

Les constituants de la membrane cellulaire et leurs affinités chimiques

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **7 (1941-1943)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

M. LANGERON, *loc. cit.*, p. 1147-1152.

(—) MAC CLUNG, Handbook of microscopical technique, New-York, 1937.

L. MANGIN, Sur les réactifs colorants des substances fondamentales de la membrane, *C. R. Acad. Sc.*, juillet 1890.

Id., Sur l'emploi du rouge de ruthénium, *C. R. Acad. Sc.*, 1893.

P. MARTENS, Notes de botanique microscopique.

(—) MARTIN et JOHNSON, Practical microscopy, London, 1931.

A. MEYER, Erstes mikroskopisches Praktikum, Iena, 1898.

L. OLIVIER, Procédés opératoires en histologie végétale, 1885.

A. POULSEN, Microchimie végétale, 1883.

ROMÉIS, *loc. cit.*

(—) SCALES et SHILLINGTON, Practical microscopy, London, 1926.

R. SOUÈGES, Analyse micrographique, Paris, 1939.

J. TEMPÈRE, *Le micrographe préparateur*, périodique de 1893 à 1906.

O. TUNMANN (éd. 1931 revue p. ROSENTHALER), *loc. cit.*

A. ZIMMERMANN, Die botanische Mikrotechnik, 1892.

(—) Nous rappelons que les ouvrages ainsi marqués sont ceux dont, vu les circonstances actuelles, nous n'avons pu lire que des comptes rendus.

CHAPITRE VII : Les constituants de la membrane cellulaire et leurs affinités chimiques.

Généralités : Avant de parler de la membrane d'un point de vue chimique, et physico-chimique, il est intéressant de voir d'où elle vient, et dans quel état elle se trouve du point de vue biologique.

Quelle est l'origine de la membrane ?

Différentes hypothèses se trouvent en présence. Certains auteurs pensent que la membrane cellulaire se forme aux dépens du protoplasme seul; d'autres prétendent que l'élaboration de la membrane par le protoplasme est soumise à une action du noyau cellulaire; d'autres enfin ne veulent voir dans la formation d'une membrane qu'un simple phénomène de polymérisation des glucides.

Autre question: la membrane *est-elle vivante* ?

D'après RAOUL COMBES, « La substance végétale ne se laisse pas diviser en matière vivante et en matière non vivante; elle comprend des parties qui, en quelque sorte, vivent activement et d'autres qui nous paraissent vivre plus faiblement » (cit. R. COMBES, La vie de la cellule végétale, III).

Il semble bien que nous ayons affaire à des membranes cellulaires vivant d'une vie ralentie dans la plupart des cas; font exception les

cellules du liège et les bois fortement lignifiés qui forment des tissus « morts »¹.

Cependant on rencontre quelquefois des cellules mortes au milieu d'un parenchyme vivant (moelle d'*Helianthus annuus* par exemple). Ces membranes prennent très légèrement les colorants du bois, bien qu'étant cellulosiques; peut-être peut-on rapprocher de ce cas la faible colorabilité du velamen des racines aériennes (*Vanda suavis*, *Dendrobium*), velamen formé d'un tissu mort.

Ainsi la membrane végétale semble présenter tous les stades entre la vie et la mort. Elle est, sans nul doute, le siège de phénomènes physico-chimiques en relation avec l'activité cellulaire.

« Der Uebergang vom Lebendigen zum Toten liegt bei der Bildung der Mizelle » (E. KÜSTER, *loc. cit.*).

Quelle est la structure de cette membrane?

« La membrane glucidique, comme toutes les autres parties de la cellule... a une structure colloïdale » (cit. R. COMBES, *ibid.*).

D'après ce qui vient d'être dit, nous pouvons conclure que la plupart des phénomènes de fixation et de coloration de la membrane cellulaire peuvent être ramenés à des processus colloïdaux : phénomènes d'adsorption à la surface de séparation de deux phases et phénomènes d'attraction électrostatique entre deux colloïdes de signes contraires (voir art. cit., L. PELET).

Il existe en effet des colorants qui possèdent une affinité particulière pour certains tissus, et permettent la mise en évidence de ces derniers.

En principe, « un colorant basique aura une affinité pour les tissus acides ; un colorant acide se combinera avec les tissus basiques » (L. KRALL, *loc. cit.*, p. 14).

Les colorants basiques sont généralement des *chlorhydrates* de bases organiques colorées (ion colorant positif). Ex. : *Chrysoïdine*.

Les colorants acides sont, pour la plupart, des sels de Na ou de K de corps organiques sulfonés (ion colorant négatif). Ex. : *Rouge Congo*.

Les colorants dits « neutres » possèdent deux groupements colorés, l'un acide et l'autre basique. Ex. : *Picrate de bleu de méthylène*.

Certains *colorants* sont dits « indifférents » ; ils ont, au lieu d'un groupement acide ou basique, un groupement indifférent, comme : —OCH₃, —OC₂H₅, etc. Ex. : *Ecarlate R*.

Il est intéressant de constater que les colorants, s'ils nous permettent de différencier les éléments d'une coupe, peuvent

¹ Sont considérés comme tels les tissus formés de cellules où le protoplasme a disparu.

aussi nous faire pressentir des analogies et des différences chimiques entre les composants de la membrane végétale. A noter que les colorants ne permettent pas l'identification absolue des constituants chimiques, mais ouvrent des voies à la microchimie et à ses réactifs spécifiques.

Bibliographie générale :

A. FREY-WYSSLING, Mikroskopische Technik der Micellaruntersuchung von Zellmembran, *Zeitschrift f. wiss. Mikrosk.*, 1930, B. 47.

Id., Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate, Berlin, 1938.

GUILLERMOND, MANGENOT, PLANTEFOL, Traité de cytologie végétale, 1933.

G. KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse III^{er} Band/I, II, Wien, 1932.

E. KÜSTER, Ergebnisse und Aufgaben der Zellmorphologie, Dresden und Leipzig, 1942.

L. MANGIN, Observations sur la membrane cellulosique, 1891.

Id., Observations sur la présence de callose chez les Phanérogames.

Id., Observations sur la constitution de la membrane.

Id., Nouvelles observations sur la membrane. Extr. *Bull. Soc. Bot. France*, 1892-93.

Id., Sur la présence des composés pectiques chez les végétaux, *C. R. Acad. Sc.*, oct. 1893.

L. PELET-JOLIVET, Sur la dissociation des combinaisons de colorants acides aux colorants basiques par les substances adsorbantes. *C. R. Acad. Sc.*, 1907.

WASIKY, Leitfaden für die pharmakognostischen Untersuchungen in Unterricht und Praxis, Leipzig u. Wien, 1936.

J. VON WIESNER, Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, Leipzig, 1928.

C. VAN WISSELINGH, Die Zellmembran, *loc. cit.*

Constituants :

1. *Cellulose.*

Les *cellules jeunes* ont toujours leurs *membranes en cellulose*, plus ou moins *associée à des composés pectiques*.

Dans la suite, ces membranes peuvent s'imprégner de *lignine*, de *cutine*, de *subérine*, ou *se gélifier et disparaître*.

Chimie. — La cellulose est une substance ternaire très polymérisée $(C_6H_{10}O_5)_n$. On peut probablement parler des celluloses, formant un groupe caractérisé par un ensemble de propriétés bien déterminées.

Suivant la conception actuelle, la cellulose est formée de groupes glucose reliés par des liaisons holosides 1-4 (comme

les deux groupes formant le cellobiose) (cf. CHAMPETIER, *loc. cit.*).

Les celluloses ont un faible pouvoir réducteur, dû peut-être à un groupe aldéhydrique libre au bout de la chaîne (?)

Le poids moléculaire est encore indéterminé.

La cellulose est une substance blanche, amorphe, insoluble dans l'eau, l'alcool, l'éther, les alcalis dilués. Par l'action de la soude caustique, on obtient un produit de transformation, la cellulose mercerisée. Les acides concentrés, à chaud, la transforment en cellobiose, puis en deux molécules de glucose. Le dissolvant habituel de la cellulose est la Liqueur de Schweizer (solution ammoniacale de sulfate de cuivre). Il en existe plusieurs autres, tous employés dans l'industrie de la soie artificielle.

La cellulose présente de très nombreuses réactions d'addition, par exemple avec l'eau, les alcalis, les acides, les sulfocyanates alcalins, etc.

«Die meist verschiedenen chemischen Körper greifen bei der gewöhnlichen Temperatur, oder beim Erhitzen die Cellulose an. Die Modifikationen und Zersetzungen, welche die Cellulose dabei erleidet, sind sehr verschiedener Art, was mit der chemischen Natur der Körper, der Konzentration ihrer Lösungen und der Temperatur zusammenhängt. Die zahlreichen Abkömmlinge, die man von der Cellulose erhalten hat, sind in der Literatur mit verschiedenen Namen angedeutet. Man nennt sie: Hydratcellulosen, Hydrocellulosen, Oxycellulosen, Acidcellulosen, Celluloseester, usw.» (C. VAN WISSELINGH, *loc. cit.*, p. 2).

La cellulose est donc, d'après sa formule, une substance neutre. Mais elle se transforme facilement au contact de l'eau, des acides et des bases, selon la concentration et la température. C'est dire qu'après le traitement à NaClO , à froid ou à chaud, puis à l'acide acétique, la cellulose des membranes cellulaires a probablement subi déjà de multiples transformations moléculaires, bien que son apparence n'ait pas changé.

On constate, après le traitement préalable des coupes, que *la cellulose manifeste spécialement son affinité pour les colorants azoïques de la classe du rouge Congo, colorants légèrement acides*, utilisés en solution neutre ou alcaline.

En nous référant à la loi générale énoncée précédemment, on pourrait conclure que *le traitement a conféré à la cellulose une légère basicité (?)* (acidophilie). Cette question n'est pas encore résolue.

Une autre hypothèse est que *la cellulose se colorerait par adsorption*.

En effet, ceux qui ont étudié la structure de la cellulose

ont déterminé une structure cristalline qui, dans certaines conditions, et sous l'action de certains réactifs, paraît devenir une structure micellaire. CHAMPETIER nous dit à ce sujet : « Rien ne s'oppose d'ailleurs à ce qu'une même chaîne cellulosique ressortisse à la fois à une région cristalline et à une région amorphe (*loc. cit.*, p. 622).

Plus récemment, FREY-WYSSLING a fait une étude spectrale des gels sous l'action des rayons X (p. 98 et suiv). Cette étude révèle un arrangement des atomes d'une grande régularité, une structure se rapprochant des substances cristallines.

Ainsi, de nombreuses interprétations de la structure de la membrane cellulosique ont été données depuis PAYEN en 1834 jusqu'à nos jours. Les auteurs paraissent s'accorder actuellement sur la structure colloïdale de la cellulose; et l'état actuel de nos connaissances est résumé dans une publication toute récente (E. KÜSTER, *loc. cit.*, p. 86) :

«Die Hauptvalenzketten treten zu Mizellen zusammen, die röntgenometrisch als Gebiete ungestörter Gitterbereiche zu definieren sind. Die Zelluloseketten sind länger als Gitterbereiche und die Mizelle daher keine individualisierten Kristallite, sondern miteinander zu einem von intermizellaren Räumen durchsetzten Mischkörper verbunden; seitlich haften sie durch Kohäsionskräfte zusammen « wie die Fasern eines gesponnenen Fadens »; dieses zusammenhängende Mizellgerüst gibt den Wänden ihre « mizellare Textur »...

Das Mizellargerüst der Membranen ist nicht kompakt und gleichmässig dicht sondern wird von Spalten aller Art, « Lockerstellen », verschiedenster Grössenordnung durchsetzt. An solchen liegt die Zellulose minder dicht, allerhand Inkrusten sind zwischen die Mizelle gelagert. Farbstoffe aller Art und andere Fremdstoffe finden den Weg in die Membran, indem sie die Lockerstellen einnehmen » (E. KÜSTER, *loc. cit.*, p. 86).

Cet édifice colloïdal et lacunaire de la cellulose rend assez plausible l'hypothèse de l'adsorption des colorants par la membrane.

Coloration :

Les colorants cellulosiques sont indiqués comme colorant A dans les tableaux 2 et 3. (On trouvera au chapitre VIII quelques notes à propos de ces colorants.)

Il est intéressant de constater que l'état de la membrane ne paraît pas indifférent à la coloration: les tissus cellulosiques frais, non fixés, se colorent mal ou pas du tout. Les tissus fixés à l'eau bouillante, à l'alcool ou au mélange glycérolé se colorent généralement bien, moins nettement cependant que les tissus secs qui ont été ramollis. (Voir note chap. VIII.)

Pour distinguer la membrane cellulosique des constituants secondaires, voir aux § suivants.

La distinction *cellulose/callose* est très bien mise en évidence, sur des coupes de *Vitis* par exemple (sarments pris en février) par la coloration double suivante: (LANGERON, *loc. cit.*, p. 1155).

(Le mélange de deux solutions, l'une de *bleu d'aniline*, l'autre d'*orseilline BB*, acidifié par 3 % d'acide acétique.)

Les vaisseaux libériens (cellulosiques) sont roses, et on voit une série de cribles, bouchés par la callose, ressortir en bleu vif; examiner de préférence les coupes à la glycérine, le montage à la glycérine gélatinée enlevant la netteté du contraste.

Bibliographie :

CHAMPETIER, *Bull. Soc. Chim. de France*, 1934, p. 613.

P. CRISTOL, Précis de chimie biologique médicale, Paris, 1935.

A. FREY-WYSSLING, *Sübmikroskopische Morphologie*, p. 99 et 212.

C. VAN WISSELINGH, *Die Zellmembran*, p. 1-44.

2. Composés pectiques.

Les composés pectiques se trouvent essentiellement dans les tissus jeunes, associés à la cellulose (collenchymes, lamelles moyennes, pulpes des fruits mûrs)¹.

Chimie. — Ces composés forment un groupe plus ou moins vaste suivant les auteurs. Leur constitution chimique est certainement voisine de celle des hémicelluloses, de la callose, des gommés et des mucilages (cf. VAN WISSELINGH, *loc. cit.*, p. 65 et 67).

Les composés pectiques proprement dits sont des corps ternaires (C, H, O) à fonction acide.

On a distingué : la *pectose*, substance voisine de la cellulose, mais insoluble dans la Liqueur de Schweizer. Elle gonfle peu au contact de l'eau. Sous l'action des acides, elle se transforme en *pectine*, substance voisine des mucilages, gonflant fortement sous l'action de l'eau. La pectine est soluble dans le suc cellulaire des fruits mûrs. Sous l'action de différents réactifs, elle se transforme en *acide pectique*, acide faible contenant beaucoup d'alcool méthylique, acide qui se combinerait, selon certains auteurs, avec du calcium (pectate de Ca) pour former les lamelles moyennes des cloisons cellulaires (ciment intercellulaire). D'autres auteurs voient dans cet acide un produit de transformation de la pectine, produit qui n'existerait pas dans la nature. Par hydrolyse, les

¹ Le phénomène appelé « différenciation nacréée » (cit. CHAUVEAUD, *Ann. Sc. nat.* XIII) est probablement dû à la présence de ces composés en forte proportion dans les tissus jeunes.

composés pectiques fournissent de l'arabinose, du xylose, du galactose, de l'acide galacturonique, etc.

Coloration : Les composés pectiques sont donc acides. D'après la loi générale, ils manifestent une forte affinité pour les colorants basiques, en solution neutre ou légèrement acide.

L'association des composés pectiques et de la cellulose en membranes pecto-cellulosiques provoque la difficulté de savoir, à priori, quels colorants (acides ou basiques) agiront sur ces membranes.

Les auteurs ne se sont d'ailleurs pas encore mis d'accord sur la constitution chimique des lamelles moyennes des membranes cellulaires : certains parlent de pectate de calcium, d'autres de pectose. « Nach MANGIN kann man die Eigenschaften der Pektose nicht genau feststellen, denn man kann sie nicht von der Cellulose trennen, ohne sie zu modifizieren » (C. VAN WISSELINGH, *loc. cit.*, p. 71).

Les substances pectiques se modifient en outre facilement, avec passage des unes aux autres, sous l'action de différents réactifs. Rien ne prouve que les composés pectiques ne soient pas modifiés par l'action successive de NaClO et de l'acide acétique.

Dans les tissus cellulosiques, avec les colorations doubles usuelles, les lamelles se différencient à peine en plus foncé des couches de cellulose voisines.

Dans les tissus lignifiés, les lamelles moyennes ne se distinguent pas ou à peine en plus nacré, des membranes lignifiées voisines, ce qui paraît normal, puisque les composés pectiques, comme la lignine, présentent des affinités pour les colorants basiques.

Il semble donc qu'en coloration double, les lamelles pectiques de la plupart des cellules se colorent selon leur voisinage : comme la lignine dans le bois et les fibres, comme la cellulose dans les parenchymes et autres tissus cellulosiques.

C'est un phénomène curieux si l'on pense que la cellulose a une affinité chimique pour les colorants acides, tandis que les composés pectiques isolés se colorent, comme le veut leur caractère acide, par les colorants basiques.

En 1893, MANGIN disait « Les réactifs qui se combinent aux composés pectiques ne manifestent leur élection que dans certaines conditions ». Il faut signaler que, de toute façon, l'affinité des composés pectiques pour les colorants basiques est faible, et facilement modifiée par des traces d'acide ou de base.

Nous avons voulu nous rendre compte comment les colorants agissaient sur les *lamelles pectiques débarrassées de la cellulose*. Nous avons, dans ce but, traité des coupes de moelle de sureau, des racines de primevère (*Primula elatior*) et des tiges de *Zea Mays* par la Liqueur de Schweizer, à froid, puis en chauffant légèrement. Nous avons vérifié l'absence de cellulose par l'acide sulfurique iodé, qui ne donnait plus aucune coloration bleue.

Le *bleu d'aniline*, colorant basique, colorait comme prévu les lamelles moyennes, qui restaient les seuls éléments des parenchymes, en bleu vif. Le *carmin*, colorant de la cellulose, devait, semblait-il, rester sans action; l'expérience a montré, au contraire, une coloration rose des membranes. Le *vert d'iode*, colorant basique, colorait en vert toutes les membranes. Sur la coupe colorée au *carmin*, le *vert d'iode* chassait ce dernier, du moins partiellement, donnant aux membranes pectiques une couleur vert un peu violacé. — Le *rouge Congo*, colorant nettement acide, colorait toutes les lamelles en rouge; il était en grande partie chassé de celles-ci par le *bleu de méthylène*, colorant basique. — De même la *benzoazurine* (acide) colorait la coupe en rose violet, coloration qui, sous l'effet du *vert de méthyle* (basique) devenait bleu vert. — Nous avons alors employé le *réactif genevois* (coloration double simultanée) dans l'espoir d'obtenir une bonne coloration jaune, la *chrysoïdine* étant le colorant basique qui devait dominer, et chasser le *rouge Congo* (acide). Nos prévisions ne se vérifièrent pas, et la coupe prit une couleur rouge orangé.

De nos expériences sur les lamelles pectiques débarrassées de la cellulose par la Liqueur de Schweizer, nous pouvons tirer les faits suivants: les colorants, quelle que soit leur nature, paraissent prendre indifféremment sur les lamelles moyennes. Notons cependant que si les colorants basiques chassent les colorants acides, la réciproque n'est pas certaine.

Plusieurs hypothèses se présentent pour expliquer la faible affinité des composés pectiques pour tous les colorants, avec affinité plus marquée pour les colorants basiques: quelques auteurs supposent que les lamelles moyennes sont formées de pectate de calcium; s'il en est ainsi, l'acide pectique étant un acide faible serait déplacé par l'acide acétique lors du traitement préalable, et mis ainsi en liberté, augmenterait l'affinité du tissu pour le colorant basique; cela expliquerait la coloration au *vert d'iode*, mais pas celle au *carmin*, ou au *rouge Congo*. On peut d'ailleurs soutenir le raisonnement inverse; la base serait mise en liberté par le traitement à l'hypochlorite de Na, et cette base calcique libre augmenterait l'affinité des membranes pour les colorants acides, le *rouge Congo* par exemple. La coexistence de ces deux phénomènes est d'ailleurs concevable.

Les lamelles moyennes, neutres ou à peu près, seraient ainsi transformées par le traitement préalable, cela suivant sa durée,

ce qui déterminerait leur affinité pour certains colorants, de préférence à d'autres.

Peut-être s'agit-il plutôt d'un phénomène d'adsorption des composés pectiques, adsorption qui serait positive ou négative selon le milieu environnant. S'il s'agit de lignine, ce milieu a un caractère acide; s'il s'agit de cellulose, il acquiert probablement une certaine alcalinité par le traitement préalable¹. Il est difficile de dire si le milieu influencerait la coloration des lamelles pectiques par son pH, ou si, dans les tissus lignifiés, il s'agirait d'une véritable lignification des lamelles moyennes. Il est certain qu'*en coloration double*, nous avons pu noter dans nos expériences, un certain retard dans la coloration des lamelles par les colorants basiques, c'est-à-dire que dans des tissus incomplètement lignifiés (fibres par exemple) la lamelle moyenne prenait encore le colorant cellulosique; si la lignification se fait dans la membrane de l'intérieur vers l'extérieur, ce retard s'expliquerait par le fait que le pH de la lignine en formation² n'aurait pas encore atteint le bord extérieur de la membrane, donc la lamelle pectique. *L'adsorption selon le milieu est la seule hypothèse qui expliquerait les colorations différentes des lamelles moyennes des tissus lignifiés et des tissus cellulosiques* (coloration rose des lamelles et des membranes cellulosiques au *carmin*, coloration verte des lamelles et des membranes lignifiées au *vert d'iode*). Cette coloration variable des composés pectiques suivant le voisinage est difficilement explicable autrement. Puisque, sur les composés pectiques isolés, les colorants basiques chassent les colorants acides, il devrait en être de même dans toutes les colorations doubles. Cela voudrait dire que, en coloration combinée, *toutes* les lamelles moyennes d'une coupe devraient être colorées en vert au *vert d'iode*, en bleu violet au *violet cristal*, ce qui n'est pas le cas.

On peut supposer aussi que les composés pectiques posséderaient un caractère amphotère qui leur permettrait de réagir soit avec les acides, soit avec les bases; mais cette hypothèse n'expliquerait pas non plus la coloration variable des lamelles pectiques selon leur voisinage cellulosique ou lignifié.

Il pourrait aussi être question d'une fixation d'ions au niveau de la lamelle moyenne, fixation d'ions différents selon les tissus, fixés lors du traitement préalable de ces derniers, et déterminant leur coloration.

Que faut-il donc conclure à propos de la coloration des composés pectiques? (Cf. R. MIRANDE, *C. R. Acad. Sc.*, CLXX, 1920, p. 199.)

Afin de vérifier l'importance des composés pectiques dans les colorations usuelles, nous avons essayé d'éliminer complètement ces

¹ C'est un fait connu et utilisé en teinturerie que le milieu, bain acide, alcalin ou neutre, peut favoriser ou empêcher la coloration d'une fibre colloïdale par les colorants colloïdaux.

² Ou la lignification elle-même.

derniers par l'action successive des acides et des bases, préconisée par R. MIRANDE. Nous avons toujours, malgré l'élimination des composés pectiques ainsi réalisée, pu colorer les membranes cellulaires restantes par les colorants dits cellulosiques: *carmin*, *rouge Congo*, *benzoazurine*, *hémalun*. De même toutes les membranes lignifiées débarrassées des composés pectiques ont pu être colorées par le *vert d'iode* et les autres colorants basiques.

La macération¹ des trachéides de *Pinus* (bois) et des tiges de *Zea Mays* sépare les cellules les unes des autres par dissolution du ciment intercellulaire (lamelles pectiques). Il semble que, par ce traitement énergique, tous les composés pectiques doivent avoir été éliminés. Les membranes cellulaires se colorent cependant au *carmin*, *rouge Congo*, etc. *La thèse soutenant que la présence des composés pectiques permet seule d'expliquer la double coloration carmin/vert d'iode paraît bien absolue*, et semble négliger des facteurs importants, tels que l'affinité chimique d'un colorant basique pour un tissu acide, et réciproquement, et les modifications, d'ordre colloïdal probablement, que les tissus subissent lors d'un traitement par les acides, les bases, et tous autres réactifs.

Nous en sommes encore à des hypothèses cherchant à expliquer les faits observés. Il existe certainement, dans la membrane, des complexes pecto-cellulosiques et pecto-ligneux, qui ont probablement acquis des propriétés différentes de celles de leurs constituants simples. D'autre part le traitement préalable des membranes cellulaires par divers réactifs peut avoir encore modifié la constitution des complexes eux-mêmes.

Il ne s'agit donc pas d'un problème simple, et, si les chimistes ont étudié les constituants de la membrane (cellulose, composés pectiques, lignine, etc.), ils se sont placés dans des conditions autres que le biologiste. L'étude des constituants isolés, de leurs produits de transformation et de désintégration est singulièrement éloignée de la complexité des membranes vivantes.

Une méthode spéciale de coloration permet de prouver l'imprégnation généralisée des *composés pectiques* par la *cellulose* (LANGERON, *loc. cit.*, p. 1158): colorer par une solution de *benzoazurine* aq. — fixer par CuSO_4 1 %, laver à l'eau dist., colorer au *rouge de ruthénium*, monter à la glycérine gélatinée ou, de préférence, examiner frais.

La distinction des *composés pectiques* d'avec la *lignine*, la *subérine* et la *cutine* est obtenue soit par une coloration simple de *safranine*, qui colore en jaune orangé les composés pectiques, en rouge cerise la lignine, la subérine et la cutine, soit par une colo-

¹ HNO_3 conc : 30 cc, KClO_3 : 1 gr. Chauffer avec tissus végétaux 3 à 5 min.

ration double de *bleu naphtylène R* en cristaux et de *vert acide de Poirrier*, méthode qui colorera en violet les composés pectiques, et en vert la lignine, la subérine et la cutine. Ces méthodes ont donné les résultats les plus nets sur des coupes de tiges présentant des collenchymes (*Nicandra, Salvia, Cucurbita*), coupes non déshydratées, examinées directement à la glycérine.

Bibliographie :

A. DAUPHINÉ, Sur le mode de formation de la membrane pecto-cellulosique, *C. R. Acad. Sc.*, 199, 1934, p. 307.

Id., Origine et évolution de la lamelle moyenne dans les membranes pecto-cellulosiques. *Rev. Gén. Bot.*, 51, 1939, p. 321.

R. MIRANDE, art. *C. R. Acad. Sc.*, 1920, p. 197.

L. MANGIN, Sur la présence des composés pectiques chez les végétaux, *C. R. Acad. Sc.*, oct. 1893, et *Journal de Bot.*, 1893, VII.

C. VAN WISSELINGH, Die Zellmembran, p. 44-89.

3. Lignine.

Toutes les membranes cellulaires sont d'abord pectiques, puis pecto-cellulosiques; ensuite le cytoplasme (?) paraît élaborer la lignine, qui imprègne la cellulose, avec laquelle elle semble se combiner.

En se basant sur les travaux récents, on peut se demander s'il s'agit vraiment d'une incrustation de la membrane pecto-cellulosique par la lignine; d'une combinaison (ether-sel?) de la cellulose ou des composés pectiques avec la lignine; ou d'une adsorption de la lignine par la cellulose, voire même une transformation de la cellulose en lignine (ce qui s'expliquerait difficilement au point de vue chimique).

La lignine serait une matière brune, cassante, incrustant les parois des éléments cellulaires de soutien, constituant ce que l'on appelle généralement le bois.

Chimie. — La constitution chimique de la lignine n'est pas encore définie avec certitude. Il s'agit très probablement d'une substance ternaire (C, H, O) dérivée du phénylpropane.

« Als die Träger der Farbenreaktionen des Holzes mit aromatischen Aminen und Phenolen, haben meistens aromatische Körper gegolten, besonders Vanillin, Coniferin und Hadromal » (C. v. WISSELINGH, *loc. cit.*, p. 107). « Für die Kenntniss der Verholzung ist die Anwesenheit der methoxyl Gruppen ins Holz von grosser Bedeutung » (*ibid.* p. 112).

La lignine, par hydrolyse, donne du glucose et des pentoses (xylose, etc.).

D'après les recherches actuelles (Cf. R. JOULIA, M. FONTAINE, *loc. cit.*, 1938), peut-être faut-il plutôt parler des *lignines*, qui formeraient non pas une seule substance, mais

un groupe de composés voisins par leur constitution chimique, ayant un pH entre 3 et 5.

« L'un des faits les mieux établis touchant le processus de lignification est la complexité de la substance lignifiante¹ ».

Dans un article, MAX FONTAINE (Cf. *Rev. Gén. Bot.*, 1938, 50, p. 645) note que: « L'hypochlorite de soude déterminerait donc une simplification progressive du complexe lignifiant: chez les plantes que nous avons étudiées, les constituants D et E disparaissent au bout de peu de temps; puis, après 42 heures, le constituant C est éliminé, en même temps que le constituant B subit des modifications qui lui enlèvent certaines de ses réactions. Le constituant A subsiste². »

Sous l'action de l'acide nitrique ou de la potasse caustique concentrés, la lignine paraît se dissoudre complètement, laissant un squelette cassant, déchiré par endroits, qui donne, semble-t-il, les réactions de la cellulose. Nous avons essayé de traiter des tiges de *Vitis vinifera* et de *Cucurbita Pepo* par l'acide nitrique, 24 heures à froid, puis 1/4 d'heure à chaud. Le tissu a été rendu très cassant par ce traitement. Le squelette restant, traité par de l'acide sulfurique, puis par KI iodé, donne très nettement la coloration bleue de la cellulose dans les tissus antérieurement lignifiés. Le *carmin* colore ces mêmes tissus en rose, la *benzoazurine* en bleu, le *rouge Congo* en rouge. La *phloroglucine chlorhydrique*, qui colorait le bois en rouge, ne donne plus aucune réaction, tandis que le *vert d'iode* ne colore plus que le liège interne du *Vitis*.

La macération prolongée à chaud³ enlève non seulement les lamelles pectiques, mais aussi la lignine, laissant intactes les parois cellulosiques. Nous avons fait nos essais avec des tiges de *Cucurbita* et du bois de *Pinus*. Les vaisseaux de *Cucurbita* laissaient voir, sur la coupe longitudinale, leurs anneaux et leurs spirales comme des épaissements cellulosiques, se colorant par les réactifs iodés en bleu, et en rose par le *carmin*. — Les trachéides aréolées du *Pinus*, montraient après macération les mêmes réactions.

Ces résultats parleraient en faveur d'une simple imprégnation de la cellulose par la lignine, sans aucune transformation chimique. Un ouvrage tout récent explique ainsi cette imprégnation:

¹ Cf. art. R. JOULIA, p. 262 et 274.

² C'est là un fait intéressant, qui nous prouve que, comme nous l'avions prévu, l'hypochlorite ne débarrasse pas seulement les cellules de leur contenu, mais agit aussi sur les membranes cellulaires et peut leur faire subir des transformations assez profondes. Le mécanisme des transformations et colorations de la lignine est expliqué par G. KLEIN (cf. biblio. gén.).

³ Voir macération plus haut.

« Der Bau « inkrustierter » Zellwände findet im Rahmen der von FREY-WYSSLING gegebenen Auffassung ihre Erklärung durch die Annahme, dass Lignin, Pektinstoff oder Kieselsäure die zwischen den Zellulosesträngen liegenden Räume füllen und daher, ebenso wie die Zelluloseanteile der Membran ein zusammenhängendes Ganzes bilden: zerstört man die Zellulose, so bleiben die Inkrusten als kohärentes Skelett erhalten » (E. KÜSTER, *loc. cit.*, p. 93).

Coloration. — *Les membranes lignifiées se colorent généralement par les colorants basiques. Le vert Lumière, avec différenciation à l'eau, fait exception. (Voir plus bas.)*

La présence de lignine, habituelle chez les Phanérogames et les Cryptogames vasculaires, n'a pas été définitivement prouvée chez les Cryptogames cellulaires. Nous avons essayé de déceler la présence de lignine chez les mousses. Cette recherche fera le sujet du chapitre XI de ce travail.

Les colorations doubles permettent d'observer tous les *passages de la membrane cellulosique à la membrane lignifiée, spécialement dans les bois jeunes, et dans certains tissus de soutien comme les fibres (par exemple jeunes tiges de Ranunculus acer, et jeunes aiguilles de Pinus sylvestris* ¹).

Bibliographie:

- M. FONTAINE, Recherches histochimiques sur le complexe lignifiant, *Rev. Gén. Bot.*, 50, 1938, p. 636.
 FREUDENBERG, art. *Angewandte Chemie*, 1939, p. 362.
 R. JOULIA, Recherches histochimiques sur la composition et la formation du complexe lignifiant, *Rev. Gén. Bot.*, 50, 1938, p. 261.
 L. KRALL, Les colorants en microscopie, 1921, p. 48.
 C. VAN WISSELINGH, Die Zellmembran, p. 90-132.

4. *Subérine et cutine.*

« Früher meinte man dass Kutin und Suberin identisch wären... » (C. VAN WISSELINGH, *loc. cit.*, p. 135).

On distinguait ces deux substances par leur localisation dans les tissus. Actuellement on sait que, tout en étant très voisines, elles présentent cependant des différences de constitution.

Subérine.

Cette substance constitue les parois cellulaires du liège ou *suber*. Elle joue avant tout un rôle protecteur.

On ignore encore si la cellulose est masquée, ou si elle a complètement disparu des membranes subérifiées.

¹ Il semble même, dans certains cas, qu'il est possible d'observer la marche de la lignification dans la membrane, marche allant de l'intérieur de la cellule vers l'extérieur, ce qui confirmerait l'origine cytoplasmique de la lignine.

Nous avons essayé d'éliminer la subérine, soit par les solvants des matières grasses, soit en la saponifiant par la potasse concentrée. Malgré de nombreux essais, nous ne sommes jamais parvenue à l'éliminer complètement des membranes.

Chimie. — La subérine est une *substance ternaire* (C, H, O) de nature *lipoïdique*.

Son origine n'est pas connue. On peut l'isoler par extraction fractionnée, séparant ainsi les divers constituants (extrait au chloroforme, à l'alcool, à la potasse alcoolique, à l'eau, etc.). — Elle est saponifiée par les lessives de soude ou de potasse concentrées. (Solubilisation totale.)

Son pH varie entre 3 et 4.

Elle est formée d'acides gras à poids moléculaire élevé (par exemple acides phellonique, stéarique, etc.), de glycérides, de cérine (= cire) et de tanins.

Peut-être existe-t-il plusieurs subérines, suivant les proportions de ces composés.

Selon la loi générale, *la subérine* (acide) *se colore par les colorants basiques*, mais *plus spécifiquement par les colorants des matières grasses*. (Alkanna, Soudan III, Ecarlate R.)

Cutine.

La cutine recouvre les cellules épidermiques des tiges, des feuilles et des fruits des plantes supérieures, exposés à l'air, ce qui augmente leur résistance et les rend imperméables.

La formation de cutine atteint son maximum dans les feuilles persistantes comme celles du houx ou du lierre; c'est *la cuticule*.

Chimie. — La cutine est une *substance ternaire, de nature lipoïdique*, à pH variant entre 3 et 5. Sa constitution probable est $(C_6 H_{10} O)_n$.

Certains auteurs supposent que c'est un produit de transformation de la cellulose; d'autres que cette substance, élaborée par le cytoplasme, masquerait la cellulose. « ... Die submikroskopische Struktur der kutinisierten Zellmembranen » nous donne les renseignements suivants: « Die Kutikularschicht aller 4 untersuchten Objekte besteht aus 2 Teilen, einem innern Zellulose- und Pektinhaltigen, und einem äussern Zellulose freien... Beide Schichten enthalten Kutin und Wachs. » (M. MEYER, *loc. cit.*, p. 584.)

On extrait la cutine par les lessives alcalines, dans lesquelles elle est plus difficilement soluble que la subérine,

quelquefois seulement partiellement saponifiée par ce traitement.

Du point de vue chimique, sa constitution est un peu différente de celle de la subérine: l'acide phellonique manque, mais on y trouve davantage de cérine. Le reste est identique.

Coloration. — Comme la subérine, la cutine se colore par les colorants basiques, et par les colorants des matières grasses.

C'est ici l'occasion de noter que la cutine et la subérine, voisines par leur constitution chimique, mais cependant pas identiques, présentent avec les colorants spécifiques *Alkanna*, *Ecarlate R* et *Soudan III*, des réactions colorées pareilles.

«In Uebereinstimmung hiermit ist die Ansicht von ZIMMERMANN, der besonders das Verhalten der Korklamelle und der Kutikula Farbstoffen gegenüber studierte. Er sagt dass, zwischen beiden zurzeit überhaupt kein durchgreifender Unterschied nachweisbar ist» (C. v. WISSELINGH, *loc. cit.*, p. 153).

Mais si nous considérons les réactions des colorants basiques usuels (par exemple *vert d'iode* ou *violet cristal*) sur le liège et sur la cuticule, nous pouvons cependant constater certaines différences d'intensité, la cuticule prenant moins bien le colorant que le suber¹.

L'endoderme, dans les colorations doubles, prend toujours une couleur plus ou moins voisine de celle du liège. Faut-il en conclure qu'il est subérifié? C. VAN WISSELINGH répond ainsi à cette question:

«Der Casparysche Flecken wird durch eine lokale Verholzung und Verkorkung und Wellung der Wand verursacht. Die Verholzung und Verkorkung beschränken sich auf einen Streifen der radialen Längswände und Querwände. In späteren Entwicklungszuständen ist bei vielen Pflanzen die ganze Wand an der Innenseite mit einer dünnen Korklamelle bedeckt... » (C. VAN WISSELINGH, *loc. cit.*, p. 155).

En effet, l'emploi du *vert d'iode*, par exemple, permet de confirmer cette hypothèse, en donnant à l'endoderme une coloration très voisine de celle du liège (racine de *Smilax*.)

Puisque nous venons de parler des colorants des matières grasses à propos de la subérine et de la cutine, notons en passant que certains tissus imprégnés de lipoïdes se colorent facilement par l'*Alkanna*, l'*Ecarlate R* et le *Soudan III*; mais doivent subir un traitement préalable à l'éther ou à l'alcool chaud pour pouvoir être colorés par les colorants usuels. (Voir cas particulier, chap. V.) Nous reparlerons de ce traitement dans les chapitres spéciaux, à propos du pollen et des mousses.

¹ Cela tient probablement à la plus forte teneur en graisse de la cutine.

Bibliographie:

F. FRITZ, Untersuchungen über die Kutinisierung der Zellmembranen... *Planta* 26, 1937, p. 693.

MAD. MEYER, Die submikroskopische Struktur der kutinisierten Zellmembranen, Leipzig, 1938.

C. VAN WISSELINGH, Die Zellmembran, p. 133-164.

CHAPITRE VIII : **Les colorants.**

(Discussion des tableaux I, II et III.)

a) *Colorants des tissus celluloseux:*

Les colorants usuels présentent des différences sensibles dans leur action, et suivant le genre de tissus celluloseux (parenchymes, collenchymes, etc.).

Les colorations par précipitation, comme celles au *bleu de Prusse* et au *chromate de plomb*, sont obtenues par l'action successive de deux réactifs.

Pour le *bleu de Prusse*, le premier bain (chlorure ferrique aq. 2⁰/₀₀) est suivi d'un rapide lavage à l'eau distillée, puis du bain de ferrocyanure de K 5⁰/₀₀.

Pour le *chromate de plomb*, on lave rapidement entre les deux bains (sol. aq. sat.) de bichromate de K et d'acétate de plomb. Dans les deux cas, un lavage soigné à l'eau courante s'impose après coloration. Malgré ces précautions, les colorants par précipitation ont une fâcheuse tendance à empâter les tissus, ils exagèrent l'épaisseur des membranes, masquent les détails et provoquent même parfois des précipités dans les cellules¹.

La *benzoazurine* et le *bleu coton* (en sol. aq. sat.) donnent une coloration un peu pâle, rendant difficile le dessin de certains contours cellulaires, par exemple les collenchymes des tiges de *Salvia* et de *Nicandra*. Ces colorants prennent très bien sur le matériel d'herbier (voir note en fin de chapitre).

Le *brun Bismarck* (en sol. 5⁰/₀₀ aq. ou alc. 30°) est un bon colorant dans la plupart des cas. Il est spécialement recommandable pour les colorations d'épidermes. Bien que ce soit un colorant basique, il colore tous les tissus; les tissus lignifiés prennent une teinte brune assez légère, tandis que les tissus celluloseux deviennent brun orangé.

La *deltapurpurine* et le *rouge Congo* offrent des résultats très variables suivant leur formule de préparation. Comme pour la *benzoazurine*, la solution ammoniacale paraît être la solution classique²; elle donne une coloration rapide, mais peu durable. La solution

¹ Plus les colorants et mordants sont dilués, plus les colorations obtenues sont précises.

² 1 gr. colorant dans 20 cc d'ammoniaque, ajouter 180 cc d'eau dist.