon (em) occupe une position excentrique,
- c- le caryopse : face ventrale, le sillon (s) en position médiane.

Fig. 2 - Premiers stades de la germination.

- a- 1er jour de germination
Ouverture de la pellicule tégumentaire,
- b-c- 3ème jour de germination
Apparition du coléoptile (co) et du coléorhize (c),
b : vue de profil,
c: vue de face.

Fig. 3 - 4ème jour de germination

Apparition de la radicule (ra).

Fig. 4 - Allongement du coléoptile (c) et de la racine (r).

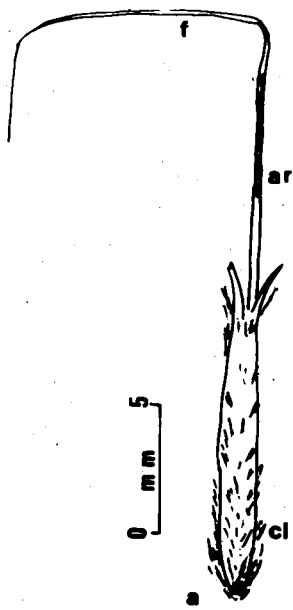
Fig. 5 - 8ème jour de germination

Apparition et croissance de la première feuille (fe).

Légende : ar : arête; ca : caryopse; c : coléorhize; co : coléoptile;
cl : callus; em : embryon; ep : épiblaste; f : fouet; fe : feuille;
pt : pellicule tégumentaire; ra : radicule; r : racine; s : sillon.

On notera que l'arête est le prolongement de la glumelle inférieure appelée lemme..

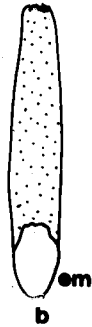
PLANCHE I



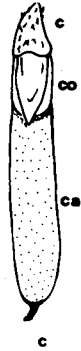
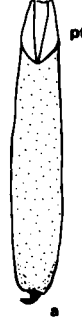
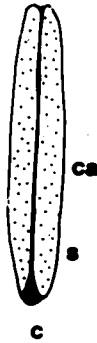
le fruit

premier jour
de germination

troisième jour
de germination



3
mm
0



0 mm 3

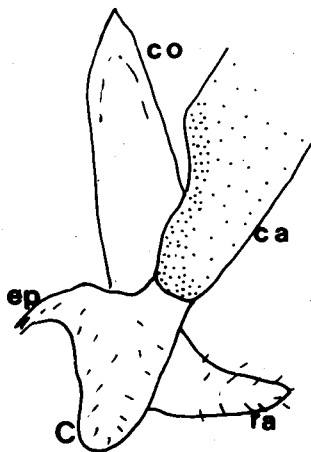
1

2

quatrième jour
de germination

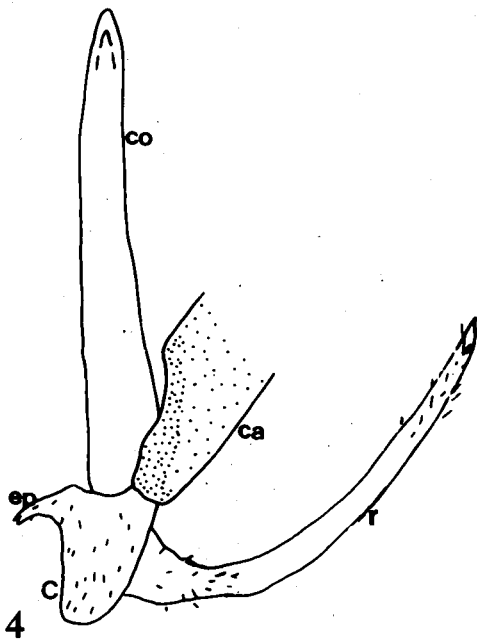
sixième jour
de germination

huitième jour
de germination

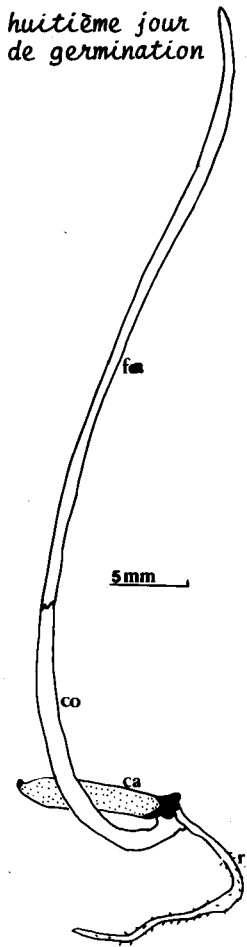


3

0 mm 2



4



5



PLANCHE II - QUELQUES STADES DE DEVELOPPEMENT DE Stipa tenacissima L.

Fig. 6 - Jeune plante âgée de 68 jours.

Fig. 7 - Jeune plante âgée de 6 mois.

Fig. 8 - Jeune plante âgée de 12 mois.

Fig. 9 - Jeune plante âgée de 20 mois.



PLANCHE II

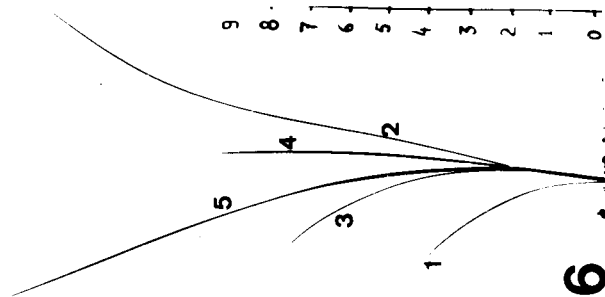


PLANCHE III - Mise en place du tissu fibreux dans la feuille
d'alfa après différents temps de germination

Fig. 10 - 2ème jour après la germination

Section transversale dans la base foliaire.

- Localisation des cellules-mères (ifsep) de fibres dans les parties médiane, latérales et marginales.
- Initiation du faisceau conducteur (ifc).

Fig. 11 - 3ème jour après la germination

Section transversale dans la base du limbe.

- Croissance du limbe.
- Localisation de 7 massifs de cellules-mères de fibres dans la région externe du limbe : un médian, 4 latéraux, 2 marginaux.

Fig. 12 - 9ème jour après la germination

Section transversale de la base du limbe.

- Croissance du limbe.
- Différenciation des premières fibres (fsep) et des faisceaux conducteurs (fll).

Fig. 13 - 14ème jour après la germination

Section transversale à la base du limbe

Développement des assises fibreuses (tf) sous-épidermiques.

- 24ème jour après la germination

Fig. 14 - La gaine et le limbe sont individualisés.

Section transversale dans la base de la gaine (g).

Fig. 15 - Section transversale dans la base du limbe.

Développement du tissu fibreux (tf)

fig. 16 - 32ème jour après la germination

Section transversale dans la base du limbe.

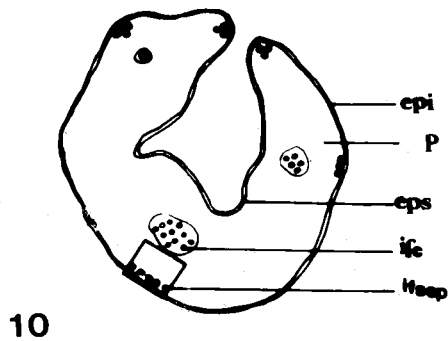
Développement du tissu fibreux (tf).

Légendes :

épi : épiderme inférieur ; eps : épiderme supérieur ; P : parenchyme;
ifc : initiales du faisceau conducteur; Ifsep : Initiales des fibres sous-
épidermiques; f : fibres; X : xylème; Ph : phloème; fll : faisceau; g : gaine
libéro-ligneux; tf : tissu fibreux.

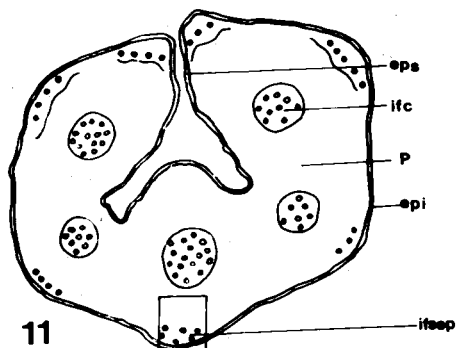
PLANCHE III

2^{ème} jour de germination



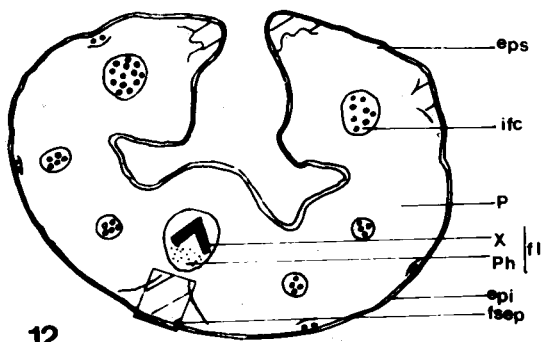
10

3^{ème} jour de germination



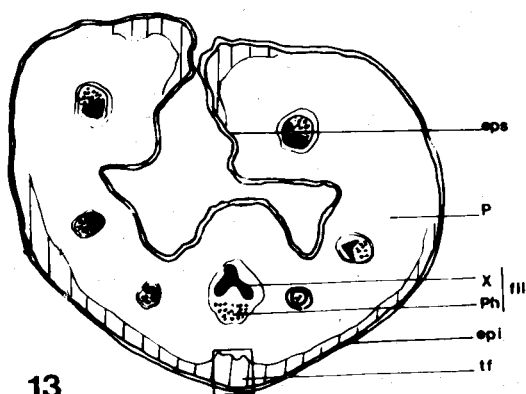
11

9^{ème} jour de germination



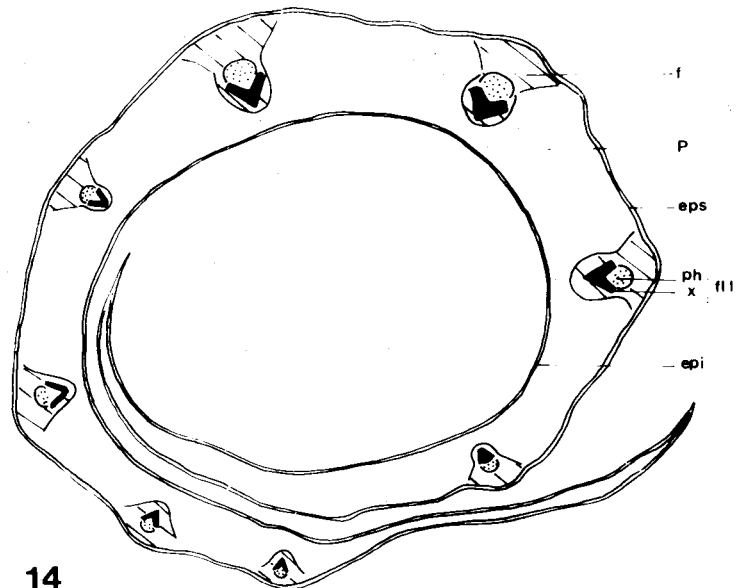
12

14^{ème} jour de germination



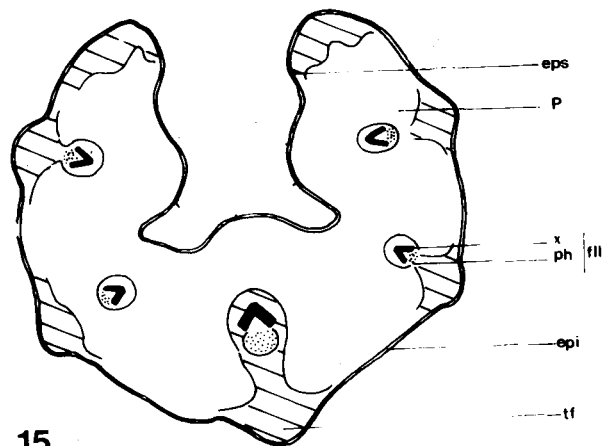
13

24^{ème} jour de germination



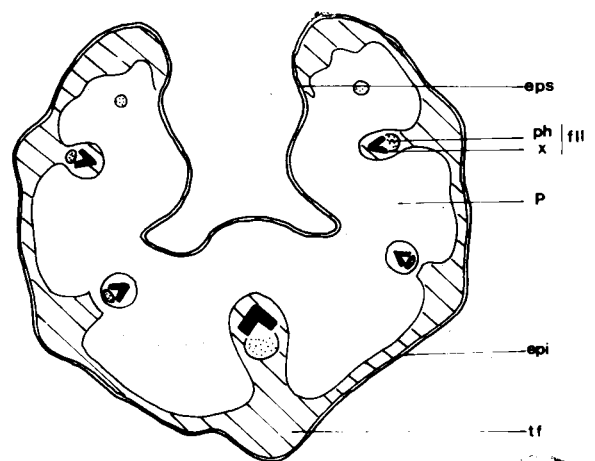
14

24^{ème} jour de germination



15

32^{ème} jour de germination



16

100µm



PLANCHE IV - Mise en place du tissu fibreux dans la feuille d'ordre 2 après différents temps de germination.

Fig. 17 - 24ème jour après la germination

Section transversale dans la base foliaire.

- Localisation des cellules-mères de fibres (ifsep) dans les régions médiane et latérales externes de la feuille.

Fig. 18 - 32ème jour après la germination

Section transversale à 1cm de la base foliaire.

Différenciation des premiers massifs fibreux et des faisceaux conducteurs.

Fig. 19 - 39ème jour après la germination

Développement du tissu fibreux (tf).

Fig. 20 - 90ème jour après la germination

(gaine et limbe sont individualisés).

- Développement du tissu fibreux dans la région interne du limbe.

Fig. 21 - 120ème jour après la germination

Section transversale dans la base du limbe.

- croissance du limbe,
- développement du tissu fibreux (tf),
- apparition de faisceaux criblés.

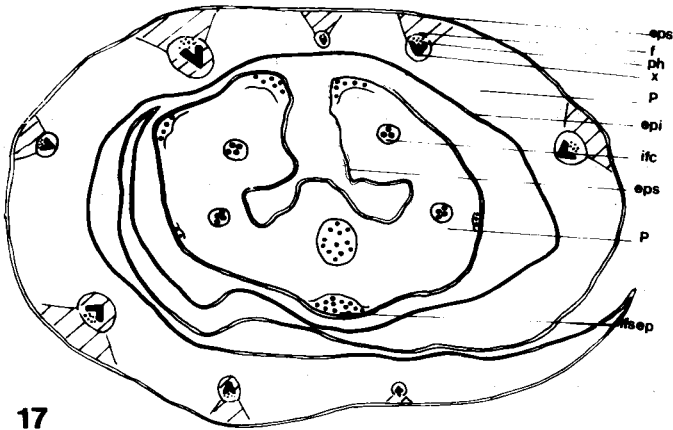
Légende :

épi : épiderme inférieur; éps : épiderme supérieur; P : parenchyme; ifc : initiales du faisceau conducteur; Ifsep : Initiales des fibres sous-épidermiques; gp : gaine périvasculaire; X : xylème; Ph : phloème; fil : faisceau libéro-ligneux; g : gaine; tf : tissu fibreux.



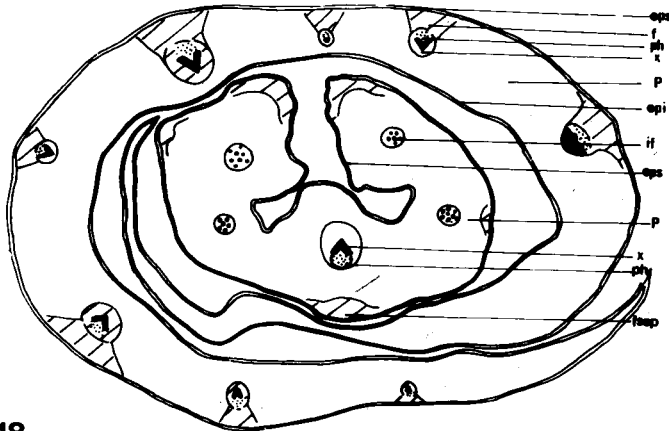
PLANCHE IV

24^{ème} jour de germination



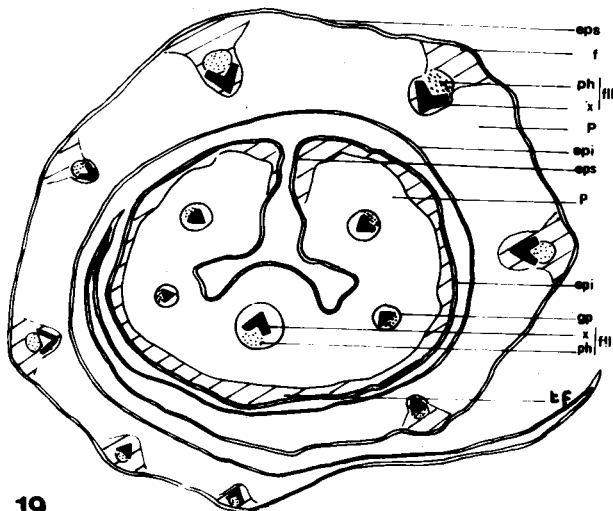
17

32^{ème} jour de germination



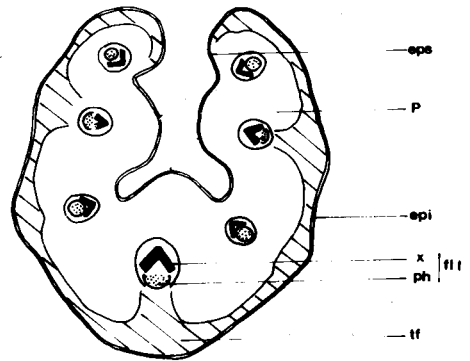
18

39^{ème} jour de germination



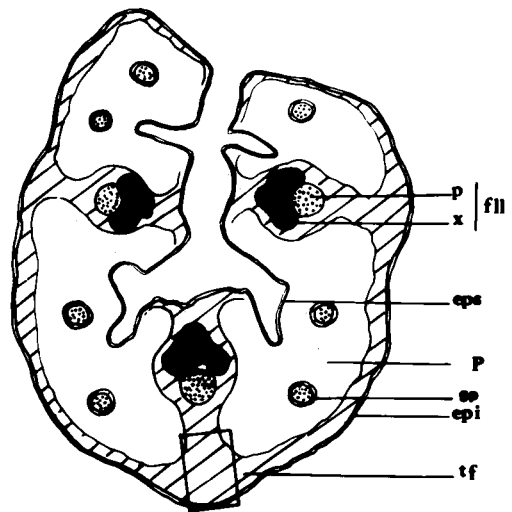
19

90^{ème} jour de germination



20

120^{ème} jour de germination



21

PLANCHE V - Mise en place du "tissu fibreux" dans la feuille
d'ordre 3 après différents temps de germination

Fig. 22 - 39ème jour après la germination

Section transversale à la base foliaire.

- Localisation des cellules-mères de fibres (ifsep).

Fig. 23 - 90ème jour après la germination

Section transversale à la base du limbe (à 2cm).

- Croissance du limbe.
- Développement du tissu fibreux (tf).

Fig. 24 - 120ème jour après la germination

- Croissance du limbe.
- Développement du tissu fibreux (tf).

fig. 25 - 240ème jour après la germination

Développement maximum du tissu fibreux (tf)

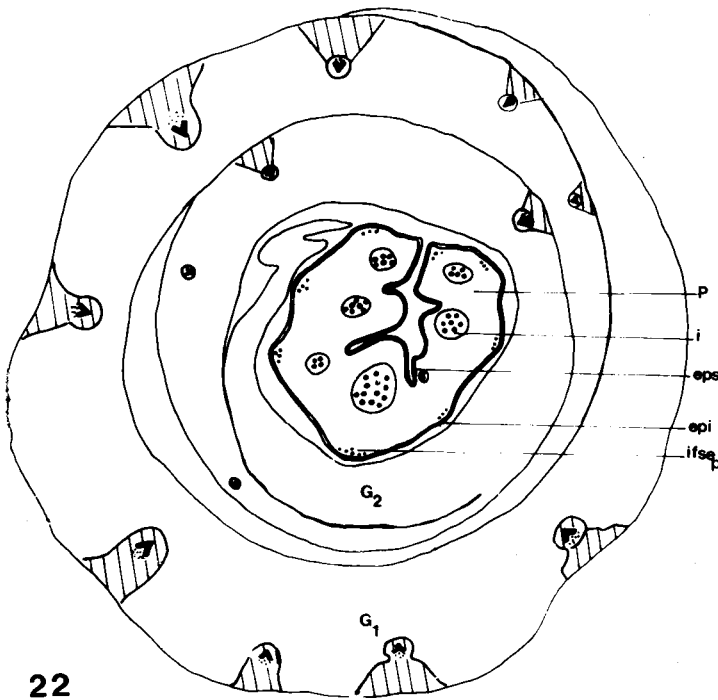
Légende :

épi : épiderme inférieur; eps : épiderme supérieur; ifsep : initiales des fibres sous-épidermiques; P : parenchyme; S : stomate; Ph : phloème; X : xylème; fll : faisceau libéro-ligneux; gp : gaine périvasculaire; tf : tissu fibreux; G₁ : gaine de la feuille d'ordre 1; G₂ : gaine de la feuille d'ordre 2.



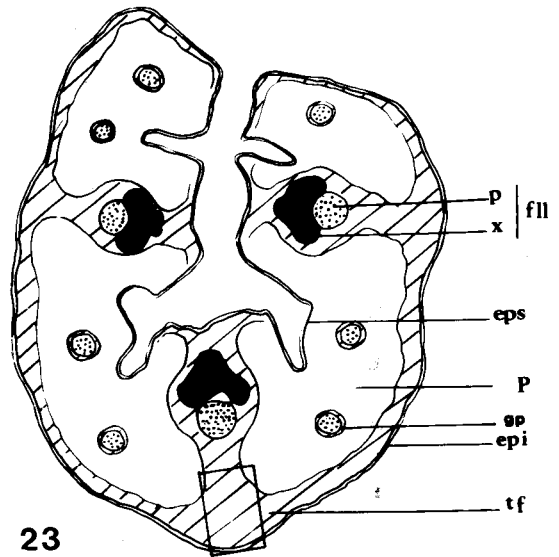
PLANCHE V

39ème jour de germination



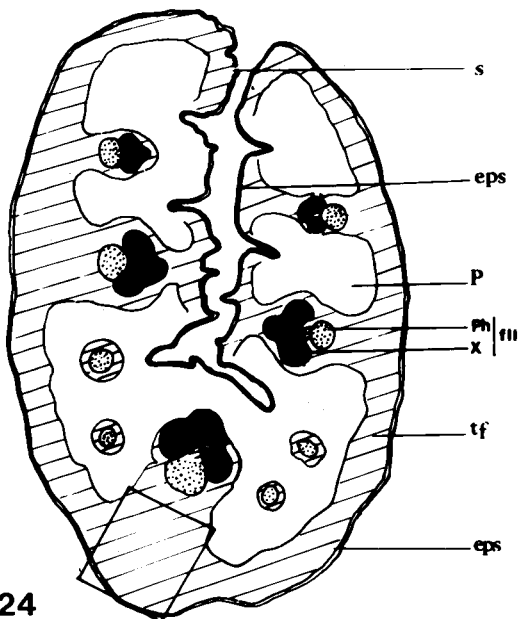
22

90ème jour de germination



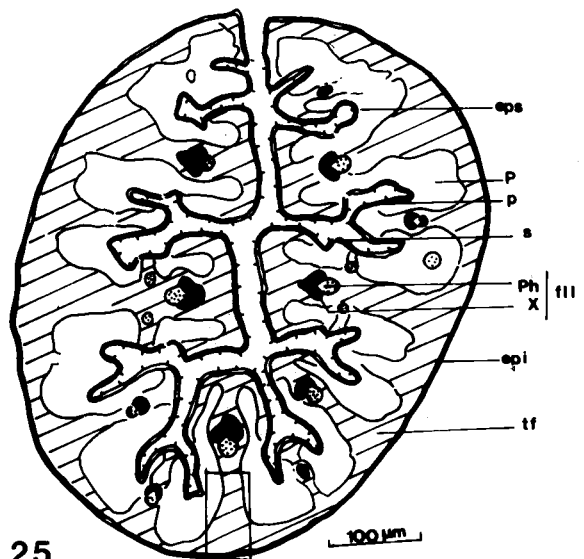
23

120ème jour de germination



24

240ème jour de germination



25

BUS
LILLE

PLANCHE VI - Mise en place et évolution du tissu fibreux dans
la feuille d'alfa.

Fig. 27 : Section transversale dans la base d'un limbe d'alfa âgé de 24h.

E : épiderme; ifsep : initiales des fibres sous-épidermiques.
Héματοxyline de Regaud. X 325.

Fig. 28 : Section transversale montrant les initiales des fibres sous-épidermiques en division.

P : parenchyme.
X 1300

Fig. 29 : Coupe semi-fine transversale dans un limbe d'alfa âgé de 2 jours. Mise en place des fibres sous-épidermiques (fsep).
Noter cette "avancée" du tissu fibreux vers le faisceau conducteur).

Section effectuée à 1cm de la base.
Coloration bleu toluidine. X 1300.

Fig. 30 : Coupe semi-fine (transversale) passant par le tissu fibreux (tf).
Coloration bleu toluidine. X 325.

Fig. 31 : Section transversale (à main levée) passant par le tissu-fibreux d'une feuille d'alfa âgée de 60 jours. Noter l'épaississement et la lignification des parois des fibres.

Coloration vert d'iode-Rouge de Ruthénium. X 325.

Fig. 32 : Coupe longitudinale passant par la zone de parenchyme (P) située entre les fibres sous-épidermiques (à droite) et le faisceau conducteur représenté par les cellules de la gaine périvasculaire (gp) à gauche.

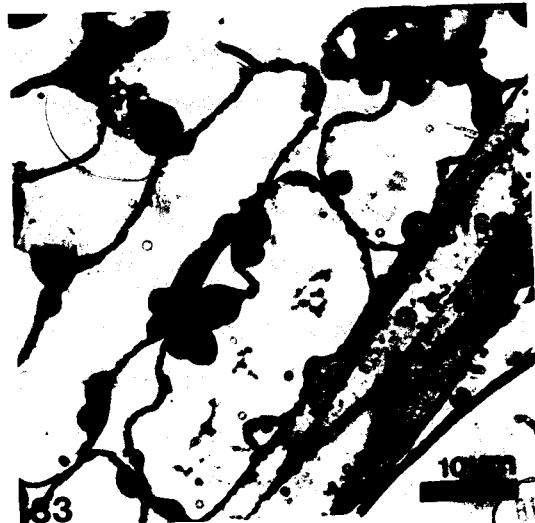
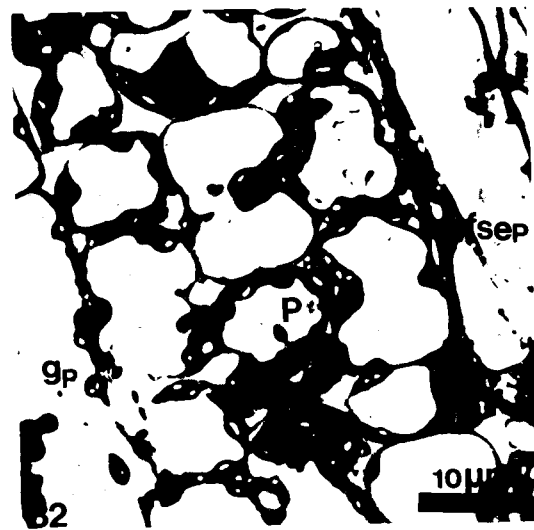
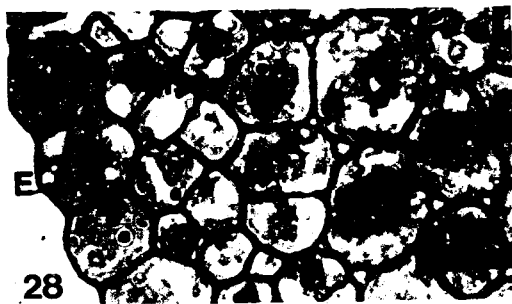
Ce cliché est un complément de la fig. 29.
Semi-fine. Coloration bleu de toluidine. X 1300.

Fig. 33 : Coupe montrant l'allongement des cellules de parenchyme (p) situées entre les fibres sous-épidermiques et le faisceau conducteur que l'on ne voit pas sur ce cliché.

Semi-fine. Coloration bleu de toluidine. X 1300.



PLANCHE VI



HIS
LIBRARY

PLANCHE VII - Ultrastructure des cellules-mères des fibres
sous-épidermiques

Fig. 34 : Le cytoplasme est riche en ribosomes et contient des organites. On remarquera l'abondance, de profil, du réticulum endoplasmique (re), orientés plus ou moins parallèlement à la paroi cellulaire. Vacuoles (V) abondantes.

X 10000.

Fig. 35 : Portion de cellule-mère de fibre vue à un plus fort grossissement. On remarquera la présence de dictyosomes (di), de nombreuses mitochondries de forme allongée ou subphérique. Le plasmalemme (pe) présente des replis (i) qui sont en contact avec les profils du réticulum endoplasmique.

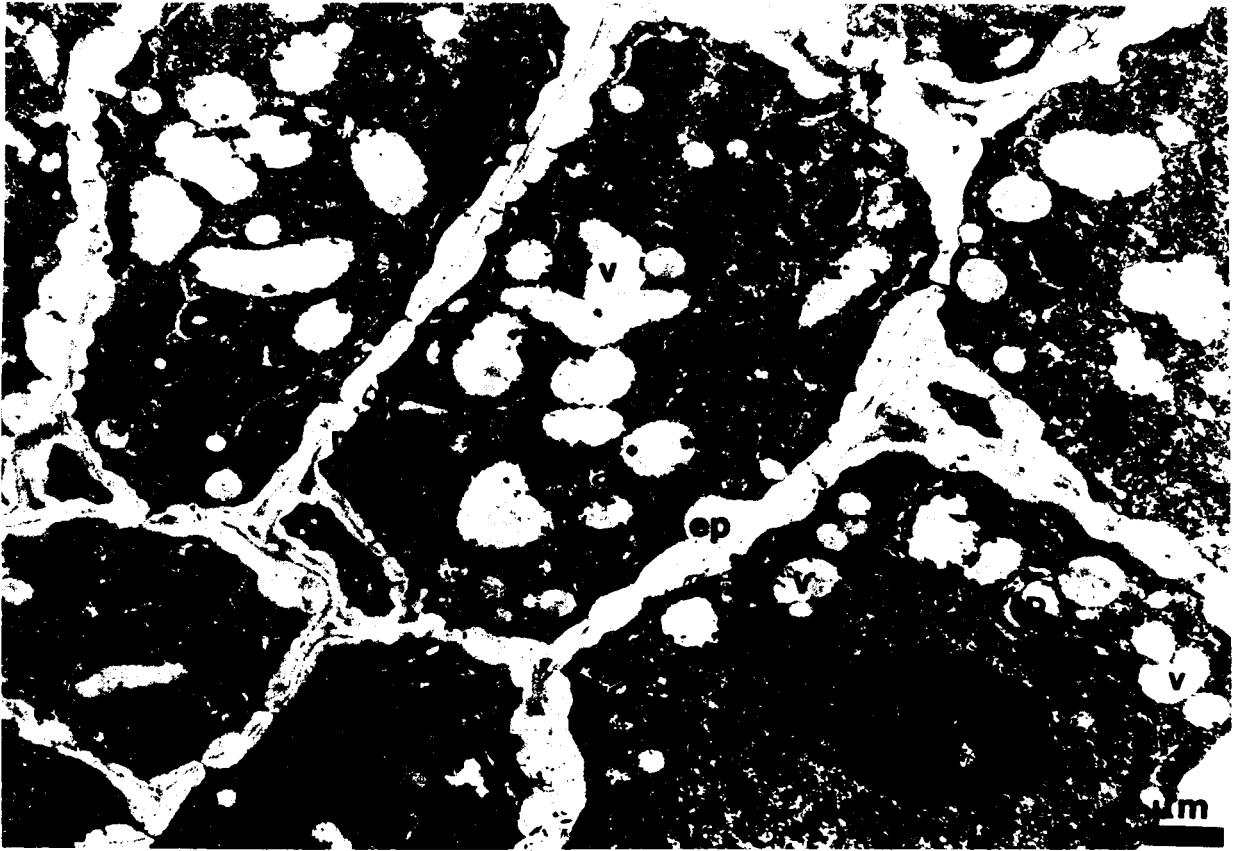
X 18000.

Fig. 36 : Détail de la paroi (M) et de l'espace extramembranaire (ep). Noter la présence de plasmodesmes (pl). La structure du plasmalemme est peu distincte.

X 72000.



PLANCHE V II



← Cellules-mères des fibres
sous épidermiques

→ Cellules
épidermiques →

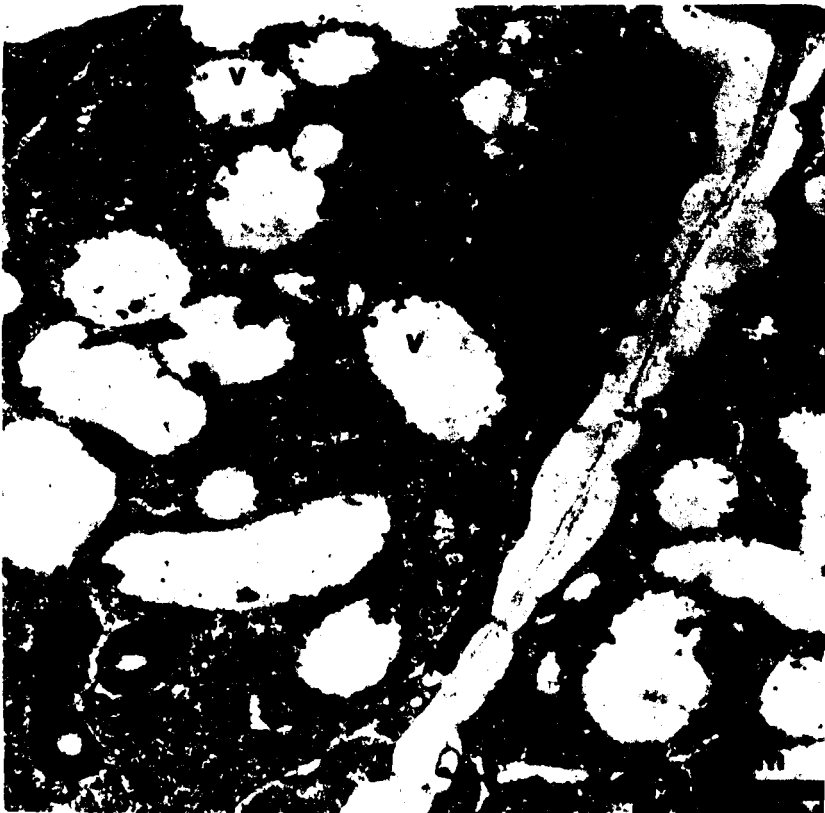


PLANCHE VIII - Le noyau et l'enveloppe nucléaire des cellules-
mères de fibres sous-épidermiques.

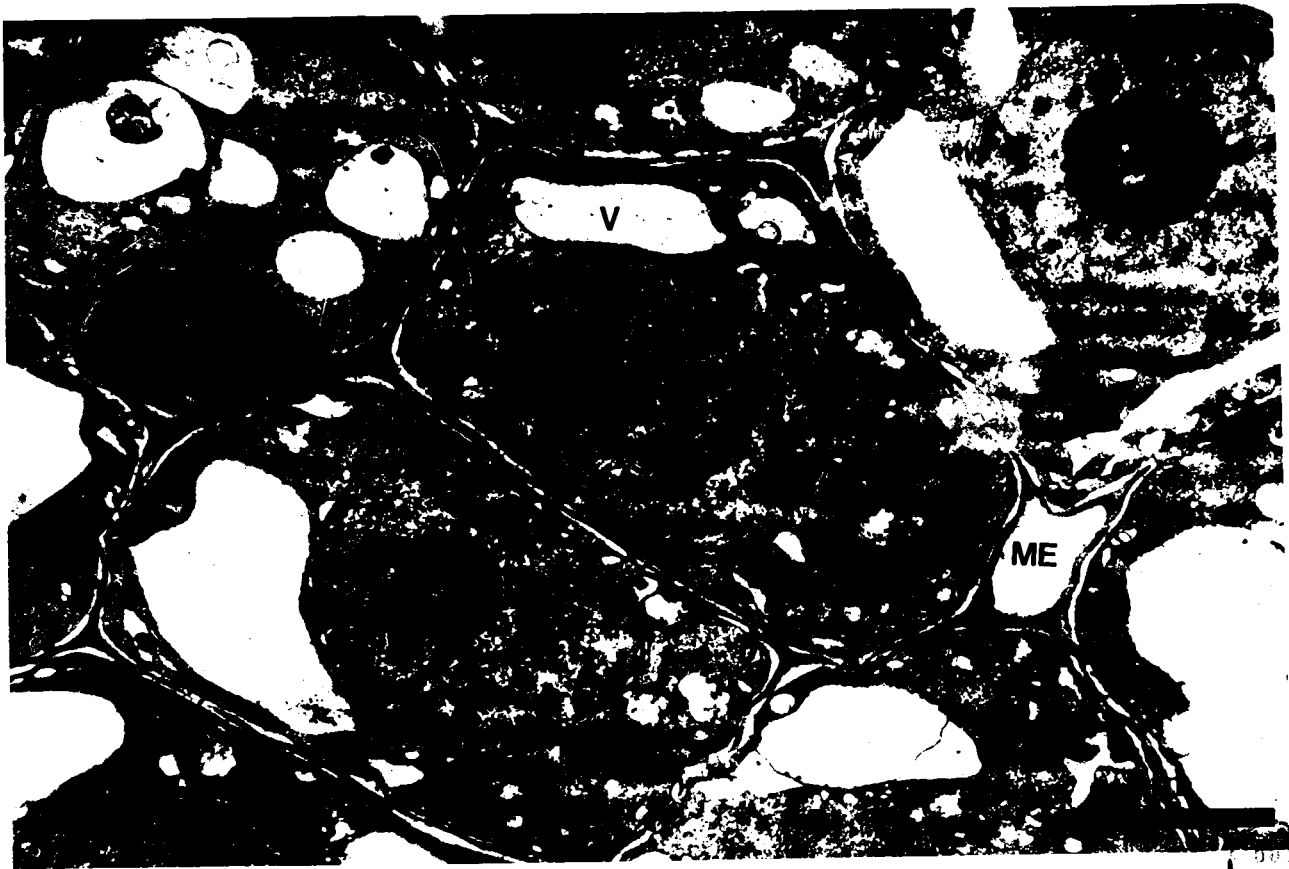
Fig. 37 : Remarquer l'aspect de la chromatine (ch) associée en paquets
denses aux électrons.

Le nucléole (nu) volumineux présente une structure hétérogène.

Le feuillet externe de l'enveloppe nucléaire émet des prolongements orientés le plus souvent vers la périphérie (flèches).

x 30000.

PLANCHE VIII



P L A N C H E IX - DIFFERENCIATION DE LA FIBRE D'ALFA

Fig. 38 - Portion longitudinale de jeunes fibres en différenciation et de cellule-mères. On remarquera que la cellule en différenciation s'est allongée. Elle présente un cytoplasme peu dense. Les cellules situées à sa gauche présentent les caractères de cellules méristématiques.

X 6000.

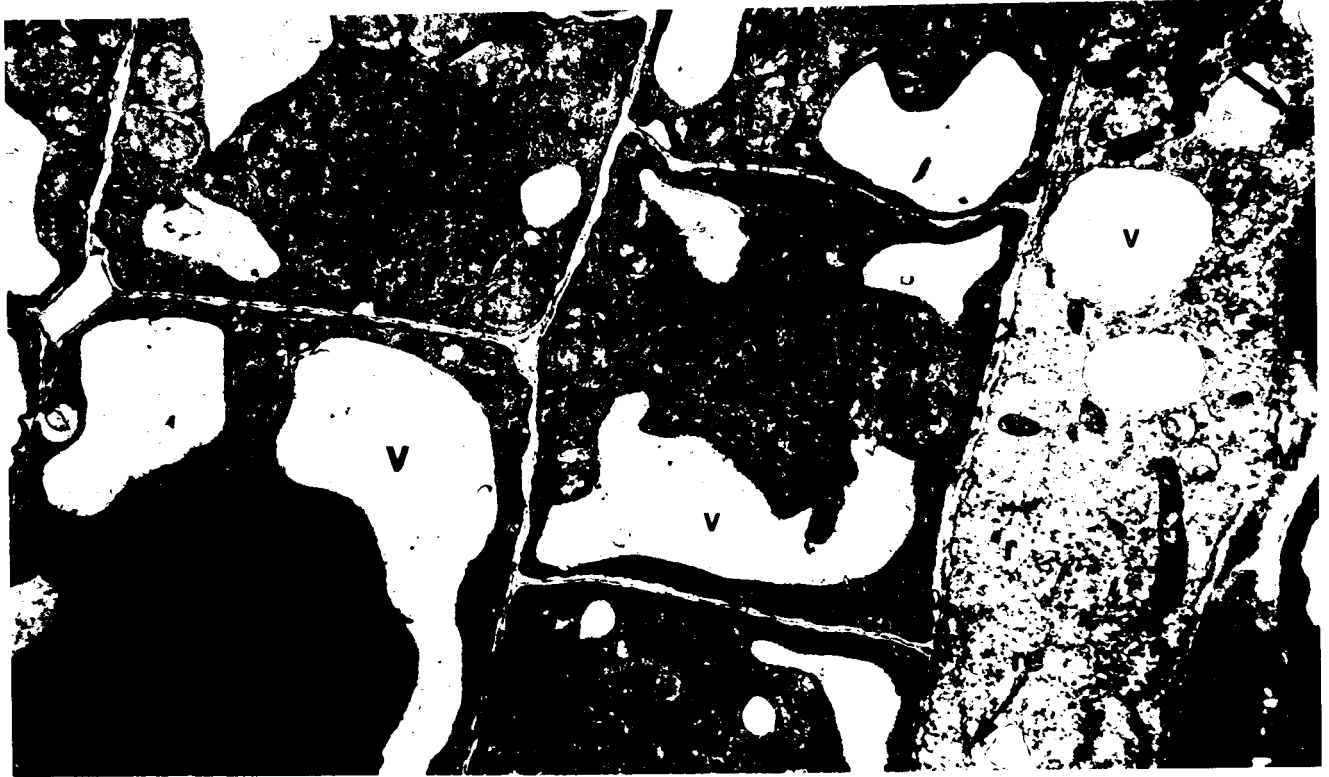
Fig. 39 - Détail dans une portion de fibre différenciée.

Remarquer l'abondance de mitochondries allongées ou arrondies (mi), de réticulum endoplasmique (re) et le contenu microfilaire de la vacuole.

X 60000.



PLANCHE IX



← cellules mères de fibres → fibres →

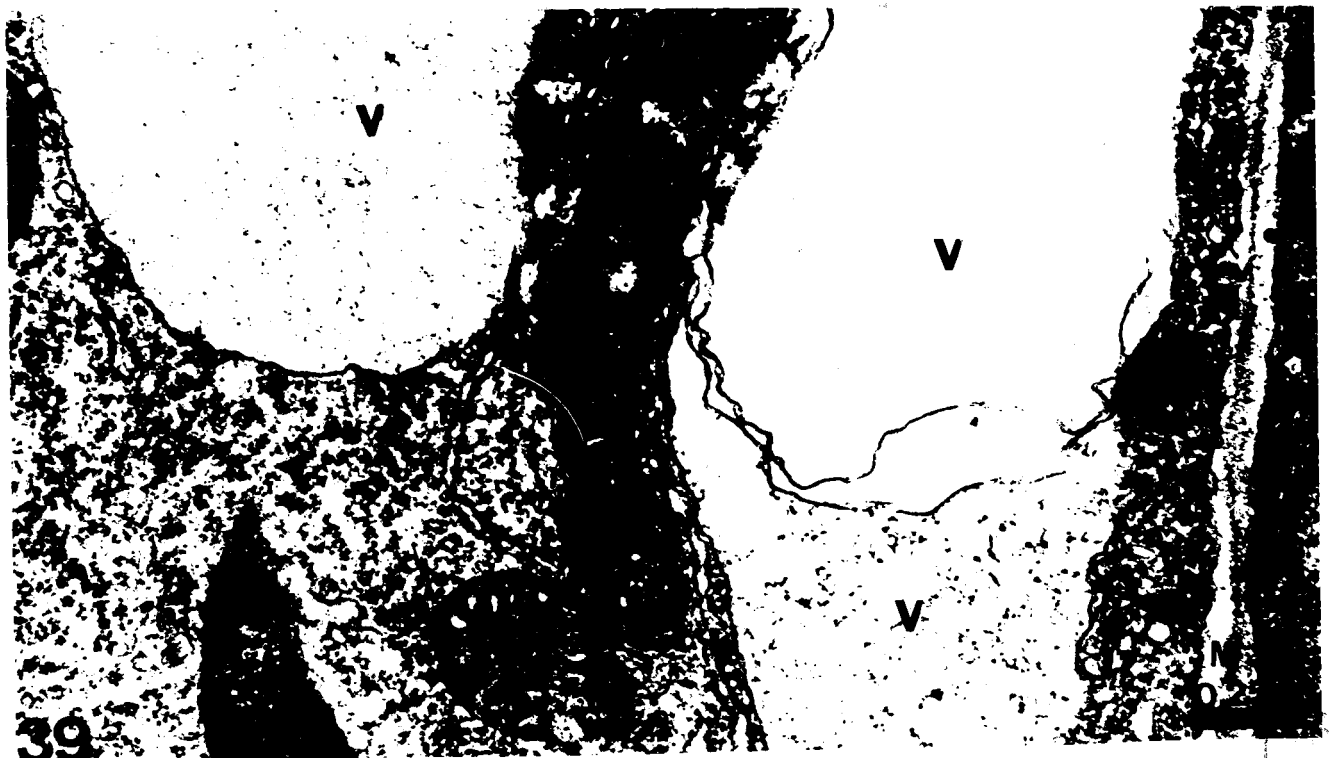


PLANCHE X - ASPECT DES PAROIS DES FIBRES AU COURS DE LA DIFFERENCIATION.

Fig. 40 - Portion de fibre en section transversale montrant l'aspect contourné des parois (M).

Mitochondries (mi) abondantes.

X 42000.

Fig. 41 - Portion d'extrémités de fibres en section longitudinale à noter l'aspect effilé des extrémités.

X 20000.

Fig. 42 - Invagination des parois (M). Remarquer que le cytoplasme épouse les formes très contournées des parois.

X 20000.



PLANCHE X

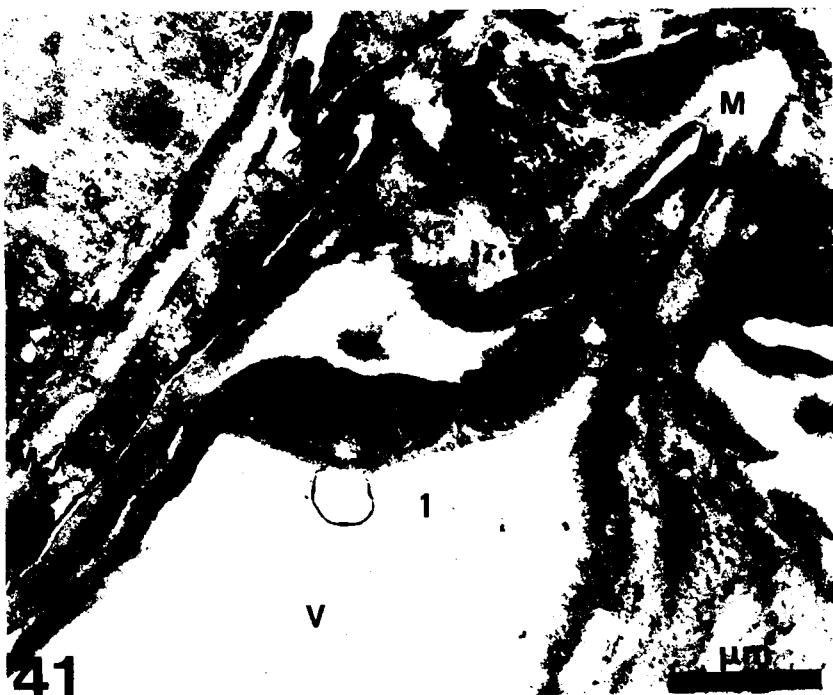


PLANCHE XI - MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AU COURS DE LA
DIFFERENCIATION CELLULAIRE

Fig. 43 - Micrographie montrant une portion de vacuole (V).

Remarquer la présence de microfibrille vacuolaire.

Le tonoplaste (t) présente parfois des interruptions (flèche).
X 60000.

Fig. 44 - Développement de l'appareil de Golgi et prolifération de sac-
cules golgiennes (vg).

Les profils dilatés du réticulum endoplasmique (sd) sont en
contact étroit avec le plasmalemme.

Structure tripartite du plasmalemme bien visible sur ce cliché.
(en haut à gauche).

X 60000.

Fig. 45 - Plasmodésmes (pl) et paroi (M).

X 83000.

Fig. 46 - Formations vésiculaires périplasmiques (Ve). Certaines sont
en contact étroit avec le plasmalemme (pl). Leur contenu est
transparent aux électrons.

X 60000.

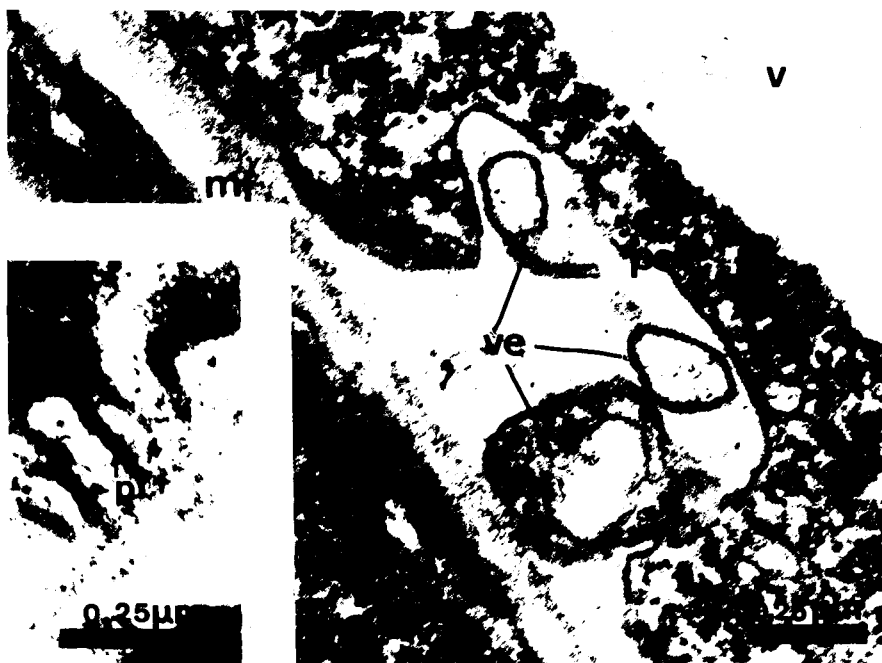
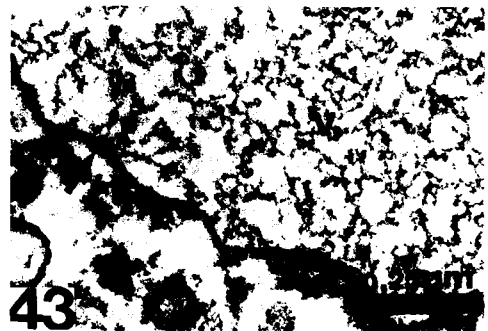
Fig. 47 - Disposition concentrique des formations vésiculaires périplas-
miques.

Remarquer que le contenu de ces vésicules est transparent aux
électrons.

X 60000.



PLANCHE XI



800
LINES

PLANCHE XII - MICROTUBULES AU COURS DE LA DIFFERENCIATION
DES FIBRES

Fig. 48 - Sections longitudinales dans la portion de cellules épidermiques (A), des fibres sous-épidermiques (B) et des cellules de parenchyme (C).

X 60000.

Fig. 49 - Les microtubules (mt) sont disposées au niveau des parois transversales.

X 16000.

Fig. 50 - Noter la disposition des microtubules (mt) à proximité des parois.

Remarquer que la structure du plasmalemmes est peu visible.

X 42000.



PLANCHE XII



BIBL
LILLE

PLANCHE XIII - LA FIBRE DIFFERENCIEE

Fig. 51 - Section transversale dans une portion de fibre.

Noter l'épaississement de la paroi secondaire (pr_2),
son épaisseur est de $1\text{ }\mu\text{m}$ (environ).

x 33000.



PLANCHE XIII



PLANCHE XIV - FIBRE EN FIN DE DIFFERENCIATION.

Fig. 52 - Portion de fibre en section longitudinale. Observer que la cavité cellulaire est occupée par des vésicules difficilement identifiables.

X 6000.

Fig. 53 - Cavité cellulaire occupée par des restes d'organites cellulaires.

X 28000.

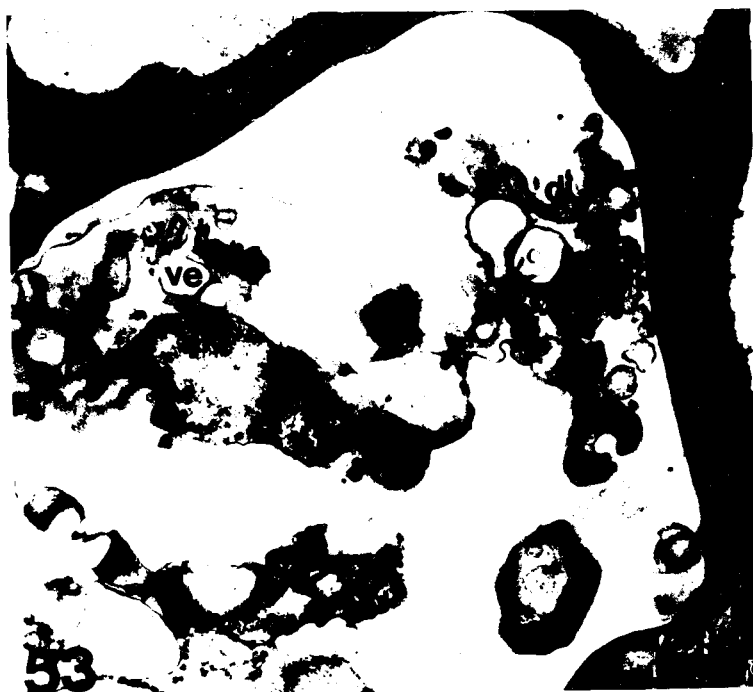
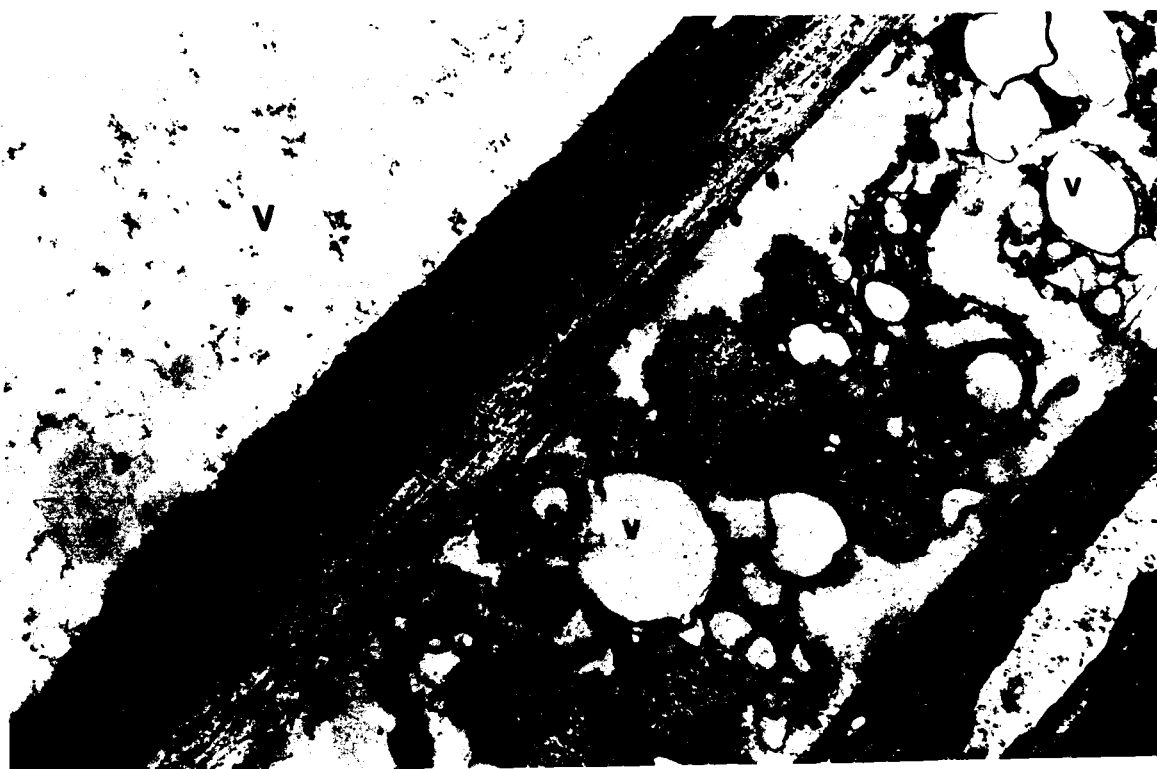
Fig. 54 - Observation des parois.

La paroi primaire (pr_1) présente une structure bien "resserrée". Les microfibrilles qui constituent la paroi secondaire présentent une structure plus lâche.

X 80000.



PLANCHE XIV



511
LYLE

PLANCHE XV

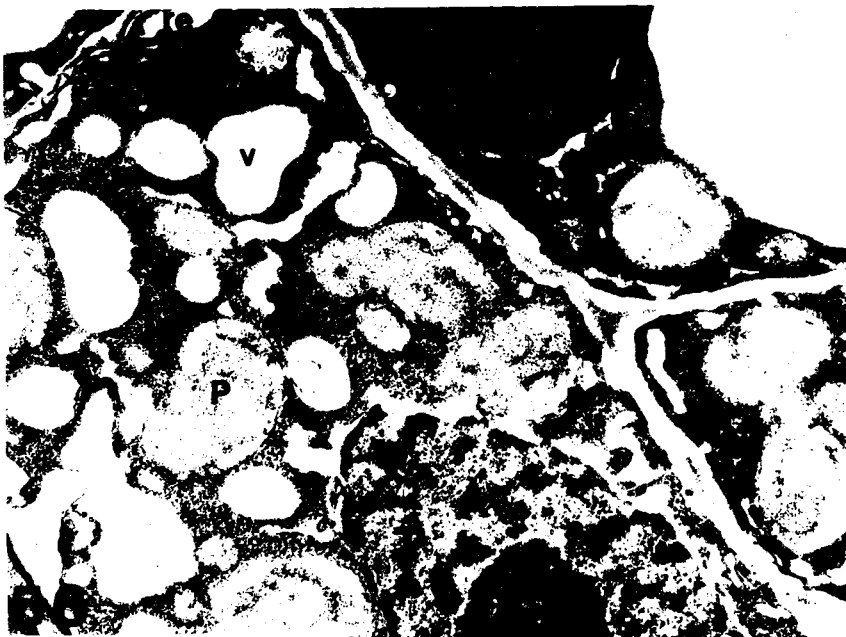
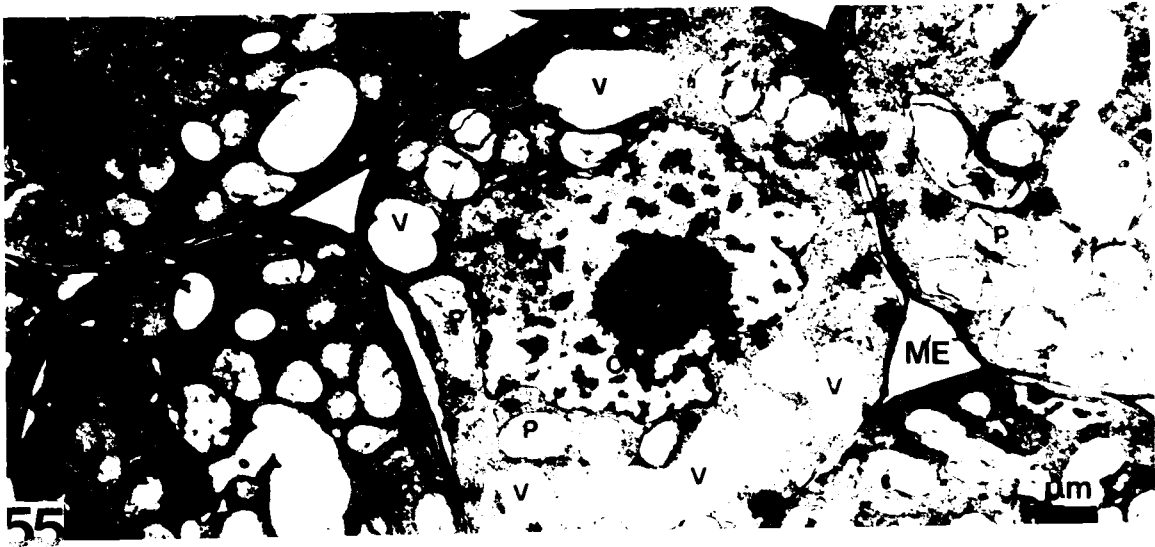


PLANCHE XV - OBSERVATION DES CELLULES DE PARENCHYME SITUEES
ENTRE LES FIBRES SOUS-EPIDERMiques ET LE FAISCEAU
CONDUCTEUR.

Fig. 55 - Section transversale dans de jeunes cellules.

Noter leur aspect méristématique.

(Les organites sont peu différenciés).

X 8000.

Fig. 56 - Section longitudinale.

Remarquer les nombreux pores nucléaires.

Le réticulum endoplasmique présente des dilatations importantes.

X 4000.

Fig. 57 - Quelques profils dilatés du réticulum endoplasmique (cy).

Noter que ces formes sont disposées à proximité des parois.

X 21000.

Fig. 58 - Section longitudinale passant par des plasmodesmes (pl).

X 21000.

PLANCHE XVI -

Fig. 59 - La cellule en différenciation.

Noter le développement important de la vacuole (V).

X 9000.



PLANCHE XVI

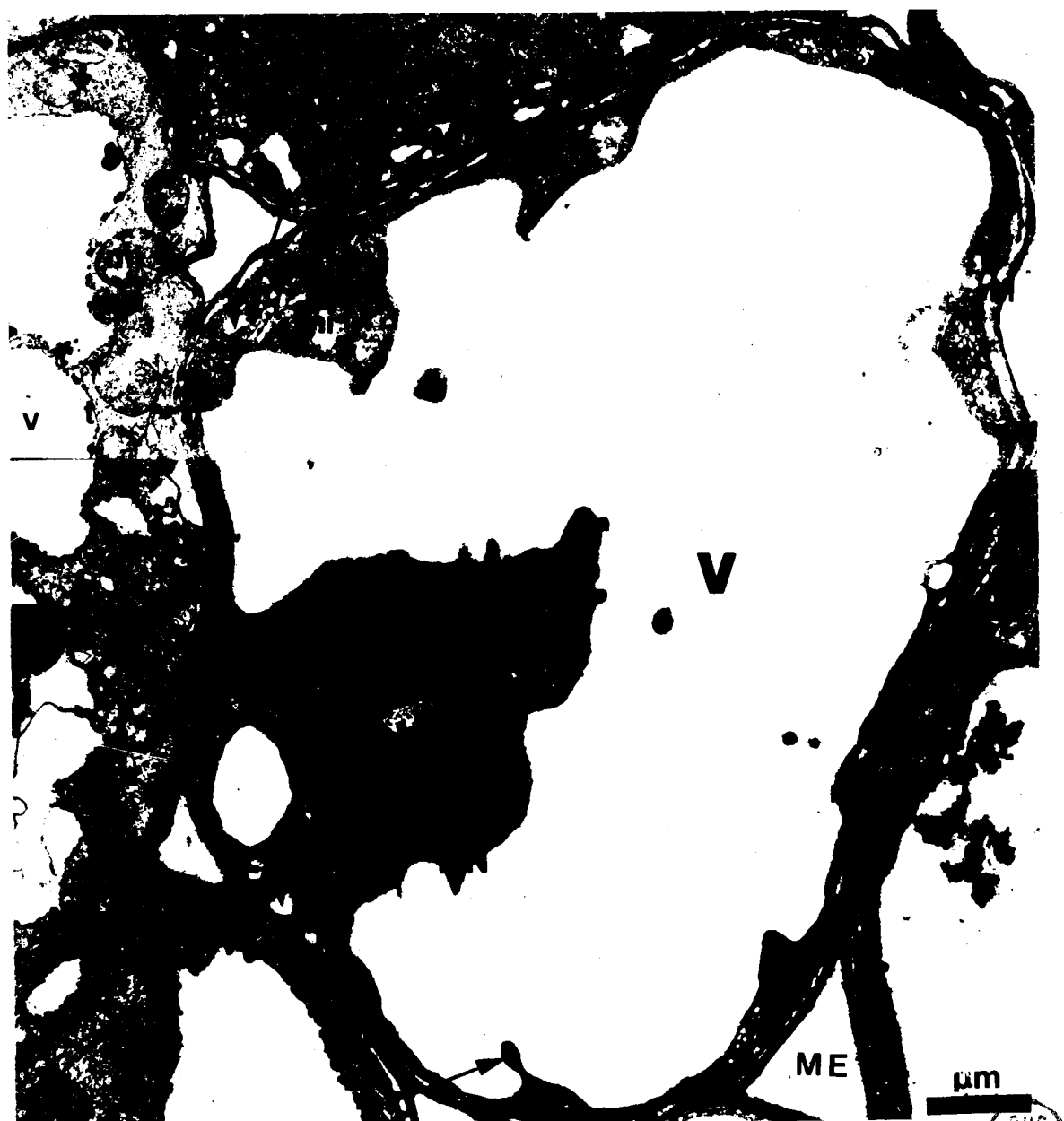


PLANCHE XVII - DEVELOPPEMENT DU VACUOME ET DIFFERENCIATION DU
CHONDRIOME ET DU PLASTIDOME.

Fig. 60 - Section semi-fine montrant le lobe médian en section
transversale.

X 350.

A : fibres sous-épidermiques.

B : cellules de parenchyme.

C : faisceau conducteur.

Fig. 61 - Section longitudinale dans les cellules de parenchyme.

Remarquer l'aspect morphologique de cette cellule.

Les plastes (p) sont abondants; le vacuome (V) est bien
développé.

Fig. 62 - Corps fibrillaire (IF) intracytoplasmique.

X 12000.

Fig. 63 - Section transversale dans les cellules de parenchyme.

Noter l'abondance de proplastes (p) et des mitochondries (mi).

La vacuole (V) est bien développée.

X 6000.

Fig. 64 - Proplaste vu à un plus fort grossissement.

Remarquer que les lamelles sont bien différenciées.

X 22000.

Fig. 65 - Détail d'un plaste (P).

granum (gr),

thylakoïde (th),

stroma (st),

lamelle intergranaire (li),

amidon (A).

X 24000.

Fig. 66 - Section transversale dans une portion de cellules de paren-
chyme assimilateur.

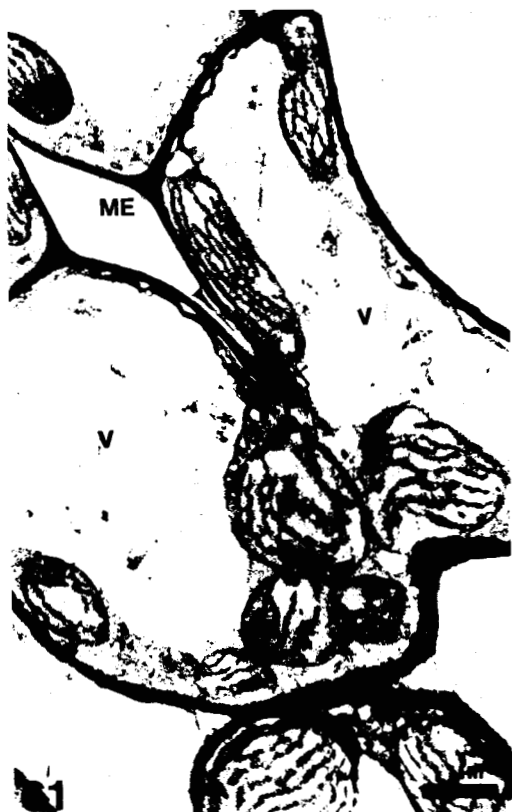
Noyau (N) d'aspect classique.

Plastes (p) bien différenciés.

X 6000.



PLANCHE XVII



65

μm

66^v

μm



PLANCHE XVIII - DEGENERESCENCE DES ORGANITES CELLULAIRES AU COURS
DE LA DIFFERENCIATION DES CELLULES DE PARENCHYMES
SITUEES ENTRE LES FIBRES SOUS-EPIDERMiques ET LE
FAISCEAU CONDUCTEUR.

Fig. 67 - Coupe semi-fine passant par le tissu fibreux (TF) et le faisceau conducteur.

Phloème : ph,

Xylème : X.

Les cellules étudiées en microscopie électronique sont encadrées.

Coloration bleu de toluidine.

X 525.

Fig. 68 - Cliché représentant des plastes (pd) et des mitochondries (mid) en dégénérescence.

Noter l'aspect fibrillaire du contenu cytoplasmique.

X 25000.

Fig. 69 - Cliché représentant un noyau en dégénérescence.

Remarquer que le cytoplasme est peu dense. Son contenu présente le même aspect que le contenu du noyau.

La membrane nucléaire émet des dilatations dont certaines s'isolent totalement (flèches).

X 20000.

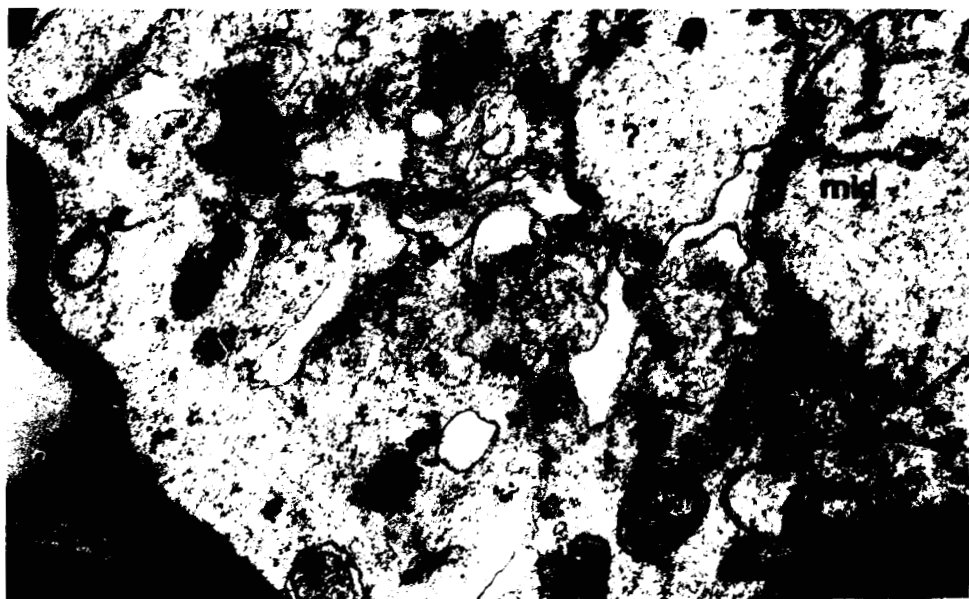
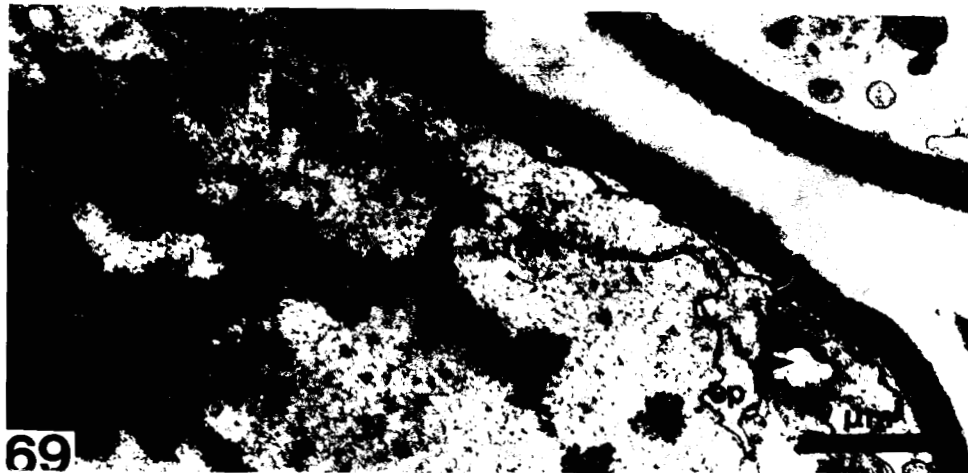
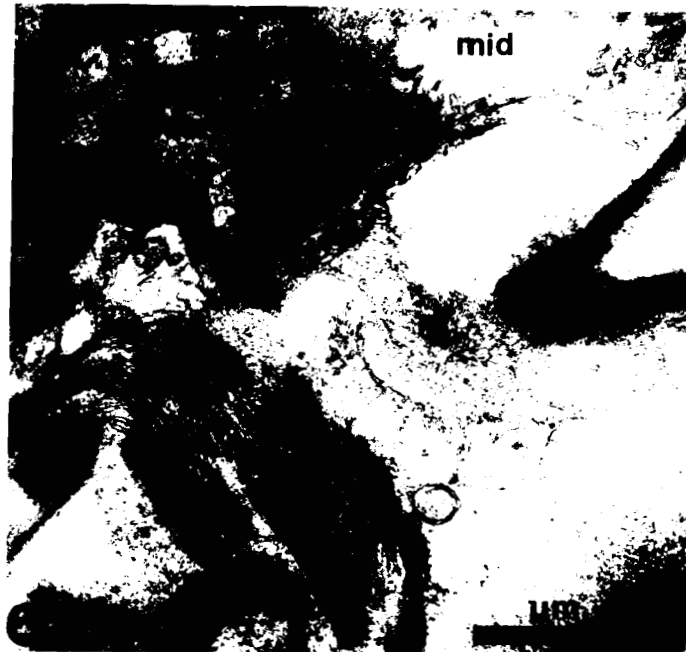
Fig. 70 - Cellule en dégénérescence.

Les formations ici présentes sont difficilement identifiables.

X 30000.



PLANCHE XVIII



THIS
LIFE