

Travaux Pratiques d'Histologie et d'Anatomie des Plantes Vasculaires

Proposé par **Souad SKALLI, Pr Habilité**, cet outil pédagogique pour les travaux pratiques (TP) d'histologie végétale est destiné aux étudiants de S2 et de S6 concernés par ces TP (Biologie des organismes végétaux). Il va aider ces étudiants à mieux comprendre et à mieux réussir leurs TP d'histologie et d'anatomie des plantes vasculaires (Cormophytes).

Date de publication sur le site de la FSR (<http://www.fsr.ac.ma/>), le 16 mars 2018.

Date de mise à jour et de mise en ligne sur le site de la FSR (<http://www.fsr.ac.ma/>), le **8 mars 2022**.

Une vidéo sur le déroulement du TP sur les Coupes Histologiques en Biologie Végétale est réalisée par Pr Skalli et dont le lien est :
<https://www.youtube.com/watch?v=ah8RU9MI9sQ>

Cet outil pédagogique est protégé par des droits d'auteur.

Souad SKALLI, Prof. Habilité
Centre de Recherche Biotechnologies
Végétales et Microbiennes, Biodiversité et
Environnement
Faculté des Sciences Rabat (FSR)
Université Mohammed V
Contact : s.skalli@um5r.ac.ma

PARTIE I : TISSUS VEGETAUX

Un tissu est un ensemble de cellules ayant la même fonction. Le regroupement des tissus en vue d'assurer différentes fonctions donnera naissance aux organes : racines, tiges, feuilles ou fleurs. La formation des tissus résulte de l'activité des tissus méristématiques.

L'étude des tissus végétaux se base sur différents critères :

-  Localisation : Ecorce ou cylindre central
-  Nombre d'assises
-  Disposition des cellules : alternes = tissus primaires ; alignées = tissus secondaires
-  Forme des cellules
-  Epaisseur de la paroi
-  Coloration et nature de la paroi
-  Nom et rôle du tissu

D'après le rôle des tissus végétaux, on distingue :

-  Tissu méristématiques
-  Tissu de protection
-  Tissus assimilateurs et de réserve (parenchymes)
-  Tissus de soutien
-  Tissus de conduction

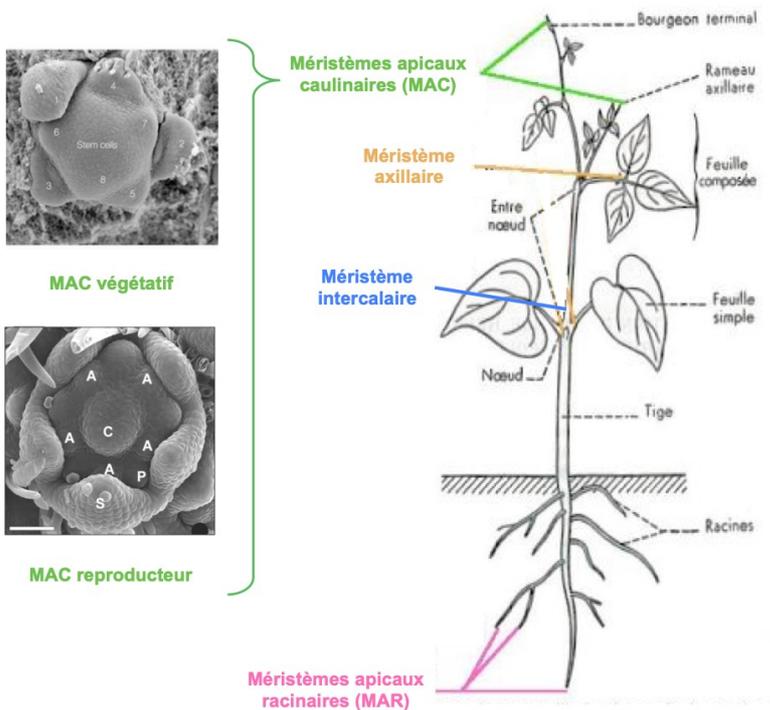
1- Les tissus méristématiques

Ce sont des tissus de croissance présents dans tous les organes des plantes. Ils sont formés par un ensemble de petites cellules indifférenciées, qui se multiplient et se divisent lors de la saison végétative.

Ils sont à l'origine de tous les autres tissus de la plante et sont responsables de la croissance indéfinie. On distingue :

-  Méristèmes primaires : apicaux, dans les bourgeons et à l'extrémité des racines

Distribution des méristèmes primaires à l'échelle de la plante



✚ Méristèmes secondaires : latéraux, à la périphérie des tiges et racines

2- Les tissus de protection

Ils recouvrent tous les autres tissus et les protègent contre la déshydratation et les agressions extérieures. Ils forment un revêtement imperméable et résistant mais qui permet les échanges avec le milieu extérieur. Il en existe plusieurs types, on distingue :

- ✚ Epiderme
- ✚ Assise subéreuse

- Subéroïde
- Suber

Mis en forme : Normal, Sans numérotation ni puces

Mis en forme : Police :(Par défaut) +Titres CS (Times New Roman), 13 pt, Couleur de police : Texte 1, Police de script complexe :+Titres CS (Times New Roman), 13 pt

3- Les tissus assimilateurs ou de réserve

Les parenchymes sont des tissus de remplissage présents dans tous les organes de la plante. Ils ont pour fonction principale la réalisation de la photosynthèse et le stockage des réserves.

On distingue :

- Parenchyme chlorophyllien ou assimilateur = parenchyme périphérique spécialisé dans la photosynthèse, présent au niveau des feuilles et des jeunes tiges.
- Parenchyme de réserve ou interne

4- Les tissus de soutien

Les tissus de soutien assurent la souplesse et la rigidité aux organes de la plante. Il en existe deux types :

- Collenchyme
- Sclérenchyme

5- Les tissus conducteurs

Les tissus conducteurs assurent le transport de la sève dans tous les organes de la plante. Il existe un double système de tissus conducteurs :

- Le xylème
- Le phloème

Le fonctionnement des méristèmes secondaires génère les tissus conducteurs. Le cambium donne les tissus conducteurs secondaires :

- Bois (xylème secondaire) : vers l'intérieur
- Liber (phloème secondaire) : vers l'extérieur

6- Autres tissus

6.1- Endoderme

- Endoderme en bande de caspary
- Endoderme en fer à cheval (ou en U)

Mis en forme : Normal, Sans numérotation ni puces

Mis en forme : Police :(Par défaut) +Titres CS (Times New Roman), 13 pt, Police de script complexe :+Titres CS (Times New Roman), 13 pt

6.2- Péricycle

Le péricycle est un tissu primaire vivant constitué d'une seule couche de cellules, présent dans les racines. Il s'agit de la couche la plus externe du cylindre central, collée à l'endoderme, couche de cellules la plus interne du cortex racinaire.

6.3- Tissus de sécrétion

Certaines cellules isolées dans le parenchyme ou groupées en poches ou en tube peuvent synthétiser des substances. Elles peuvent soit stocker les produits ou les sécréter dans des organes végétaux. **Exemple** : cellules épidermiques productrices d'essences volatiles.

PARTIE II : LA CONFECTION DES COUPES ET LE MONTAGE

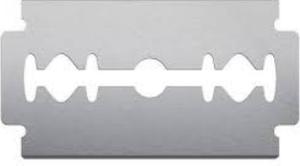
1- Le matériel

 Echantillons à couper : échantillons végétaux frais

 Matériel de laboratoire

Le TP d'histologie végétale consiste en une manipulation à main levée, nécessitant le matériel de laboratoire suivant :

<p>Un microscope photonique ou optique</p>	
<p>Des lames et des lamelles</p>	

<p>Une lame de rasoir</p>	
<p>Une pince</p>	
<p>Un verre de montre</p>	
<p>Des morceaux de polystyrène</p>	

**De l'Hypochlorite de sodium
(eau de javel) dans une
pissette**



**Des morceaux de papier
filtre**



**Une solution de carmin-vert
d'iode**



<p>Une pissette à eau</p>	
<p>Un tamis</p>	
<p>Un pot de récupération des eaux</p>	

Des bouchons de récupération



- ✚ Une blouse blanche manches longues
- ✚ Le polycopié de l'année en cours, conçu pour ce TP

2- Les coupes

Il s'agit de coupes à la lame de rasoir du tronçon d'échantillon (tige, feuille, pétiole, racine) qu'il faut mettre dans le verre de montre (ou bouchon) rempli d'eau de robinet.

- ✚ Préparez les bouchons avec de l'eau de robinet pour recueillir les coupes.
- ✚ Coupez des tranches très fines et non obliques, en effleurant la surface de polystyrène avec une lame de rasoir neuve. C'est le fil de la lame qui tranche : faites glisser ce fil à travers le polystyrène. Les coupes les plus fines sont transparentes, comme écrasées, presque transparentes et collées sur la lame.
- ✚ Faites 5 à 6 coupes de suite, passez délicatement chaque coupe avec le gras du doigt afin qu'elle tombe dans l'eau ; les coupes s'étalent. Vérifiez qu'elles soient bien plongées dans l'eau sinon enfoncez-les. Evitez de mouiller la lame de rasoir.

3- La sélection des coupes

Enlevez le polystyrène qui flotte, éliminer les coupes trop épaisses.

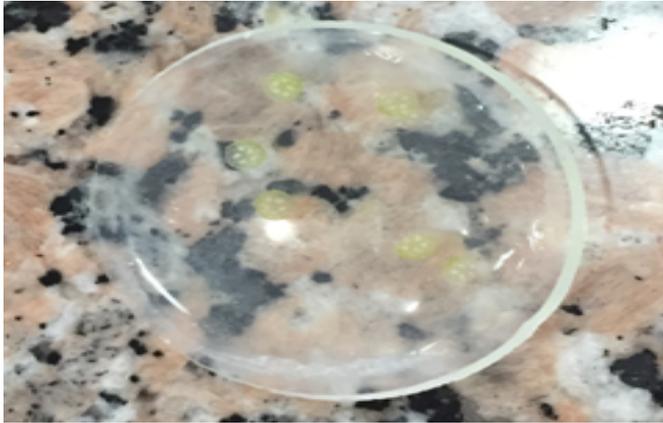


Photo des coupes histologiques de la tige liane de bryone dioïque (*Bryonia dioica*) lors de la 1^{ère} séance du TP de S2, groupe A0302 de l'année universitaire 2018-2019



Toutes les coupes fines ne seront pas forcément bonnes à observer : préparez assez d'échantillons (5 à 6 coupes)

4- Videz les cellules de leur contenu pour ne conserver que les parois

- ✚ Traiter toutes les coupes en même temps
- ✚ Mettez-vous au-dessus d'un pot de récupération puis verser l'eau et les coupes à travers le tamis

- ✚ Placer les coupes dans de l'eau de javel, attendez environ 15 min et vérifiez qu'elles trempent.

5- Coloration des coupes

L'étude des tissus végétaux se base sur une double coloration au Carmino-vert (= utilisation de deux colorants : Carmin aluné et le Vert d'iode). Ce sont des colorants spécifiques à la paroi cellulaire :

- ✚ **Coloration rose** : Paroi cellulosique
- ✚ **Coloration verte** : Paroi cutinisée ; Paroi subérifiée ; Paroi lignifiée.

Lors du TP :

- ✚ Jetez l'eau de javel dans le pot de récupération à travers le tamis
- ✚ Rincez soigneusement les coupes avec de l'eau du robinet (grande pissette)
- ✚ Placer les coupes dans le colorant (Carmino-vert) environ 12-15 min
- ✚ Rincer rapidement à l'eau du robinet

6- Montez les coupes entre lame et lamelle

- ✚ Montez une à deux coupes entre lame et lamelle dans une goutte d'eau pour observation immédiate.



**Première séance TP S2 d'Histologie et d'Anatomie des Plantes Vasculaires
Groupe C0302, FSR le 15 mars 2018**

De façon pratique, le déroulement en détail de ce TP et pour réussir les coupes histologiques des tissus végétaux, Pr Skalli, vous propose la vidéo suivante :

<https://www.youtube.com/watch?v=ah8RU9MI9sQ>

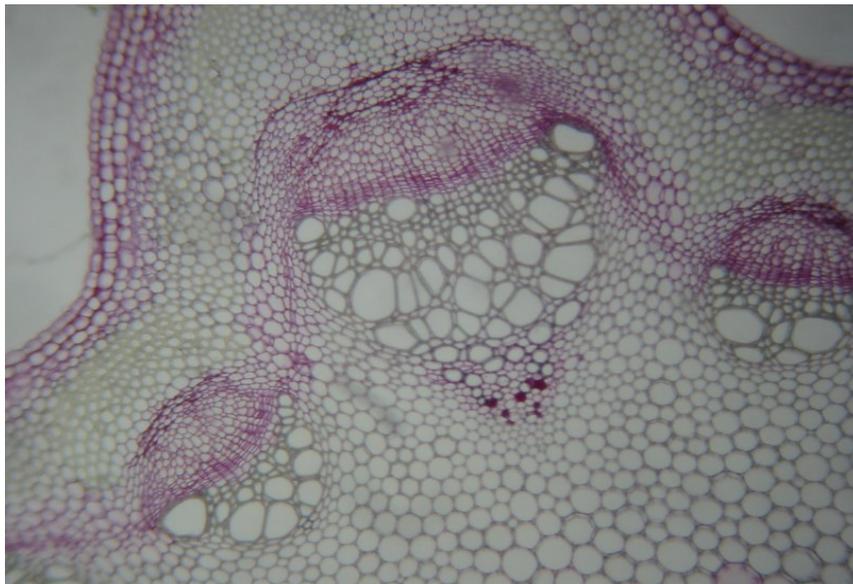
Cette vidéo vous montre comment se déroule le TP d'histologie végétale de A à Z. Le protocole de découpe et de coloration des végétaux pour l'observation histologique y est détaillé.

Ces TP d'histologie et d'anatomie des plantes vasculaires permettent :

 D'identifier les différents tissus végétaux à partir de leur paroi cellulaire,

Colorant	Couleur de la paroi	Nature de la paroi	Tissus
Carmin aluné	rose	Pectocellulosique (Lamelle moyenne + Paroi primaire)	épiderme, parenchyme, collenchyme, phloème primaire, liber, phelloderme,...

Vert d'iode	vert-bleue verdâtre	Lignifiée (Lamelle moyenne +Paroi primaire +Paroi secondaire) subérifiée	sclérenchyme, xylème primaire, bois Suber, assise subéreuse
-------------	------------------------	---	---



Exemple des différents tissus d'une coupe transversale de tige

- ✚ De comparer les Dicotylédones et Monocotylédones (Tableau 1),
- ✚ D'identifier les caractéristiques différentielles des organes des Dicotylédones et Monocotylédones (Tableau 2).

Tableau 1 : Comparaison Dicotylédones et Monocotylédones (http://serres.u-bourgogne.fr/article.php3?id_article=357)

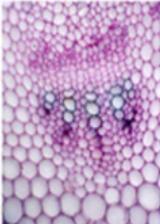
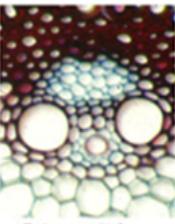
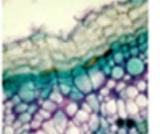
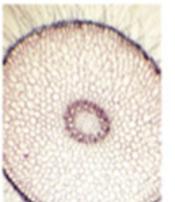
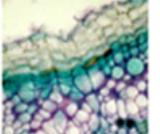
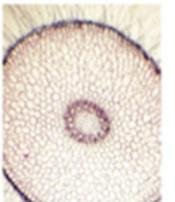
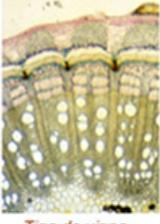
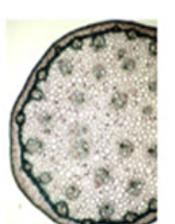
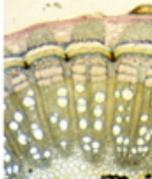
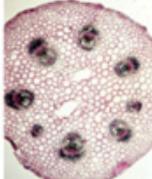
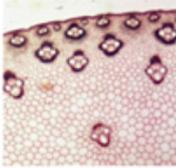
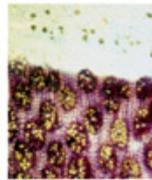
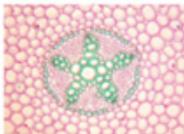
DICOTYLÉDONES			MONOCOTYLÉDONI
Présence d'un cambium encadré de bois et de liber secondaires ou cambium au moins présent.			Absence du cambium donc pas de tissus secondaires.
Présence d'un périderme avec phellogène et suber secondaire (liège). Parfois absent chez les plantes annuelles. Absent dans les feuilles			Tissus primaires à la surface de l'organe adulte (épiderme, rhizoderme ou exoderme).
	<i>Faisceau libéro-ligneux avec bois, liber et liège secondaires</i>	<i>Faisceau libéro-ligneux de chiendent sans cambium</i>	
			
	<i>tige limitée par le liège secondaire</i>	<i>Racine limitée par ses tissus primaires</i>	
Croissance en diamètre assurée par le cambium et les tissus secondaires conducteurs apparus très tôt. Dans les tiges pérennes, elle se renouvelle tous les ans,.			Croissance en diamètre limitée ; importance de diamètre dépendant des tissus primaires . Faisceaux d'emblée nombreux, ou par activité histogène primaire ultérieure.
	<i>Tige de vigne</i>	<i>Tige de Tradescantia</i>	

Tableau 2 : caractéristiques différentielles des organes des Dicotylédones et Monocotylédones (http://serres.u-bourgogne.fr/article.php3?id_article=357)

<p>Tige de Dicotylédone</p> <p>Eustèle typique Faisceaux libéro-ligneux avec cambium sur 1 cercle (1 seul f. l. l. par rayon) et moelle.</p> <p>Des exceptions chez des Dicotylédones anciennes (Pipérales, Renonculacées...)</p>	 <p><i>Tiges de vigne</i></p>  <p><i>Tiges renoncule.</i></p>	 <p><i>Tiges de sorgho</i></p>  <p><i>Tiges de Yucca</i></p>	<p>Tige de Monocotylédone</p> <p>Atactostèle à nombreux f. l. l. sans cambium, dispersés dans la tige, plus petits en périphérie. Pas de formations secondaires</p> <p>Des exceptions : MES : "cambium" péricyclique avec xylème et phloème secondaires internes)</p>
<p>Feuille de Dicotylédone</p> <p>Portion à symétrie bilatérale de l'eustèle typique à faisceaux libéro-ligneux avec cambium.</p>	 <p><i>Feuille de laurier rose</i></p>	 <p><i>Feuille d'oyat</i></p>	<p>Feuille de Monocotylédone</p> <p>Portion à symétrie bilatérale d'eustèle typique à faisceaux libéro-ligneux sans cambium.</p>
<p>Racine de Dicotylédone</p> <p>Protostèle actinostélique à 2 à 6-7 pôles de bois et peu de métaxylème primaire au centre. Cambium toujours présent, formations secondaires très apparentes ou discrètes.</p>	 <p><i>Racine de vigne</i></p>  <p><i>Racine de renoncule</i></p>	 <p><i>Racine d'iris.</i></p>	<p>Racine de Monocotylédone</p> <p>Siphonostèle à moe centrale ou protostèle actinostélique avec à 20-30 pôles de bois métaxylème indépendant, autour de la moelle ou au centre. Pas de cambium en les pôles</p>

CRITERES DE RECONNAISSANCE DES TISSUS PRIMAIRES

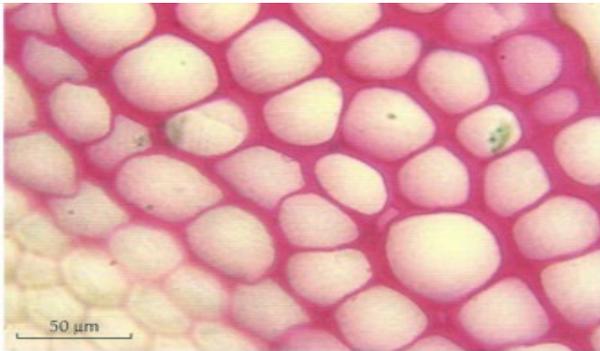
D'après BOUTIN *et al.* (2010)

- Les **parenchymes**, leurs cellules en général circulaires et à parois cellulosiques fines. La disposition non rayonnante conduit à la présence de méats (m) au sein des parois, dans les zones de contact entre trois cellules. La forme des cellules est très particulière dans certains cas ; ce sont les parenchymes palissadiques à cellules rectangulaires de certains limbes et les parenchymes aérifères des plantes aquatiques qui développent des lacunes d'aspects variés entre elles. Certains parenchymes présentent des parois épaissies et lignifiées mais le maintien de méats les distingue du sclérenchyme. Ils sont présents dans tous les organes.



Parenchyme (m = méat)

- Le **collenchyme**, ce tissu de soutien en position périphérique dans les organes aériens se reconnaît à ses parois cellulosiques épaissies de manière inégale, selon les cas, aux angles ou sur les parois tangentielles.



Collenchyme

- Le **sclérenchyme**, un tissu de soutien de localisation semblable à celle du collenchyme (un peu plus interne toutefois), aux parois régulièrement épaissies et lignifiées, dont le calibre des cellules est relativement constant à la différence du xylème. Il arrive que la lumière des cellules soit fort réduite par suite de l'épaississement considérable des parois.

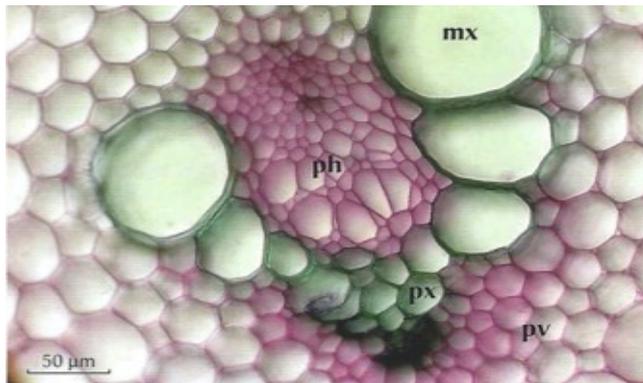


Sclérenchyme

- Le **xylème primaire**, ce tissu conducteur de sève brute présente toujours des cellules à parois régulièrement épaissies et lignifiées. Leur diamètre n'est jamais constant. Il s'accroît du protoxylème (px), région où la différenciation a été précoce, au métaxylème (mx), région à différenciation plus tardive. La position interne ou externe de protoxylème et du métaxylème dépend du type d'organe et de sa position systématique.

- Le **phloème primaire**, on le reconnaît à ses petites cellules aux parois cellulosiques peu épaissies et à la dualité de leur calibre. A chaque cellule de

diamètre moyen est accolée en principe une petite cellule ou cellule-compagne. Un autre critère est sa proximité avec le xylème primaire, du moins tant qu'il n'y a pas de tissus secondaires. Dans ce cas, il ne doit pas être confondu avec le parenchyme de transfert ou parenchyme vasculaire (pv) qui jouxte le xylème primaire (pas de cellules compagnes pour ce dernier).



Xylème & Phloème

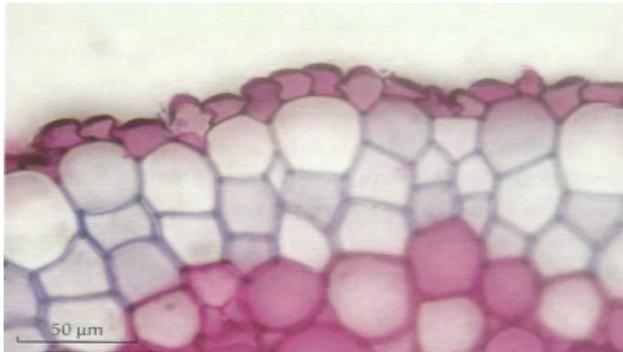
✚ L'**assise pilifère** ou **rhizoderme**, tissu de revêtement unistratifié de la zone pilifère des racines, il possède des cellules très allongées à fine paroi cellulosique, les poils absorbants.



Rhizoderme

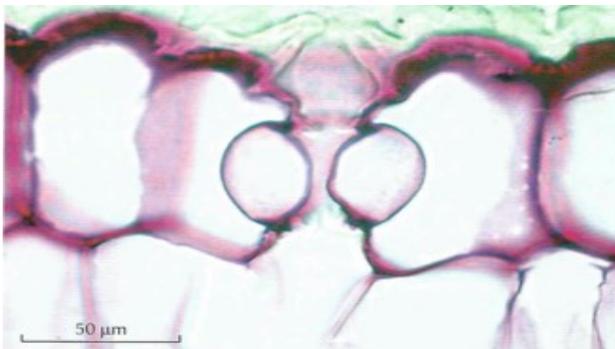
✚ Le **subéroïde**, revêtement de la zone subéreuse des racines, il est constitué de plusieurs couches de cellules aux parois épaissies par la subérine (lipide) et de

couleur crème voire verte (lignification de la subérine). Son aspect non rayonnant permet de le distinguer du liège.



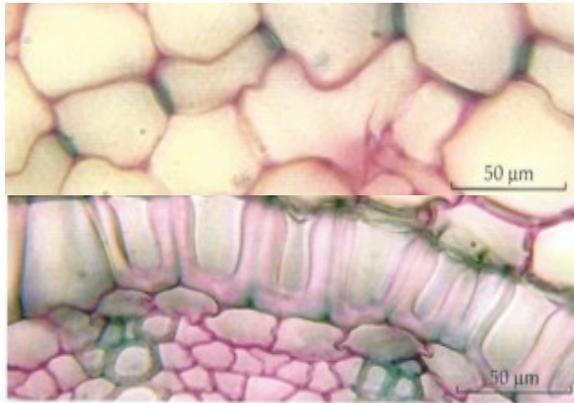
Subéroïde

- ✚ L'**épiderme**, c'est l'assise de revêtement des portions aériennes. Il comporte une seule couche de cellules dont la paroi cellulosique externe est souvent épaissie voire lignifiée et est recouverte d'une pellicule lipidique (cutine et cires) plus ou moins nette, la cuticule. Localement, des couples ovoïdes ou stomates constituent les lieux d'échanges avec le milieu extérieur.



Epiderme

- ✚ L'**endoderme**, cette assise monostratifiée en général présente une lignification partielle selon deux motifs, un cadre de lignosubérine sur les parois radiales et transversales, ou un épaississement en U sur les parois internes et radiales. Sa présence au sein des organes est assez variable et n'est pas strictement racinaire.

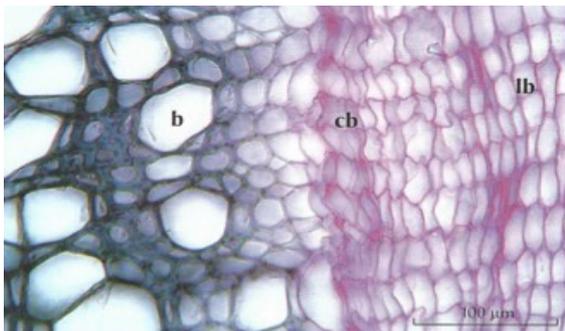


Endodermes

CRITERES DE RECONNAISSANCE DES TISSUS SECONDAIRES

D'après BOUTIN *et al.* (2010)

- ✚ Le **cambium** ou **assise génératrice libéroligneuse**, est constitué de petites cellules rectangulaires « aplaties », en files radiales, aux parois cellululosiques très fines (ch). Sa situation est tout à fait spécifique, entre bois et liber.
- ✚ Le **phloème secondaire** ou **liber**, s'apparente au phloème primaire si ce n'est la disposition radiale des cellules (lb). Parfois des cellules à parois épaissies et lignifiées s'y intercalent. Il se situe sur la face externe du cambium.



Cambium- liber

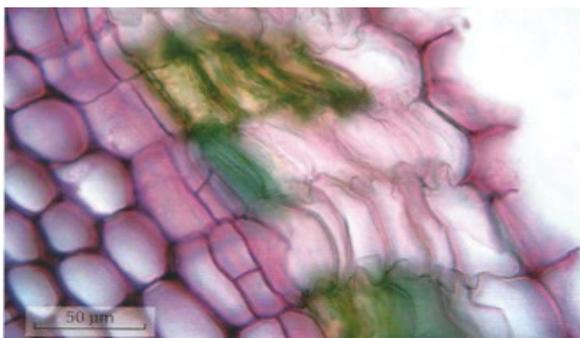
- ✚ Le **xylème secondaire** ou **bois**, lorsqu'il est présent, ce tissu est en général abondant. Il se localise sur la face interne du cambium (b) et comporte des cellules aux parois régulièrement épaissies et lignifiées de deux orientations. Les

cellules des rayons, non systématiquement lignifiées, sont allongées horizontalement ce que l'on observe en coupe transversale. Quant aux cellules allongées verticalement et donc sectionnées transversalement, elles sont de diamètres semblables (trachéïdes) ou distincts lorsqu'il y a différenciation entre fibres (faible diamètre) et vaisseaux (diamètres importants). La distinction entre bois initial riche en vaisseaux (bi) et bois final (bf) riche en fibres et l'observation des unités annuelles ou cernes complètent l'analyse du bois des plantes arbustives et arborescentes.



Bois

Le **phellogène** et le **liège**, en périphérie des tiges et racines ligneuses se développe une nouvelle assise génératrice, le phellogène, constituée de 2-3 couches de cellules apparentées aux cellules cambiales (en forme de rectangle aplati, à paroi cellulosique très fine). Elle produit sur sa face externe un tissu de revêtement nommé liège ou suber en raison du revêtement de subérine (couleur jaune à marron) de ses parois. La présence d'un autre tissu, cellulosique dans ce cas, est assez rare.



Phellogène et liège