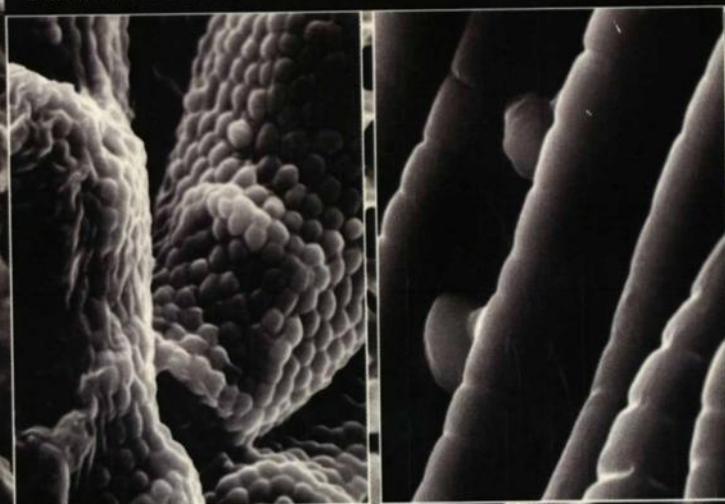
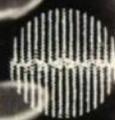


*un point sur...*

**organisation  
vasculaire  
des angiospermes :  
une vision  
nouvelle**

Jean-Pierre André



 **INRA**  
EDITIONS



---

ORGANISATION  
VASCULAIRE  
DES ANGIOSPERMES :  
UNE VISION NOUVELLE

---



---

ORGANISATION  
VASCULAIRE  
DES  
ANGIOSPERMES :  
UNE VISION  
NOUVELLE

---

Jean-Pierre André

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE  
147, rue de l'Université, 75338 Paris Cedex 07

# Un point sur...

## Phytoprotecteurs, protection des plantes biopesticides

P. BYÉ, C. DESCOINS, A. DESHAYES, coord., 1991, 178 p.

## Agricultures et société

C. COURTET, M. BERLAN-DARQUÉ, Y. DEMARNE, éd. 1993, 326 p.

## Élaboration du rendement des principales cultures annuelles

L. COMBE, D. PICARD, coord., 1994, 192 p.

## Comportement et bien-être animal

M. PICARD, R.H. PORTER, J.P. SIGNORET, coord., 1994, 228 p.

## Trente ans de l'ysimétrie en France (1960-1990)

J.C. MULLER, coord., 1996, 392 p.

## Teneurs en éléments traces métalliques dans les sols (France)

D. BAIZE, 1997, 412 p.

## Oiseaux à risques en ville et en campagne. *Vers une gestion intégrée des populations ?*

P. CLERGEAU, coord., 1997, 376 p.

## L'information scientifique et technique *Nouveaux enjeux documentaires et éditoriaux*

P. VOLLAND-NAIL, coord., 1997, 282 p.

## Aliments et industries alimentaires : les priorités de la recherche publique

P. FEILLET, coord., 1998, 288 p.

## L'homme et l'animal : un débat de société

A.P. OUEÛRAOGO, P. LE NEINDRE, coord., 1999, 218 p.

## L'eau

G. GROSCLAUDE, coord.,  
T1. Milieu naturel et maîtrise 1999, 204 p.  
T2. Usages et polluants 1999, 210 p.

## Environnement et aquaculture

J. PEIT, coord.  
T1. Aspects techniques et économiques 1999, 228 p.  
T2. Aspects juridiques et réglementaires 2000, 370 p.

## Les supports de culture horticoles

P. MOREL, L. PONCET, L.M. RIVIÈRE, coord., 2000, 92 p.

## La lutte physique en phytoprotection

C. VINCENT, B. PANNETON, F. FLEURAT-LESSARD, coord., 2000, 356 p.

## Les animaux d'élevage ont-ils droit au bien-être ?

F. BURGAT avec la collaboration de R. DANTZER 2001, 200 p.

## Le bon vivant. *Une alimentation sans peur et sans reproche*

P. FEILLET, 2002, 288 p.

## L'organisation vasculaire des Angiospermes. Une vision nouvelle

J.-P. ANDRÉ, 2002, 144 p.

*À la mémoire de Louis Gachon, ancien directeur de la Station d'Agronomie de Clermont-Ferrand, ancien chef du Département d'Agronomie de l'INRA qui, jusqu'à son décès, a encouragé et soutenu mes recherches avec sa fidèle et fraternelle bienveillance.*



# Avant-propos

L'ouvrage que nous présente Jean-Pierre André est de ceux qui s'apprécient à plusieurs niveaux, ce qui en fait la richesse. On peut simplement le feuilletter comme on le ferait d'un livre d'art : les biologistes y découvriront un aspect inattendu des structures vasculaires des plantes tandis que les autres croiront reconnaître au fil des pages un relief montagneux, un tentacule de pieuvre, un chasse-mouches persan, une patte de crabe ou les colonnes d'un temple égyptien... Mais tous seront séduits, comme je l'ai été moi-même en les découvrant sous la loupe binoculaire, par la diversité des formes et des surfaces des micromoulages réalisés par l'auteur. Toutefois, dépassant une première impression quelque peu ludique, le lecteur doit se laisser guider par les explications claires, les schémas élégants et précis qui permettent une exploration inédite et une meilleure compréhension de l'organisation spatiale du système vasculaire des plantes. Le souci pédagogique qui sous-tend l'ouvrage sera apprécié des enseignants comme des étudiants.

Mais ce livre va beaucoup plus loin. Il révèle l'existence de structures vasculaires restées ignorées jusqu'ici et, ainsi, remet en question certaines de nos idées sur la circulation de la sève brute et donc sur les relations entre les organes d'une même plante ou entre un parasite et son hôte. La technique du micromoulage, outre son intérêt évident pour les systématiciens et les techniciens du bois, invite à de nouvelles recherches dans les domaines écologiques et physiologiques. Les images obtenues soulèvent aussi la question du contrôle de la différenciation de l'édifice vasculaire. Le bois est souvent considéré comme l'exemple quasi parfait, le paradigme, de la différenciation chez les végétaux puisque celle-ci, conduisant à la mort des éléments conducteurs est irréversible, alors qu'un grand nombre de cellules végétales, dites différenciées, sont capables, dans certaines conditions, d'un retour à un état juvénile. La complexité de l'architecture révélée par les micromoulages est en effet bien éloignée des systèmes simples, tel celui des cellules de *Zinnia*, qui servent actuellement de modèles pour les recherches sur la différenciation du xylème.

Enfin, les applications de la technique des micromoulages ne se limitent pas à l'étude de l'organisation vasculaire. La première partie de l'ouvrage s'achève en effet par une section présentant quelques-unes des applications possibles, comme l'exploration de l'appareil sécréteur ou celle des espaces intercellulaires. Et la seconde partie nous donne toutes les indications techniques nécessaires pour entreprendre à notre tour d'autres explorations.

Non seulement ce livre nous permet d'apprécier le travail de pionnier accompli par Jean-Pierre André depuis une dizaine d'années, mais il ouvre la porte à de nouvelles investigations, dans des directions variées. C'est un ouvrage qui sera utile aux praticiens du bois comme à ceux qui travaillent dans le domaine de l'enseignement ou dans celui de la recherche. Et nous lui souhaitons tout le succès qu'il mérite.

Anne-Marie CATESSON

## SOMMAIRE

<b>Introduction</b> . . . . .	11
-------------------------------	----

<b>Remerciements</b> . . . . .	13
--------------------------------	----

**Première partie : Champ d'application du micromoulage**

▣ Histogénèse, structure et fonction du xylème . . . . .	17
Généralités . . . . .	17
Histogénèse structure et fonction du xylème . . . . .	19
▣ Le xylème primaire des Angiospermes . . . . .	33
Intérêt du moulage vasculaire . . . . .	33
Les vaisseaux hétérogènes . . . . .	33
Les vaisseaux ramifiés . . . . .	39
▣ Le xylème secondaire des Dicotylédones . . . . .	65
Intérêt du moulage vasculaire . . . . .	65
La formation des extrémités des vaisseaux . . . . .	66
Le branchement occasionnel des vaisseaux . . . . .	66
Les effets de contraintes et de déformations cambiales sur la morphologie vasculaire . . . . .	67
Les jonctions vasculaires entre axes adjacents . . . . .	75
Les jonctions vasculaires entre un hémiparasite et son hôte . . . . .	77
▣ Le xylème des Ptéridophytes et des Gymnospermes . . . . .	95
Intérêt du moulage des trachéïdes . . . . .	95
Le xylème des Ptéridophytes . . . . .	95
Le xylème des Gymnospermes . . . . .	97
▣ Méats et canaux – Phloème et parenchymes . . . . .	109
Intérêt du moulage . . . . .	109
Moulages dans les méats et canaux . . . . .	109
Moulages intracellulaires dans les parenchymes . . . . .	110
Moulages dans les tubes criblés du phloème . . . . .	110
Perspectives . . . . .	110

**Seconde partie : Technique du micromoulage**

▣ Introduction . . . . .	121
▣ Préparation du matériel végétal . . . . .	125
Généralités . . . . .	125
Fiche descriptive . . . . .	125
Plans de section . . . . .	125

Conditionnement des espaces à mouler . . . . .	126
Obstacles à la progression de l'agent de moulage dans les tissus . .	127
☐ Injection de l'agent de moulage . . . . .	129
Principe de l'injection . . . . .	129
Dispositif de dégazage . . . . .	129
Dégazage . . . . .	130
Injection . . . . .	130
Durée de l'injection . . . . .	130
Injection d'élastomère coloré . . . . .	133
☐ Propriétés et réticulation de l'agent de moulage . . . . .	135
Généralités . . . . .	135
Propriétés de l'élastomère de silicone RTV 141 . . . . .	135
Conditions pratiques de la réticulation . . . . .	136
☐ Destruction chimique des tissus végétaux . . . . .	137
Principe . . . . .	137
Hydrolyse des polysaccharides . . . . .	137
Oxydation de la lignine . . . . .	137
☐ Manipulation des moulages . . . . .	139
Caractéristiques des moulages d'élastomère de silicone . . . . .	139
Manipulation . . . . .	139
Photographie des moulages . . . . .	140
<b>Références bibliographiques . . . . .</b>	<b>141</b>

# Introduction

L'effort d'intégration de nos connaissances du Vivant dans des modèles a le mérite de rapprocher des disciplines dont l'objet général est commun, mais que le perfectionnement de leurs outils propres et la spécialisation de leurs angles d'attaque ont éloignées : rapprocher l'étude des structures de celle des fonctions et supprimer les « boîtes noires » de nos raisonnements est l'un des buts de cet effort, et sans doute un puissant stimulant pour la recherche, pour peu que les modèles ne viennent pas (trop tôt !) se substituer au réel...

Pour ce qui, dans le domaine végétal, concerne le fonctionnement et la structure du système conducteur de la sève ascendante, nous pourrions dire, sous forme de boutade, que le physiologiste et l'anatomiste le considèrent de préférence, le premier dans le sens longitudinal de son fonctionnement, le second dans le sens transversal, qui offre l'angle le plus révélateur de la disposition des tissus. M. H. Zimmermann a notablement contribué à rapprocher les deux points de vue, en proposant une description physique de la circulation de l'eau dans les vaisseaux du bois, et, en même temps, en tentant de donner une image réaliste de ces conduits longs et étroits, déplorant malicieusement que le microscope soit trop « myope » pour les saisir dans le sens de leur longueur. L'ascension de la sève dans les grands arbres reste toujours un sujet d'étonnement, de réflexions et de controverses vives même dans le milieu scientifique. L'agencement de la « tuyauterie » reste encore passablement méconnu. Cet ouvrage vise à étendre à la structure l'intérêt que nous portons à la fonction, en attirant l'attention du lecteur sur certains aspects de l'édification et de l'organisation du système vasculaire. Pour ce faire, il donne à voir les vaisseaux « en long », par l'artifice du moulage.

L'histologie végétale s'enrichit de nouveaux outils, les uns raffinés comme la microscopie confocale à balayage laser, d'autres plus simples dans leur principe, comme le moulage vasculaire. Cette technique permet d'accéder à une vision concrète, étendue, très précise, de la vascularisation d'un organe, inhabituelle par rapport à ce que nous montrent les coupes histologiques. C'est plus précisément le volume interne des vaisseaux, le volume qu'occupe la sève, qui est matérialisé par le moulage. C'est aussi, en plus, le volume des méats intercellulaires. C'est en somme, le volume complémentaire de celui qu'occupent les constituants mêmes des tissus, auquel l'inversion complète des pleins et des creux, jusque dans les moindres détails, confère une étrange beauté. Le principe du moulage vasculaire a été mis en œuvre épisodiquement depuis une vingtaine d'années dans le domaine végétal. Actuellement pratiquée par un très petit nombre de laboratoires, avec des variantes propres à chacun d'eux, la technique est désormais en mesure d'apporter une contribution significative à l'étude de l'organisation vasculaire, des Angiospermes en particulier.

La première partie de cet ouvrage offre un aperçu du champ d'application de cette nouvelle technique histologique, illustré par la description des structures vasculaires qu'elle a permis de mettre en évidence dans le xylème primaire et secondaire de plusieurs dizaines d'espèces d'Angiospermes, mais aussi de Gymnospermes et de Ptéridophytes. Nous avons souligné l'intérêt des questions posées par l'histogénèse des structures nouvellement décrites et proposé des hypothèses fondées sur le concept de continuum procambium-cambium et sur celui de la compétition pour l'espace entre nappes cambiales adjacentes. A cette fin, sont rappelées, pour commencer, les notions de base d'histologie et d'histogénèse du xylème. L'illustration abondante est constituée de schémas originaux et de photographies des moulages réalisées, pour la plupart, en microscopie électronique à balayage. Les premiers sont incorporés dans le texte, les secondes regroupées à la fin de chacune des 5 sections.

La seconde partie décrit les étapes successives de la mise en œuvre technique du moulage histologique, tel que nous le pratiquons, avec ses avantages et ses points faibles, en mentionnant, le cas échéant telle variante pratiquée ailleurs.

# Remerciements

Depuis l'époque où, au milieu des serres de rosiers, ma collègue Albertine Champéroux m'initiait aux bases de l'histogénèse et de l'organisation végétale, s'est écoulée pour moi une décennie de découverte passionnante de l'anatomie végétale « par le fenestron entrouvert du micromoulage », après une trentaine d'années passées auparavant sur d'autres chemins de la recherche.

Durant cette dernière période, je me suis efforcé de mettre au point une technique originale d'étude des vaisseaux, faute d'une maîtrise suffisante des techniques histologiques classiques, puis de la mettre à l'épreuve dans des conditions très variées, avec l'espoir de quelques « trouvailles » originales dans le champ de l'anatomie vasculaire. Pour cette liberté, j'exprimerai d'abord ma gratitude à l'Institut National de la Recherche Agronomique.

Dès le début, de nombreuses personnes m'ont fait bénéficier de leur concours et de leur savoir : je me fais un plaisir de me remémorer leur aide et de les citer pour leur témoigner à toutes ma vive reconnaissance.

Depuis les premiers essais de moulage vasculaire en 1992, mon collègue et ami Pierre Cruiziat s'est tenu au courant des progrès de la mise au point, puis de la mise en œuvre de la technique, avec l'intérêt qu'il porte aux mouvements de l'eau dans la plante, et il n'est pas le dernier à m'avoir stimulé, jusqu'à la rédaction de cet ouvrage, par sa curiosité et ses encouragements. Et c'est aux conseils d'un spécialiste du moulage en archéologie, René David, qu'un article de presse m'avait incidemment fait connaître, que je dois une bonne part de la réussite de la mise au point.

J'ai eu la grande chance de trouver, en la personne d'Anne-Marie Catesson, le Maître auquel je dois l'essentiel de mes connaissances un peu approfondies en anatomie et en histologie végétale et qui, depuis ma première visite à l'École Normale Supérieure, m'accorde son intérêt pour cette technique insolite, sa confiance et son patient soutien. C'est en collaboration que nous avons étudié les « vaisseaux hétérogènes » révélés par moulage dans les zones d'abscission.

Toutes les plantes examinées m'ont été fournies bénévolement, tant par de bienveillants producteurs régionaux, pour les solanées et les bambous en particulier, que par les laboratoires de l'INRA, pour les céréales, et le Jardin Thuret d'Antibes pour les espèces ligneuses, par des amitiés lointaines pour les Ptéridophytes guyanaises, et par la campagne environnante pour le reste.

Je dois à Danielle Repoux, de l'École des Mines de Sophia Antipolis, et à Lucien Roger, de l'INRA de Montpellier, qui l'a relayée, d'avoir assuré avec compétence et patience plus de 150 heures de microscopie électronique à balayage et réalisé plus de 1 500 clichés. Tous ces clichés sont ensuite passés par les mains de Christian Slagmulder, de l'INRA d'Antibes. Si les somptueuses images

agrandies qu'il en a tirées, unanimement admirées, ne s'étaient pas en permanence devant moi, cet ouvrage n'aurait certainement pas été entrepris.

Dans la rédaction finale, j'ai tenu le plus grand compte des suggestions de sept correcteurs attentifs, et notamment de celles du plus sévère d'entre eux, mon fils Pascal, à qui je dois aussi l'utile rappel des techniques de base du calcul intégral.

« La vérité émerge plus aisément de l'erreur que de la confusion », écrivait Francis Bacon. J'assume les hypothèses et les généralisations hâtives avancées dans ces pages, en espérant au moins que celles qui sont erronées soient facilement relevées.

Il me reste à exprimer ma reconnaissance aux secrétaires, lectrices et dessinatrices pour le soin qu'elles ont pris du texte, des schémas et des photographies et au Service des Editions de l'INRA pour avoir accepté et produit cet ouvrage.

PREMIÈRE PARTIE

**CHAMP D'APPLICATION  
DU MICROMOULAGE**



# Histogénèse, structure et fonction du xylème

## Généralités

Les cellules des végétaux terrestres actuels sont différenciées<sup>1</sup> en tissus avec, dans chacun d'eux, des morphologies et des fonctions différentes. La différenciation est absente ou peu marquée chez les Thallophytes et s'est accentuée au cours de l'Évolution pour atteindre son degré le plus avancé chez les Angiospermes (tableau 1). Avec la différenciation se sont séparées progressivement les fonctions vitales de la plante entre ses différents tissus et, du même coup, se sont développés les échanges de matière et de signaux entre ses différentes parties. La capture de l'énergie solaire et la fixation du carbone atmosphérique sont ainsi devenues les fonctions spécifiques du tissu chlorophyllien et du mésophylle foliaire, l'absorption de l'eau du sol et de ses sels dissous celle des jeunes tissus racinaires à l'autre extrémité de la plante, et la distribution des substances absorbées et métabolisées, celle des tissus conducteurs, le xylème et le phloème chez les espèces qui en sont dotées, les Trachéophytes.

Voici trois siècles au moins que la réalité des mouvements d'eau et de matière dans la plante est pressentie à partir d'observations simples (Grew 1682, Malpighi 1686) et un siècle et demi environ que les tissus conducteurs sont localisés et nommés (Hartig 1837 ; 1854, Naegeli 1858, Sanio 1873, 1874). Sans que les recherches aient cessé depuis, l'histogénèse<sup>2</sup>, la structure et la fonction du xylème et du phloème sont encore de fascinants sujets d'études pour l'anatomie et la physiologie végétale.

Le xylème et le phloème, qui doivent leurs noms au botaniste Naegeli, sont les voies de circulation de deux flux de matière. Le plus important en masse est le flux hydrique xylémien de la sève brute, montant du sol et irrigant tous les tissus, et dont la majeure partie alimente la transpiration foliaire et s'évapore dans l'atmosphère. Le second, plus discret et plus lent, transporte jusqu'aux organes en croissance et aux organes de réserve, via le phloème, les métabolites carbonés produits par la photosynthèse.

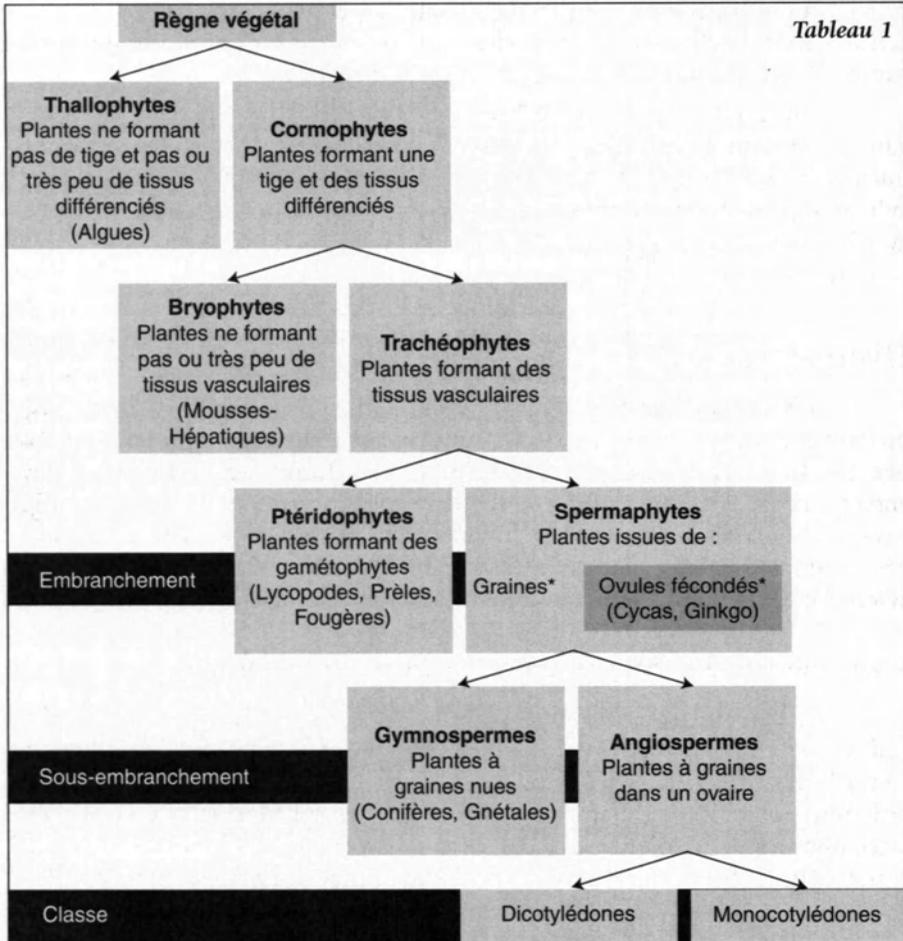
Les deux tissus forment deux réseaux étroitement associés, qui s'étendent avec la croissance de la plante et dessinent son architecture dans les moindres détails depuis les extrémités des racines jusqu'aux feuilles, aux fleurs et aux

---

<sup>1</sup> La différenciation est un processus en plusieurs étapes, qui se déroule au sein d'une cellule et au terme duquel, celle-ci est morphologiquement et fonctionnellement différente de la cellule-mère. Ce processus réalise l'un des programmes génétiques possibles du développement de la cellule, souvent déterminé par des signaux chimiques ou physiques de l'environnement cellulaire et du milieu extérieur.

<sup>2</sup> L'histogénèse est l'ensemble des processus de division, de croissance et de différenciation qui conduisent à la formation d'un tissu.

Tableau 1



Les divisions du Règne Végétal sont dichotomiques au niveau des grands groupes : elles reposent sur l'identification de caractères majeurs de l'anatomie et du mode de reproduction des espèces, dont l'acquisition au cours de l'Évolution paraît avoir joué, dès l'apparition des Cormophytes, ou végétaux supérieurs, un rôle déterminant dans l'extension des plantes hors du milieu aquatique.

« Dans l'édification d'un appareil végétatif complexe, la différenciation cellulaire conduit à la formation de tissus dont les plus spécialisés, assurant la conduction rapide des solutions nutritives et des molécules informationnelles d'une extrémité à l'autre de la plante, ont largement contribué à l'installation (des végétaux) en milieu aérien » (Robert et Catesson 2000).

Le phylum des Trachéophytes, ou plantes vasculaires, évoqué dans la citation, se compose de deux embranchements, celui des Ptéridophytes réunissant environ 10 000 espèces, principalement des fougères, toutes survivantes de familles primitives en voie lente d'extinction (Emberger 1960) et celui des Spermaphytes, lui-même divisé en deux sous-embanchements, les Gymnospermes, un groupe végétal de moins de 1 000 espèces, également sur le déclin (Emberger 1960) et les Angiospermes qui sont la majorité des plantes actuelles (environ 250 000 espèces). Les Trachéophytes présentent une grande diversité de caractères et font l'objet de reclassifications phylogénétiques continues sur de nombreux points, selon l'importance des nouveaux paramètres, génétiques en particulier, pris en compte (Soltis et Soltis 2000). Toutes ces espèces ont pour point commun de posséder deux tissus conducteurs. C'est à la ressemblance entre les trachées animales et les éléments conducteurs du xylème que ce phylum doit son nom.

(\*) La graine est un ovule fécondé qui entretient des échanges avec la plante-mère jusqu'à sa maturité. On a pu établir un parallèle avec l'oviparité et la viviparité propres au Règne animal (Emberger 1960).