

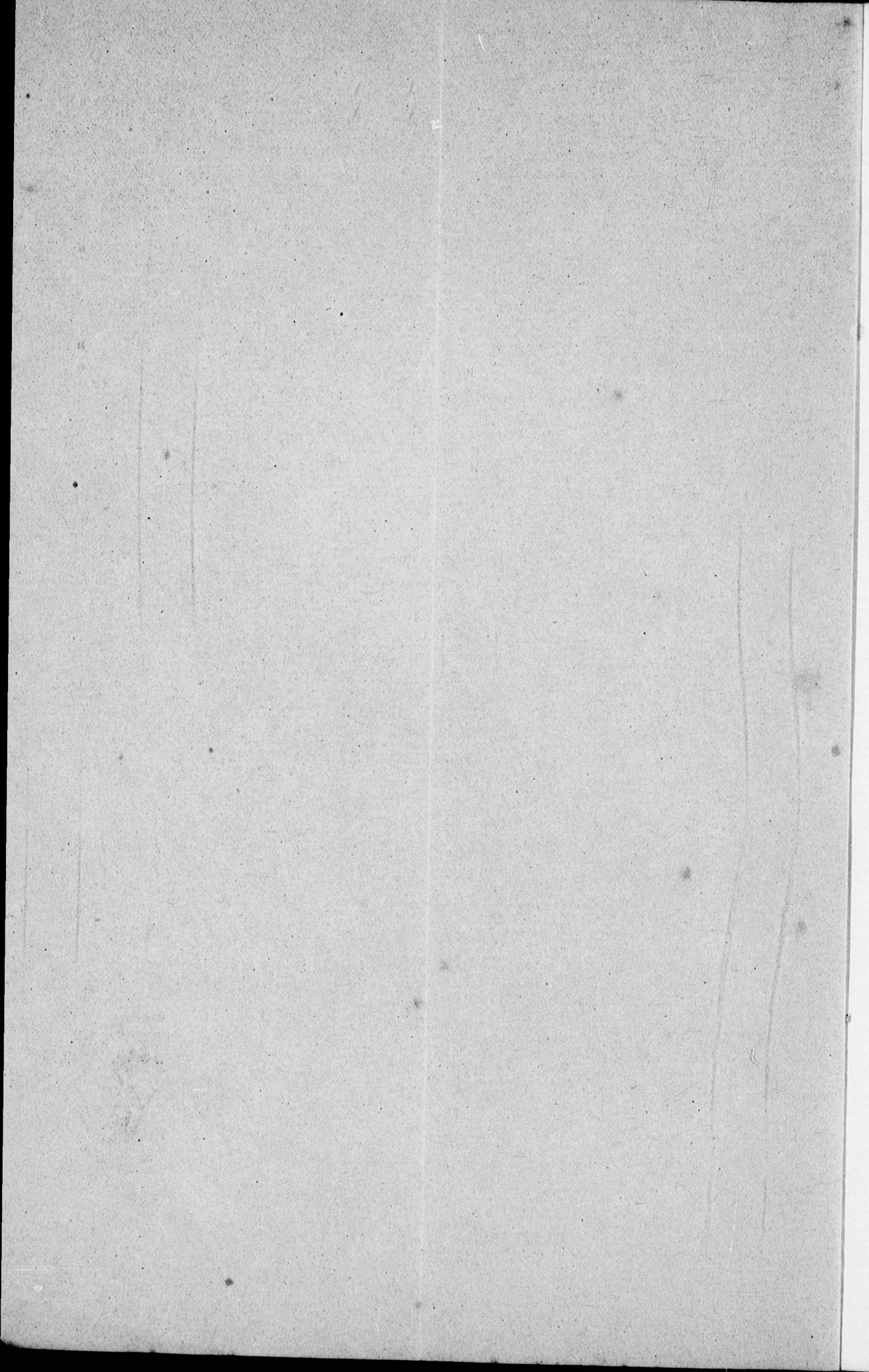
E. Gilletay.

L' Hématoxyline comme réactif spécifique
des membranes Cellulosiques non lignifiées
et non subérifiées.

(Archives neol. XVIII.)

1881.





L'HÉMATOXYLINE COMME RÉACTIF SPÉCIFIQUE

DES

MEMBRANES CELLULOSIQUES

NON LIGNIFIÉES ET NON SUBÉRIFIÉES,

PAR

E. GILTA Y;

Les réactifs employés jusqu'ici pour reconnaître la cellulose ne brillent pas par une grande sensibilité et, en outre, dans beaucoup de cas, les résultats auxquels ils conduisent n'ont pas toute la certitude désirable.

A l'appui de cette assertion, examinons succinctement, quant à leur action, les réactifs connus.

Ceux-ci, — abstraction faite des réactifs négatifs, c'est-à-dire des réactifs spécifiques pour les membranes d'autre nature, comme l'est par exemple, pour la matière ligneuse, la phloroglucine, qui ne colore pas la cellulose, — sont surtout des substances iodées.

Comme on le sait, l'iode s'emploie dans deux formes principales de réactions sur les parois des cellules végétales: 1° dans la réaction avec l'iode et l'acide sulfurique, 2° dans la réaction de Schulze, avec le chlorure de zinc iodé.

Le traitement iodo-sulfurique consiste à imbiber d'abord par

l'iode la préparation qu'il s'agit de colorer, et à ajouter ensuite l'acide sulfurique ¹).

La coloration par la dissolution chlorozincique iodée de Schulze ²) a, sur la méthode précédente, d'abord l'avantage de n'exiger qu'une seule manipulation. Ensuite, la coloration par l'iode et l'acide sulfurique offre l'inconvénient que les membranes cellulaires changent beaucoup pendant la réaction: presque toujours elles gonflent fortement, et dans maints cas elles sont, en peu de temps, complètement dissoutes. Il est clair que cette circonstance enlève toute valeur à la réaction iodo-sulfurique lorsqu'il s'agit d'étudier des structures délicates. Le chlorure de zinc iodé possède cette fâcheuse propriété à un degré moindre, mais néanmoins encore beaucoup trop prononcé pour certains cas. Si l'on considère, en outre, que la couleur produite par le chlorure de zinc iodé est rarement très intense, on comprendra que ce réactif, quelle que soit l'importance des services qu'il a rendus, se prête mal à l'étude des fins détails sur des coupes très minces.

Il y a toutefois encore un autre défaut attaché aux deux réactifs iodés, défaut qui porte également une atteinte plus ou moins grave à la confiance qu'on peut leur accorder, et au sujet duquel nous devons entrer dans quelques développements.

¹) Il y a encore d'autres matières qui, conjointement avec l'iode, opèrent plus ou moins généralement la réaction de la cellulose. C'est ainsi, par exemple, que l'acide sulfurique peut être remplacé par l'acide phosphorique. Ensuite, outre l'iode et l'eau, une des combinaisons suivantes peut suffire pour la coloration en bleu: acide iodhydrique, iodure de potassium, iodure d'ammonium, iodure de zinc ou un autre iodure métallique, chlorure de zinc (Voir: Behrens, *Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen*, p 271).

²) Schacht, *Das Microscop u. seine Anwendung* etc., Berlin, 1851, p. 31. — Le mode opératoire a été perfectionné par M. Radlkofer:

Radlkofer, *Ueber die Darstellung der Chlorzinkiodlösung als Reagens auf Zellstoff für mikroskopische Untersuchungen* (*Ann. d. Chem. u. Pharm. herausg. v. Wöhler. Liebig u. Kopp*, *Neue Reihe*, t. XVII, 1855, p. 332—337).

Pour l'application de la réaction iodo-sulfurique, l'acide sulfurique doit être étendu d'une quantité déterminée d'eau, quantité qui peut être différente dans des cas différents. C'est ainsi que des recherches spéciales ont appris à M. Harting ¹⁾ que la dilution de l'acide sulfurique, nécessaire pour la réaction de la cellulose, varie de 10 parties d'acide avec 6 parties d'eau à 10 parties d'acide avec 2 parties d'eau; aussi conseille-t-il d'avoir toujours sous la main, préparés d'avance, des mélanges de concentration croissante, par exemple, de 10 parties d'acide avec 6, 5, 4, 3 et 2 parties d'eau.

Tous ceux qui ont effectué beaucoup de colorations par le chlorure de zinc iodé savent que ce réactif est plus ou moins capricieux. Tantôt on obtient immédiatement une teinte bleue ou violette bien franche, tantôt il ne se produit que lentement une coloration très équivoque, et cela dans des conditions en apparence tout à fait semblables. Ce réactif aussi doit quelquefois être employé à des degrés divers de concentration.

Pour montrer combien les deux réactifs iodés de la cellulose fournissent des résultats incertains et variables, il suffit de rappeler les opinions contradictoires qui ont cours relativement au point de savoir s'ils colorent, oui ou non, les parois des cellules cambiales.

Chez les Conifères, d'après M. Sanio ²⁾, il apparaîtrait dans la région du cambium une légère coloration sous l'influence des réactifs de la cellulose. M. Dippel ³⁾ conteste absolument cette action. M. Mikosch ⁴⁾ indique, au moins pour la substance molle des parois radiales, une coloration faible, tandis que, pour

¹⁾ Harting, *Het Mikroskoop*, t. II, p. 255.

²⁾ Sanio, *Anatomie der gemeinen Kiefer (Pinus silvestris L.)*, dans: Pringsheim, *Jahrbücher*, t. X, p. 64.

³⁾ Dippel, *Die neuere Theorie über die feinere Structur der Zellhülle betrachtet an der Hand der Thatsachen* (tiré à part des *Abh. der Senckenb. Gesellschaft*, t. X et XI) p. 53.

⁴⁾ Mikosch, *Untersuchungen über die Entstehung und den Bau der Hoftüpfel*, dans: *Sitzb. d. K. Akad. der Wissensch. in Wien*, I, *Abth., Juni-Heft*, 1881, p. 49 (p. 24 du tiré à part).

M. Strasburger ¹⁾, ç'a été „chose facile" que de colorer la couche cambiale.

En ce qui concerne la région cambiale d'autres végétaux, M. Dippel ²⁾ mentionne qu'elle n'est pas colorée en bleu par les réactifs de la cellulose. M. Richter ³⁾ n'a pas obtenu une coloration directe, mais bien une teinte bleue après avoir fait agir préalablement, pendant quelques instants, l'acide chlorhydrique ou la potasse caustique, ou même quelquefois après avoir exercé une pression sur la préparation. M. Solla ⁴⁾ trouve, en ayant égard aussi à l'action du chlorure de zinc iodé, qu'au moins la matière intercellulaire consiste en cellulose pure. M. Russow paraît également avoir constaté la coloration cellulosique dans des cellules cambiales; le Mémoire qu'il a publié à ce sujet m'est toutefois resté inconnu.

Ces conclusions discordantes, auxquelles des observateurs différents ont été conduits, relativement à des objets analogues, par les réactifs iodés de la cellulose, montrent qu'il faut être très prudent dans l'interprétation de résultats négatifs obtenus par l'application de ces réactifs.

L'incertitude qui subsiste en pareil cas n'est d'ailleurs pas dissipée par les autres matières recommandées pour la coloration de la cellulose.

¹⁾ Strasburger, *Ueber den Bau und das Wachsthum der Zellhäute*, Jena, 1882, p. 41.

²⁾ Dippel, *Das Mikroskop*, 2^{er} Theil, p. 82.

³⁾ Richter, *Beiträge zur genaueren Kenntniss der chemischen Beschaffenheit der Zellmembranen bei den Pilzen*, dans: *Sitzber. d. k. Akad. d. Wissensch. in Wien*, I Abth., t. LXXXIII, 1881, p. 494.

⁴⁾ D'après M. Strasbürger (*l.c.*, p. 41), M. Solla aussi serait d'avis que les parois cambiales ne donnent pas la moindre réaction de cellulose. M. Solla dit toutefois (*Oesterr. botan. Zeitschrift*, 1879, p. 351); „Das Verhalten des Cambium zum . . . und Chlorzinkiodlösung berechtigt zu dem Schlusse dass hier reine Cellulose die Intercellularsubstanz ist". Ce qu'il nie complètement, c'est la coloration en bleu dans les méristèmes des points végétatifs (*l.c.*, p. 351).

En décrivant l'action du réactif de Trommer sur les tissus végétaux, M. Sachs ¹⁾ fait mention aussi de la teinte bleue qu'il communique à certaines parois cellulosiques.

La preuve, toutefois, que cette méthode n'est pas susceptible d'un emploi général, c'est que, lorsque la coloration est trop peu distincte sur des coupes minces, on est obligé d'avoir recours à des coupes plus épaisses, jusqu'à ce que la teinte s'accuse suffisamment ²⁾. Il en résulte, évidemment, que l'étude des détails délicats ne peut pas se faire avec ce réactif. En outre, toutes les parois cellulosiques ne sont pas colorées par lui.

M. Tangl ³⁾ a conseillé de faire usage, comme agent colorant, d'une solution de carmin, préparée en faisant bouillir cette substance pendant environ 10 minutes dans une solution concentrée d'alun, puis filtrant la liqueur. Les membranes subérisées et lignifiées n'éprouveraient aucune coloration de la part de ce réactif. En ce qui concerne la cellulose, M. Tangl lui-même dit qu'il colore „la plupart” des membranes de cette nature. Pour moi, il m'est arrivé maintes fois de ne pas obtenir avec lui de coloration chez les parois cellulosiques; cette restriction rend ce réactif également impropre à l'usage, au moins dans les cas difficiles.

M. Tangl ³⁾ communique, en outre, que des membranes indifférentes à son carmin aluné, telles que celles du cambium et des cellules parenchymateuses plus vieilles, absorbent, sous forme insoluble, la matière colorante d'une décoction aqueuse de bois de campêche, lorsque ce liquide renferme en même temps un peu de vitriol de fer.

M. Behrens ⁴⁾ dit, à propos de ce réactif, que des „mem-

1) Sachs, *Ueber die Stoffe welche das Material zum Wachsthum der Zelhäute liefern*, dans: Pringsheim, *Jahrb.*, t. III, p. 189.

2) Voir: Behrens, *l.c.*, p. 275.

3) Tangl, *Ueber offene Communicationen zwischen den Zellen des Endosperms einiger Samen*, dans: Pringsheim, *Jahrbücher*, t. XXII, p. 170.

4) *l.c.* pag. 274.

branes cellulósiques modifiées" s'imprègnent également de la matière colorante; ce ne serait donc pas encore là le réactif typique cherché.

Un réactif qui mérite, dans la plupart des cas, la préférence sur celui de Schulze, et qui notamment nous vient en aide là où les autres réactifs se montrent impuissants, c'est la solution d'hématoxyline.

Occupons-nous d'abord de son mode de préparation et d'emploi.

Je prépare ce réactif en prenant 5 cc d'une solution, tenue en réserve, de 7 grammes d'hématoxyline dans 50 cc d'~~eau~~, et en ajoutant ces 5 cc à 100 cc d'une solution d'alun à $\frac{3}{4}\%$. Il est bon de préparer ce mélange une couple de jours avant de s'en servir, parce qu'au commencement la coloration n'est pas encore assez intense. Le liquide se troublant promptement, on en passe chaque fois, avant l'usage, une petite partie par le filtre.

Cette solution a une couleur si foncée qu'il est parfois difficile de retrouver les petits coupes de tissu qu'on y a introduites. Le moyen ordinaire, tenir le verre contenant le liquide coloré au-dessus d'un papier blanc ou de quelque objet analogue, est ici souvent insuffisant; on doit faire passer par le verre un faisceau lumineux intense. Pour cela, l'expédient le plus simple, et qui réussit toujours, est de tenir le verre au-dessus d'un petit miroir, incliné de telle sorte sur la table que la lumière du ciel soit projetée à travers le réactif. Lorsque celui-ci n'est pas employé en couche trop épaisse ($\frac{1}{2}$ cm au plus), on voit de cette manière les coupes les plus fines.

Pour colorer la préparation, on la laisse tremper dans le réactif pendant 5—15 minutes (toujours 10—15 minutes quand une forte coloration est nécessaire). Le traitement ultérieur varie selon les cas. Veut-on une belle coloration, très intense, la préparation devra être placée dans un milieu très réfringent, tel, par exemple, qui l'huile de girofle ou le baume du Canada (les indices des liquides employés par moi étaient, respectivement,

1,54 et 1,50). De cette façon, toutefois, la netteté des parties non colorées de l'image souffre quelquefois un peu trop. Dans le cas où une coloration peu intense, quoique bien distincte encore, est suffisante, on peut faire usage d'un mélange à parties égales de glycérine et d'eau (indice environ 1.40), tandis qu'une image tenant le milieu entre les deux précédentes est fournie par l'huile de lin (indice environ 1.47).

Lorsque la préparation doit être examinée dans la glycérine, elle n'a besoin que d'un court lavage à l'eau. Est-elle destinée à être immergée dans l'huile, il faut d'abord la déshydrater au moyen de l'alcool absolu. Si dans cette opération elle devient indistincte, par suite de la formation d'un précipité en forme de gouttelettes, on commence, avant de l'introduire dans l'alcool, par la laver légèrement dans l'eau. Après qu'elle a été retirée de l'alcool, on la plonge un instant dans l'huile de girofle, pour la porter ensuite dans l'huile au sein de laquelle on se propose de l'observer.

Dans le baume du Canada, ou même dans l'essence de girofle, les préparations colorées se conservent longtemps.

Parmi les matières ne faisant pas partie de la paroi des cellules, le réactif en question colore parfois distinctement le plasma ¹⁾, et en outre, comme tout le monde le sait, les éléments chromatiniques ²⁾ des noyaux.

Quant à son action sur les parois des cellules, disons tout d'abord que M. Treub, lors de ses recherches sur la coloration du noyau, connaissait déjà le fait que l'hématoxyline colore les parois celluloses. Comme réactif spécifique de ces membranes, elle n'a toutefois pas encore été recommandée, que je

1) A raison de cette propriété, il est bon quelquefois (par exemple dans l'étude des membranes minces des Fungi) d'opérer sur des cellules plasmolytiques. On évite ainsi la possibilité de prendre la couleur du plasma pour celle des parois cellulaires.

2) M. Treub, *Iets over kleuring van celkernen*, dans: *Nedert. kruidkundig Archief*, 2^e Sér., t. III, p. 266.

sache. Et pourtant, elle possède le grand mérite de ne communiquer aucune teinte ni aux parois complètement lignifiées, ni même aux membranes cuticularisées.

Pour se convaincre de l'extrême sensibilité de ce réactif, on n'a qu'à le faire agir, par exemple, sur un xylème en majeure partie fortement lignifié mais contenant, disséminées dans la masse ligneuse, des cellules parenchymateuses à parois très minces. Comme exemple caractéristique on peut citer aussi la coloration des stries cellulosiques dans les couches cuticulaires de l'épiderme des *Hakea*. Chez le *Hakea suaveolens*, par exemple, ces stries sont très fines; néanmoins, elles se colorent très nettement en bleu et se distinguent au premier coup d'œil des couches cuticularisées, restées parfaitement incolores ¹⁾.

Même si l'hématoxyline, qui colore la cellulose en bleu, donnait une autre teinte aux membranes subérifiées et lignifiées, elle aurait encore une certaine valeur comme réactif de la cellulose. Mais cette valeur est accrue, à ce qu'il me semble, par la circonstance que l'hématoxyline n'exerce aucune action colorante sur les membranes complètement transformées en liège ou en bois. A raison de cette propriété, elle est naturellement beaucoup plus apte à déceler, dans les parois cellulaires incomplètement lignifiées ou subérifiées, les éléments cellulosiques encore inaltérés et accessibles au réactif. Lorsqu'en pareil cas on fait usage du réactif de Schulze, qui colore la matière ligneuse et subéreuse en jaune, la couleur bleue, simultanément développée dans une paroi cellulaire, ne ressort pas assez nettement pour qu'on puisse juger avec certitude du degré de la lignification.

Il y a aussi des cas, chez le sclérenchyme par exemple, où l'on obtient une teinte jaune, tandis que la dissolution de la phloroglucine dans l'acide chlorhydrique, qui, convenablement appliquée, est un réactif très sensible de la matière ligneuse,

¹⁾ Voir; De Bary, *Vergleichende Anatomie*, p. 82.

n'occasionne pas ou presque pas de coloration. La couleur jaune, développée par le réactif de Schulze, ferait alors admettre mal à propos un état de lignification, ou du moins ferait juger celui-ci plus avancé qu'il ne l'est en réalité. Dans ces cas aussi, l'hématoxyline peut répandre du jour.

Si l'on fait, par exemple, une coupe à travers un mince rameau d'*Aesculus Hippocastanum*, et qu'on la traite par l'hématoxyline, les lamelles moyennes des cellules, dans le revêtement sclérenchymateux du phloème, restent tout à fait incolores; aucune teinte n'est prise non plus par la couche externe de la paroi, celle qui tapisse la lamelle moyenne, et ce sont seulement les couches d'épaississement suivantes qui se colorent distinctement en bleu, la couche interne montrant ordinairement la coloration la plus intense. En traitant une coupe par la phloroglucine et l'acide chlorhydrique, on obtient un tableau exactement inverse. La lamelle moyenne présente alors la teinte la plus foncée, les couches externes de la paroi des fibres sont aussi encore colorées, mais vers le centre des fibres la couleur s'affaiblit rapidement et les couches internes sont complètement ou presque complètement incolores. Lorsqu'on emploie au contraire le réactif de Schulze, la lamelle moyenne, ainsi que la couche pariétale contiguë, prend il est vrai une teinte un peu plus vive que le reste de la paroi, mais ce reste est pourtant aussi coloré assez uniformément en jaune, sauf tout au plus, et dans quelques fibres seulement, la partie tout à fait interne. En admettant que les couches internes de la paroi contiennent encore plus ou moins de cellulose, l'image obtenue après l'emploi de l'hématoxyline est en parfait accord avec celle que fournit l'application de la phloroglucine; toutes les deux, en effet, dénotent qu'une lignification un peu notable n'a eu lieu que dans les parties les plus périphériques de la paroi, tandis que plus près du centre il n'existerait que de la cellulose peu ou point lignifiée. Le chlorure de zinc iodé, au contraire, ferait présumer un état de lignification assez uniforme et l'absence de couches cellulosiques non lignifiées, ce qui toutefois, comme nous venons

de le dire, n'est pas confirmé par la réaction de la phloroglucine. Dans ce cas, et dans d'autres analogues, l'hématoxyline paraît donc donner, plus rapidement que le chlorure de zinc iodé, des notions exactes sur la nature de la paroi. — A la fin de cet article, nous verrons comment pourrait s'expliquer la teinte jaune occasionnée par le chlorure de zinc iodé, alors que la phloroglucine et l'acide chlorhydrique n'indiquent pas la présence de matière ligneuse.

Outre les membranes cellulaires proprement dites, il y a encore une matière qui est colorée très fortement par l'hématoxyline, à savoir, la matière intercellulaire ¹⁾, telle qu'on la rencontre dans des éléments non lignifiés, quelquefois aussi dans des éléments déjà lignifiés en tout ou en partie. La teinte que prend cette matière est même très intense et se rapproche le plus de celle qu'on obtient avec les parois des cellules cambiales. Un exemple très instructif est offert par les cellules médullaires lignifiées du *Phlox paniculata*; après avoir fait agir l'agent colorant, on voit ici, entre deux parois primaires incolores, une mince lamelle colorée en bleu-violet, qui se continue dans les cavités intercellulaires, où elle tapisse, sous la forme d'une couche un peu plus épaisse, les parois formant ces cavités. Comme autre exemple caractéristique je mentionnerai le sclérenchyme des feuilles du *Hakea suaveolens*. Lorsqu'une coupe transversale de ce tissu est examinée dans la glycérine, on croit y voir, entre les fibres sclérenchymateuses, des cavités intercellulaires nettement limitées. Vient-on, toutefois, à colorer une préparation par l'hématoxyline, alors les cavités prennent la teinte violet foncé que présente, dans les mêmes circonstances, la matière intercellulaire. Cela prouve que les cavités n'existaient qu'en apparence; le fait que, dans les préparations non colorées, elles se dessinent avec tant de netteté, tient sans doute uni-

1) Ce terme est employé ici dans le sens que lui donne M. Dippel: *Die neuere Theorie über die feinere Structur der Zellhülle*, Abdruck aus den *Abh. d. Senckenb. Gesellsch.*, t. X et XI, p. 33 et 51.

quement à ce que l'indice de réfraction de la matière intercellulaire est sensiblement égal à celui de la glycérine, d'où doit nécessairement résulter le même effet visuel que s'il y avait des cavités véritables.

Les parois non lignifiées et non subérifiées présentent, comme nous l'avons vu, des modifications qui se comportent d'une façon douteuse ou négative vis-à-vis des réactifs iodés en usage jusqu'ici. C'est surtout à l'égard des parois du cambium que des résultats discordants ont été obtenus, avec ces réactifs, par des observateurs différents.

Avec l'hématoxyline, la paroi cambiale prend constamment une couleur superbe et très intense. Comme les deux principales matières, autres que la cellulose, qui entrent dans la composition des membranes (la lignine et la subérine) ne se colorent pas sous l'influence de l'hématoxyline, cette réaction des parois cambiales rend très probable qu'elles sont analogues, par leur nature, aux parois cellulosiques.

La substance dont sont composées les parois des cellules des Champignons est au nombre de celles qui résistent le plus opiniâtrement à la réaction cellulosique. M. Schacht ¹⁾ et M. de Bary ²⁾ n'ont pas même pu la colorer en bleu après l'avoir fait bouillir avec la potasse, ni après l'avoir traitée par le mélange de Schulze ou par l'acide chromique. Comme, dans tous les cas ordinaires, ces réactifs produisent sur les parois cellulaires lignifiées et subérifiées la réaction de la cellulose, parce que, selon les idées de Payen, les matières incrustantes seraient dissoutes et le squelette cellulosique originel mis à nu, M. de Bary a admis que, chez les Champignons, le squelette des parois cellulaires n'est pas composé de cellulose, mais d'une substance particulière, qu'il a appelée *Pilzcellulose*.

M. Richter ³⁾ se forme une autre opinion de la nature des

¹⁾ Schacht, *Die Pflanzenzelle*, p. 43.

²⁾ A. de Bary, *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Mycomyceten*, p. 7.

³⁾ Richter, *l. c.*

membranes cellulaires des Champignons. D'après ses expériences, les membranes en question peuvent bien dûment prendre une couleur bleue après avoir été „purifiées” successivement par l'eau, la potasse, l'acide acétique ou chlorhydrique, l'alcool, l'éther et enfin de nouveau par l'eau bouillante; ce résultat s'obtiendrait même par l'emploi de la seule lessive de potasse, à condition que l'action soit suffisamment prolongée ou que la potasse soit renouvelée à plusieurs reprises. M. Richter croit devoir en conclure que la base des membranes cellulaires est chez les Champignons ¹⁾, tout comme chez les autres plantes, de la cellulose, et que la difficulté de la coloration tient seulement à la présence de matières étrangères spéciales, dont on ne peut débarrasser ces membranes qu'avec beaucoup de peine. Aussi, d'après lui, la *Pilzcellulose* de M. de Bary n'existerait pas.

En ce qui concerne l'action de l'hématoxyline dans ces mêmes cas, je me contenterai provisoirement de mentionner que, chez presque tous les Champignons que j'ai examinés sous ce rapport (c'étaient principalement des Basidiomycètes), les parois cellulaires ont été plus ou moins colorées par l'hématoxyline. Plus tard je me propose de revenir plus particulièrement sur ce point.

A preuve que la cellulose existant dans le règne animal n'échappe pas non plus à l'action spécifique de l'hématoxyline, je citerai le fait que la matière intercellulaire de la tunique externe des Tuniciers a pris, sous l'influence de ce réactif, une teinte très belle.

En récapitulant maintenant par la pensée ce qui a été dit de l'action de l'hématoxyline sur les tissus végétaux, on voit que, en général, l'hématoxyline et le réactif de Schulze se comportent de la même manière. L'hématoxyline colore en bleu là où le réactif de Schulze colore également en bleu, elle ne

1) Pour l'étude des parois cellulaires des champignons, il faut toujours laisser la préparation au moins 15 minutes dans l'hématoxyline et ensuite l'observer dans l'huile de girofle.

colore pas, là où le tissu présente un caractère de lignification ou de subérification avancée.

Ces faits m'ont conduit à regarder l'hématoxyline, en ce qui concerne les matières pariétales, comme un réactif spécifique des membranes ni lignifiées ni subérifiées. Les raisons pour lesquelles, dans les cas de ce genre, l'hématoxyline est souvent préférable au réactif de Schulze, ont été exposées ci-dessus.

Mais, en outre, il y a quelques cas où le réactif de Schulze ne donne pas la coloration, tandis que l'hématoxyline la produit ou du moins peut la produire.

La signification de ces cas mérite de nous arrêter encore un instant. Comme nous l'avons vu, ils sont fournis par les cellules méristématiques (cambiales) et quelquefois par les hyphes des Champignons.

On a parfois cru que la paroi de ces deux espèces d'éléments était imprégnée de matières albuminoïdes ¹⁾. Or, la tentation est forte de rattacher à cette hypothèse l'action positive de l'hématoxyline, et d'admettre que la coloration par ce réactif doit être rapportée, au moins en partie, à des corps incrustants albuminoïdes. Ces corps albuminoïdes devraient alors être de nature telle, qu'ils soient colorés de la même manière que le plasma par l'hématoxyline. La tentation ne devient pas moindre lorsqu'on voit, dans des parois cellulaires qui sont colorées par l'hématoxyline, le réactif de Schulze déterminer quelquefois une coloration prononcée en jaune ^{2) 3)}, bien que la phloroglucine ne décèle pas, ou presque pas, de matière ligneuse dans ces parois.

Je pense toutefois, avec M. Richter ⁴⁾, qu'il est encore très incertain si, dans les cas susdits, des matières albuminoïdes in-

1) Richter, *l.c.*, p. 498, 505 et suiv.

2) Les parois des cellules méristématiques sont souvent aussi colorées en jaune par l'iodo-chlorure de zinc. Voir Solla *l.c.*, p. 351.

3) Donc, la même coloration que prennent aussi, par l'iode, les parties plasmiques.

4) Richter, *l.c.*, p. 506

crustent la paroi, et qu'il est bon de ne pas attacher trop d'importance aux spéculations sur ce sujet, d'autant plus que, pour des raisons qui seront développées plus loin, nous savons encore très peu de chose des réactions auxquelles donnent lieu les membranes organisées et des facteurs qui exercent de l'influence sur ces réactions. Au reste, quand même la coloration des parois des cellules cambiales et des hyphes serait due *entièrement* à des matières incrustantes albuminoïdes, la valeur de l'hématoxyline, comme réactif pour les parois non lignifiées et non subérifiées, n'en serait pas sensiblement atteinte. Le point essentiel, aussi au point de vue physiologique, c'est que l'hématoxyline colore seulement les parois cellulosiques (jeunes ou vieilles, imprégnées ou non de substances albuminoïdes), qui n'ont pas encore subi de lignification ni de subérification complète. Une fois cette réaction obtenue, le chlorure de zinc iodé pourra peut-être servir à distinguer si les membranes sont imprégnées, ou non, de matières albuminoïdes. Il ne faudra toutefois pas oublier que, dans les cas où le réactif de Schulze donnera une teinte jaune, le contrôle d'un autre réactif sera nécessaire, car, de cette teinte seule, on ne saurait déduire si elle provient de corps incrustants albuminoïdes, ou bien de lignine ou de subérine.

Nous avons dit que, là où le réactif de Schulze donne une coloration bleue, l'hématoxyline aussi communique aux parois des cellules la teinte bleu-violet caractéristique, et nous venons de discuter les deux cas où l'hématoxyline développe la couleur bleue, tandis que le chlorure de zinc iodé ne la produit *pas*.

Il nous reste encore à parler d'une exception remarquable, la seule de ce genre qui me soit connue: il s'agit d'un cas où l'on obtient une coloration avec le réactif de Schulze, mais *non* avec l'hématoxyline. Ce cas nous est offert par la substance dite „ivoire végétal" (endosperme du *Phytelephas macrocarpa*), donc, chose singulière, justement par le tissu que M. Fremy a cité, à cause de sa solubilité totale dans le liquide ammoniac-

cuivrique, comme un des exemples de la cellulose la plus pure.

On doit toutefois, quand il s'agit d'un résultat négatif tel que celui-ci, n'en tirer des conclusions qu'avec beaucoup de prudence. Lorsqu'une certaine matière en colore une autre, et peut par suite être employée comme réactif de celle-ci, la coloration n'est pourtant possible que si les deux matières peuvent entrer en contact l'une avec l'autre. Il est donc à prévoir que la structure des parois cellulaires sera un facteur important dans les réactions auxquelles on soumettra ces parois. Si la structure des membranes végétales est, par exemple, telle que la veut la théorie de M. Nägeli, on comprend que, dans certains cas déterminés, les éléments de la paroi (micelles) pourraient être situés de façon à ce que leur masse principale fût inaccessible à une matière qui d'ailleurs, au contact de ces éléments, serait susceptible de contracter une union chimique avec eux. Qu'on se figure, par exemple, les micelles tellement rapprochés les uns des autres que les particules du réactif ne puissent pas circuler librement dans les minces couches de liquide dont les micelles sont enveloppés. La non-coloration par le réactif employé ne prouverait alors nullement que celui-ci ne mérite pas confiance comme agent révélateur de la matière constituante des micelles, puisque, à cause de la structure particulière de la paroi, cette matière n'aurait pu être suffisamment imbibée par le réactif.

Or, l'excessive dureté du tissu endospermique des graines de *Phytelephas* rend assez vraisemblable que, précisément dans ce cas, l'hypothèse susdite se trouve réalisée, que la faible épaisseur des couches de liquide qui entourent les micelles empêche la pénétration d'un réactif peu énergique, tel que l'hématoxyline. Cela pourrait expliquer en même temps pourquoi, dans ce cas unique, le réactif de Schulze produit *bien* une coloration; ce réactif, en effet, exerce une action de gonflement, ce qui lui permet peut-être de modifier la structure de la paroi de façon à ce que la pénétration devienne possible; le réactif se fraierait alors lui-même un chemin dans la paroi. Lorsque les coupes du tissu endospermique de *Phytelephas* sont

soumises pendant $\frac{1}{2}$ minute à l'action de l'acide sulfurique concentré, l'hématoxyline aussi colore les parois.

Après ce qui vient d'être dit, il sera sans doute superflu de déclarer expressément que je suis loin de croire avoir découvert, dans l'hématoxyline, un réactif qui apprendra toujours, avec une absolue certitude, si l'on a affaire, oui ou non, à une paroi cellulosique. Il n'y a même, à mon avis, pas une seule des matières constituant de la paroi cellulaire qui puisse, dans tous les cas, être décelée sûrement par n'importe quel réactif. Pour cela, les données nécessaires nous manquent complètement. Il faudrait, en effet, connaître parfaitement, d'abord les matières en question, et ensuite l'influence que la structure organique exerce sur les réactions; or, ni l'un ni l'autre n'est le cas.

L'hématoxyline ne prétend donc pas à remplacer entièrement les autres réactifs de la cellulose. Tant que les deux conditions sus-indiquées ne sont pas remplies, on ne pourra peut-être jamais dire à priori qu'un réactif quelconque, pour les cas dont il s'agit ici, rendrait les autres inutiles. Chacun d'eux a sa valeur, et c'est par la comparaison de l'action de tous les réactifs connus qu'on arrive le mieux à la connaissance des matières étudiées. Je pense seulement que, pour distinguer les membranes cellulosiques des membranes lignifiées et subé-rifiées, l'hématoxyline est un réactif plus général, et surtout plus sensible, que ceux dont on a fait usage jusqu'à présent, et qu'il mérite donc souvent la préférence. Comme moyen de contrôle, dans les cas douteux, il sera toutefois constamment nécessaire d'avoir recours aussi à d'autres réactifs.

