

La cellule végétale observée au microscope électronique

par

Dominique LAFLÈCHE et J.-M. BOVÉ

Service de biochimie de l'Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer ()*

INTRODUCTION

La microscopie électronique, à la fois branche nouvelle de la Science et technique de haute précision, s'est développée au cours des trente dernières années avec une foudroyante rapidité. En 1924, Louis de Broglie mettait en évidence la nature ondulatoire des rayonnements corpusculaires. A partir de cette découverte essentielle allaient s'accomplir de nombreux travaux en optique électronique. La synthèse judicieuse de ces connaissances nous permet aujourd'hui de pénétrer dans le monde nouveau des structures supramoléculaires, où les distances se mesurent à l'échelle « submicroscopique », et s'expriment en angström, unité 10 millions de fois plus petite que le millimètre ($1 \text{ mm} = 10^3 \mu = 10^6 \text{ m}\mu = 10^7 \text{ \AA}$). De ce fait, la microscopie électronique révèle de nombreuses infrastructures que la microscopie photonique ne pouvait pas déceler de par son faible grandissement. Dans cet article, nous nous proposons de rappeler brièvement le principe du microscope électronique, puis d'expliquer les techniques de préparation des objets biologiques en vue de leur examen dans le microscope électronique. Ensuite, nous décrivons les principaux résultats que la microscopie électronique a apportés dans l'étude de la cellule végétale et de ses infrastructures. Enfin, nous rappellerons le rôle biochimique des diverses infrastructures.

Le matériel végétal utilisé dans ce travail provient non seulement des plantes des genres Allium, Brassica, Cucumis, Cucurbita et Phaseolus mais encore de représentants des genres Citrus et Musa.

(*) Centre National de Recherches Agronomiques, route de S^t Cyr, 78-Versailles

I. LE MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

A. PRINCIPE.

L'électron possède une nature à la fois corpusculaire et ondulatoire, et c'est sur cette double propriété physique qu'est basé le principe du microscope électronique.

L'expérience fondamentale dans laquelle apparaît la nature corpusculaire de l'électron est la suivante : dans un tube à vide, un filament de tungstène F, porté à l'incandescence, constitue une cathode et se comporte comme une source d'électrons (fig. 1). La

FIG. 1. — Formation de l'image en microscopie électronique et en microscopie photonique (A : anode ; B : bobine ; F : filament ; G : grille ; E : écran) d'après Selme.

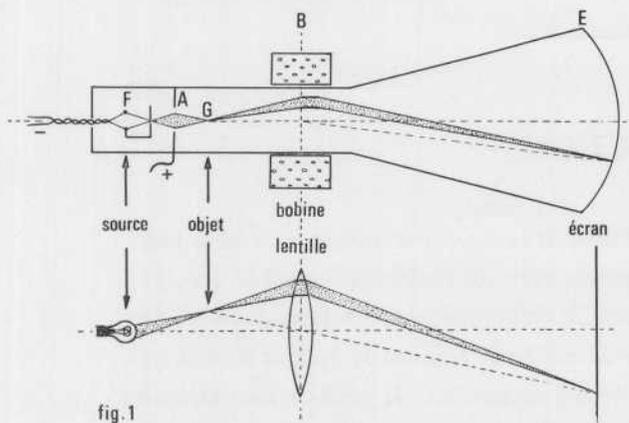


FIG. 2. — Représentation schématique de la marche du faisceau d'électrons dans le microscope électronique (d'après Ruska et Borries). 1, installation à haute tension ; 2, corps isolant ; 3, filament ; 4, anode ; 5, objet ; 6, image intermédiaire ; 7, image finale ; 8, « lentille » du condenseur ; 9, « lentille » de l'objectif ; 10, « lentille » du projectif ; 11, diaphragme ; 12, appareil à vide.

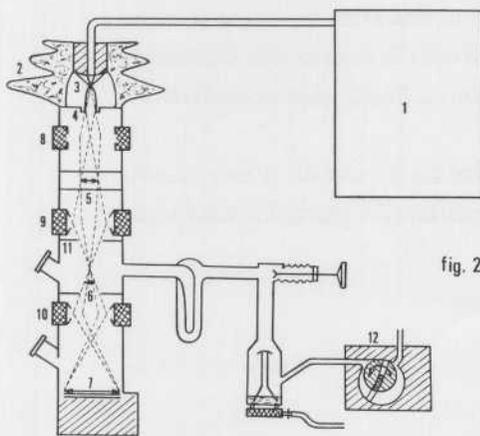
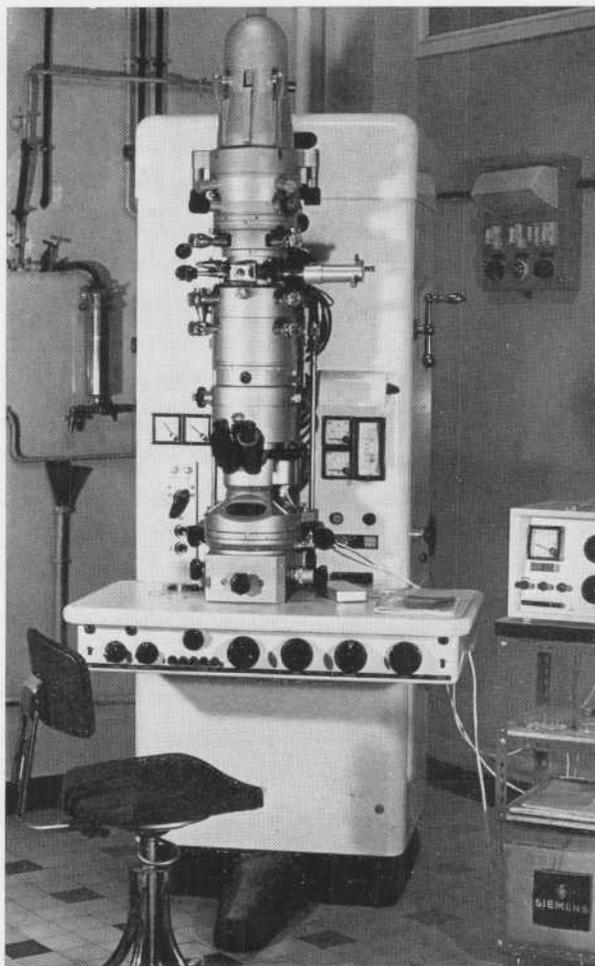


FIG. 3. — Microscope électronique Siemens Elmiskop I du Service de Biochimie et de Physico-chimie des Céréales, INRA, Massy.

différence de potentiel entre la cathode et l'anode A accélère le flux d'électrons. Autour du tube est disposée une bobine B, dont l'axe de révolution coïncide avec celui du tube et qui est parcourue par un courant continu. Le champ magnétique créé par cette bobine exerce sur chaque électron une force qui a pour effet de courber sa trajectoire. Tous les électrons qui ont traversé le plan de la grille-objet G en un même point convergent en un même point de l'écran E. Ainsi se forme l'image d'un objet au moyen d'un flux d'électrons. Par conséquent, le champ magnétique de révolution, créé par la bobine B est pour les électrons ce qu'est une lentille pour une source lumineuse (fig. 1).

En plus de sa nature corpusculaire, l'électron possède des propriétés physiques liées à sa nature ondu-



latoire. En effet Louis de Broglie (1924) a érigé en principe que le mouvement de tout corpuscule implique la propagation simultanée d'une onde qui lui est associée et dont la longueur d'onde est donnée par la formule $\lambda = \frac{h}{mv}$, h représente la constante de Planck m la masse de la particule et v sa vitesse. C'est ainsi que pour des électrons qui ont atteint, sous un voltage de 100 kV, la vitesse de 187 000 km/s, la longueur d'onde qui leur est associée, λ , est égale à 0,038 Å. Cette longueur d'onde est environ 100 000 fois plus petite que celle d'une radiation monochromatique de la partie bleue du spectre visible. La longueur d'onde étant très courte et l'ouverture des « lentilles » électromagnétiques très faible, le pouvoir séparateur du microscope électronique $\varepsilon = \frac{0,6 \lambda}{n \sin u}$ (n , indice de réfraction du milieu ; u , ouverture numérique de l'objectif) est de l'ordre de 10 Å (8 Å pour le microscope Siemens Elmiskop I), alors que celui du microscope photonique ne descend guère en dessous de 2 000 Å. Autrement dit, avec le microscope photonique, deux points séparés par une distance inférieure à 2 000 Å semblent confondus, alors qu'avec le microscope électronique deux points distants de 10 Å apparaissent encore séparés.

II. PRÉPARATION DES OBJETS BIOLOGIQUES EN VUE DE L'OBSERVATION AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

A. INTRODUCTION.

Les conditions physiques imposées par le microscope électronique (vide poussé, bombardement par un flux d'électrons) sont très différentes de celles où se trouvent normalement placés les organismes vivants et, pendant longtemps, il semblait que cet appareil fût incapable de rendre des services importants en biologie. Le bombardement par un faisceau d'électrons est incompatible avec le maintien de l'état vivant. De plus, pour obtenir une propagation régulière des électrons, il est nécessaire de maintenir en permanence un vide très poussé dans la colonne du microscope, de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-6} mm de Hg. En outre, le faible pouvoir de pénétration des électrons nécessite l'observation d'objets de très faible épaisseur. Malgré ces difficultés techniques qui semblaient a priori insurmontables, les résultats ont été rapidement spectaculaires.

B. APPAREILLAGE.

Dans ses principes optiques, le microscope électronique diffère peu d'un microscope photonique (fig. 1 et 2). Tout comme celui-ci, il possède une source « lumineuse » qui est une source d'électrons, un condenseur, une platine porte-objet, un objectif et un oculaire que l'on appelle projectif parce que l'image transmise, invisible, est projetée sur un écran fluorescent sur lequel elle devient visible à l'œil. Le système de lentilles qui permet la focalisation du faisceau d'électrons est constitué par des champs électriques ou magnétiques, engendrés soit par l'application d'une différence de potentiel électrostatique, soit par le passage d'un courant continu dans un bobinage muni de pièces polaires magnétiques. Cette description est très schématique et, en réalité, le microscope électronique est un appareil d'une haute complexité (fig. 3). Par exemple, la platine porte-objet qui supporte la préparation biologique permet de déplacer le champ d'observation, mais pour la mise au point et la prise photographique l'immobilité de l'objet doit être presque absolue ; un déplacement de l'objet de 5 à 10 Å/mn est déjà trop grand si on désire utiliser toutes les ressources du pouvoir séparateur de l'instrument.

Seules des cellules préalablement fixées et déshydratées sont étudiées au microscope électronique. La préparation de tels échantillons ne constitue pas un problème nouveau pour le cytologiste ; il est couramment résolu en microscopie photonique. Par contre, les conditions concernant l'épaisseur des objets ont constitué un obstacle important, qui a longtemps limité le domaine des applications biologiques. Il a donc fallu adopter les techniques d'inclusion et de microtomie à la microscopie électronique.

B. FIXATION ET DÉSHYDRATATION.

Des fragments biologiques de l'ordre du millimètre sont prélevés à partir de tige, de racine ou de feuille... L'échantillon doit être alors fixé : il s'agit de « tuer » les cellules par des traitements physiques ou chimiques en arrêtant tout mouvement et toute évolution de leurs structures. La fixation idéale serait celle

qui rendrait définitives les liaisons entre les macromolécules du cytoplasme. Mais les fixateurs employés ont souvent une affinité pour un type de molécules et non pour un autre. Par ailleurs, la fixation doit être rapide, en vue d'éviter les phénomènes d'autolyse cellulaire ; elle doit s'effectuer à une température donnée ; le pH et la concentration molaire du fixateur sont à prendre en considération, ainsi que le temps de la fixation qui dépend, d'une part du fixateur, d'autre part de l'échantillon.

Le fixateur le plus couramment employé est le tétr oxyde d'osmium, OsO_4 . Deux raisons expliquent ce choix : la première tient à la bonne conservation apparente des structures, la seconde au contraste que ce fixateur apporte aux images : les atomes d'osmium diffusent fortement les électrons et les structures de l'échantillon qui ont fixé ces atomes lourds apparaissent sombres sur l'image. Le tétr oxyde d'osmium provoque la « gélification » des chaînes protéiques en créant des ponts d'osmium entre les molécules voisines.

Un fixateur récemment employé est le glutardial-

déhyde $\begin{array}{c} \text{H} & & \text{H} \\ & \diagdown & / \\ & \text{C} & - (\text{CH}_2)_3 - & \text{C} \\ & / & \diagdown \\ \text{O} & & \text{O} \end{array}$; il donne des résultats excellents pour la bonne conservation des structures cellulaires. Il agirait comme le formaldéhyde, montrant une grande affinité pour les fonctions amines libres des protéines. Le tétr oxyde d'osmium est alors utilisé ultérieurement pour obtenir un meilleur contraste des images. Le permanganate de potassium est souvent utilisé et donne d'excellentes images sur les systèmes membranaires de la cellule : en effet il permet la fixation des atomes de Mn sur les phosphoaminolipides des membranes plasmiques. Toutefois la fixation au MnO_4K n'est pas satisfaisante car elle ne préserve pas les infrastructures telles que les ribosomes et les nucléoles. Il serait fastidieux d'énumérer ici tous les fixateurs employés et nous nous sommes limités à ceux qui sont le plus couramment utilisés.

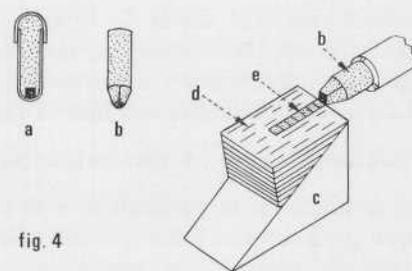
Après la fixation, les échantillons subissent plusieurs lavages à l'eau distillée, pour éliminer le fixateur en excès ; puis les pièces sont déshydratées, très progressivement, par immersion dans des bains d'alcool à 25°, 50°, 70°, 95° et enfin par plusieurs bains dans l'alcool absolu.

C. INCLUSION.

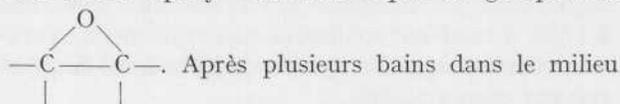
L'obtention de coupes minces « transparentes » aux électrons nécessite de la part de l'objet biologique des caractéristiques à la fois de dureté et d'élasticité.

FIG. 4. — Représentation schématique des procédés techniques pour l'obtention de coupes ultrafines.

a : capsule de gélatine renfermant la pièce échantillon dans le milieu d'inclusion ;
b : « bloc » polymérisé taillé en pyramide ;
c : couteau de verre ;
d : godet d'eau distillée ;
e : ruban de coupes flottant à la surface de l'eau.



Aussi les premiers résultats positifs ne purent-ils être obtenus en 1949 qu'après l'emploi d'une matière plastique, le métacrylate. Actuellement, cette substance d'inclusion est délaissée dans les études cytologiques car elle altère les infrastructures cytoplasmiques. Les deux substances d'inclusion les plus employées maintenant sont l'araldite et l'épon ; celles-ci évitent, contrairement au métacrylate, les artefacts de distortion associés à la polymérisation. L'araldite est une résine époxy caractérisée par le groupement



Après plusieurs bains dans le milieu d'inclusion liquide, composé d'araldite, de durcisseur, d'accélérateur et d'un plastifiant, le phtalate de butyle, chaque pièce-échantillon est plongée et incluse dans ce milieu d'inclusion contenu dans une petite capsule de gélatine (fig. 4 a). Après trois jours dans une étuve à 48° C, l'araldite est polymérisée et les « blocs » sont prêts à être coupés.

D. OBTENTION DE COUPES ULTRAFINES.

L'obtention de coupes ultrafines suppose l'existence de microtomes permettant une avance régulière de l'objet par rapport au couteau, de quelques centaines d'angströms en quelques centaines d'angströms. Les coupes obtenues pour les images qui illustrent cet article ont été effectuées avec un ultramicrotome à avance mécanique type Porter Blum. Après l'inclusion, le bloc est débarrassé de sa capsule de gélatine et la pièce échantillon est taillée en pyramide sous une loupe binoculaire au moyen de lames de rasoir (fig. 4 b). Le couteau dont est muni le microtome pour la préparation des coupes ultrafines est constitué par la cassure fraîche d'un rasoir de verre (fig. 4 c). Le verre s'use rapidement, aussi faut-il changer souvent de couteau et chaque changement se traduit par une perte d'une certaine portion du « bloc ». Les incon-

vénients du couteau de verre disparaissent avec l'emploi d'un couteau de diamant : il est possible de couper des objets très durs, comme de l'os, et d'obtenir un très grand nombre de coupes. Le ruban de coupes sériées obtenues est alors recueilli à la surface d'eau distillée contenue dans un godet fixé sur le rasoir de verre (fig. 4 *d* et *e*). La tension superficielle de l'eau suffit pour maintenir les coupes étalées. Par ailleurs, les coupes minces prennent, par suite des phénomènes d'interférence, une coloration qui varie en fonction de leur épaisseur :

jaune.	3 200 à 2 800 Å
vert..	2 800 à 2 400 Å
bleu.	2 400 à 1 900 Å
pourpre.	1 900 à 1 500 Å
or.	1 500 à 900 Å
argent.....	900 à 600 Å
gris.....	< 600 Å.

Seules les coupes or clair et argent seront prélevées pour être examinées au microscope électronique. Dans la pratique, l'obtention de coupes ultrafines est un travail de patience et de minutie.

Le ruban de coupes sériées flottant à la surface de l'eau est alors repêché à l'aide d'une petite grille à mailles très fines. Ce treillis a été préalablement recouvert d'un film support qui doit répondre aux caractéristiques suivantes : être transparent aux électrons, ne pas avoir de texture propre, être résistant mécaniquement, être « stable » (c'est-à-dire ne pas se déplacer sous le faisceau d'électrons). Les films utilisés sont, soit des films de formvar ou de collodion (100 à 200 Å d'épaisseur), soit des films de carbone (35 à 50 Å d'épaisseur). Le film de carbone est de loin le meilleur

car, tout en étant extrêmement mince, il est particulièrement stable sous le faisceau d'électrons. L'obtention d'un tel film s'effectue dans un appareil d'évaporation ; le carbone est alors évaporé sous vide à partir d'électrodes en graphite. La membrane de carbone est un film support excellent pour l'observation de particules en suspension, telles que les virions purifiés, par exemple.

E. COLORATION.

Avant d'être observées au microscope électronique, les coupes nécessitent une « coloration » ; cette dernière a pour but de renforcer le contraste des structures déjà mises en évidence par le fixateur. Parmi les nombreuses colorations employées, mentionnons celles au permanganate de potassium, à l'acétate d'uranyle, au citrate de plomb, ainsi qu'à l'acide phosphotungstique. Cette ultime étape nécessite également beaucoup de soin car les coupes doivent être bien contrastées tout en restant extrêmement propres.

La « coloration » est également employée pour l'observation directe d'objets de petites dimensions tels que les virus, les bactéries et les macromolécules ; la « coloration » est alors nommée « coloration négative ». En effet, celle-ci consiste à enrober les particules dans un matériel dense aux électrons, par l'intermédiaire de l'acide phosphotungstique ou de l'acétate d'uranyle. Enfin la technique de l'ombrage permet d'accentuer le relief de l'objet ; un métal approprié est évaporé sous vide, avec une incidence rasante sur la préparation et cette évaporation oblique produit un effet d'ombre. Ce procédé est très utilisé pour l'observation des particules virales et de macromolécules isolées.

III. LA CELLULE VÉGÉTALE OBSERVÉE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

Les efforts réalisés pour adapter les techniques de préparation des objets biologiques aux conditions imposées par la microscopie électronique ont été récompensés par l'importance des résultats obtenus. La microscopie photonique avait déjà permis de reconnaître l'existence des principaux organites cellulaires et d'étudier leur évolution au cours de la différenciation cellulaire (fig. 5). Cependant, les dimensions des structures à observer étaient souvent à la limite du pouvoir séparateur du microscope photonique, et la précision des résultats en était handicapée. En fait, le microscope électronique montre que chaque

organite possède une architecture propre, nommée « ultrastructure » (fig. 6). Les particules cellulaires à l'échelle submicroscopique se présentent alors principalement sous l'aspect d'un système lamellaire de membranes plasmiques dans le cas des mitochondries, des chloroplastes, du reticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi, soit sous celui d'un système granuleux et il s'agit alors de la chromatine nucléaire, du nucléole et des ribosomes. A l'état « jeune », la cellule végétale possède des caractéristiques dites « méristématiques ». Lors de la différenciation cellulaire, les structures cytologiques suivent

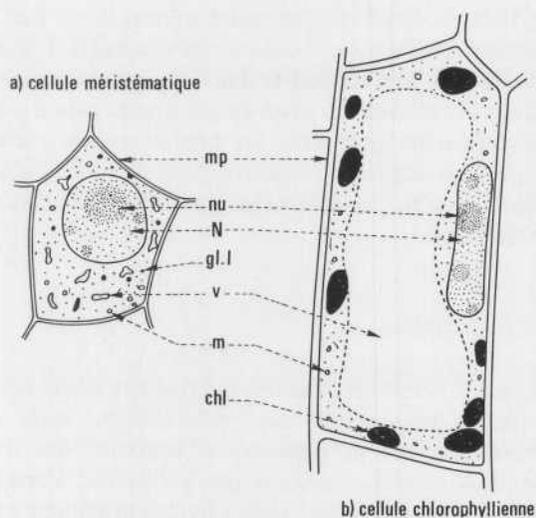
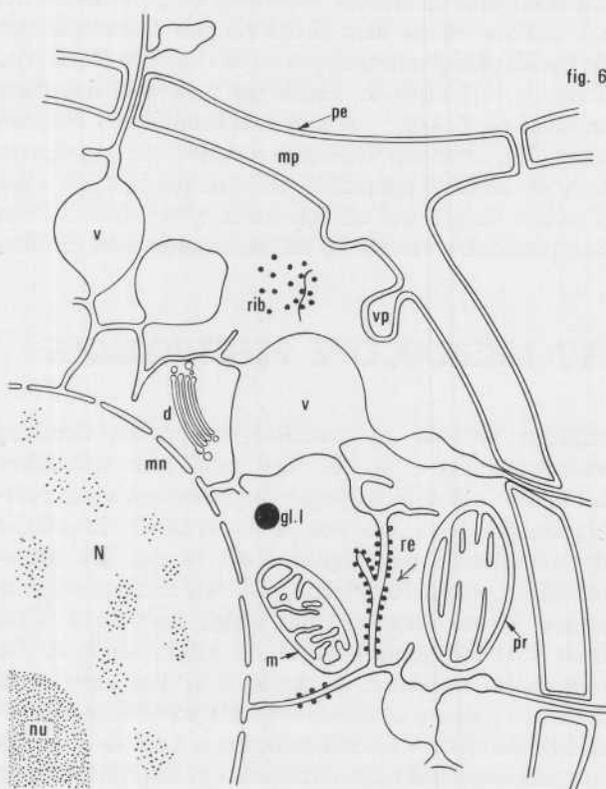


FIG. 5. — Représentation schématique de la cellule végétale observée au microscope photonique (chl : chloroplaste ; gl. l. globule lipidique ; m : mitochondrie ; mp : membrane pecto-cellulosique ; N : noyau ; nu : nucléole).

FIG. 6. — Schéma de la cellule végétale méristématique, vue au microscope électronique (d'après R. Buvat). d, dictyosome ; gl. l. globule lipidique ; m, mitochondrie ; mp, membrane pecto cellulosique ; mn, membrane nucléaire ; N, noyau ; nu, nucléole ; pe, pellicule ectoplasmique ; pr, proplaste ; re, reticulum endoplasmique ; rib, ribosomes ; v, vacuole ; vp, vésicule de pinocytose.



la diversification des fonctions physiologiques, et les cellules, indifférenciées au début, se spécialisent alors dans différents rôles : protection, photosynthèse, conduction de sève... En premier lieu, nous décrivons les caractéristiques d'une jeune cellule végétale de l'apex végétatif, puis d'une cellule adulte différenciée du parenchyme chlorophyllien. Ensuite nous étudierons les différentes infrastructures tout en montrant leur rôle physiologique.

A. LA CELLULE VÉGÉTALE A L'ÉTAT JEUNE (fig. 5 a, 6 et 7).

Une cellule méristématique de l'apex végétatif montre, au microscope photonique, les caractéristiques suivantes (fig. 5 a) : la cellule est de forme polyédrique ; elle a une dimension de 10 à 20 μ et une fine membrane pecto-cellulosique (mp) délimite son contour. Un noyau globuleux (N) de 7 à 12 μ de diamètre occupe la majeure partie de la cellule et comprend une inclusion ronde plus réfringente, le nucléole (nu). Le cytoplasme dont le fond est dit « optiquement » vide, renferme des particules présentant des aspects divers : soit des particules rondes ou en forme de batonnets, et il s'agit des mitochondries (m) ; soit des gouttelettes très réfringentes, et ce sont les globules lipidiques (gl. l.) ; soit des enclaves claires à contour irrégulier, et il s'agit des vacuoles (v).

La microscopie électronique, du fait de son pouvoir séparateur élevé (10 Å), a pu d'une part révéler l'existence des infrastructures qui, vu leur dimension, ne sont pas visibles au microscope photonique, d'autre part préciser la structure interne des particules déjà observées en microscopie photonique. En effet, en ce qui concerne le premier apport de la microscopie électronique, le cytoplasme, dit auparavant « optiquement » vide, renferme en réalité une multitude de particules granuleuses de 150 Å de diamètre, les ribosomes (fig. 6, fig. 7 et fig. 10 a, rib). Le microscope électronique a également révélé l'existence du *reticulum endoplasmique* : celui-ci se présente sous l'aspect d'un réseau de saccules ou de larges vésicules aplaties limitées par une membrane (fig. 7, re). Par ailleurs, les *dictyosomes* connus depuis longtemps dans les cellules animales étaient restés un sujet de polémique dans le cas des cellules végétales, vu leur petite taille ; le microscope électronique les montre constitués d'un empilement de fins saccules (fig. 6, 7 d).

Le deuxième apport essentiel de la microscopie électronique est celui d'avoir précisé la structure interne des particules cellulaires observées en microscopie photonique. La cellule montre alors l'aspect

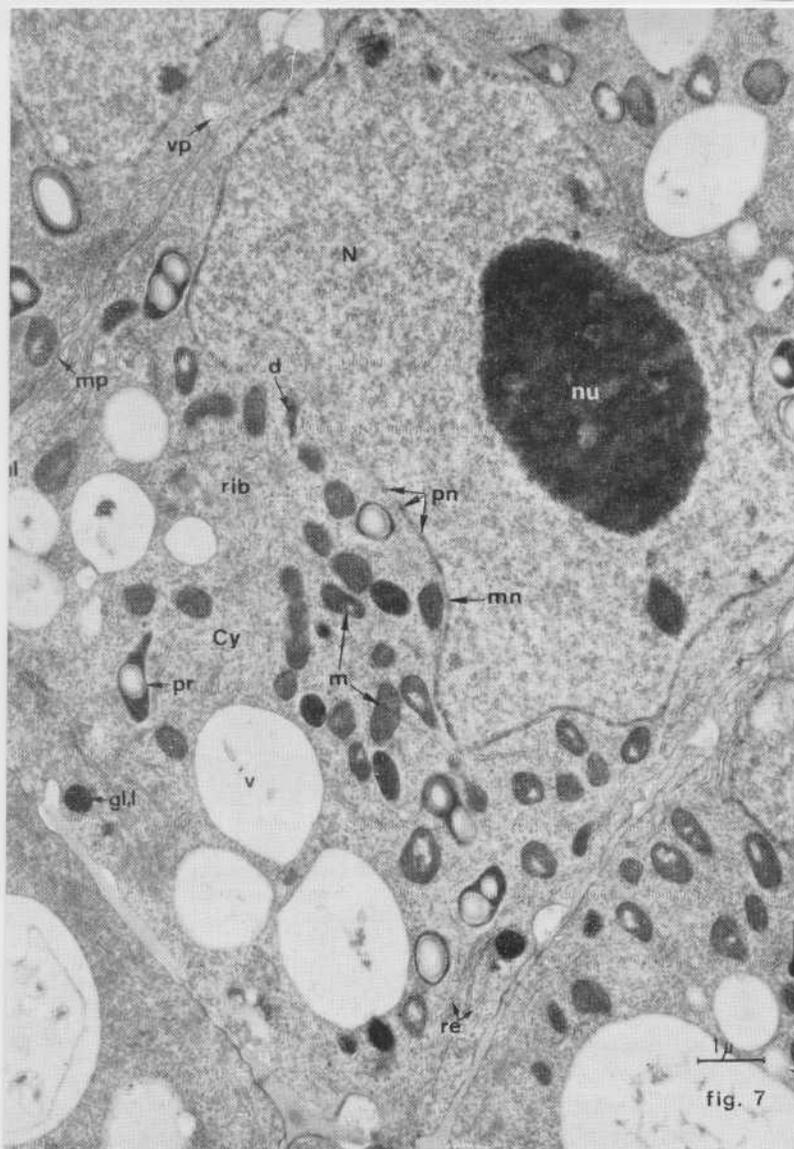


Fig. 7. — Cellule méristématique de *Cucumis sativus*. N : noyau entouré d'une membrane nucléaire mn, percée de pores nucléaires pn; nu : nucléole très osmiophile; mp : membrane pectocellulosique montrant des vésicules de pinocytose, vp; pl : plasmodesmes; Cy : cytoplasme riche en mitochondries, m, en reticulum endoplasmique, re, en proplastes amylières, pr, et en ribosomes, rib; d : dictyosome; gl. l. : globule lipidique; v : vacuole. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 13\ 000$.) (Cliché N. Poux.)

suivant : le noyau (N) est constitué d'une chromatine à l'aspect granuleux, et il est nettement délimité par une double membrane nucléaire (mn), interrompue par des pores nucléaires (pn) (fig. 6 et 7) ; le nucléole, à l'aspect également granuleux, montre après fixation une forte densité aux électrons (fig. 7, nu). Par ailleurs, dans le cytoplasme se trouvent les mitochondries, infrastructures sphériques, constituées d'une membrane externe continue et d'une membrane interne qui s'invagine pour former les crêtes mitochondriales. Les proplastes présentent la même infrastructure que les mitochondries, et ils renferment souvent de l'amidon (fig. 6, 7, pr). En outre, l'appareil vacuolaire se présente, dans la cellule méristématique, sous l'aspect

de plusieurs enclaves claires disséminées dans le cytoplasme, chacune étant délimitée par une membrane plasmique ou tonoplaste (fig. 6 et 7, v). Par ailleurs, la membrane pectocellulosique (mp) qui apparaissait continue en microscopie photonique, est en réalité interrompue localement (fig. 7, pl) ; de plus, elle est bordée par une fine membrane plasmique, la pellicule ectoplasmique (fig. 6, pe) ; souvent des évaginations à partir de la membrane pectocellulosique se produisent en direction du cytoplasme, et celles-ci sont nommées vésicules de pinocytose (fig. 6 et 7, vp).

De cette description nouvelle de la cellule végétale, un fait important ressort. En effet, les interruptions de la membrane nucléaire (fig. 7 pn) et de la membrane pectocellulosique (fig. 7, pl), ainsi que les connections du reticulum endoplasmique avec la membrane nucléaire et avec l'appareil vacuolaire donnent une conception nouvelle de la cellule végétale. Celle-ci doit être considérée, non plus comme une unité qui se suffit à elle-même, mais comme un état « syncitial » en relation étroite avec les cellules avoisinantes.

B. UNE CELLULE VÉGÉTALE ADULTE : LA CELLULE CHLOROPHYLLIENNE (fig. 5 b et 8).

La cellule méristématique a considérablement grandi pour devenir une cellule du parenchyme palissadique, et elle a acquis une forme rectangulaire (fig. 5 b ; fig. 8 a). Sa taille peut s'accroître jusqu'à atteindre cinq fois sa dimension primitive ; par contre le diamètre du noyau ne fait que doubler. La cellule, dont les membranes latérales se sont épaissies, est principalement occupée par une grande vacuole centrale (fig. 5 b ; fig. 8 a, v) ; celle-ci a repoussé en périphérie le noyau de forme ovoïde ainsi que les infrastructures cytoplasmiques (fig. 5 b ; fig. 8). Le chondriome comprend maintenant des mitochondries sphériques ou ovoïdes (fig. 8 a, et fig. 10 a, m) et des chondriocontes nettement allongés, tous deux étant pourvus de crêtes bien développées (fig. 20 b, ch). En plus des ribosomes, on peut observer comme dans la cellule « méristématique », des dictyosomes ainsi que des réseaux de reticulum endoplasmique. Les proplastes de la cellule « méristématique » sont devenus des chloroplastes limités par leur membrane plastidiale et renfermant un système lamellaire constitué essentiellement de grana ou empilement de disques (granum) au sein d'un stroma granuleux (fig. 8 ; chl).

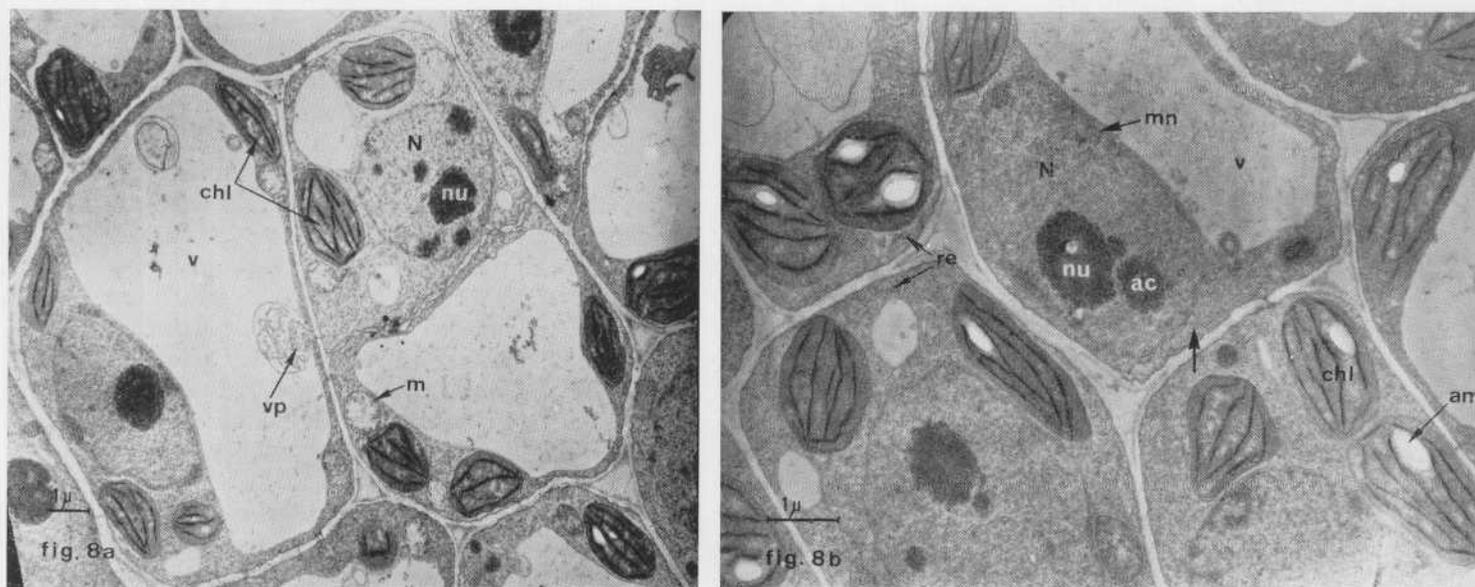


FIG. 8. — *a.* — Cellules chlorophylliennes de *Brassica chinensis*, pourvues de grandes vacuoles, *v*, et de chloroplastes, *chl*; *N* : noyau et son nucléole, *nu*; *m* : mitochondrie. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 8\ 400$). *b.* — Cellules chlorophylliennes de *Brassica chinensis*; relations entre le reticulum endoplasmique, *re*, et la membrane nucléaire, *mn*; *N* : noyau pourvu d'un nucléole, *nu* et d'amas de chromatine dense, *ac*; *chl* : chloroplaste pourvu d'amidon, *am*; *v* : vacuole : la flèche indique une continuité de la membrane nucléaire externe avec le reticulum endoplasmique. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 14\ 000$.)

Il faut bien remarquer que par rapport à la cellule méristématique, la cellule différenciée s'est considérablement enrichie en produits d'élaboration cellulaire tels que les dépôts membranaires, les produits hydrosolubles accumulés dans l'appareil vacuolaire et des constituants insolubles tels que l'amidon et les formations de nature lipidique. Ces substances constituent le paraplasme et s'opposent au protoplasme cellulaire.

Rappelons que la cellule animale se différencie principalement de la cellule végétale par l'absence de vacuole et de plaste, par une membrane dépourvue de cellulose, et par la présence d'un centriole au voisinage du noyau.

C. LE NOYAU.

Le noyau découvert par Brown en 1833 (voir Frey-Wissling & Muhlethaler, 1965), est l'organite cellulaire primordial. D'une part, il permet la division de la cellule en deux cellules filles, d'autre part, il fournit l'information génétique nécessaire pour la synthèse des protéines cellulaires. Nous étudierons successivement le noyau à l'état quiescent et le noyau au moment de la division cellulaire.

1) *Le noyau quiescent.*

Les observations vitales faites au microscope photonique ont permis de considérer le noyau comme une inclusion faiblement réfringente bordée par une membrane et pourvue d'une ou deux masses globuleuses correspondant aux nucléoles (fig. 5). Pour les observations « non vitales » la bonne fixation du noyau est difficile à obtenir et elle doit s'effectuer à *pH* légèrement acide. Néanmoins les résultats de microscopie photonique montrent qu'il existe plusieurs structures de noyaux quiescents et que celles-ci caractérisent une famille ou une espèce : le noyau paraît constitué d'un réseau à mailles fines et serrées (structure nucléaire « euréticulée »), ou bien d'un fond homogène avec condensation de la chromatine en amas denses appelés chromocentres (structure « aréticulée » à chromocentres).

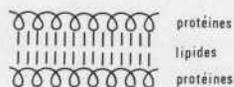
L'apport de la microscopie électronique dans l'étude de la structure fine du noyau a été beaucoup moins spectaculaire que pour les autres infrastructures cytoplasmiques. La raison en réside dans le fait qu'il n'existe pas de systèmes de membranes plasmiques entre les diverses structures nucléaires. Les macromolécules fibreuses de DNA sont très denses et très contournées ; il faudrait observer l'ultrastructure de

FIG. 9. — *a.* — Détail d'un noyau de *Brassica chinensis* montrant la chromatine, chr, de structure diffuse et plus ou moins fibrillaire; ac : amas de chromatine ou chromocentre; nu : nucléole très dense aux électrons, montrant une structure compacte et granulaire; mn : membrane nucléaire; Cy : cytoplasme riche en ribosomes, rib; v : vacuole limitée par le tonoplaste, t. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 40\ 000$). *b.* — Coupe tangentielle d'un noyau de *Curcubita pepo*, au niveau de la membrane nucléaire, montrant les pores nucléaires, pn. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 76\ 000$.)

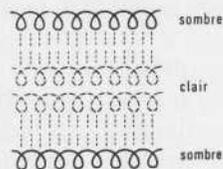
la chromatine sur des sections encore plus fines. Par ailleurs, il est très difficile d'obtenir une bonne fixation nucléaire; la cause semble être due à la complexité de l'équilibre physico-chimique entre le DNA, le RNA, les protéines et les molécules d'eau...

Toutefois les résultats des observations faites au microscope électronique sont les suivants. Le noyau est limité par une double membrane faite de deux membranes simples associées: une membrane externe et une membrane interne. Chaque membrane simple a une épaisseur de 80 Å. Les deux membranes simples enserrant entre elles un espace clair de 200 à 300 Å.

Une membrane simple se présente en général comme étant formée d'une couche médiane « claire » de 30 Å d'épaisseur encadrée de part et d'autre d'une couche sombre, dense aux électrons, de 25 Å d'épaisseur, l'ensemble ayant une épaisseur de 80 Å. La couche médiane serait de nature lipidique, les deux autres de nature protidique. L'association de deux mem-



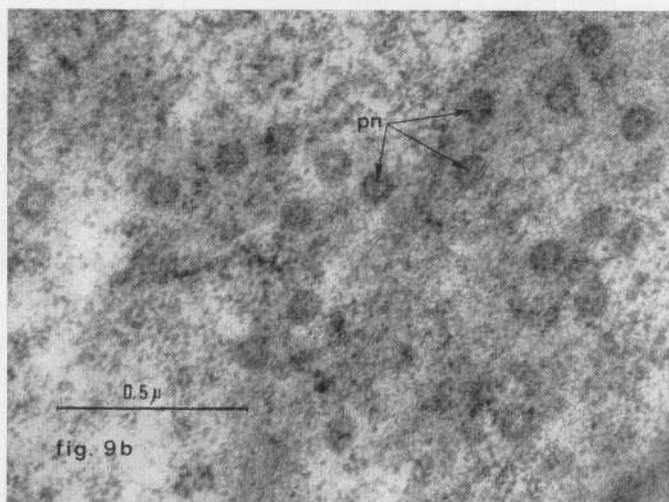
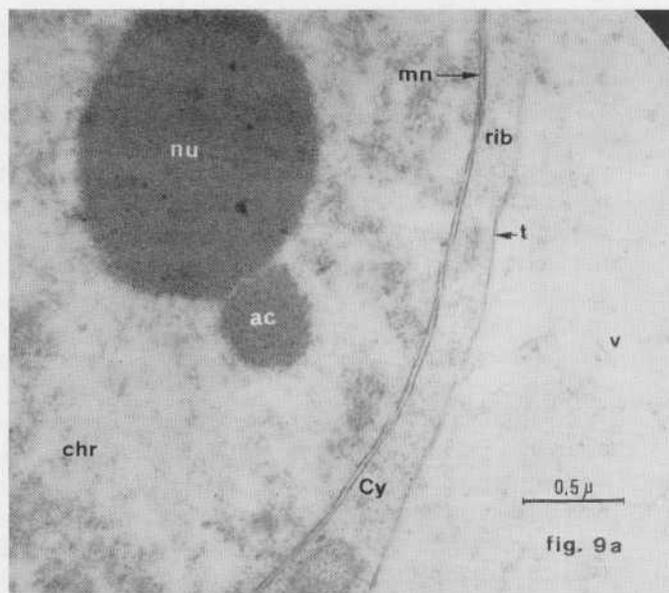
branes simples donne une membrane double dont souvent seules les couches externes apparaissent sombres après fixation. Pour certains, la membrane



simple précédente serait l'unité de base de toutes les membranes plasmiques (ROBERTSON, 1960) (schéma 1).

La membrane nucléaire est interrompue par des pores de 700 à 1 000 Å de diamètre (fig. 7, pn). Des coupes tangentielles de la surface du noyau permettent de bien observer les pores nucléaires (fig. 9 b, pn).

Le noyau est constitué de chromatine à l'aspect



diffus et plus ou moins granuleux (fig. 9 a). Dans le noyau de type « chromocentrique » qui est le plus fréquemment observé, la chromatine est lâchement organisée dans certaines régions et condensée en amas dans d'autres (fig. 9 a; ac); ces amas ou chromocentres sont disséminés dans le nucléoplasme, ou bien appliqués soit contre la membrane nucléaire, soit contre le nucléole. Pour connaître l'infrastructure de la chromatine, les cytologistes se sont adressés à des chromosomes despiralés de noyaux non quiescents (RIS, 1954), ils observent des microfibrilles très contournées de 500 Å de diamètre; après l'action de la désoxyribonucléase (DNase), l'aspect des fibrilles est inchangé, amenant à penser que le DNA est axial et

entouré par les protéines qui le protègent contre l'action de la DNase.

Le noyau est pourvu d'un nucléole de 2 à 3 μ de diamètre (fig. 7, 8, 9 a ; nu). Il est composé de particules denses aux électrons, de 150 Å de diamètre environ, et de nature ribonucléique ; ces particules ressemblent en tout point aux ribosomes. Le nucléole montre souvent une hétérogénéité infrastructurale : une zone fibrillaire peut être distinguée d'une zone granulaire et d'une zone amorphe. Les parties fibrillaire et granulaire sont de nature ribonucléique alors que la partie amorphe est de nature protéique (GEUSKENS et BERNHARD, 1966).

En administrant à des cellules un précurseur radioactif des acides ribonucléiques tel que l'uridine tritiée, la technique d'autoradiographie combinée à la microscopie électronique permet de montrer que la radioactivité apparaît surtout dans le nucléole, indiquant que ce dernier est impliqué dans la synthèse du RNA.

Bien que le cytologiste le décrive comme étant au « repos » entre deux divisions cellulaires, le noyau n'en est pas moins le siège d'une intense activité biochimique. On sait en effet que c'est le DNA, contenu dans les chromosomes du noyau, qui détient l'information génétique nécessaire à la synthèse des enzymes spécifiques dont la cellule a besoin à chaque instant. Cette « information » réside plus précisément dans la séquence suivant laquelle les bases, puriques et pyrimidiques, se succèdent le long de la molécule de DNA : telle séquence le long de tel segment de DNA et telle sera l'enzyme. C'est l'un des mérites essentiels de l'école française de biochimie, animés par les chercheurs de l'Institut Pasteur, d'avoir mis en évidence le mécanisme par lequel l'information contenue dans le DNA, se traduit par la synthèse des protéines spécifiques. Ce mécanisme implique un « intermédiaire » ou, suivant l'expression consacrée, un « messenger » pour véhiculer l'information qui réside dans un segment donné du DNA vers les ribosomes, lieu de synthèse des protéines. Ce messenger est un acide ribonucléique (RNA) particulier, appelé de ce fait RNA-messenger. Pour jouer son rôle de messenger, le RNA-messenger doit comporter lui aussi l'information que contient le segment de DNA qui lui correspond : la façon même dont il est synthétisé lui assure la possession de cette information. En effet, la chaîne de DNA joue le rôle de « moule » pour la synthèse des RNA-messenger. Chaque molécule de RNA-messenger est en quelque sorte une copie conforme d'un segment de la chaîne de DNA. La règle qui préside à cette « copie » est celle de la complémentarité : elle fait correspondre à la base

adénine (A) dans le DNA, la base uracile (U) dans le RNA-messenger. De même aux bases cytosine (C), guanine (G) et thymine (T) dans le DNA correspondent respectivement les bases G, C et A dans le RNA-messenger. Ainsi à un segment de DNA ayant la séquence :

— T G A C G A C —

correspond le segment de RNA ayant la séquence :

— A C U G C U G —

Les bases A et T (ou U) sont dites complémentaires ; il en est de même du couple C et G. Cette complémentarité vient du fait que les deux bases A et T (ou U) et les deux bases G et C peuvent former aisément entre elles des liaisons hydrogènes.

D'une façon générale, dans la cellule normale toute synthèse de RNA se fait au moyen d'un « moule » de DNA, ou comme on dit, d'une « matrice » de DNA. Nous verrons plus loin que toute synthèse de protéine se fait au moyen d'une matrice de RNA. Ainsi, partant des chromosomes, siège de l'information génétique, et allant aux ribosomes, site de la synthèse protéique, l'information génétique emprunte le trajet suivant :

DNA $\xrightarrow{\text{transcription}}$ RNA $\xrightarrow{\text{traduction}}$ Protéine

Ce trajet qui va de la « transcription » du DNA en RNA à la « traduction » du RNA en protéine résume ce qu'on appelle le « dogme central » de la biologie : la synthèse du RNA a pour matrice du DNA et la synthèse des protéines a pour matrice du RNA. Dans certains cas la synthèse du RNA peut utiliser comme matrice un RNA (cas du RNA de virus).

Le noyau avec sa membrane nucléaire est l'apanage des Eucaryotes. Chez les bactéries, les chromosomes ne sont pas contenus dans une structure spécialisée pourvue d'une membrane : ce sont des organismes Procaryotes. De très récents travaux indiquent que chez les bactéries la synthèse des protéines serait concomitante de la synthèse du RNA et elle commencerait le long de la chaîne du RNA-messenger avant même que la synthèse de celle-ci ne soit terminée : au fur et à mesure que la chaîne du RNA-messenger est synthétisée et s'allonge, les ribosomes s'y fixent et la synthèse de la protéine spécifique se déroule. Pour qu'il puisse en être ainsi, les ribosomes doivent avoir un libre accès auprès du site de synthèse du RNA-messenger le long de sa matrice de DNA. Cette question ne pose pas de problèmes dans le cas des Procaryotes, mais elle soulève une difficulté dans le cas des Eucaryotes. Chez ces organismes, on est alors amené à concevoir par exemple que l'attachement des ribosomes cytoplasmiques au RNA-messenger synthétisé dans le noyau se fait au niveau des pores de la mem-

brane nucléaire et que les ribosomes ainsi chargés de leur RNA-messenger continuent la synthèse de la protéine dans le cytoplasme.

Ce rapide tour d'horizon montre la complexité des réactions qui se déroulent dans le noyau « au repos ». La biochimie a cependant trouvé un biais d'attaque pour l'étude de ces réactions et les progrès qui ont été réalisés au cours des dernières années sont considérables. Qu'il suffise de citer simplement les travaux qui ont permis d'élucider les problèmes de la régulation de la synthèse protidique. En effet, les quelques milliers d'enzymes pour lesquelles une cellule possède l'information dans son DNA, ne sont pas synthétisées toutes ensemble en même temps. Il doit donc exister des mécanismes qui assurent, à un moment donné et dans des conditions déterminées, que seules les enzymes nécessaires à ce moment et dans ces conditions, soient synthétisées, la synthèse des autres étant bloquée, ou comme on dit « réprimée ». L'élucidation de ces mécanismes est en grande partie l'œuvre des chercheurs de l'Institut Pasteur.

2) *Le noyau lors de la division cellulaire.*

La division d'une cellule en deux cellules filles commence avec l'apparition des chromosomes. La microscopie électronique n'a apporté que très peu de connaissances nouvelles par rapport aux observations faites en microscopie photonique. Après fixation osmique, les chromosomes vus au microscope électronique paraissent constitués d'un matériel finement fibrillaire, fait d'un réseau de chaînes anastomosées.

Du point de vue biochimique, lors de la division cellulaire, l'information génétique de la cellule mère doit être transmise aux cellules filles, autrement dit celles-ci doivent recevoir le même « stock » de DNA que celui qui existait dans la cellule mère. Cela pose le problème de la « division » du DNA. Pour le comprendre il convient d'abord de connaître la structure exacte de la molécule de DNA : les travaux de Watson et Crick ont été déterminants dans ce domaine. Le DNA n'existe pas *in vivo* à l'état de molécule monocaténaire, c'est-à-dire constitué d'une seule chaîne : il est toujours formé de deux chaînes. Ces deux chaînes sont complémentaires l'une de l'autre suivant la règle que nous avons indiquée plus haut, c'est-à-dire que si l'une a la séquence de base :

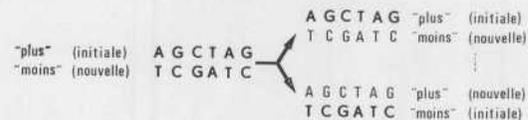
.... A T G T C G A T l'autre aura la séquence complémentaire :

.... T A C A G C T A

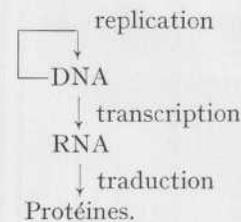
Les deux chaînes sont maintenues ensemble par des liaisons hydrogènes entre les bases deux à deux com-

plémentaires, et les forces intramoléculaires sont telles que les deux chaînes sont enroulées en spirale, l'une autour de l'autre. On peut convenir d'appeler l'une des deux chaînes complémentaires la chaîne « plus » et l'autre la chaîne « moins ».

Pour que le DNA puisse être transmis identique à lui-même de cellules en cellules filles, il doit être auto-reproductible, autrement dit il doit servir de matrice à sa propre synthèse. Sa structure bicaténaire permet de comprendre comment il peut en être ainsi. Lors de la division cellulaire, la chaîne « plus » sert de matrice pour la synthèse d'une nouvelle chaîne « moins » et de même la chaîne « moins » constitue la matrice pour la synthèse d'une nouvelle chaîne « plus ». Dans les deux molécules obtenues la nouvelle chaîne « moins » est associée à sa matrice, la chaîne « plus » initiale ; de même la nouvelle chaîne « plus » demeure liée à sa matrice la chaîne « moins » initiale. Ainsi on obtient deux molécules de DNA bicaténaire, identiques à la molécule bicaténaire initiale. La chaîne « plus » initiale se retrouve dans l'une des deux nouvelles molécules, la chaîne « moins » initiale dans l'autre :



La synthèse de DNA qui à partir d'une molécule se traduit par l'obtention de deux molécules identiques à la molécule initiale constitue ce qu'on appelle la « replication » du DNA. Le trajet complet de l'information génétique peut alors se résumer comme suit :



D. LE CHONDRIOME.

Le chondriome découvert par Altman en 1890, est constitué de particules de petite dimension (0,5 à 2 μ) et de forme variée : l'appellation mitochondrie est attribuée aux organites sphériques et ovoïdes, alors que les formes allongées, en bâtonnet ou parfois en hâtere, sont nommées chondriocontes. Le pouvoir

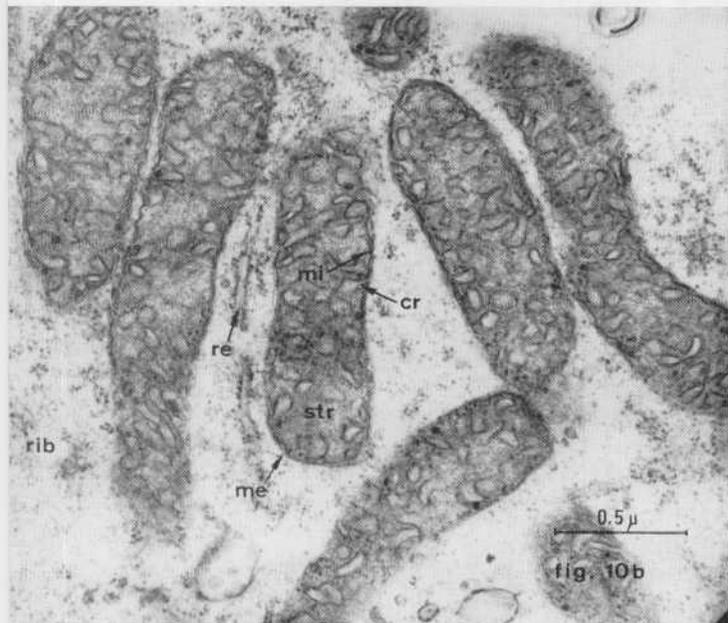
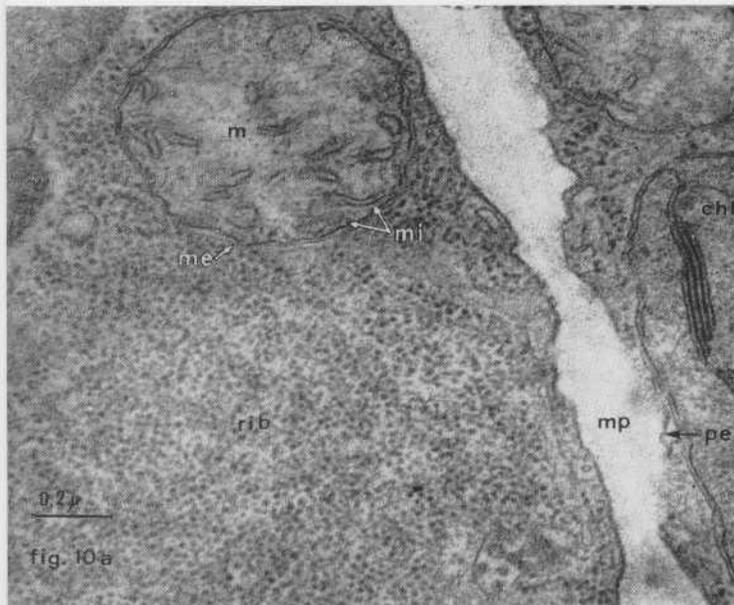


FIG. 10. — *a.* — Détail d'une cellule chlorophyllienne de *Brasica chinensis*, avec de nombreux ribosomes, rib; m, mitochondrie avec sa membrane externe, me, continue et sa membrane interne, mi, dont les replis forment les crêtes mitochondriales; mp : membrane pectocellulosique bordée par une fine membrane, la pellicule ectoplasmique, pe; chl : chloroplaste. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 80\,000$). *b.* — Mitochondries de Bananier; me, membrane externe continue; mi, membrane interne dont les replis constituent les crêtes mitochondriales, cr; str, stroma mitochondrial; re, reticulum endoplasmique; rib, ribosomes. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 52\,000$.)

séparateur du microscope photonique ne permettait pas de discerner les détails de structure d'organites aussi petits. Le microscope électronique a révélé une ultrastructure de type lamellaire (PALADE 1952; SJÖSTRAND 1953). Une mitochondrie se présente alors de la manière suivante (fig. 10 *a*, m); après fixation osmique, elle apparaît limitée par deux membranes, l'une externe (me) et l'autre interne (mi), de 80 Å d'épaisseur chacune; l'espace « clair » qui les sépare est de 100 Å environ. Le feuillet externe est continu tandis que le feuillet interne, en plusieurs points, s'invagine dans le stroma mitochondrial (str) en crêtes mitochondriales ou « cristae » (cr), de 200 Å de diamètre environ, (fig. 10 *a* et *b*; fig. 11 *a* et fig. 12). Dans les cellules à caractère méristématique, les crêtes sont nombreuses et courtes, alors que dans les cellules différenciées et physiologiquement actives, les mitochondries présentent un développement considérable des replis du feuillet interne. La constitution chimique des membranes externe et interne est de nature phospholipidique. Par ailleurs, les techniques de la coloration négative appliquées à des fragments de mitochondries, ont permis de montrer que les membranes des crêtes sont recouvertes d'une profusion de petites particules sphériques de 85 Å de diamètre, rattachées à la membrane par un pédoncule et une pièce basale. Ces grains ne sont pas visibles sur les coupes ultrafines; ils se trouveraient détruits par la fixation. La membrane externe est dépourvue de telles particules.

La mitochondrie est essentiellement le siège de trois grandes fonctions physiologiques :

1) Le cycle de Krebs, ou cycle des acides tricarboxyliques, dont le déroulement aboutit à la réduction du nicotinaamide-adenine dinucléotide (NAD) en NADH_2 et à la formation de succinate ;

2) le transport d'hydrogène ou d'électrons, qui amène les hydrogènes ou les électrons du NADH_2 ou du succinate à l'oxygène moléculaire qui joue le rôle d'accepteur final ;

3) au cours de ce transport d'hydrogène ou d'électrons l'énergie libre de certaines réactions exergoniques est utilisée pour assurer la phosphorylation de l'adénosine diphosphate (ADP) en adénosine triphosphate (ATP) au moyen de phosphate minéral : cette phosphorylation, dite oxydative, parce que l'oxygène moléculaire y joue le rôle d'accepteur, ultime, d'électrons, constitue la troisième fonction de la mitochondrie. Cycle de Krebs, transport d'électrons et phosphorylation oxydative ont été décrits dans un article antérieur (BOVÉ, 1961) et leur ensemble constitue la respiration.

Ces trois fonctions ne sont pas indépendantes les

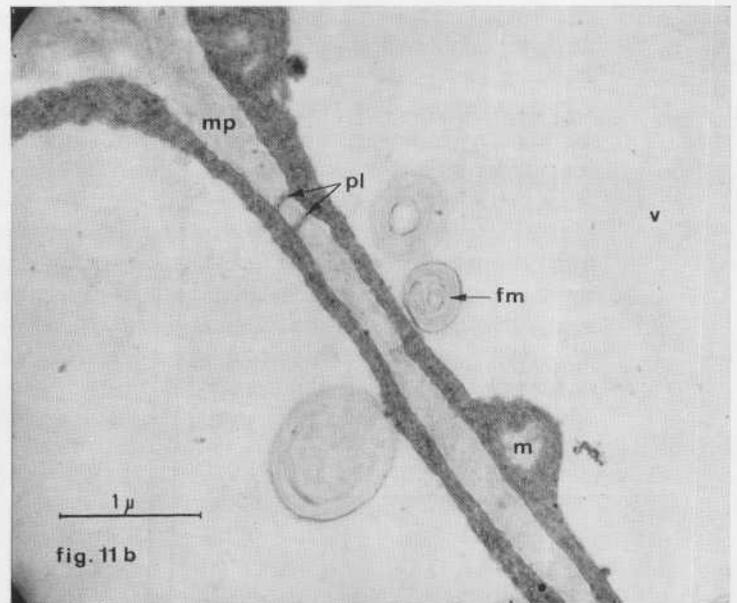
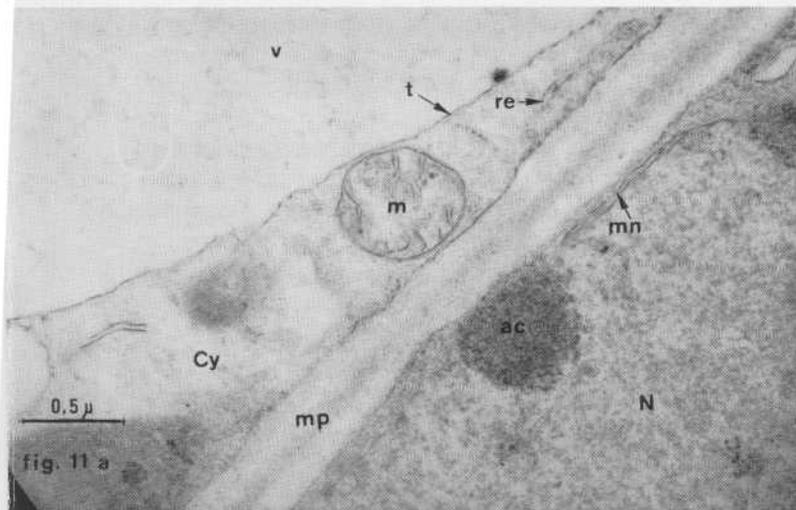


FIG. 11. — Détails d'une cellule chlorophyllienne de *Citrange Troyer*. *a.* — mp : membrane pecto-cellulosique; Cy : cytoplasme pourvu de mitochondries, m, et de reticulum endoplasmique, re; v : vacuole limitée par un tonoplaste, t; N : noyau bordé par sa membrane nucléaire, mn; ac : amas de chromatine. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 40\ 000$). *b.* — mp : membrane pecto-cellulosique interrompue par les plasmodesmes, pl; fm : formation membranaire à partir de la paroi cellulaire; m : mitochondrie. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 28\ 000$.)

unes des autres. C'est justement l'organisation structurale de la mitochondrie qui assure la coordination harmonieuse de ces fonctions. Ainsi les enzymes du cycle de Krebs, sont localisées sur la membrane externe. Il en est de même du complexe « pyruvate deshydrogénase » et des enzymes de la β -oxydation des acides gras. Le fonctionnement de l'un ou l'autre de ces deux systèmes enzymatiques aboutit à la formation d'acétyl coenzyme A. Or l'acétyl coenzyme A peut être considéré comme le point de départ du cycle de Krebs dont les enzymes sont également localisées dans la membrane externe. Les particules sphériques attachées à la membrane interne seraient le siège du transport d'électrons alors que la phosphorylation oxydative et les deshydrogénases mitochondriales seraient localisées dans la membrane interne proprement dite.

Enfin il convient d'indiquer que la mitochondrie peut contrôler sa perméabilité et ce contrôle est en relation avec la membrane externe. La mitochondrie peut également se contracter de même qu'elle peut accumuler des ions : ce travail mécanique et ce travail osmotique sont reliés au transport d'électrons et à la phosphorylation, donc à la membrane interne.

E. LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE.

Le reticulum endoplasmique a été mis en évidence en microscopie électronique en 1945 par Porter, Claude et Fullam, avant même la construction d'ultramicrotome : l'observation portait sur des cellules en culture qui s'étaient étalées en couche très mince et permettaient de mettre en évidence un réseau de filaments ou « reticulum ». Quelques années plus tard, ce reticu-

FIG. 12. — Schéma d'une mitochondrie ou d'un chondrioconte et d'une crête mitochondriale. cr : crête mitochondriale; me : membrane externe; mi : membrane interne; CL : couche phospholipidique; CP : couche protéique; str : stroma mitochondrial.

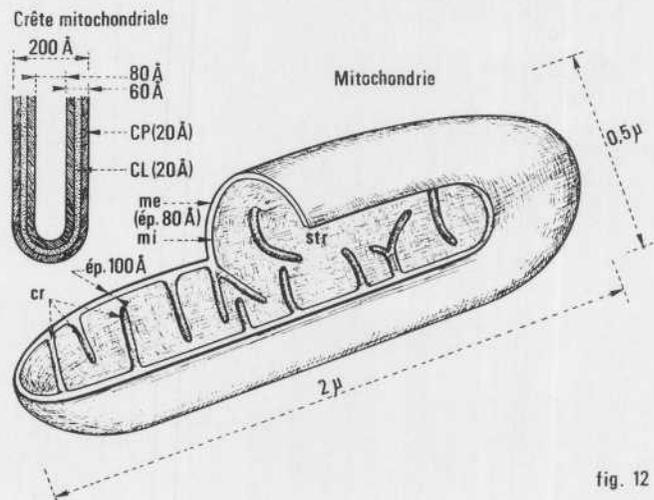


fig. 12

lum endoplasmique était observé avec certitude sur des coupes ultrafines de tissu hépatique (PALADE et PORTER, 1954), et de méristème radulaire (BUVAT et CARASSO, 1957). Les travaux dans ce domaine ont montré depuis la généralité de ce système, tant dans les cellules animales que dans les cellules végétales.

Le reticulum endoplasmique se présente comme un réseau de cavités très aplaties ou « saccules » parcourant tout le cytoplasme (fig. 7, 13 et 14, re). Les sections ultrafines montrent que ces fins « saccules » sont constitués de membranes plasmiques de 80 Å d'épaisseur (unité membranaire) enserrant un espace « clair » de 100 à 200 Å d'épaisseur (fig. 13, 14 et 16 a). Ainsi constitué, le reticulum apparaît comme un sys-

tème bimembranaire ; il peut se dilater localement à la suite d'une séparation de ses deux membranes (fig. 14). Par ailleurs, cette infrastructure montre deux aspects différents : les saccules peuvent être recouverts de ribosomes, grains opaques aux électrons après fixation, de 150 à 200 Å de diamètre, et dans ce cas le reticulum est dit à surface rugueuse ; les saccules peuvent être également dépourvus de ribosomes, et dans ce cas le reticulum est dit à surface lisse. Les ribosomes responsables de l'aspect rugueux du reticulum sont composés de 60 % de RNA et de 40 % de protéine ; les membranes lisses sont constituées de protéine et de phosphoaminolipides comme dans la membrane plasmique.

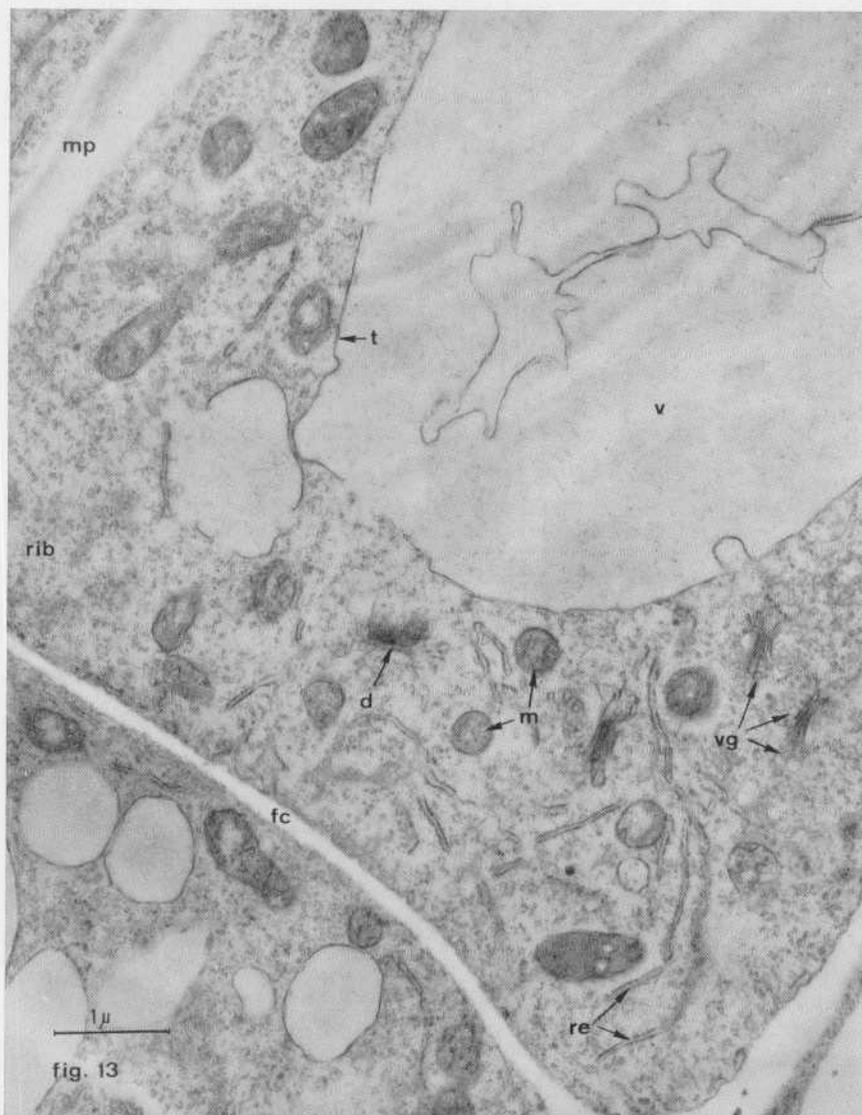
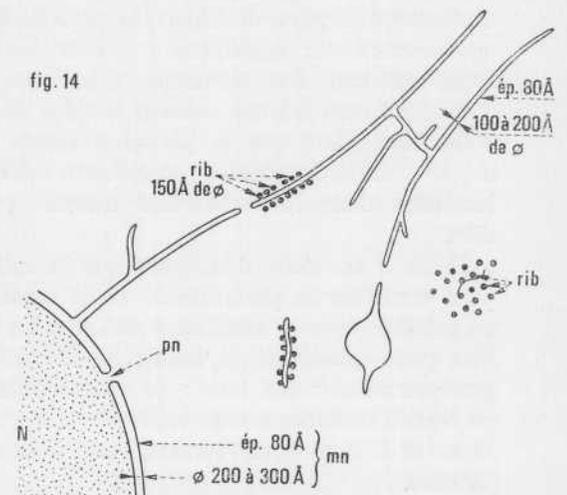


FIG. 13. — Détail d'une jeune cellule criblée de *Phaseolus vulgaris* ; cytoplasme riche en mitochondries, m, en reticulum endoplasmique, re, en ribosomes, rib, et en dictyosomes, d, pourvus de leurs vésicules golgiennes, vg ; v : vacuole limitée par le tonoplaste, t ; fc : futur criblé ; mp : membrane pectocellulosique. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié ; $\times 23\ 000$.)

FIG. 14. — Schéma d'un reticulum endoplasmique, montrant son aspect en réseau et ses rapports avec la membrane nucléaire, mn, du noyau, N ; pn : pore nucléaire ; rib : ribosomes.



Il est important de remarquer que les saccules du reticulum endoplasmique peuvent passer d'une cellule à une autre au niveau des interruptions de la membrane cellulaire ou plasmodesmes (fig. 6). De plus, il existe des relations entre le système lamellaire du reticulum endoplasmique et le noyau. En effet, souvent la membrane nucléaire externe présente des évaginations en direction des saccules du reticulum endoplasmique (fig. 8 *b* et 14), et certains voient là l'origine du reticulum endoplasmique. D'autres, inversement, voient plutôt dans le reticulum endoplasmique l'origine de la membrane nucléaire. Que le reticulum endoplasmique soit formé à partir de la membrane nucléaire ou que celle-ci soit formée à partir de celui-là, il n'en demeure pas moins qu'il existe une solution de continuité entre l'espace clair de la membrane nucléaire et celui du reticulum endoplasmique. Par ailleurs, le reticulum endoplasmique peut se renfler localement en de petites vacuoles et cette observation suggère qu'il puisse avoir un rapport avec l'appareil vacuolaire.

En résumé, on peut envisager le reticulum endoplasmique comme un réseau par lequel les produits d'élaboration du noyau sont acheminés à travers toute la cellule.

Le rôle physiologique du reticulum endoplasmique à surface rugueuse, semble clair : par ses ribosomes, il doit participer activement à la synthèse des protéines cellulaires. En effet, dans les cellules sécrétrices qui synthétisent des protéines à un taux élevé (cellules pancréatiques), le reticulum est constitué d'un empilement très serré de longs saccules granulaires. De même le réseau « rugueux » est bien développé dans les cellules végétales jeunes qui doivent synthétiser activement des protéines pour leur croissance. Si dans l'esprit de nombreux biologistes le reticulum à surface rugueuse est associé à la synthèse protidique, le rôle de la partie lisse du reticulum reste par contre encore assez confus. Le reticulum à surface lisse est très développé dans les cellules différenciées telles que les cellules criblées et il doit collaborer avec les dictyosomes (voir plus loin) à l'élaboration membranaire. Dans les cellules animales, il semble intervenir dans le métabolisme lipidique.

Il convient de souligner à nouveau que le reticulum endoplasmique est un réseau qui passe de cellule en cellule et parcourt toute la plante ; aussi doit-il avoir un rôle important dans le transport des substances élaborées par la cellule et il peut être considéré, dans le cas des végétaux, comme un véritable appareil circulatoire.

En résumé, le rôle du reticulum endoplasmique peut être considéré comme multiple :

- 1) synthèse des protéines au niveau des ribosomes des lamelles rugueuses ;
- 2) synthèse des lipides et des glucides complexes ;
- 3) transport de ces produits de synthèse vers les sites d'utilisation ou de mise en réserve ;
- 4) contrôle de l'utilisation de ces produits ;
- 5) rôle de précurseur pour d'autres systèmes membranaires tels que l'appareil de Golgi (voir plus loin), ou même la membrane nucléaire.

De toutes ces fonctions celle qui a été la plus étudiée est la synthèse des protéines. Pour qu'une telle synthèse puisse avoir lieu *in vivo*, il n'est pas nécessaire que les ribosomes soient localisés à la surface des membranes du reticulum endoplasmique : ils peuvent être libres dans le cytoplasme et dans ce cas ils peuvent être ou indépendants les uns des autres ou bien groupés à plusieurs et réunis entre eux par une chaîne de RNA-messenger ; l'ensemble de plusieurs ribosomes liés à une même chaîne de RNA-messenger constitue un « polysome » (fig. 16 *b*). A l'heure actuelle il est bien établi que les ribosomes sont les sites où la synthèse des protéines a lieu, mais il est prouvé également que ce ne sont pas les ribosomes eux-mêmes qui déterminent la spécificité de la protéine synthétisée. Comme nous l'avons vu plus haut, c'est le RNA-messenger qui dicte la nature de la protéine à synthétiser. Le ribosome sans RNA-messenger ne peut rien : il est équivalent à un ordinateur auquel on n'aurait pas donné de programme. Ce n'est que muni du RNA-messenger que le ribosome possède l'information nécessaire pour réaliser la synthèse d'une protéine bien déterminée. L'une des contributions essentielles de l'école française de biochimie est d'avoir postulé, puis démontré que c'est bien le RNA-messenger et non pas le RNA constitutif du ribosome, qui détient l'information dont découle la spécificité de la protéine synthétisée.

Sachant maintenant comment l'information génétique arrive aux ribosomes sous la forme d'un RNA-messenger, il convient de voir très rapidement comment les acides aminés, molécules constitutives des protéines, arrivent aux ribosomes et comment le RNA-messenger détermine l'ordre dans lequel les divers acides aminés seront reliés les uns aux autres pour former la protéine spécifique. C'est en effet la « séquence » des acides aminés dans la chaîne protidique qui détermine la spécificité de la protéine. Le problème qui se pose est alors de savoir comment l'information qui, dans le RNA-messenger réside dans une séquence déterminée de quatre bases (A, C, G, U) le long de la chaîne ribonucléique peut être traduite en une séquence déterminée de quelques vingt acides aminés le long de la chaîne protidique. Autrement dit

quel est le « code » qui permet de passer d'une séquence déterminée de quatre bases dans un RNA-messager à la séquence des vingt acides aminés dans la protéine correspondant à cet RNA-messager ? La difficulté dans la résolution de ce problème résidait dans le fait que pour vingt acides aminés différents il n'y avait que quatre bases différentes. Si le nombre des bases et des acides aminés eut été le même on aurait pu penser que telle base dans le RNA-messager aurait déterminé la présence de tel acide aminé dans la protéine : le « code » se serait donc résumé à « telle base, tel acide aminé ». En combinant les quatre bases deux par deux on obtient $4^2 = 16$ possibilités différentes, mais ce nombre de combinaisons est encore insuffisant pour coder les 20 acides aminés. Par contre en groupant les quatre bases trois par trois on obtient un nombre de possibilités largement suffisant : $4^3 = 64$.

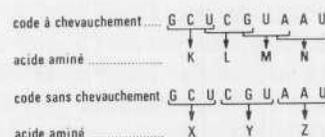
Effectivement, plusieurs types d'expériences, dans le détail desquelles il n'est pas possible d'entrer ici, ont montré que le nombre de bases nécessaires pour coder un acide aminé est de trois. Considérons alors un RNA-messager dont la séquence des bases est la suivante :

G C U C G U A A U G A U U U U

En commençant de gauche à droite, le premier ensemble de trois bases successives est GCU : cette combinaison, GCU, est celle qui code pour l'alanine ; autrement dit le « triplet » GCU est le codon de l'alanine. Le second triplet est CGU : c'est le codon de l'arginine ; le troisième triplet est AAU : c'est le codon pour l'asparagine, etc... La séquence des acides aminés dans la protéine codée par le RNA-messager précédent sera donc :

alanine-arginine-asparagine-acide aspartique-phénylalanine...

Les propriétés essentielles du code sont les suivantes il est *universel*, c'est-à-dire qu'il est le même chez tous les organismes, qu'il s'agisse de végétaux, d'animaux ou de bactéries, etc... Il est *dégénéré* : pour un acide aminé donné il existe plusieurs codons différents ; ainsi l'alanine peut être codée par les codons suivants : GCU, GCA, GCG et, dans certains cas, GCC. En outre le code est *ambigu* : un même codon peut coder plusieurs acides aminés différents. Le long d'un RNA les triplets adjacents ne sont pas séparés les uns des autres par des « virgules », autrement dit par les bases ne faisant pas partie d'un codon. Enfin le code est *sans chevauchement* : les éléments d'un codon déterminé ne font pas partie des éléments d'un autre codon (schéma III).



Les deux dernières propriétés peuvent se résumer en disant que dans un RNA-messager, chaque base fait partie d'un codon, et d'un codon seulement.

Il reste à examiner maintenant comment les acides aminés sont amenés auprès du complexe ribosome-RNA-messager et comment ils « reconnaissent » leurs codons respectifs le long du RNA-messager. En réalité ce n'est pas l'acide aminé lui-même qui possède la capacité de reconnaître son codon ; cette reconnaissance est faite grâce à un intermédiaire auquel l'acide aminé est combiné. Cette intermédiaire est un RNA spécial, appelé RNA de transfert. A chaque acide aminé correspond un RNA de transfert déterminé.

L'attachement de l'acide aminé au RNA de transfert correspondant est catalysé par une enzyme, qui exhibe une double spécificité : l'une pour l'acide aminé, l'autre pour le RNA de transfert. Le RNA de transfert muni de son acide aminé a la possibilité de reconnaître sur le RNA-messager le codon correspondant à son acide aminé parce qu'il possède à un endroit déterminé de sa chaîne une séquence de base complémentaire de ce codon ; cette séquence de base complémentaire est appelée anti-codon ; par exemple l'un des codons de l'alanine est GCU ; l'anti-codon du RNA de transfert correspondant est CGA.

La synthèse d'une protéine peut donc être schématisée de la façon suivante. La « lecture » du RNA-messager commence à une extrémité bien déterminée de sa chaîne, l'extrémité 5'. Au fur et à mesure de la synthèse, tout se passe comme si le ribosome se déplaçait le long du RNA-messager de l'extrémité 5' à l'extrémité 3' ; tous les codons sont ainsi lus l'un après l'autre dans la direction 5' → 3'. Le ribosome se fixe donc à l'extrémité 5' du RNA-messager et le premier codon, mettons CGU, est ainsi prêt à être « lu ». Parmi les quelques vingt RNA de transfert munis de leur acide aminé spécifique, seul celui dont l'anti-codon correspond au codon précédent, GCU, pourra établir des liaisons hydrogènes avec ce codon et s'attacher ainsi au complexe « RNA-messager-ribosome ». Il en va de même pour le codon suivant sur lequel va venir se lier un deuxième RNA de transfert. Ainsi deux RNA de transfert, munis chacun de leur acide aminé respectif, se trouvent maintenant alignés et maintenus côte à côte grâce aux liaisons hydrogènes qu'ils ont établies avec deux codons successifs du RNA-messager. Par

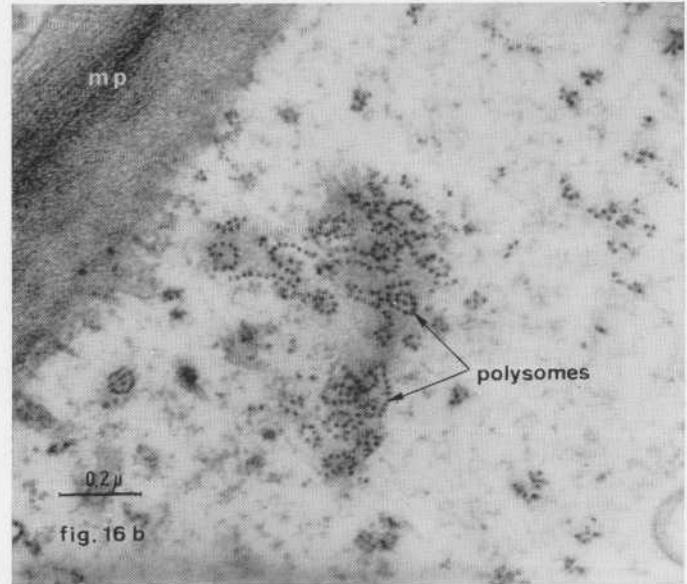
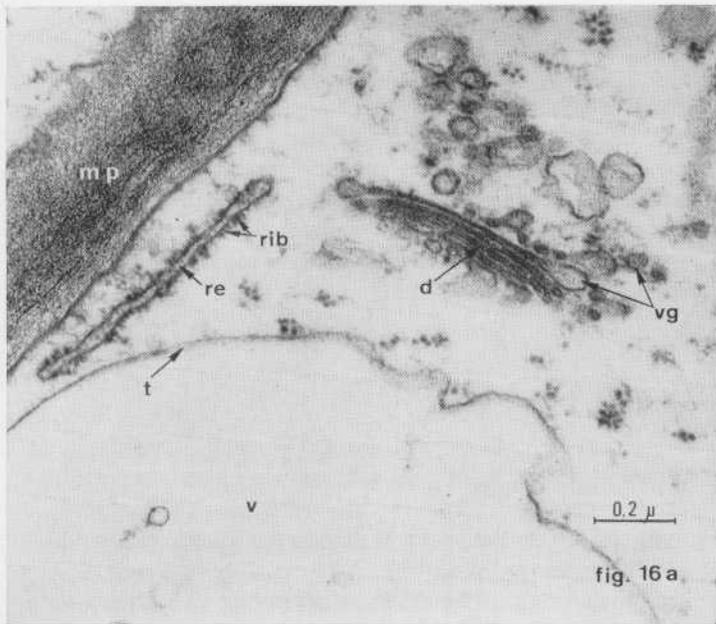


FIG. 16. — Détail de cellules chlorophylliennes de Citronnier Lisbon. *a.* — *d* : dictyosome pourvu de ses vésicules golgiennes, *vg* ; *re* : reticulum endoplasmique pourvu de ribosomes, *rib* ; *v* : vacuole limitée par le tonoplaste, *t* ; *mp* : membrane pectocellulosique. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié ; $\times 80\ 000$). *b.* — ribosomes associés en polysome. (Fixation glutaraldéhyde postosmié ; $\times 80\ 000$.)

RNA-messenger et des ribosomes qui lui sont attachés constitue un polysome (fig. 16 *b*).

En guise de résumé, le schéma suivant montre comment une séquence de trois bases CGA, dans une région du RNA aboutit à l'incorporation d'un acide aminé bien déterminé, l'alanine, dans la protéine correspondante.

là même, les deux acides aminés se trouvent également dans une position respective telle qu'une liaison peptidique pourra s'établir entre le groupement carboxylique du premier et le groupement aminé du second. La formation de cette liaison est sous la dépendance d'un facteur enzymatique et des ions K^+ . La première liaison peptidique étant ainsi formée entre l'acide aminé numéro un et l'acide aminé numéro deux, le ribosome se déplace d'un cran, ou plutôt d'un codon, le long du RNA-messenger dans le sens $5' \rightarrow 3'$. L'énergie nécessaire à ce déplacement est fournie par le GTP. Le troisième codon peut maintenant accepter lui aussi son RNA de transfert spécifique dont l'acide aminé (numéro trois) formera à son tour une liaison peptidique avec l'acide aminé deux, et ainsi de suite.

Lorsque le premier ribosome se trouve suffisamment éloigné de l'extrémité initiale $5'$, un deuxième ribosome peut s'attacher à son tour à l'extrémité $5'$, et amorcer ainsi la synthèse d'une deuxième chaîne de protéine, évidemment identique à la première, avant même que la synthèse de la première ne soit terminée. De cette façon une seule chaîne de RNA-messenger peut servir de matrice pour plusieurs ribosomes. L'ensemble du

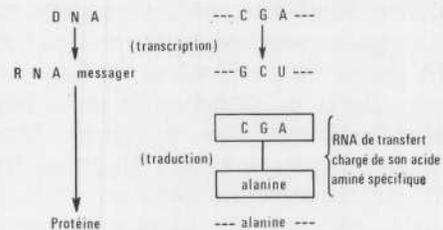
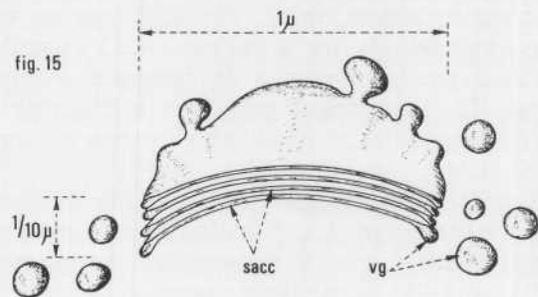


FIG. 15. — Schéma de dictyosome dans une cellule du méristème racinaire d'Oignon. (d'après R. Buval). *sacc* : saccules dont les membranes de 40 à 70 Å d'épaisseur, sont espacées de 60 à 100 Å. *vg* : vésicule golgienne de 200 à 600 Å de diamètre.



F. L'APPAREIL DE GOLGI OU DICTYOSOME.

En 1898, Golgi mettait en évidence dans les cellules nerveuses de la chouette une particule cellulaire qui précipitait avec les sels d'argent. Cet appareil, dit de Golgi, a été sujet à de longues polémiques en raison de la diversité de ses formes dans le règne animal. Les cellules végétales semblaient dépourvues de telles structures bien que Guillermond eût observé, outre les mitochondries, des structures qu'il avait appelées des « artefacts » de mitochondries. La microscopie électronique a mis fin à ces controverses : elle a permis d'observer cette infrastructure aussi bien dans les cellules animales (Grassé, 1955) que dans les cellules végétales (BUVAT, 1957).

L'appareil de Golgi ou dictyosome présente au microscope électronique une remarquable unité infra-structurale : il est constitué d'un ensemble de doubles membranes ou « saccules » emboîtés concentriquement les uns dans les autres, ou encore plus fréquemment empilés les uns sur les autres ; dans ce deuxième cas, les extrémités des saccules sont relevées et pourvues de dilatations (fig. 13, 15 et 16 a). L'ensemble des saccules qui constitue le dictyosome dans une cellule végétale a un diamètre de $1\ \mu$ avec une épaisseur de $0,10\ \mu$ environ. Généralement les saccules sont au nombre de 4 à 6 (fig. 15). Des espaces clairs de 60 à $100\ \text{Å}$ d'épaisseur séparent les saccules les uns des autres. Un saccule a la structure d'une double membrane ; chaque membrane simple a une épaisseur de 60 à $70\ \text{Å}$. Comme le montrent les figures 15 et 16 a, les extrémités des saccules se renflent en dilatations qui, après avoir atteint un diamètre de 200 à $600\ \text{Å}$, se détachent et deviennent alors des vésicules libres dans le cytoplasme nommées vésicules golgiennes (vg).

On sait que l'appareil de Golgi est riche en phosphatase acide, mais son rôle physiologique est encore mal connu. Dans les cellules sécrétrices telles que les cellules exocrines du pancréas, les complexes golgiens sont particulièrement développés et il existe des connections très étroites entre le reticulum endoplasmique à surface rugueuse et les vésicules golgiennes (MALHER et CORDES, 1966) ; d'où l'idée que ces vésicules serviraient de lieu de stockage pour les protéines produites par les ribosomes du reticulum endoplasmique. Ces observations suggèrent qu'il existe un lien étroit entre le reticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi.

Dans le cas des cellules végétales, le rôle du dictyosome est encore imprécis. Toutefois un rapport semble toujours exister entre la présence du dictyosome et l'élaboration de la membrane pectocellulosique. En

effet, dans les futures cellules criblées et les futurs vaisseaux, les dictyosomes émettent toujours de nombreuses vésicules golgiennes le long des membranes pectocellulosiques en cours d'épaississement et d'élongation (BUVAT, 1963). Par ailleurs, les dictyosomes ont la particularité de se rassembler au niveau de la future membrane (phragmoplasme) qui va séparer les deux cellules filles. Aussi l'appareil de Golgi collaborerait-il très activement à la formation membranaire et aux dépôts de cellulose.

G. LES PLASTES.

Avant l'ère de la microscopie électronique, les plastes étaient l'objet de longues polémiques : leur contenu était homogène selon les uns, hétérogène selon les autres. La question a été tranchée par la microscopie électronique qui a révélé l'hétérogénéité infra-structurale du plaste. En effet l'observation des chloro-

Fig. 17. — Représentation schématique de l'ontogénie des chloroplastes (d'après Mühlethaler et Frey Wyssling, 1959).

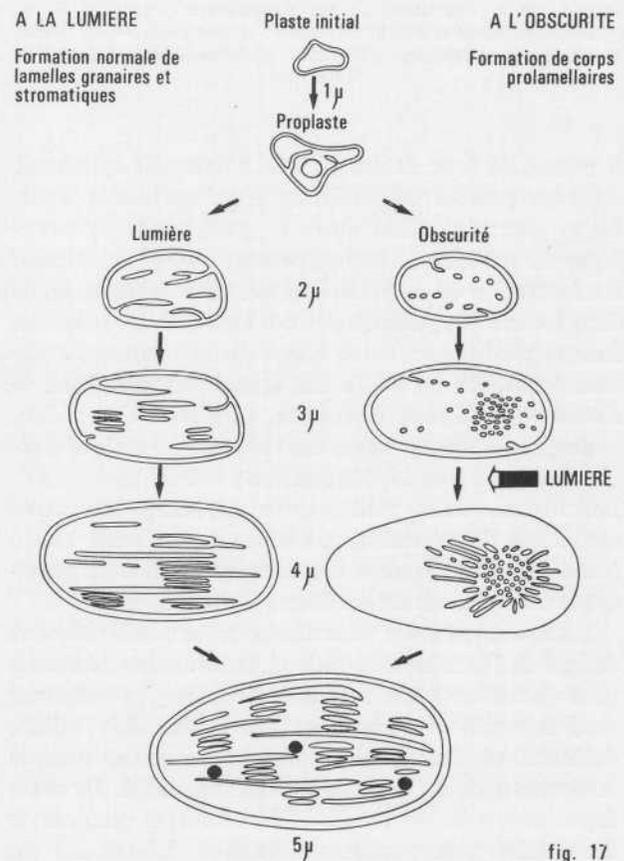


fig. 17

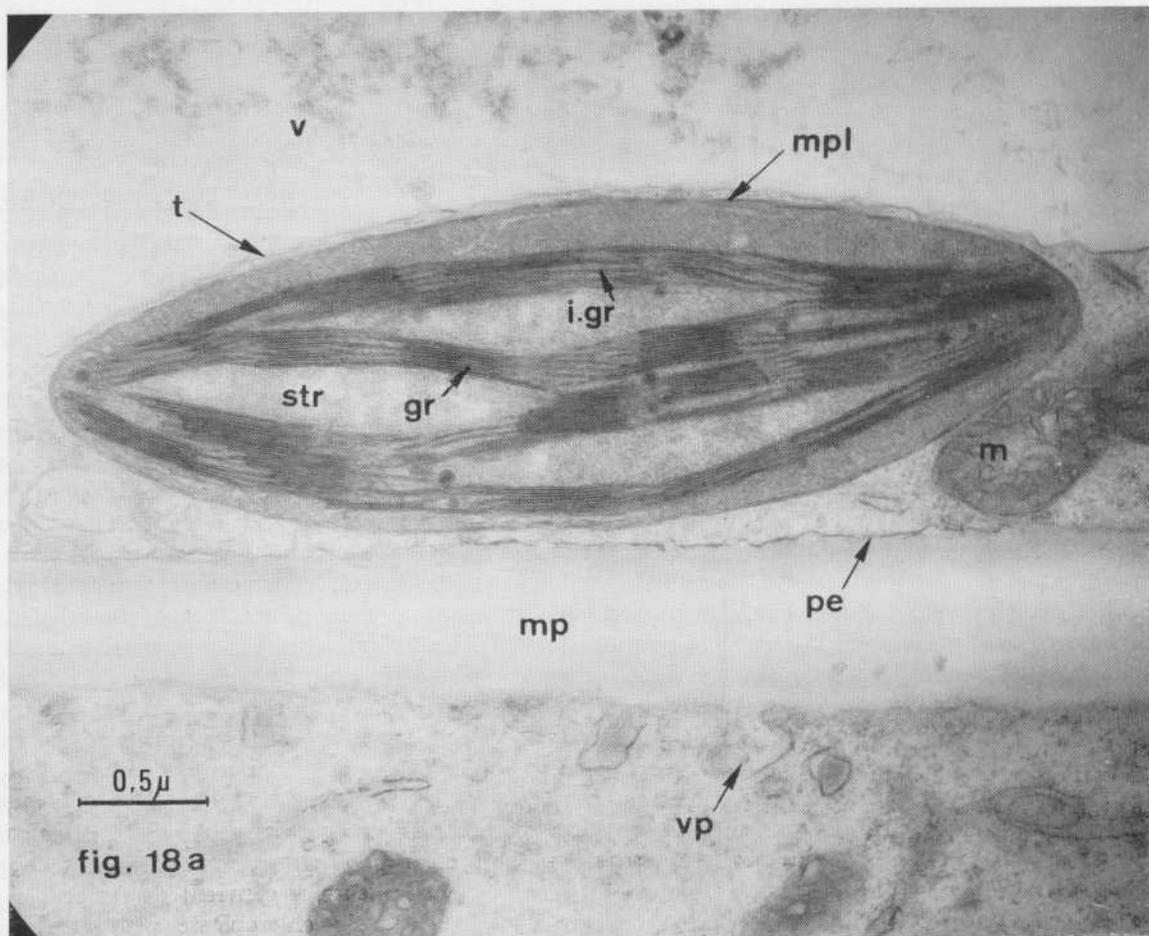


fig. 18 a

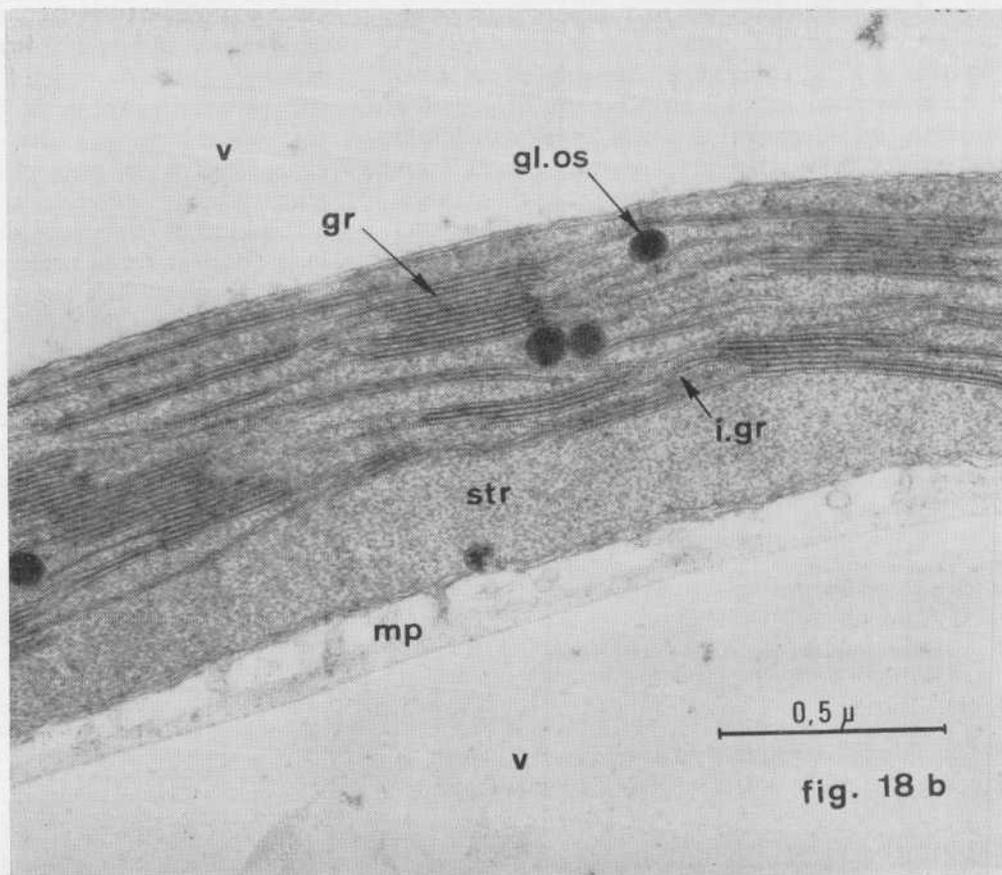


fig. 18 b

FIG. 18. — a. — Cellule du parenchyme chlorophyllien de *Cucurbita pepo*; chloroplaste limité par la membrane plastidiale, mpl, montrant l'empilement des disques granulaires, gr, alternant avec les disques intergranulaires, i. gr.; str: stroma; mp: membrane pectocellulosique bordée par la pellicule ectoplasmique, pe; vp: vésicule de pinocytose; m: mitochondrie; v, vacuole limitée par le tonoplaste (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 34\ 000$.) b. — détail d'un chloroplaste de *Brassica chinensis*; gr: disques granulaires; i. gr.: disques intergranulaires; str: stroma du chloroplaste; gl.os: globules osmiophiles; mp: membrane pectocellulosique; v: vacuole. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 60\ 000$.)

plastés dans les sections ultrafines de feuilles vertes a mis en évidence les trois éléments suivants :

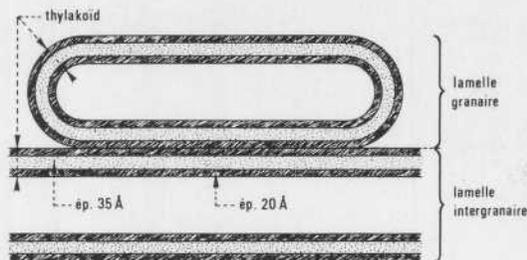
- 1) une double membrane plastidiale ;
- 2) un stroma granuleux ;
- 3) un système lamellaire.

De même l'examen de fragments de chloroplastes isolés a révélé une structure faite de disques ou lamelles superposées.

Suivant que, dans le plaste les pigments prédominants sont chlorophylliens ou de nature caroténoïde, on parle respectivement de chloroplastes ou de chromoplastes ; les plastés dépourvus de pigment sont des leucoplastes. Tous les types de plastés peuvent accumuler de l'amidon et ils sont alors appelés plastés amylières.

Un chloroplaste (chl) d'une cellule du parenchyme chlorophyllien (fig. 8 a, 8 b, 18 a et 18 b) se présente de la façon suivante : il mesure 2 à 5 μ de longueur sur 1 μ d'épaisseur ; son contour est plus ou moins ovoïde ; il est délimité par une double membrane plastidiale faite d'une membrane externe et d'une membrane interne (Fig. 18 a ; mpl) qui enserrant entre elles un espace clair de 120 à 150 Å d'épaisseur. Dans un stroma (str), à l'aspect granuleux de par ses ribosomes, on peut voir, comme le montre nettement la fig. 18 a, de fines et longues lamelles dites intergranaires (i. gr.) entre lesquelles sont intercalés des empilements très serrés de lamelles dites granaires (gr) (fig. 18 a et 18 b). L'ensemble d'un empilement constitue un granum. L'unité membranaire des lamelles granaires ou intergranaires a été appelée thylakoïd par MENKE (1960). Les pigments photosynthétiques sont exclusivement localisés dans le système lamellaire et non pas dans le stroma. Par contre, les enzymes nécessaires à l'assimilation photosynthétique du CO₂ suivant le cycle de Calvin, sont localisées dans le stroma.

Le schéma suivant illustre la structure du système lamellaire telle qu'elle apparaît après fixation :



Les chloroplastes renferment souvent de l'amidon (fig. 8 b ; fig. 19 b ; am) et parfois des globules osmio-

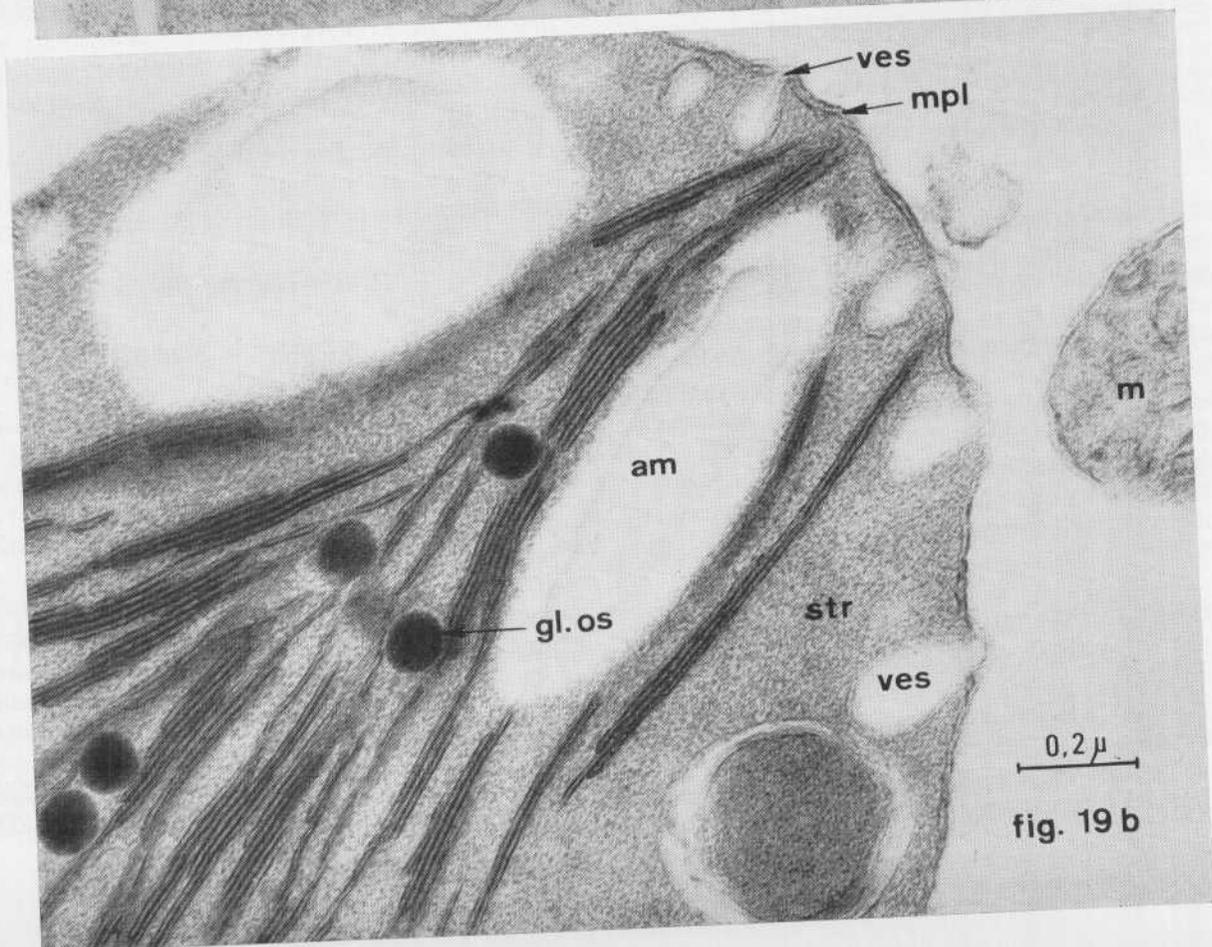
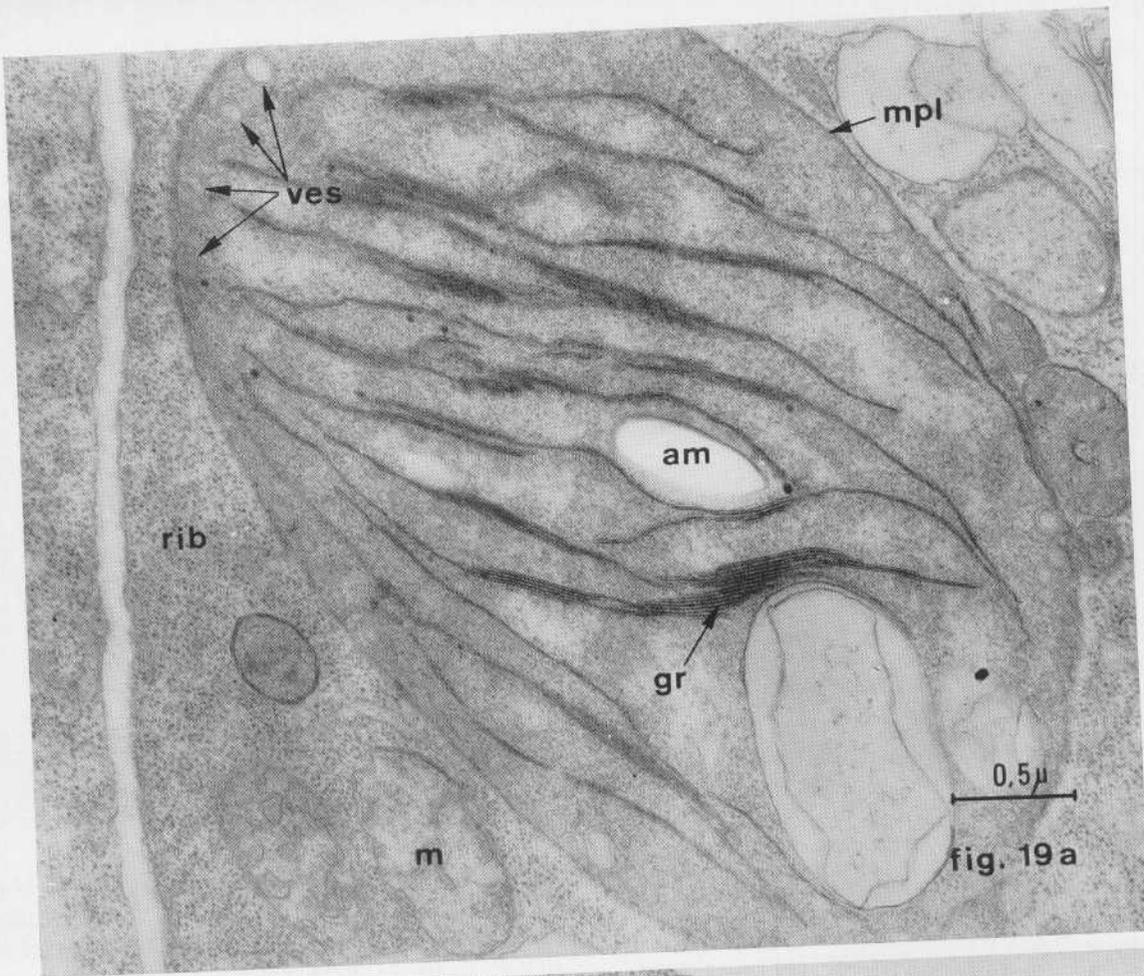
philes (fig. 19 b, gl. os.), ceux-ci sont très nombreux dans les chloroplastes.

En ce qui concerne l'origine des plastés, les observations faites au microscope électronique ont montré que les chloroplastes s'élaborent à partir de proplastés. Ceux-ci, tout comme les mitochondries, sont limités par une double membrane dont le feuillet interne s'invagine en de courtes crêtes (fig. 17 ; fig. 21 ; pr) ; néanmoins les proplastés diffèrent des mitochondries par leur taille plus grande, par la rareté relative des crêtes et par la présence possible d'amidon. Le développement ultérieur des crêtes proplastidiales est différent suivant qu'il s'effectue à la lumière ou à l'obscurité. A la lumière, les crêtes des proplastés s'allongent, s'empilent et se superposent pour constituer, après rupture avec la membrane plastidiale interne, les lamelles granaires et intergranaires du futur chloroplaste (fig. 17). Par contre, à l'obscurité, les crêtes donnent naissance à de multiples vésicules qui s'assemblent en un corps prolamellaire (fig. 17), mais sous l'influence de la lumière les vésicules du corps prolamellaire se transforment en lamelles granaires et intergranaires pour donner un système lamellaire identique à celui qu'on obtient normalement à la lumière.

Par ailleurs, il convient de remarquer que l'ultrastructure du chloroplaste peut être modifiée sous l'influence de certains facteurs. Ainsi dans les feuilles de *Brassica chinensis* infectées par le virus de la mosaïque jaune du navet (VMJN), les chloroplastes présentent un aspect gonflé (fig. 19 a et 19 b) par rapport aux chloroplastes des cellules saines (fig. 18 b) et les lamelles granaires et intergranaires sont moins nombreuses que celles des chloroplastes normaux. La caractéristique essentielle des chloroplastes des cellules infectées est la présence de vésicules à double membrane plastidiale (fig. 19 a et 19 b ; ves). Comme l'indique la flèche de la fig. 19 b, la vésicule peut être ouverte sur le cytoplasme, et cette observation suggère qu'elle pourrait se former par invagination de la double membrane plastidiale.

Le chloroplaste représente essentiellement le site cellulaire où se déroule la photosynthèse. Au cours des

FIG. 19. — Chloroplastes de *Brassica chinensis* infecté par le virus de la mosaïque jaune du Navet. a. — Chloroplaste à l'aspect gonflé, pauvre en grana, gr ; ves : vésicules à double membrane localisées sous le pourtour interne de la membrane plastidiale, mpl ; am : amidon ; rib : ribosomes ; m : mitochondrie. (Prélèvement 12 jours après inoculation.) (Fixation au glutaraldéhyde postosmié ; $\times 32\ 000$). b. — Chloroplaste pourvu des vésicules à double membrane, ves ; la flèche indique une vésicule ouverte sur le cytoplasme, am : amidon ; gl. os. : globule osmiophile ; m : mitochondrie ; membrane plastidiale ; str : stroma du chloroplaste. (Prélèvement 35 jours après inoculation) (Fixation au Glutaraldéhyde postosmié ; $\times 78\ 000$).



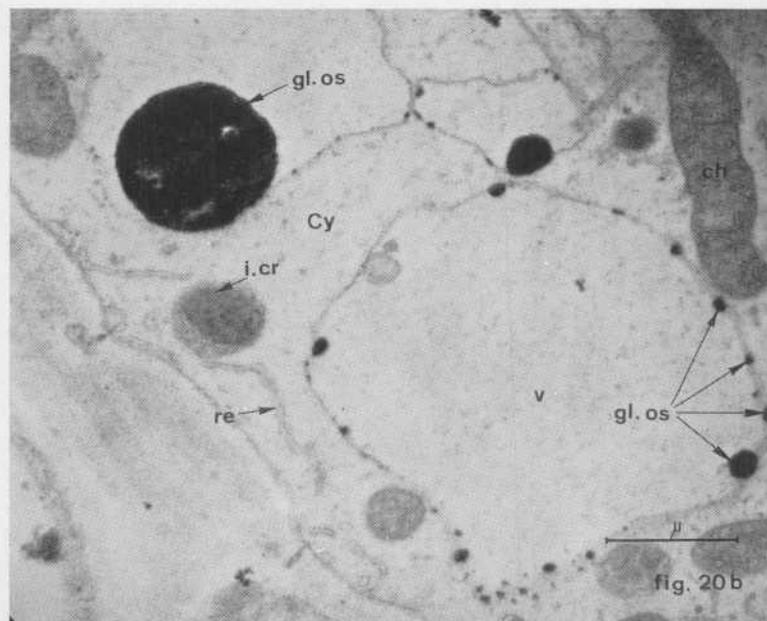
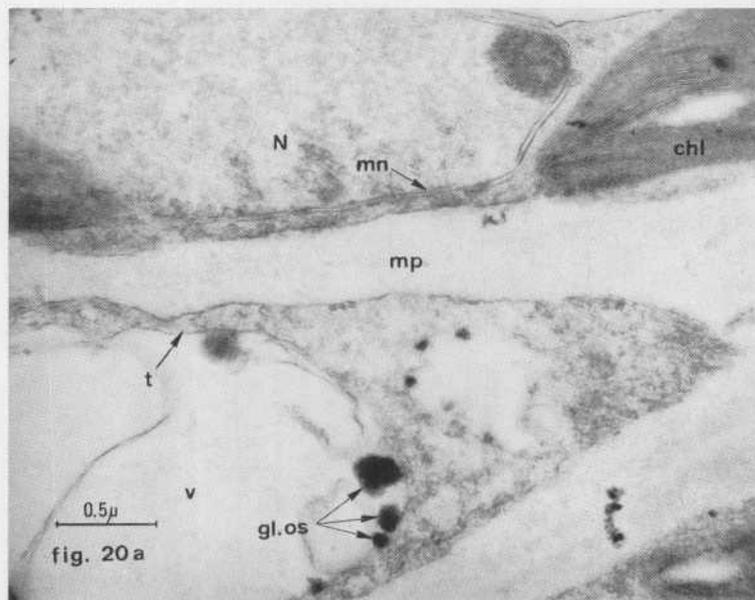
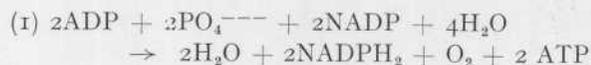


FIG. 20. — Détails de cellules du parenchyme foliaire de Citrange Troyer. *a.* — N : noyau limité par la membrane nucléaire, mn ; mp : membrane pectocellulosique séparant deux cellules ; chl : chloroplaste montrant un système lamellaire bien développé ; gl. os. : globules osmiophiles tout en périphérie de la vacuole *v*, contre le tonoplaste, *t*. (Fixation glutaraldéhyde postosmié ; $\times 40\ 000$). *b.* — Globules osmiophiles, gl. os sur le pourtour interne de la vacuole, *v*, vacuole du bas : globules nombreux et petits ; vacuole du haut : globules gros et peu nombreux. Cy : cytoplasme montrant du chondriocote réticulum endoplasmique, *re* et un chondriocote : *ch* ; inclusion cristalline, *i. cr.*, de signification inconnue. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié ; $\times 26\ 000$).

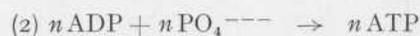
dernières années la notion de photosynthèse a considérablement évolué. Quelques aspects anciens et modernes de la photosynthèse ont été exposés précédemment (Bové, 1961 *a* et *c.* ; 1962). Il est maintenant bien établi que les réactions impliquées dans l'assimilation réductrice du CO_2 sont des réactions « sombres » qui, toutes, peuvent se dérouler à l'obscurité, à condition de bénéficier de la présence d'ATP et de NADPH_2 . La photosynthèse constitue justement le mécanisme grâce auquel, dans les chloroplastes, l'énergie lumineuse est transformée en l'énergie chimique de l'ATP et du NADPH_2 :



Dans cette réaction, l'eau joue le rôle de donneur d'électrons et le NADP celui d'accepteur. A ce transfert d'électrons est couplée une phosphorylation de l'ADP en ATP au moyen de phosphate minéral. L'en-

semble de ce processus a été appelé photophosphorylation non cyclique mais d'après une suggestion de A. Lwoff, nous l'appellerons désormais photoréduction phosphorylante, terme qui fait mieux ressortir que la formation d'ATP est couplée à un transport d'électrons aboutissant à la formation d'un réducteur : le NADPH_2 .

Une autre réaction peut se dérouler au sein des chloroplastes qui n'aboutit pas à la formation d'un réducteur mais dans laquelle l'ATP est le seul produit



Cette réaction constitue la photophosphorylation cyclique.

Ainsi le déroulement de la photosynthèse se traduit essentiellement par l'obtention de la somme $\text{ATP} + \text{NADPH}_2$ (phtoréduction phosphorylante) ou du seul ATP (photophosphorylation cyclique).

ATP et NADPH_2 ainsi formés rendent possible l'assimilation réductrice du CO_2 en glucide. S'il est indéniable que la synthèse des sucres draine une partie importante de l'ATP et du NADPH_2 photosynthétiques, il n'y a aucune raison de penser que ces composés ne puissent pas participer dans des chaînes de synthèse autres que celle des glucides. De nombreux travaux ont donné consistance à cette idée. Il est donc licite d'envisager, à l'heure actuelle, la photosynthèse comme une source générale d'ATP et de NADPH_2 , tant dans les chloroplastes qu'au dehors.

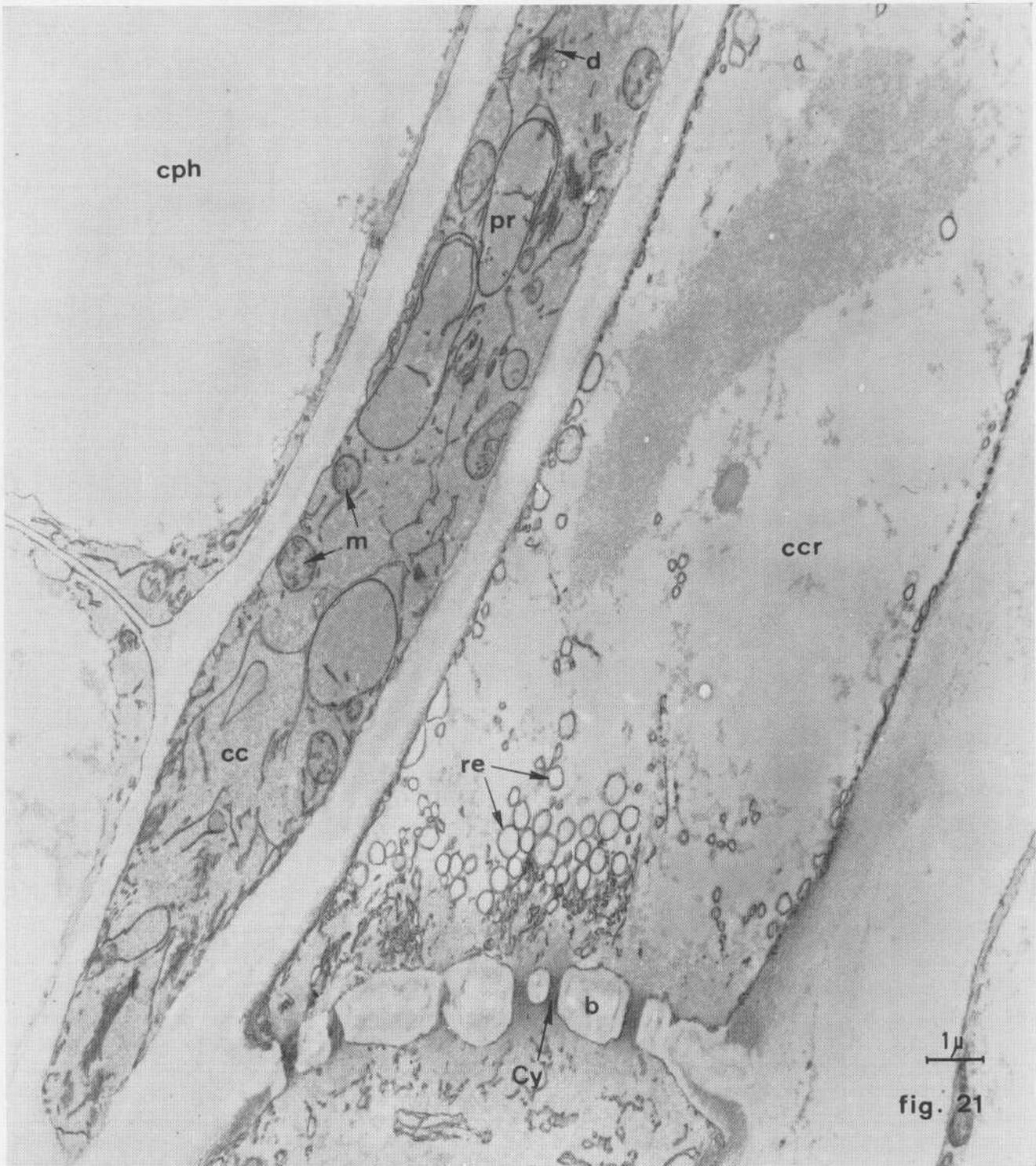


FIG. 21. — Cellule criblée différenciée, ccr, de *Phaseolus vulgaris* dont le contenu cellulaire appauvri s'oppose à la densité cytoplasmique de la cellule compagne, cc, pourvue de mitochondries, m, de dictyosome, d et de proplastides, pr; cy : cytoplasme passant entre les barreaux du crible, b; cytoplasme; cph : cellule du parenchyme chlorophyllien; re : reticulum endoplasmique. (Fixation au Permanganate de Potassium $\times 9\ 500$.)

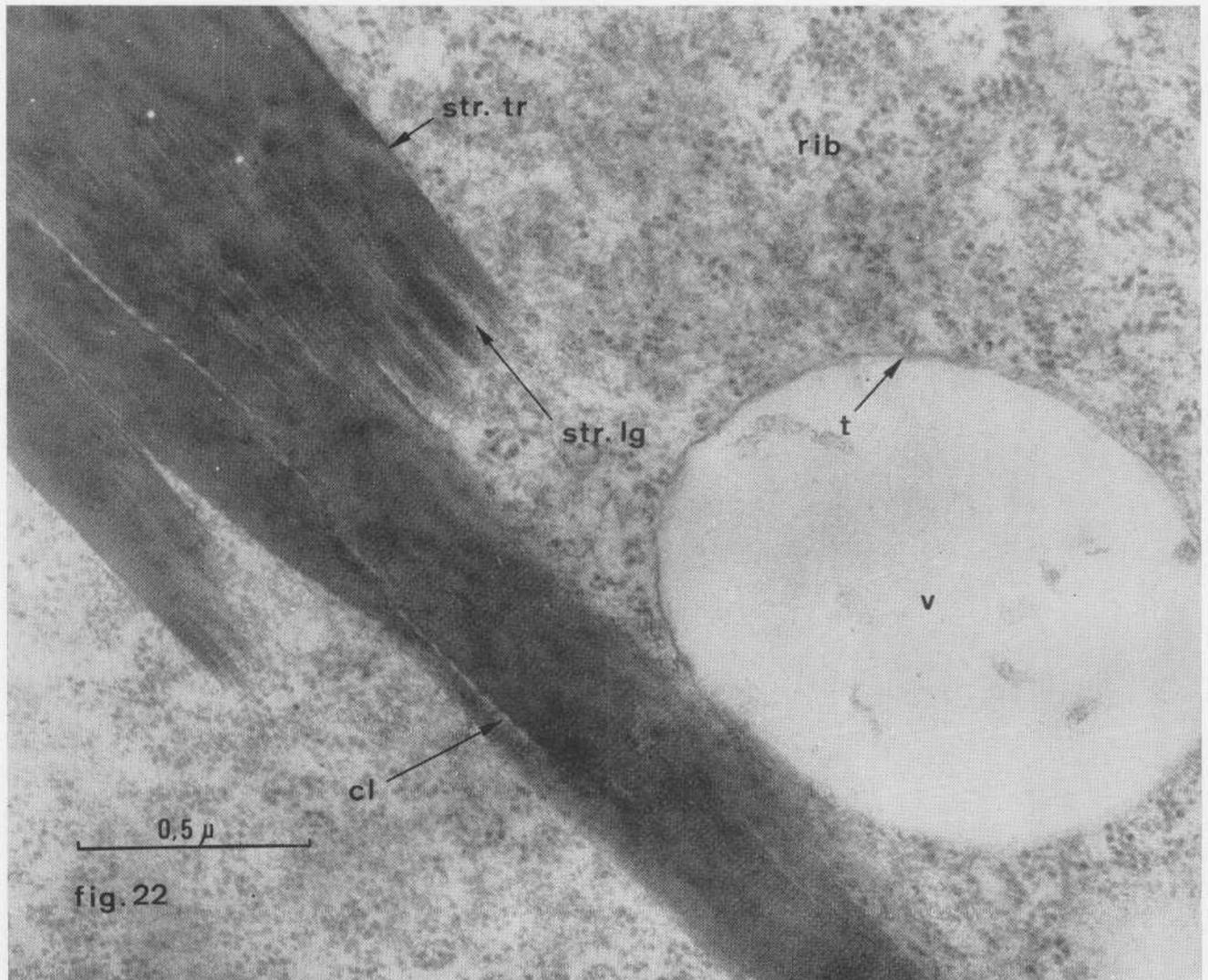


FIG. 22. — Inclusion flagellée dans une jeune cellule criblée de *Phaseolus vulgaris*, montrant nettement la striation transversale, str. tr., et la striation longitudinale, str. lg.; cl : clivage suggérant que l'inclusion se formerait par adjonction de faisceaux cristallins isolés; v : vacuole limitée par le tonoplaste, t; rib : ribosomes. (Fixation au glutaraldéhyde postosmié; $\times 68\ 700$.)

H. L'APPAREIL VACUOLAIRE.

L'appareil vacuolaire, caractéristique des cellules végétales, contribue aux échanges d'eau et il assure la turgescence cellulaire. De ce point de vue son rôle physiologique est primordial. Au microscope électronique, une vacuole se présente sous l'aspect d'une grande enclave claire limitée par une membrane simple ou tonoplaste (*t*) de 80 Å d'épaisseur (fig. 6 a, 13, 16 a; v). Dans une cellule dite « méristématique » les vacuoles sont petites, nombreuses et disséminées dans le

cytoplasme (fig. 7, v). Au cours de la différenciation cellulaire, l'ensemble de ces petites enclaves tend à se grouper en deux ou trois, puis en une grande vacuole unique repoussant de ce fait le cytoplasme le long de la membrane cellulaire (fig. 8 a et b, 13; v).

La vacuole constitue le lieu d'accumulation des substances hydrosolubles de la cellule et peut renfermer des substances très diverses, comme par exemple les anthocyanes ou les flavones qui donnent aux fleurs ou aux fruits leur coloration. Dans le même ordre d'idée, les figures 20 a et 20 b montrent que l'appareil

vacuolaire des feuilles de Citrange Troyer, possède la particularité de renfermer des globules très osmiophiles plus ou moins gros (fig. 20 ; gl. os.). Les petits globules se trouvent répartis à la périphérie de la vacuole contre le tonoplaste (fig. 20 a) ; ils peuvent s'agglomérer en un ou deux globules osmiophiles plus gros pouvant atteindre un diamètre de $1\ \mu$ (fig. 20 b).

I. DIVERSITÉS INFRASTRUCTURALES DES CELLULES VÉGÉTALES.

Les chapitres précédents ont porté sur l'observation au microscope électronique des principales infrastructures cytoplasmiques telles qu'on les voit dans les cellules végétales « classiques ». En réalité, il existe une diversité et une spécialisation infrastructurales très grandes en relation avec la différenciation de la cellule jeune vers une fonction physiologique donnée et avec le matériel végétal choisi. Prenons l'exemple d'une cellule hautement différenciée comme la cellule criblée de *Phaseolus vulgaris* (Lafleche, 1966) (fig. 21 et 22). A quelques millimètres au-dessous de l'apex végétatif, les cellules procambiales à l'aspect méristématique se sont déjà différenciées en trois catégories cellulaires : la cellule criblée (ccr) à membranes épaissies, la cellule compagne (cc) à forte densité cytoplasmique et la cellule du parenchyme chlorophyllien (cph) pourvue de chloroplastes. Cette différenciation s'accroît au fur et à mesure que l'on observe des tissus de plus en

plus éloignés de l'apex. Ainsi les membranes latérales des cellules criblées sont maintenant percées de pores (p) et le contenu cellulaire est extrêmement appauvri et s'oppose à celui de la cellule compagne et de la cellule du parenchyme chlorophyllien (cph) dont le cytoplasme est très dense (fig. 21). La principale caractéristique de la cellule criblée des Papilionacées est de contenir une inclusion intracytoplasmique dont la forme est flagellée. Après fixation au glutaraldéhyde postosmié, les sections ultrafines à travers l'inclusion dévoilent une striation ultrastructurale (fig. 22). Cette striation résulte d'une association très serrée de fibrilles de $25\ \text{Å}$ de diamètre environ (fig. 22 ; str. lg.). L'étude cytochimique montre que l'inclusion est protéique et conduit à considérer les fibrilles comme des chaînes polypeptidiques extrêmement longues. A cette striation longitudinale très serrée s'ajoute une striation transversale à intervalles périodiques beaucoup plus espacés de l'ordre de $100\ \text{à}\ 150\ \text{Å}$ (fig. 22 ; str. tr.). La structure de cette formation est donc cristalline. Après le percement des cribles (fig. 21), le cytoplasme (cy) de la cellule criblée dégénère rapidement, mais l'inclusion flagellée garde sa striation fine et peut prendre également un aspect chevelu. Cet exemple illustre la complexité de la différenciation cellulaire, et on conçoit combien grandes sont les difficultés d'interprétation que pose le passage de la cellule méristématique indifférenciée à la cellule adulte hautement spécialisée dans son rôle physiologique.

CONCLUSION

La microscopie électronique a permis de pénétrer dans un domaine nouveau où les mesures se font en unité Angström, dix millions de fois plus petite que le millimètre. Vue dans un microscope dont le pouvoir séparateur est de quelques Angströms, la cellule végétale a révélé des infrastructures que le microscope photonique n'avait pu déceler : ribosomes, reticulum endoplasmique, dictyosomes. En outre, le microscope électronique a contribué à préciser la structure fine des particules cellulaires déjà observées au microscope photonique.

Bien que le microscope électronique ait apporté à la Cytologie de nombreux résultats en quelques années, de nombreux points d'interrogation demeurent quant à la signification des infrastructures : quel est le rôle physiologique du dictyosome, des doubles membranes du reticulum endoplasmique... ?

Le microscope électronique ne permet d'observer que des cellules fixées : il donne une image statique de la cellule qui s'oppose à l'état dynamique de la cellule *in vivo*. Aussi n'est-il pas possible de connaître le rôle physiologique des différentes infrastructures uniquement à partir de l'observation microscopique. Les résultats de la microscopie électronique sont surtout descriptifs et pour sortir du domaine purement morphologique la microscopie électronique s'associe de plus en plus à d'autres disciplines telles que biochimie, enzymologie, immunochimie...

S'il n'est pas toujours facile de connaître le rôle physiologique des infrastructures fondamentales présentes dans toutes les cellules végétales, il est encore plus compliqué de donner une signification précise à des infrastructures observées uniquement dans certaine catégorie de cellules d'un matériel végétal donné. Ainsi les cellules criblées de la famille des Papilionacées possèdent une inclusion flagellée qui n'est pas présente dans les cellules compagnes ni

dans les cellules du parenchyme chlorophyllien du tissu libérien. L'appareil vacuolaire des cellules foliaires du Citrange Troyer renferme des globules osmiophiles qui, jusqu'ici, n'ont pas été observés dans les cellules foliaires d'autres agrumes.

Ainsi le microscope électronique, tout en étant un puissant moyen d'investigation de plus en plus courant dans de nombreux laboratoires et indispensable à l'heure actuelle dans de multiples disciplines, n'est cependant rien plus qu'un outil. Cet outil a permis de connaître et de préciser l'architecture des cellules végétales. Associé à d'autres techniques il contribue maintenant à étudier aussi le rôle des éléments architecturaux dans le fonctionnement de la cellule.

REMERCIEMENTS

Le microscope utilisé pour ce travail est celui du service de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales (I. N. R. A., Massy). Nous tenons à remercier bien vivement M. Guilbot et M. Gallant pour nous avoir permis d'employer cet appareil.

ABRÉVIATIONS

ac	amas de chromatine	gl. l.	globule lipidique	pe	pellicule ectoplasmique
am	amidon	gl. os.	globule osmiophile	pn	pores nucléaires
chl	chloroplaste	gr	granum	pl	plasmodesme
chr	chromatine	i. cr.	inclusion cristalline	pr	proplaste
cc	cellule compagne	i. gr.	intergranum	re	reticulum endoplasmique
cer	cellule criblée	m	mitochondrie	rib	ribosome
cph	cellule du parenchyme chlorophyllien	me	membrane externe	RNA	acide ribonucléique
cr	crête mitochondriale	ni	membrane interne	str	stroma
Cy	cytoplasme	mn	membrane nucléaire	t	tonoplaste
DNA	acide désoxyribonucléique	mp	membrane pectocellulosique	v	vacuole
d	dictyosome	mpl	membrane plastidiale	ves	vésicule
fc	futur crible	N	noyau	vg	vésicule golgienne
fm	formation membranaire	nu	nucléole	vp	vésicule de pinocytose

BIBLIOGRAPHIE

- BOVÉ (J. M.). — 1961 a. Quelques aspects anciens et modernes de la photosynthèse. *Fruits*, 16, 3, 89-101.
- BOVÉ (J. M.). — 1961 b. Transformations énergétiques en biochimie. *Fruits*, 16, 7, 352-364.
- BOVÉ (J. M.). — 1961 c. Quelques aspects anciens et modernes de la photosynthèse. *Fruits*, 16, 10, 479-511.
- BOVÉ (J. M.). — 1962. Quelques aspects anciens et modernes de la photosynthèse. *Fruits*, 17, 2, 55-74.
- BUVAT (R.). — 1957. Formations de Golgi dans les cellules radicales d'*Allium cepa* L. — *C. R. Acad. Sci.*, 244, 1401-1403.
- BUVAT (R.) et CARASSO (N.). — 1957. Mise en évidence de l'ergatoplasme (reticulum endoplasmique) dans les cellules méristématiques de la racine d'*Allium cepa* L. — *C. R. Acad., Sci.*, 244, 1532-1534.
- BUVAT (R.). — 1963. Les infrastructures et la différenciation des cellules criblées de *Cucurbita pepo*. *Port. Acta Biol.*, 177, 249-299.
- FREY-WISSLING (A.) et MÜHLETHALER (K.). — 1965. Ultrastructural plant cytology with an introduction to molecular biology. Elsevier Publ. Co., Inc., Amsterdam, 377 p.
- GEUSKENS (M.) et BERNHARD (W.). — 1966. Cytochimie ultrastructurale du nucléole. III. Action de l'actinomycine D sur le métabolisme du RNA nucléolaire. *Exper. Cell. Res.*, 44, 579-598.
- GRASSÉ (P. P.), CARASSO (N.) et FAVARD (P.). — 1955. Les dictyosomes (appareil de Golgi) et leur ultrastructure. *C. R. Acad. Sci.*, 241, 1243-1245.
- LAFÈCHE (D.). — 1966. Ultrastructure et cytochimie des inclusions flagellées des cellules criblées de *Phaseolus vulgaris*. *J. Microsc.*, 5, 4, 493-510.
- MAHLER (H. R.) et CORDES (E. H.). — 1966. Biological Chemistry. A harper International Ed. Publ. by Harper & Row, New York. Tokyo, 872 p.
- MENKE (W.). — 1960. Das allgemeine Bauprinzip des lamellarsystems der Chloroplasten. *Experientia*, 16, 537-538.
- PALADE (G. E.). — 1952. The fine structure of mitochondria. *Anat. rec.*, 114 (3), 427-451.
- PALADE (G. E.) et PORTER (K. R.). — 1954. Studies on the endoplasmic reticulum. I. Its identification in cells *in situ*. *J. Exper. Med.*, 100 (6), 641-656.
- PORTER (K. R.), CLAUDE (A.) et FULLAM (E. F.). — 1945. A study of tissue culture cells by electron microscopy. *J. Exper. Med.*, 81 (3), 233-244.
- RIS (H.). — 1954. Submicroscopic structure of chromosomes in fine structure of cells, Symposium. *Leiden*, 121-135.
- ROBERTSON (J. D.). — 1960. The molecular structure and contact relationship of cell membranes. Eds: J. A. V. Butler & B. Katz. *Progr. Biophys. Biophys. Chem.*, 10, 343-418.
- SJÖSTRAND (F. S.). — 1953. Electron microscopy of mitochondria and cytoplasmic double membranes. Ultrastructure of rod-shaped mitochondria. *Nature*, 171, 4340, 30-31.

