

Contribution à l'étude des processus de lignification

Autor(en): **Kraft, Marie-Madeleine**

Objekttyp: **Article**

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

Band (Jahr): **64 (1948-1950)**

Heft 272

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-273960>

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.

Contribution à l'étude des processus de lignification

PAR

Marie-Madeleine KRAFT

(Séance du 19 mai 1948).

INTRODUCTION

Fréquemment, au cours des travaux d'histologie pratique, nous avons eu l'occasion d'observer l'apparition et l'extension de la lignification dans les tissus végétaux. La littérature nous a paru pauvre à ce sujet, ce qui nous a donné l'idée d'étudier plus à fond la question.

Nous avons examiné successivement l'apparition de la lignine dans les jeunes membranes cellulaires et la lignification des membranes des cellules issues d'un cambium. D'autre part, il nous a paru intéressant d'étudier de quelle manière se propage la lignification, soit en considérant la membrane d'une seule cellule et en suivant la lignification dans son épaisseur, soit en examinant l'ensemble d'un tissu, afin de constater la progression de cette lignification d'une cellule à une autre.

Actuellement l'étude de la structure chimique de la lignine et de ses constituants donne lieu à de nombreux travaux de laboratoire. Il en est de même de la question d'imprégnation des membranes cellulaires par la lignine. On n'a pas encore pu déterminer s'il s'agit d'une transformation chimique de la cellulose ou des composés pectiques, d'une combinaison de la lignine avec ces substances ou, ce qui paraît maintenant le plus probable, d'une simple modification de la substance intermicellaire des chaînes cellulosiques (DANGEARD) ou des composés pectiques, véritable « incrustation » de lignine, entre les micelles primitives de la membrane.

Notre intention est d'aborder le problème du point de vue histologique.

PARTIE EXPERIMENTALE

Choix d'une méthode : Les réactions chimiques de la lignine, ou de l'un de ses constituants, sont extrêmement nombreuses (VAN WISSELINGH, p. 102-105). Elles se rapportent généralement non pas à la lignine dans son ensemble, mais à l'un de ses constituants caractéristiques : lignol, coniférine, vanilline, hadromal, eugénol, etc.

Il s'agissait, pour nous, de trouver une réaction microchimique¹ rapide et sûre, prouvant la présence ou l'absence de lignine et, d'autre part, une méthode de coloration durable permettant le montage d'une collection de préparations microscopiques (matériel d'étude et de comparaison).

Nous avons essayé la *réaction de Maule* : réactifs minéraux qui agissent sur les produits d'oxydation de la lignine. On utilise comme oxydants KMnO_4 ou l'acide chromique, en solution à 1 % pendant 5 minutes. HCl sert de décolorant. Après un lavage prolongé à l'eau distillée, on ajoute sur lame une goutte de NH_4OH , et les tissus lignifiés se colorent en rouge.

Le résultat est bon, mais la technique trop longue pour des essais en série.

La *réaction de Combes* commence par un traitement d'un quart d'heure à l'eau de Javel. Après lavage à l'eau distillée, on procède à un bain prolongé (12 à 24 h.) dans une solution plombique (acétate neutre ou basique de Pb ou nitrate de Pb). On passe ensuite dans une solution d' H_2S pendant 10 à 15 minutes. Il y a formation d'un précipité noir de PbS , partiellement adhérent aux membranes cellulaires. Après des lavages répétés à l'eau, puis à l'eau distillée, une goutte de H_2SO_4 sur la coupe colore la lignine en rouge vif.

La cutine, la subérine, et même la lignine oxydée ne se colorent pas par cette méthode, qui demande plus de temps encore que la précédente.

Une autre réaction récente, celle de *Cortési et Werner*, basée sur l'analogie de structure probable entre l'eugénol et le complexe lignifiant, permet l'identification de la lignine².

La technique consiste à faire agir sur la coupe une solution de 1 g. de benzidine dans 15 cc. d'acide acétique glacial. Le

¹ Ce travail était déjà en voie de publication quand M. A. Girardet nous a signalé une méthode indiquée par M. Casparis, méthode que nous n'avons pas pu encore expérimenter suffisamment pour en parler ici.

² Cette dernière serait, comme le suppose FREUDENBERG, un haut polymère de substances telles que l'iso-eugénol.

complexe lignifiant se colore en rouge foncé. Mais ce réactif colore aussi l'huile essentielle des poches sécrétrices du clou de Girofle, contenant une forte proportion d'eugénol (THOMAS). Nous avons renoncé à cette méthode, qui par ailleurs donne de bons résultats, parce que l'imprégnation des membranes par certaines huiles essentielles, pourrait donner une réaction trompeuse, semblable à celle des tissus lignifiés.

La réaction de la lignine au *sulfate d'aniline* (+ H₂SO₄ dilué), qui donne une *coloration jaune* des membranes, est moins nette que la réaction à la *phloroglucine chlorhydrique*, que nous avons retenue, et qui *colore la lignine en pourpre*. La subérine et la cutine ne se colorent pas, sauf si elles contiennent des traces de lignine, ce qui est souvent le cas dans le liège et les lamelles moyennes. La lignine oxydée ne se colore pas non plus. Le réactif semble agir plus spécialement sur l'*hadromal* (COMBES, 1906).

La technique consiste à faire agir sur les coupes une solution de phloroglucine à 2 % dans l'alcool à 90°. Après 2 minutes, on ajoute directement sur le porte-objet une goutte d'HCl un demi (1 partie HCl conc. pour 1 partie eau dist.) et la coloration pourpre des tissus lignifiés est presque instantanée. La réaction est simple, rapide et sensible, mais pas très durable.

C'est pour cela que nous avons toujours procédé par comparaison, en utilisant *simultanément* la réaction à la phloroglucine, et les procédés de coloration courants : vert d'iode, bleu de méthylène, fuchsine ammoniacale qui, comme la plupart des colorants basiques, se fixent sur la lignine, ou plutôt sur les produits azotés accompagnant celle-ci (COMBES, 1906). *Ces colorants ne sont pas spécifiques* de la lignine, et colorent aussi subérine et cutine. Mais ils ont l'avantage de permettre une coloration durable des préparations.

Nous avons surtout utilisé le bleu de méthylène et le vert d'iode, en coloration combinée avec le carmin aluné, qui colore les membranes pecto-cellulosiques.

PREPARATION DES COLORANTS :

Bleu de méthylène : solution aqueuse à 1 %.

Durée de la coloration : 5 minutes.

Vert d'iode : 1 g. de colorant est dissous dans 20 cc. alcool à 60°.

On complète à 1000 cc. par de l'eau distillée.

Durée de la coloration : 3 à 5 minutes.

Ces colorations furent, dans chaque cas, confirmées par la réaction à la phloroglucine chlorhydrique, en soumettant

à cette dernière des coupes non traitées, n'ayant donc subi aucune délignification. Mais les cellules restent encombrées de cytoplasme et de produits du métabolisme : amidon, gouttelettes d'huile, etc., qui rendent l'interprétation de la coupe difficile.

En effet, dans la technique de coloration des coupes, il est indispensable, pour une bonne visibilité des membranes, que le contenu cellulaire ait été éliminé. Ce résultat est obtenu par l'action de l'eau de Javel ou de l'hypochlorite de Na. Cependant on sait que *ces agents peuvent provoquer une délignification progressive des tissus* (FONTAINE). Il s'agissait, dans notre étude, d'éviter cette délignification, tout en éliminant le contenu cellulaire par des agents chimiques. Dans ce but, nous avons cherché à déterminer le temps et l'intensité de cette délignification.

Sur des coupes de racine d'*Iris sogdiana*, faites à la main (30 μ environ), traitées $\frac{1}{4}$ d'h. et $\frac{1}{2}$ h. à l'eau de Javel, nous avons obtenu des réactions positives de la lignine, aussi bien à la phloroglucine-HCl qu'aux colorants choisis. Après 24 h. il en fut encore de même, mais après 48 h. la réaction de Maule et celle des colorants sont positives, tandis que la phloroglucine-HCl et la réaction de Combes sont négatives, probablement par oxydation de la lignine. Il en est de même après 3 et 5 jours. Après 8 jours, les quatre réactions envisagées sont toutes négatives. Les parties précédemment lignifiées donnent nettement les réactions de la cellulose : soit une coloration bleue à $H_2SO_4 + KI$ iodé, et une coloration rose au carmin aluné. Au delà de 10 jours, les lamelles pectiques formant le ciment intercellulaire semblent s'être dissoutes partiellement. Le cylindre central se détache de l'écorce, et les différentes cellules ont tendance à se séparer les unes des autres (JOULIA).

1. Apparition de la lignine dans les jeunes membranes cellulaires.

Il est intéressant d'étudier l'apparition et le processus de la lignification au cours de la croissance d'une jeune plante.

Nous avons choisi comme *matériel* des jeunes racines de pois (*Pisum sativum*), de l'espèce dite « Merveille de Kelvédon ». Les graines furent mises en germination sur papier filtre ou sur sciure de bois, dans des boîtes de Pétri, à la lumière et à la température ordinaires au début de mars 1948. Dans ce premier travail, nous ne tenons pas compte de l'influence éventuelle des facteurs extérieurs, tels que lumière, température, sur la lignification. Les graines de pois ont été préalablement

stérilisées à l'alcool à 90° pendant 5 minutes, pour éviter l'envahissement des cultures par des moisissures.

Les coupes ont été faites à la main, dans la zone la plus vieille de la racine, soit le plus près possible des cotylédons. Elles avaient une épaisseur moyenne de 20 à 30 μ .

La *technique* consiste à vider les coupes à l'eau de Javel, durant $\frac{1}{4}$ d'heure au maximum, pour éviter la délignification, d'autant plus à craindre dans des tissus si jeunes. On lave à l'eau, puis à l'acide acétique pour neutraliser toutes traces de Javel. On procède alors à une coloration durable : membranes pecto-cellulosiques rouges (carmin aluné) et tissus lignifiés vert-bleu (bleu de méthylène). Le montage de ces coupes au Baume du Canada, après déshydratation par les alcools, permet de conserver les préparations obtenues. On sait que la réaction colorée de la lignine par les colorants basiques n'est pas spécifique, puisque les membranes cutinisées et subérisées se colorent aussi. Nous avons donc, dans chaque cas, procédé à une réaction-témoin à la phloroglucine chlorhydrique. Dans les *racines de pois d'un jour*¹, le contenu cellulaire est difficilement éliminable en $\frac{1}{4}$ d'heure par l'eau de Javel. Des réactions micro-chimiques prouvent la présence d'amidon (iode ioduré) et de très nombreuses gouttelettes d'huile (Soudan III) dans les cellules.

La réaction à la phloroglucine-HCl est négative, montrant l'absence de lignine.

A la coloration double carmin-bleu de méthylène, le carmin seul donne une coloration de tous les tissus, qui sont encore complètement pecto-cellulosiques.

On aperçoit déjà des zones procambiales dans le cylindre central. Il y a 6 zones de procambium, correspondant aux futurs libers, et 3 séries de cellules plus grosses, cellulosiques aussi, correspondant aux vaisseaux du bois (CHAUVEAUD).

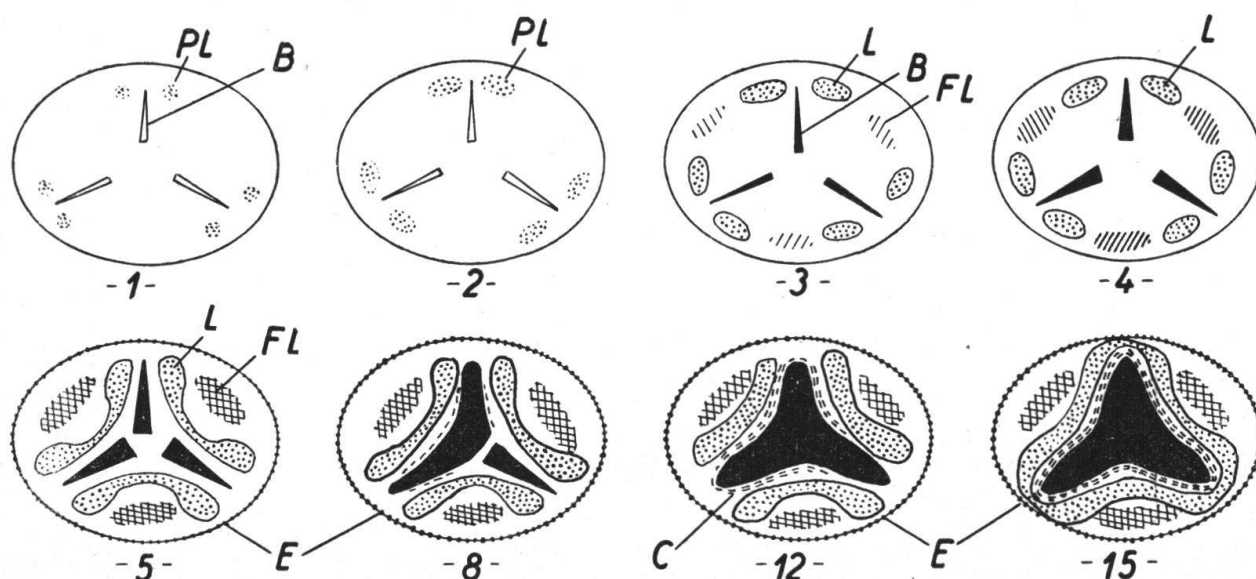
La présence de 6 îlots de procambium libérien, alors qu'on s'attendrait à 3, s'explique probablement par la proximité du collet, c'est-à-dire du passage à la structure superposée de la tige.

La *racine de pois de 2 jours* montre encore une réaction négative pour la lignification. Au carmin-bleu de méthylène, le carmin seul agit, mais les îlots de cellules en division sont plus nets. Dans les 3 faisceaux ligneux, il y a épaississement des

¹ Au printemps surtout, les graines ayant gonflé 3 à 4 h. dans l'eau commencent à germer rapidement. Après 24 h. en boîtes de Pétri, elles montrent déjà une petite racine de 5 à 6 mm. C'est ce que nous avons convenu d'appeler la racine de pois d'un jour.

membranes des vaisseaux. Ces parois sont encore cellulósiques, mais les lamelles moyennes pectiques apparaissent plus accentuées, colorées vivement en rose violacé.

Au bout de 3 jours, le bleu de méthylène colore nettement en bleu les 3 faisceaux ligneux, surtout les lamelles moyennes et plus légèrement les membranes proprement dites. Pour chaque faisceau, la lignification est apparente dans le groupe des petits vaisseaux proches de l'endoderme (protoxylème), et elle a déjà gagné 5 à 6 vaisseaux plus gros de métaxylème, qui forment une série radiale en direction du centre.



PL. I. — Evolution de la lignification dans le cylindre central d'une racine de *Pisum sativum*.

Les chiffres indiquent le nombre de jours dès le début de la germination. PL. = procambium du liber, B. = bois (en blanc : non lignifié, en noir : lignifié), FL. = fibres libériennes, L. = liber, E. = endoderme, C. = cambium.

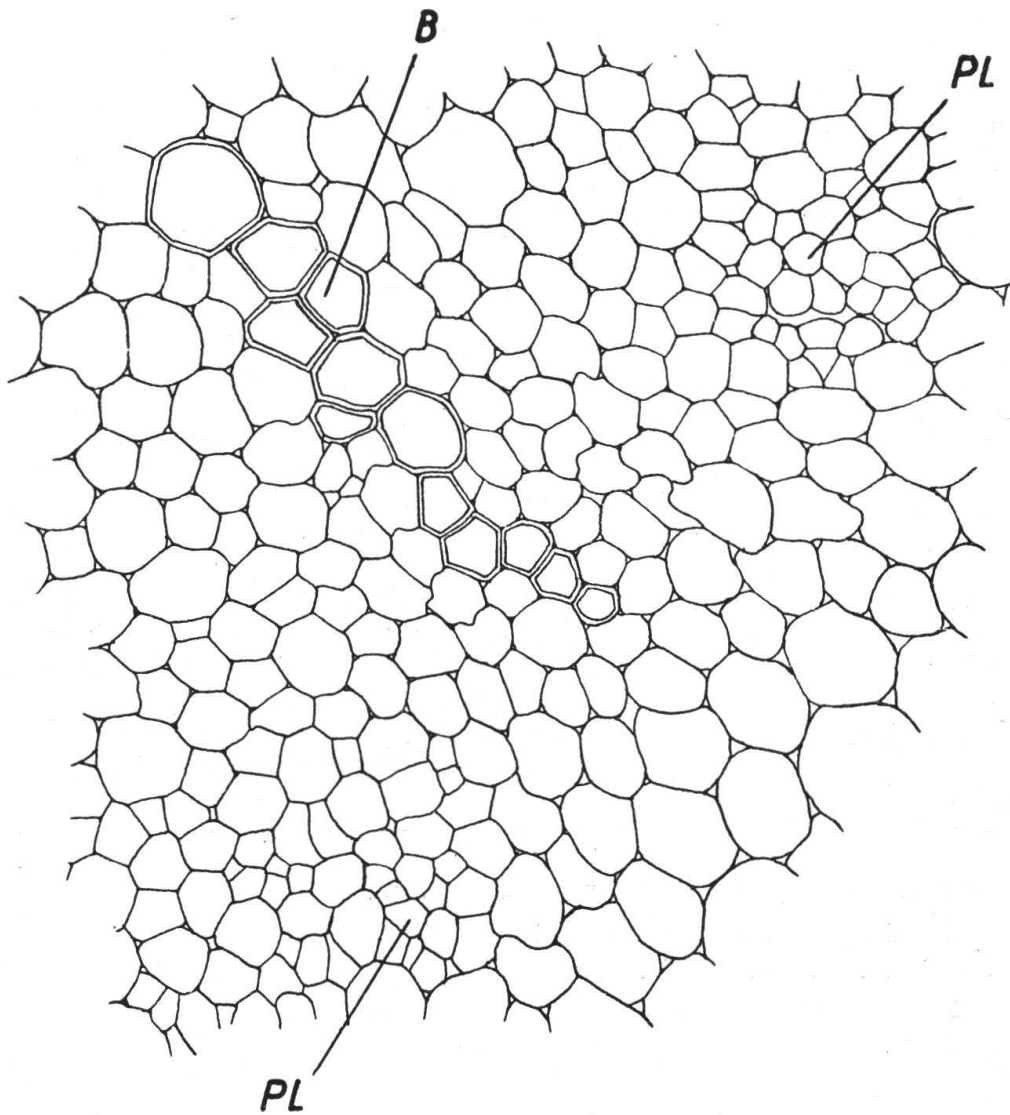
La lignification est donc hâtive, puisque elle est déjà visible au 3^e jour, dans la jeune racine, ce que confirme la coloration rose-pourpre des membranes à la phloroglucine-HCl.

Entre les 2 groupes de liber, on voit apparaître quelques cellules dont les parois s'épaississent, et qui deviendront des fibres (v. TIEGHEM, v. GUTTENBERG).

Au 4^e jour, on constate un élargissement des faisceaux ligneux vers le centre. Ils prennent la forme d'un triangle dont l'angle le plus aigu touche au péricycle, et la base à la moëlle

centrale. Les faisceaux ligneux sont surtout formés de vaisseaux spirales, pour la plupart imparfaits¹, comme c'est généralement le cas dans les tissus très jeunes (v. TIEGHEM).

Les groupes de fibres ont à peine progressé entre les faisceaux libériens, et ne montrent pas encore trace de lignification.



PL. II. — Détail d'une coupe de racine de *Pisum sativum* (2 jours).

PL. = procambium du liber, B. = vaisseaux ligneux (enveloppes épaissies, mais non encore lignifiées).

¹ Les coupes montrent souvent des cloisons transversales perforées, mais nettes.

Au 5^e jour, la lignification des 3 faisceaux de bois s'est fortement accentuée. La coloration vert-bleu des membranes est maintenant très nette. Le faisceau s'est agrandi en direction du centre, et continue de s'élargir modérément.

Les fibres libériennes forment maintenant de larges croisants, ou « arcs fibreux libériens ». L'épaississement de leurs membranes est très distinct; les lamelles moyennes qui les séparent prennent le colorant basique, tandis que les membranes, d'un vert violacé, sont en voie de lignification.

Dans l'endoderme, les cadres de Caspary présentent à leur tour une teinte vert-bleu due à leur imprégnation de lignine, et probablement de subérine, étant donnée la faible réaction à la phloroglucine-HCl.

On voit que l'évolution de la lignification a été très rapide entre le 4^e et le 5^e jour (apparition des fibres libériennes lignifiées et des cadres de Caspary). Cette évolution semble nettement se ralentir à partir du 6^e jour.

Au 7^e jour, la lignification des 3 pôles ligneux est très marquée. Ceux-ci ont progressé, mais ne se sont pas encore réunis au centre. Les arcs fibreux libériens apparaissent encore très faiblement lignifiés.

Au 8^e jour, deux des faisceaux de bois se sont rejoints vers le centre, le 3^e restant encore séparé des autres par 2 ou 3 assises celluloses. Si les fibres libériennes lignifiées ont épaissi leurs parois, la lignification reste toutefois incomplète. Il semble y avoir un début de cambium, qui annonce la structure secondaire.

PL. III. — Lignification des membranes de formations secondaires :

1. Faisceau libéro-ligneux de tige d'*Aristolochia Sipho* : L. = Liber, C. = cambium, B. = bois.

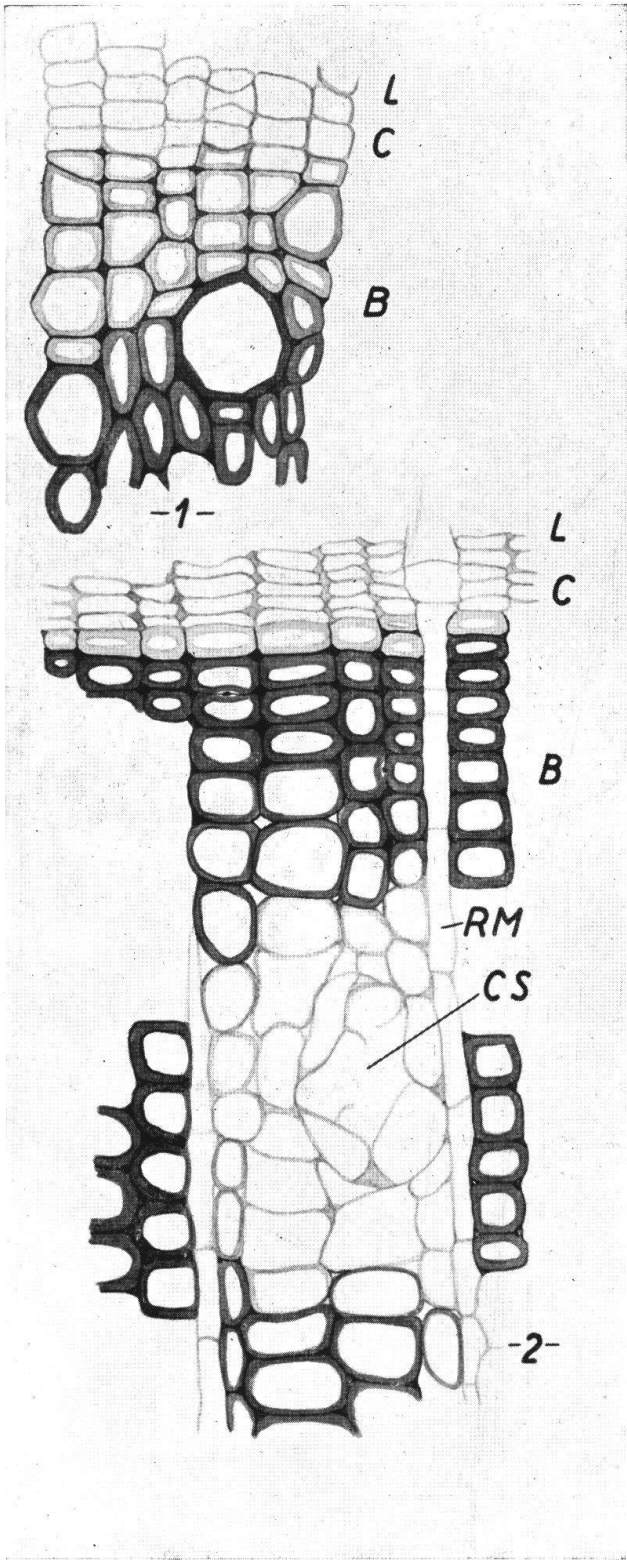
2. Bois de *Pinus Strobus* : RM. = rayon médullaire, CS. = canal sécréteur.

PL. IV. — Lignification de l'enveloppe cellulaire :

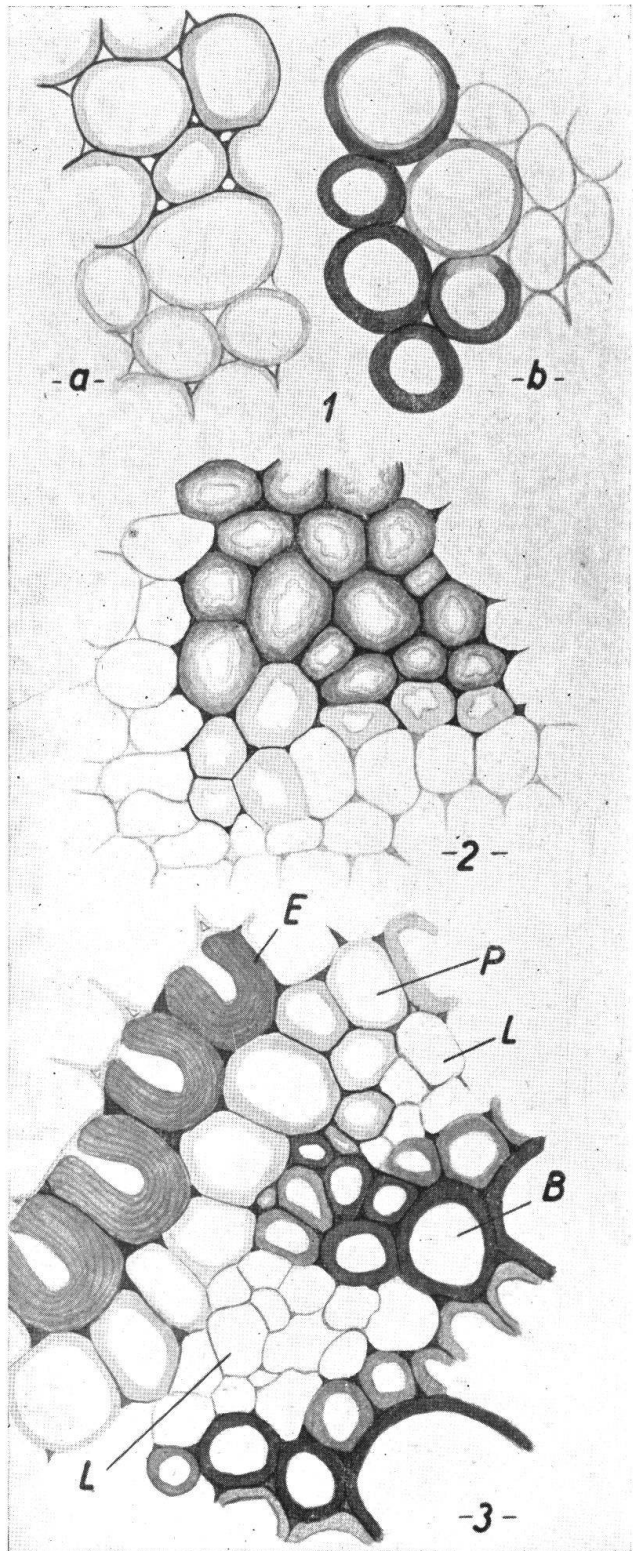
1. Moelle de tige de *Clematis vitalba* : a) les lamelles moyennes sont seules lignifiées; b) dans la membrane, la lignification se propage de l'extérieur vers l'intérieur.

2. Fibres pérycycloques de la tige d'*Aristolochia Sipho*. Les lamelles les plus internes de la membrane sont encore celluloses.

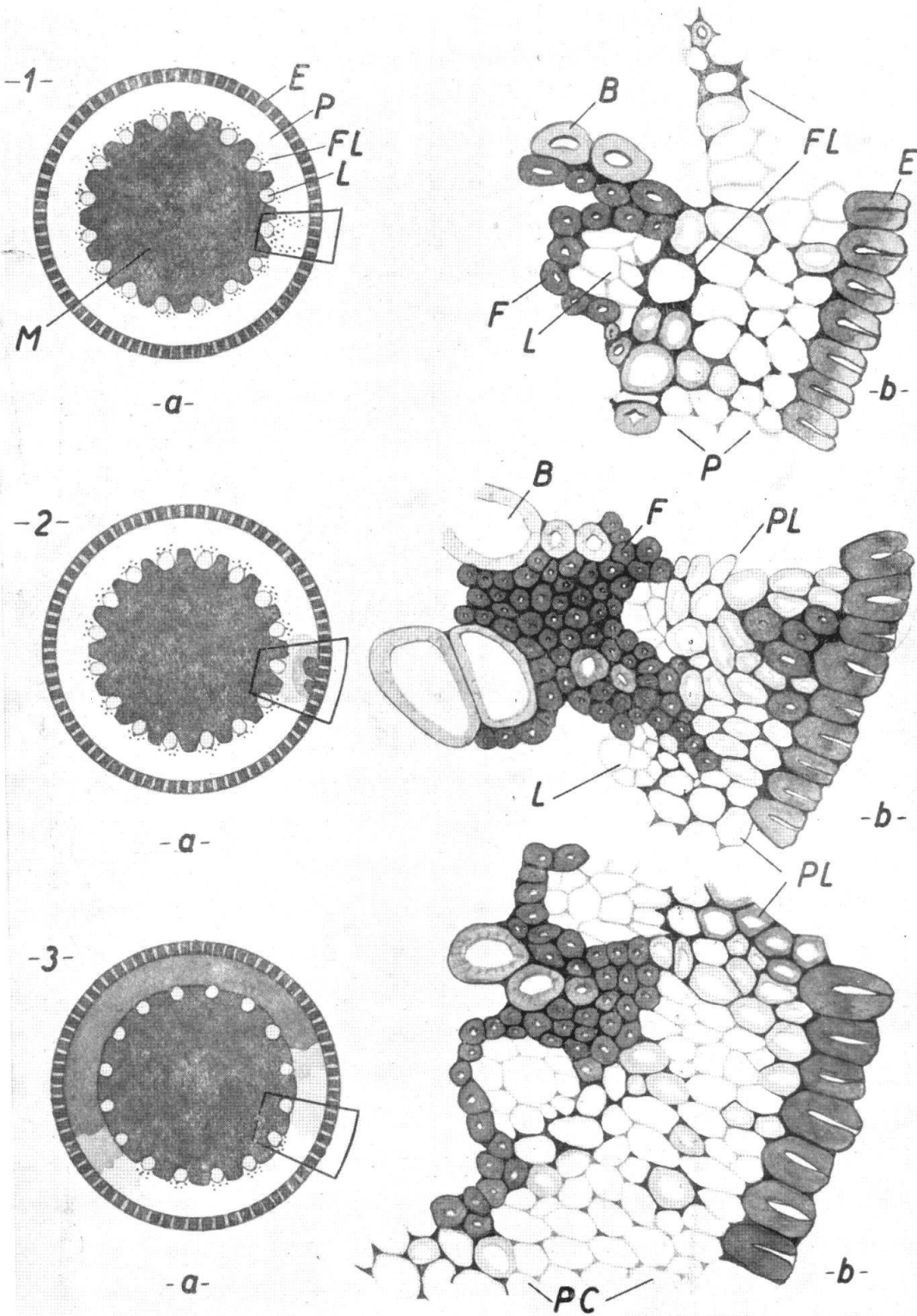
3. Racine d'*Iris spuria* : E. = endoderme, P. = péricycle, L. = liber, B. = bois. Remarquer la lamellisation de l'endoderme.



PL. III.



PL. IV.



Pl. V.

Après 10 jours, les faisceaux ligneux se sont réunis, formant une étoile à trois branches, bien qu'au centre, la lignification de certaines membranes épaissies soit encore faible ou même nulle. Ces parois présentent toute une gamme de colorations allant du vert pâle au violet-rose en passant par le vert-violacé, teintes caractéristiques prises par les membranes en voie de lignification.

La lignine imprègne progressivement, mais lentement les arcs fibreux libériens.

Au 12^e jour, les faisceaux du bois s'augmentent des premiers éléments secondaires dus au nouveau cambium. Celui-ci paraît cependant inégalement réparti. Son activité est déjà très nette au niveau de deux des pôles ligneux, alors qu'elle accuse un retard au voisinage du 3^e. Dans la plupart des exemplaires que nous avons étudiés, l'un des faisceaux montrait un retard dans sa différenciation, par rapport aux deux autres. Ce retard d'un faisceau se manifeste dans sa progression vers le centre et sur les côtés, dans sa lignification aussi; son cambium apparaît plus tardivement.

A ce stade, la lignification de la membrane des arcs fibreux libériens est presque complète et se poursuit dans la membrane, de la lamelle moyenne vers l'intérieur.

Au 15^e jour, enfin, le cambium fonctionne suivant une ligne continue. Nous étudierons au chapitre suivant la lignification des cellules dérivant d'un cambium, en prenant comme exemple un matériel plus favorable.

En conclusion de ce chapitre, nous constatons donc que *la lignification est un phénomène précoce*. Dans l'exemple de racine de pois, elle apparaît déjà au 3^e jour; sa progression est

PL. V. — Evolution de la lignification dans un tissu (cylindre central de la racine d'*Iris sogdiana*).

1. Niveau inférieur : coupe dans la partie jeune de la racine.
2. Niveau moyen : coupe dans la partie moyenne de la racine.
3. Niveau supérieur : coupe dans la partie âgée de la racine.

a) schéma, b) détails. E. = endoderme, P. = péricycle, PL. = péricycle lignifié, PC. = péricycle cellulosique, FL. = foyer de lignification, F. = fibres, L. = liber, B. = bois.

1b. Détail de foyer de lignification.

2b. Evolution de ces foyers de lignification.

3b. Zone de transition entre la partie lignifiée et la partie cellulosique du péricycle.

relativement plus rapide dans les tissus conducteurs que dans les tissus de soutien.

2. *Lignification des membranes des cellules issues du cambium.*

Nous avons étudié la lignification des membranes cellulaires de formations secondaires dans deux exemples assez différents : un jeune bois de tige d'aristoloche et un vieux bois de tronc de pin.

Chez *Aristolochia Siphon*, (cf. Pl. III, 1) la coloration double carmin-vert d'iode nous montre, dans un faisceau, sous les assises cambiales, 2 assises de cellules à membranes cellulodiques (roses) ; la première n'a que quelques membranes épaissies, alors que la deuxième a toutes ses membranes épaissies, mais sans traces de lignification sauf dans les lamelles moyennes qui apparaissent violacées (rose + vert). Ces dernières étaient roses à la phloroglucine-HCl. Dans les 2 ou 3 assises suivantes, en allant toujours vers le centre, les lamelles pectiques sont nettement vertes, tandis que, de part et d'autre, les membranes épaissies sont violacées seulement. Ensuite les vaisseaux ligneux sont tous colorés en vert. Le parenchyme entre les vaisseaux se lignifie de plus en plus, passant progressivement du violacé au vert franc.

Chez *Pinus Strobus*, (cf. Pl. III, 2) le processus est analogue, mais plus rapide : la première assise de trachéides nées du cambium, a ses membranes épaissies et déjà violacées, avec des lamelles moyennes lignifiées (vertes). Dès la deuxième assise de cellules, la membrane prend le colorant basique, et présente tous les caractères d'une lignification complète.

A noter pourtant que ce qu'on est convenu d'appeler le bois, présente de larges zones cellulodiques au niveau des canaux sécréteurs, phénomène dont nous reparlerons au chapitre de la propagation de la lignification dans un tissu.

On voit ici que *la lignification des membranes cellulaires est relativement rapide*, surtout dans les tissus conducteurs, un peu moins dans les tissus de soutien.

3. *Propagation de la lignification dans l'épaisseur d'une membrane cellulaire.*

Nous considérons ici une cellule prise isolément.

Examinons par exemple les cellules de la moelle de *Clematis vitalba* (cf. Pl. IV, 1). Dans une tige jeune (a), seules les lamelles pectiques sont lignifiées, et prennent le colorant basique. On sait que « la lignification se montre en premier lieu au

niveau de la lamelle pectique, puis dans les couches secondaires de la membrane, où la lignine semble être déposée dans l'intervalle des micelles cellulosesiques ». (DANGEARD). *Dans une tige plus âgée* (b) « la lamelle moyenne des éléments lignifiés présente, avec une intensité particulière, les réactions de la lignine ». (DAUPHINÉ). *Partant de la lamelle moyenne, la lignification gagne peu à peu le bord interne de la membrane cellulaire*. Souvent là ou les couches les plus internes de cette membrane offrent encore les réactions de la cellulose, alors que la lamelle pectique et les couches les plus externes montrent nettement les réactions de la lignine.

Cette progression de la lignification est aussi très visible dans les fibres péryclicques de la tige d'*Aristolochia Siphon* (cf. Pl. IV, 2). Les membranes cellulaires sont formées de nombreuses couches ou lamelles concentriques¹, que la lignine envahit successivement. Cette « lamellisation »² est particulièrement visible dans l'endoderme des racines d'*Iris* (cf. Pl. IV, 3) (DANGEARD).

4. Propagation de la lignification dans un tissu.

Plusieurs observations faites au cours des travaux d'histologie nous avaient fait penser que la lignification se propageait dans un tissu, à partir de points ou « foyers de lignification ».

Afin de vérifier la chose systématiquement, nous avons procédé à des coupes successives dans la racine d'*Iris sogdiana* (cf. Pl. V), où nous avons toujours remarqué une forte lignification de la moëlle, et parfois aussi du péricycle. C'est ce dernier que nous avons étudié. Nous considérerons, pour simplifier, 3 stades caractéristiques, correspondant à 3 niveaux différents d'une même racine.

Au niveau le plus jeune (1, a et b), où l'endoderme est déjà complètement lignifié, le péricycle (formé de 4 ou 5 assises cellulaires dans cette espèce) montre plusieurs cellules en voie de lignification, en regard des petits groupes de liber. C'est ce que nous appellerons des « foyers de lignification ». Certaines cellules ont leur enveloppe épaissie, qui présente les réactions

¹ La structure hétérogène de la membrane est connue. Selon COMBE (1937), il y aurait à la fois des différences d'hydratation et de constitution chimique entre les couches. Les lamelles renfermant peu de cellulose, donc riches en hémicelluloses ou en composés pectiques, contiendraient la lignine. Les lamelles riches en cellulose renfermeraient peu ou pas de lignine.

² On pense actuellement que la lamellisation, ou stratification lamellaire, serait due à une croissance rythmique correspondant aux conditions diurnes et nocturnes.

de la lignine (phloroglucine-HCl, bleu de méthylène). D'autres cellules ont conservé une membrane mince, qui fixe les colorants celluloseux (carmin), mais les angles et les lamelles pectiques prennent nettement le colorant basique du bois, et donnent la réaction pourpre à la phloroglucine-HCl.

Au niveau intermédiaire (2, a et b), un des foyers de lignification s'est étendu : près de l'endoderme, le péricycle présente quelques fibres fortement lignifiées et, entre l'endoderme et les faisceaux de bois, un tissu épaissi qui entoure complètement le liber, et rejoint les fibres du parenchyme ligneux. Dans cette racine, la moelle est fibreuse, complètement lignifiée.

Pourquoi ce foyer de lignification a-t-il été seul à se développer, avec une très nette avance sur les autres, où seule la lignification des lamelles moyennes signale une évolution du tissu ? On pourrait penser à une anomalie de croissance, due à une réaction contre un obstacle mécanique, ou à une cicatrisation de blessure (ce qui est peu probable, car l'écorce ne présente rien de spécial à cet endroit). Nous pensons que cette particularité est en relation avec des causes extérieures ou physiologiques, que nous étudierons dans un prochain travail. Pour le moment, nous nous contenterons de signaler le fait.

Au 3^e niveau, plus ancien (3, a et b), nous voyons une très forte extension de ce foyer de lignification. Les trois quarts du tissu péricyclique sont maintenant lignifiés. Le liber seul reste celluloseux, entouré d'une part de la moelle fibreuse, de l'autre du péricycle lignifié.

Cette propagation de la lignification, de proche en proche, d'une cellule à sa voisine, et gagnant peu à peu tout un tissu, correspond donc à notre hypothèse de foyers de lignification.

Nous avons pu vérifier ces faits dans de nombreuses coupes : *Tige de Clematis vitalba* : La moelle d'une tige jeune ne montre aucune lignification ; plus âgée, elle présente une lignification partielle des lamelles pectiques. Dans une tige plus âgée encore, la lignification s'est propagée à partir des faisceaux de bois, qui jouent, semble-t-il, le rôle de foyers de lignification. Le centre restera toutefois celluloseux assez longtemps.

Tige d'Aristolochia Siphon : Le centre des amas de fibres péricycliques est bien coloré par les colorants basiques, alors que les fibres qui l'entourent sont encore celluloseux, bien qu'épaissies, mais leurs lamelles moyennes réagissent déjà comme la lignine (phloroglucine-HCl et colorants basiques).

Jeune racine de pois : On voit nettement ici la lignification

par contact, un vaisseau n'étant lignifié qu'en regard du vaisseau de bois voisin.

Bois de Pinus Strobus (cf. Pl. III, 2) : Ce bois nous fournit un autre exemple intéressant. Nous avons vu déjà, à propos de la zone cambiale, que la lignification apparaît de façon très rapide, à ce niveau. Mais il reste de vastes zones celluloses au voisinage des canaux sécréteurs. Les cellules de ces régions ont des membranes peu ou pas épaissies, prenant uniquement les colorants de la cellulose (carmin), et ne donnant aucune réaction à la phloroglucine-HCl. Nous trouvons là un exemple de la *propagation de la lignification interrompue localement pour des causes physiologiques*.

De plus, au voisinage des rayons médullaires, on observe souvent que la paroi des cellules bordières présente un épaississement lignifié sur 3 côtés, tandis que la 4^e paroi est restée mince et peu lignifiée, violacée (carmin + vert d'iode superposés), phénomène qui se produit dans les zones de transition.

L'évolution de la lignification dans un tissu, semble donc progresser par contact, à partir d'un ou plusieurs foyers de lignification.

CONCLUSIONS

Notre étude histologique sur la lignification des tissus végétaux nous a montré que :

1. *L'apparition de la lignine est précoce chez les jeunes plantes (pour les racines de *Pisum sativum*, on a pu prouver expérimentalement la présence de lignine dès le 3^e jour de la germination).*
2. *La lignification des membranes a lieu à partir des lamelles moyennes pectiques.*
3. *Dans une cellule considérée isolément, la propagation de la lignification, dans la membrane, est centripète.*
4. *Dans un tissu, la lignification se propage de proche en proche, à partir de « foyers de lignification » ; elle progresse par contact. La lignification des membranes des cellules dérivant du cambium est assez rapide et semble favorisée par le voisinage des tissus plus âgés, déjà lignifiés.*

Bibliographie.

- BUGNON, P. — Origine, évolution et valeur des concepts de protoxylème et de métaxylème. *Bull. Soc. Linné. Normandie*, Caen, 7, 1924, p. 123.
- CASPARIS, P. — Beiträge zur Kenntnis verholzter Zellmembranen. *Pharm. Monatsh.* 1, 1920, p. 121.
- CHAUVEAUD, G. — Mode de formation des tubes criblés. *Ann. des Sc. nat.*, VIII^e série. T. 12, 1900, p. 333.
- CHODAT, R. — Principes de botanique. Genève, 1911, p. 166-167.
- COMBES, R. — Sur un nouveau groupe de réactions de la lignine et des membranes lignifiées. *Bull. Soc. Pharmacol.* 13, 1906, p. 293.
- La vie de la cellule végétale III : L'enveloppe de la matière vivante. Paris, 1937.
- CORTÉSI, R. et WERNER, G. — Contribution à l'étude de la lignine. *Actes S. H. S. N. Session Fribourg*, 1945, p. 165.
- COUPIN, H., JODIN, H. et DAUPHINÉ, A. — Atlas de botanique microscopique. Paris, 1930, Pl. VIII.
- DANGEARD, P. — Cytologie végétale et cytologie générale. Paris 1947, p. 19-21 et 510-564.
- DAUPHINÉ, A. — Sur la localisation de la lignine dans la membrane végétale. *C. R. Acad. Sc.* 213, 1941, p. 739.
- FONTAINE, M. — Recherches histochimiques sur le complexe lignifiant. *Rev. gén. de Bot.* 50, 1938, p. 636.
- FREY-WYSSLING, A. — Söbmikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate, Berlin, 1938.
- Der Feinbau der Zellwände. *Naturwiss.* 28, 1940, p. 385.
- Zur Ontogenie des Xylems in Stengeln, u. s. w. *Ber. d. deutsch. Bot. Ges.*, Bd. LVIII, 1940, p. 166.
- GUILLIERMOND, A., MANGENOT, G. et PLANTEFOL, L. — Traité de cytologie végétale. Paris, 1933, p. 995-1004.
p. 375-81.
- GUTTENBERG, H. VON. — Der primäre Bau der Angiospermenwurzel. *Hdbch. Pflanzenanatomie*, K. Linsbauer, Bd. VIII, Berlin, 1940, p. 143-161.
- HAWLEY et WISE. — La chimie du bois. Paris, 1931.
- JACCARD, P. — Sur les épaississements spiralés et les striations des trachéides du bois. *Bull. Soc. Bot. Suisse*, 50, 1940, p. 285.
- JOULIA, R. — Recherches histochimiques sur la composition et la formation du complexe lignifiant. *Rev. gén. de Bot.* 50, 1938, p. 261.
- KLEIN, G. — Handbuch der Pflanzenanalyse III, Bd. 1 et 2, Wien, 1932.
- KRAFT, M.-M. — Etude critique des colorations en histologie végétale. *Mém. Soc. vaud. Sc. nat.* VII, N^o 48, 1943.

- KUSTER, E. — Sekundäres Dickenwachstum : Holz und Rinde. Hdbch. Pflanzenanatomie K. Linsbauer, Bd. IX, Berlin, 1939.
- Ergebnisse und Aufgaben der Zellmorphologie, Dresden u. Leipzig, 1942.
- LENOIR, M. — Evolution du tissu vasculaire chez quelques plantules de Dicotylédones. *Ann. des Sc. nat.* Xe série, T. 2, 1920, p. 1.
- MORQUER, R. — Double réactif des lignines et des celluloses. Extr. *Bull. Soc. Bot. de France*, 1929.
- RITTER, G.-J. — Distribution of lignin in wood. *Journ. Ind. Eng. Chem.* 17, 1925, p. 1194.
- SINNOT, E.-V. et BLOCH, R. — Visible expression of cytoplasmic pattern in the differentiation of xylem strands. *Proc. Nat. Ac. of Sc. U. S. A.* 30, 1944, p. 388.
- SOLEREDER, H. — Systematische Anatomie der Dicotyledonen. Stuttgart, 1899.
- SOUÈGES, R. — La différenciation. *Act. scient. et industr.*, Paris, 1936, p. 375-81.
- TSCHIRCH et OESTERLE. — Anatomischer Atlas, Leipzig, 1900, p. 210 & Taf. 47.
- THOMAS, P. — Manuel de biochimie, Paris, 1946, p. 423 et 932.
- TIEGHEM, PH. VAN. — Recherche sur la symétrie de structure des plantes vasculaires. *Ann. des Sc. nat.* Ve série (bot.) T. 13, 1870-71, p. 220 et Fig. 51, Pl. 7.
- ULRICH, R. — Les constituants de la membrane chez les champignons. *Rev. de Mycol.*, Paris, 1943.
- WATTIEZ, N. et STERNON, F. — Eléments de chimie végétale. Paris, 1942, p. 417-19.
- WIELER, A. — Appositions- oder Intussusceptionswachstum ? *Protoplasma* 37, 1943, p. 171.
- WIESNER, J. VON. — Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, Leipzig, 1928.
- WISSELINGH, C. VAN. — Die Zellmembran. Hdbch. Pflanzenanatomie K. Linsbauer, Bd. III, 2, Berlin, 1924, p. 90-134.
-