MISE EN ÉVIDENCE DE CRISTAUX DE CARBONATE DE CALCIUM DANS LE BOIS DES PEUPLIERS. CONSÉQUENCES SUR LA RÉPARTITION DES IONS MINÉRAUX LIÉE A LA DURAMINISATION

G. JANIN et A. CLÉMENT

*Station de Recherches sur la Qualité des Bois,
Station de Recherches sur les Sols forestiers et la Fertilisation,
Centre national de Recherches forestières, I.N.R.A.,
54 - Champenoux, par Einville*

RÉSUMÉ

Une recherche systématique de la présence de cristaux dans le bois du genre *Populus* sur de jeunes plants et des arbres adultes a été entreprise à la suite de leur mise en évidence sur les clichés radiographiques de nombreux échantillons pris sous forme de carottes de sondage.

Le phénomène de dépôts cristallisés a été étudié qualitativement et quantitativement.

L'étude qualitative a montré une présence constante de cristaux dans les sections *Aigeiros* et *Tacamahaca* et une absence complète dans la section *Leuce*. Le nombre de vaisseaux obstrués a été compté cerne par cerne à partir de coupes microscopiques sur des sections entières de *Populus trichocarpa*. Les modalités de répartition des dépôts dans les vaisseaux et les fibres du tronc, des branches et des racines ont été explicitées. Des analyses faites en chromatographie en phase gazeuse, en spectroscopie aux rayons X et en microscopie électronique classique et à balayage du type Stéréoscan ont prouvé que les cristaux étaient essentiellement formés de carbonate de calcium.

L'étude quantitative chimique sur *Populus robusta* et sur *Populus trichocarpa* des cations Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ et de l'anion phosphore a permis de chiffrer cerne par cerne les concentrations atteintes et les variations observées avec la présence des cristaux.

En outre, nous avons séparé analytiquement trois groupes d'années sur chaque section :

- l'accroissement annuel voisin du cambium,
- le reste de l'aubier,
- le bois de cœur,

et nous avons mis en évidence un *cerne-charnière* qui sert de transition du point de vue des concentrations en ions entre le bois d'aubier et le bois de cœur.

I. — INTRODUCTION

I.1. — *Historique et observations générales sur le phénomène*

Le point de départ de la présente étude se trouve dans un rapport à distribution limitée intitulé « Première appréciation de la qualité du bois de *Populus trichocarpa* cultivé dans le Populetum de Velaine-Sous-Amance » (POLGE, 1967) qui contient, en outre, à titre de comparaison, une revue des qualités du bois de différents autres clones cultivés dans le même Populetum.

Le matériel végétal avait été prélevé à la tarière de Pressler sous forme de carottes de sondage et avait permis d'obtenir des images radiographiques où étaient observées les variations de la densité du bois, analysées à l'aide d'un microdensitomètre optique qui fournit un enregistrement graphique continu de ces variations (POLGE, 1966).

Des anomalies avaient été repérées au cours de ces mêmes enregistrements : elles consistaient en des points de discontinuité sur les courbes, liés à l'existence de taches opaques aux rayons X très localisées sur les clichés radiographiques. Ces variations brusques de la densité ne pouvaient pas être interprétées à l'aide des données anatomiques du végétal examiné.

Sur les radiographies, ces taches opaques aux rayons X se présentent comme des plages de très forte transparence où le rayonnement est complètement absorbé, ponctuelles quand l'exposition aux rayons X est faite parallèlement au fil du bois, sous l'aspect de bandes étroites, brillantes également, couvrant toute la largeur de la carotte quand celle-ci est radiographiée perpendiculairement au fil du bois (figure 1 *).

FIG. 1. — *Positif de radiographie de carottes de sondage de Populus trichocarpa montrant des traces d'inclusions minérales dans les vaisseaux (X 2)*

FIG. 1. — *X-ray photograph positive print of Populus trichocarpa increment cores showing mineral streaks within the vessels (X 2)*

On avait pu se rendre compte qu'il s'agissait d'un colmatage des vaisseaux par une substance minérale contenant probablement des sels de métaux lourds, absorbant fortement les rayons X.

* Les cristaux apparaissent sur la radiographie elle-même sous forme de taches transparentes. Cette figure et les suivantes de même nature sont des images inversées où la présence de cristaux se traduit donc par des zones de très fort noircissement.

Par la suite, on a pu observer le même phénomène sur tous les peupliers étudiés à la Station, quelles que soient les conditions d'environnement (Villers-Cotterêts, vallée de la Saône, vallée du Pô, Arboretum de Tervuren — Belgique), mais en revanche il ne s'est manifesté jusqu'à ce jour sur aucune radiographie des dizaines de milliers d'échantillons d'autres espèces, tant feuillues que résineuses.

Cet état de choses nous a amené à étudier plus en détail la nature de ces cristaux, leur localisation et leur importance dans la vie du végétal, notamment en rapport avec le phénomène de duraminisation dont on connaît l'importance au point de vue qualité du bois.

En outre, en considérant le faible volume de bois prélevé à l'aide d'une carotte de sondage comparé au volume total de la tige, le fait que le prélèvement est effectué au hasard dans l'arbre suivant une direction radiale, et le nombre élevé de taches opaques ou de vaisseaux colmatés dans les carottes analysées, nous avons pensé qu'il s'agissait d'un phénomène suffisamment important pour mériter d'être décrit à la fois qualitativement et quantitativement.

1.2. — *Revue des travaux récents sur la présence de cristaux dans les bois feuillus et résineux*

Les ouvrages sur l'anatomie végétale et la technologie du bois ont depuis longtemps mentionné que les différents éléments du bois : vaisseaux, fibres et cellules parenchymateuses (rayons ligneux notamment) pouvaient contenir des inclusions de diverses natures, allant des variétés amorphes de substances organiques aux dépôts cristallisés de substances minérales.

Ces cristaux ont été pour la plupart signalés et identifiés dans des cas précis comme des oxalates de calcium, des carbonates de calcium ou des phosphates de calcium en mélange éventuellement avec d'autres sels (PANSHIN et DE ZEEUW, 1964 — METCALFE et CHALK, 1950).

Toutefois, les dépôts cristallisés, dont fait état la littérature, sont le plus souvent décrits comme présentant un caractère accidentel et traduisant une réaction anormale du végétal.

De plus, il n'existait jusqu'ici aucune étude d'ensemble des cristaux dans le genre *Populus*, et nos observations tendent cependant à montrer qu'ils sont présents de façon systématique dans certaines sections et que leur formation ressort d'un processus physiologique normal, comme c'est le cas pour ceux des *Ulmacées* (BOUREAU, 1957).

Certains auteurs ont rattaché la présence de cristaux à des défauts ou localisations particulières du bois.

Ainsi, RECORD (1927) mentionne l'existence de cristaux de carbonate de calcium dans différentes familles et espèces de végétaux en insistant sur leur accumulation dans des sites particuliers du bois : bois de cœur, faux bois de cœur, nœuds, blessures, moelle et taches colorées du bois.

ELLIS (1967) fait porter son attention sur les relations qui peuvent exister entre la teneur en sels minéraux apportés par les dépôts cristallisés et la formation de bois de cœur.

MIA (1969), dans une étude sur la coloration du bois de cœur et de certaines taches ponctuelles très localisées dans le bois de l'espèce *Acer saccharum*, montre l'existence de nombreuses sortes de sels minéraux non identifiés contenant du calcium, du magnésium et du potassium, probablement déposés sous forme de carbonates associés à des substances phénoliques.

Nous n'avons pas eu connaissance de travaux visant à apprécier l'importance quanti-

tative de ce phénomène pour la totalité d'un arbre étudié systématiquement, ainsi que par extension, pour l'ensemble du genre auquel cet arbre appartient.

Cependant, nous pouvons rappeler une très intéressante étude sur le genre *Abies* qui a été menée par des Chercheurs canadiens et américains (KENNEDY *et al.*, 1968); dans ce travail, après une identification certaine des cristaux, en l'occurrence des cristaux d'oxalate de calcium dans les rayons ligneux, ils ont procédé à des comptages en exprimant le nombre de cristaux par millimètre carré de surface de végétal sur des coupes microscopiques. Ces numérations, effectuées sur toute la hauteur d'un arbre et suivant les années, les ont conduits à suggérer une règle pratique de détermination des espèces fondée sur l'abondance et la forme des cristaux d'oxalate de calcium présents.

Au cours de tous ces travaux, les questions concernant l'origine de ces dépôts et leur rôle dans la vie de l'arbre ont été fréquemment évoquées, mais sans être complètement élucidées.

1.3. — *Buts poursuivis dans cette étude*

Après avoir observé ces dépôts dans le bois de peuplier, nous nous sommes proposés de déterminer leur nature exacte et de décrire en détail les modalités suivant lesquelles ils se forment.

De plus, nous nous sommes efforcés de donner un aperçu des espèces du genre *Populus* actuellement examinées qui contiennent ou non ces inclusions pour voir si ce phénomène d'accumulation de cristaux présentait un caractère spécifique.

Enfin, nous avons cherché à exprimer quantitativement l'importance des cristallisations dans le cas de jeunes plants et d'arbres adultes au moyen de comptages et d'analyses chimiques pour préciser un aspect de l'absorption des sels minéraux par le végétal.

2. — DÉTERMINATION QUALITATIVE

Le caractère apparemment assez général de la présence de cristaux dans le bois des peupliers nous a amené à étendre nos investigations à un grand nombre d'autres espèces du genre *Populus* en nous intéressant aux différents aspects dendrologiques, anatomiques et physiologiques, et en procédant, enfin, à une étude physico-chimique approfondie des cristaux observés.

2.1. — *Aspects dendrologiques*

La méthode d'étude des échantillons de bois sous forme de carottes de sondage prélevées à la tarière de Pressler a facilité notre recherche. En effet, elle permet, entre autres avantages, non seulement de procéder à des tests non destructifs pour le végétal, mais encore de réunir, sur un même cliché radiographique, de nombreux échantillons aux fins de comparaisons. C'est de ces comparaisons que ressort l'extrême variabilité du phénomène entre les différentes espèces étudiées.

2.11. *Étude sur arbres adultes*

Une revue méthodique aussi complète que possible des espèces du genre *Populus* dont nous disposons a été dressée en regard de la présence ou de l'absence des inclusions et de leur importance, à l'aide des peupliers cultivés dans le Populetum de Velaine-sous-Amance.

Le tableau ci-dessous résume l'état actuel de nos observations* :

TABLEAU I

Section	Groupe	Espèces ou clones	Origine	Nombre d'arbres examinés	Présence de cristaux
Aigeiros	X euraméricain	I 214	Velaine-s-Amance	23	++
		I 214	Villers-Cotterêts	144	++
		Serotina de Champagne	Velaine-s-Amance	6	+
		Gelrica	"	6	+
		Virginiana de Nancy	"	4	+
		Robusta	"	10	+
Tacamahaca	baumier	Trichocarpa	Velaine-s-Amance	25	++
Leuce	tremula	Monestier	Velaine-s-Amance	2	-
	"	Der (3)	"	2	-
	tremuloides	S 5531	"	2	-
	grandidentata	S 5530	"	2	-
	alba	5270	"	2	-
	"	5376	"	2	-
	X canescens	Megaleuce	"	2	-
	"	Bachofenii	"	2	-
Section	= section	Nombre d'arbres examinés	= number of trees investigated		
Groupe	= groupe	Présence de cristaux	= presence of crystals		
Espèces	= species	++ cristaux abondants	= ++ crystals abundant		
Origine	= origin	+ cristaux présents	= + crystals present		
		- cristaux absents	= - crystals absent		

Discussion

Sur les 234 arbres examinés, nous pouvons constater :

— l'identité du comportement des espèces à l'intérieur du même groupe (toutes les espèces du même groupe dans une section possèdent ou ne possèdent pas de cristaux),

— l'opposition qui apparaît entre les *Aigeiros* et les *Leuce* qui sont les sections ayant actuellement en France l'importance économique la plus grande.

De plus, il est à noter qu'un échantillonnage sous forme de carottes de sondage, malgré son faible volume relatif par rapport à celui de la tige, permet néanmoins de faire des observations valables; cela traduit l'importance et la régularité des dépôts dans les arbres.

2.12. Étude sur jeunes plants.

De très jeunes plants de *Populus trichocarpa* choisis dans le même Populetum ont été examinés; ils avaient respectivement 2 ou 3 ans et chaque entre-nœud a été radiographié.

Sur la figure 2, on peut voir, de gauche à droite, 3 jeunes plants : l'un de 3 ans et les autres de 2 ans, et, placées les unes au-dessus des autres, les sections de 5 mm d'épaisseur correspondant à chacune des pousses en hauteur. Sur la section inférieure du plant de 3 ans, on aperçoit des points noirs très contrastés localisant les cristaux de carbonate de

(*) Ce tableau sera complété dans un travail ultérieur; nous pouvons déjà citer que, sur des peupliers en provenance d'Alep (Syrie), des cristaux ont été trouvés dans *Populus nigra* (L.) c. v. Hamoui, et que leur absence a été confirmée sur *Populus alba* (L.) c. v. Roumi.

FIG. 2. — Positif de radiographie des entre-nœuds de 3 jeunes plants de *Populus trichocarpa* de 3 ans et de 2 ans. La flèche indique la présence de cristaux dans le premier entre-nœud (grandeur nature)

FIG. 2. — X-ray radiograph positive print of internodes of three young plants of 3 and 2 years old plants of *Populus trichocarpa*. The arrow shows the crystals in the first internode (original size)

Le tableau ci-dessous résume les observations qui ont pu être faites :

N ^{os} plants	1 ^{er} entre-nœud	2 ^e entre-nœud	3 ^e entre-nœud
1	néant	néant	cristaux abondants
2	néant	néant	
3	néant	néant	

calcium. En revanche, ceux beaucoup plus diffus qui apparaissent sur la section inférieure du 2^e plant ne sont pas de même nature et pourraient correspondre à des accumulations de composés chimiques amorphes non encore identifiés.

Chronologiquement, la formation des dépôts cristallisés commence donc très tôt dans la vie de la plante, puisqu'on en observe dès la troisième année de pousse dans ce que l'on peut appeler le cœur du jeune arbre.

La figure 3 concerne 2 autres niveaux de l'entre-nœud inférieur de la tige n^o 1; on y retrouve les mêmes accumulations de cristaux, ce qui prouve la régularité des dépôts.

FIG. 3. — Positif de radiographie montrant des cristaux à deux niveaux différents dans le même entre-nœud (grandeur nature)

FIG. 3. — X-ray radiograph positive print showing crystals at two different levels in the same internode (original size)

Ces observations seront corroborées par des analyses minérales quantitatives dans la suite de cet exposé.

2.2. — Aspects anatomiques

Les dépôts de cristaux ont été observés jusqu'ici dans les vaisseaux et dans les fibres de la tige principale et aussi dans les branches et les racines.

2.21. Localisation à l'intérieur des accroissements.

2.211. Dans la tige principale.

L'examen de clichés radiographiques d'échantillons pris dans la planche de cœur à différents niveaux dans l'arbre montre que des dépôts existent dans tout l'arbre (figures 4 et 5).

La localisation de ces cristaux se fait suivant deux modalités :

- présence constante au cœur à tous les niveaux à l'intérieur d'un cylindre central limité aux deux premiers cerne de chaque entre-nœud, excepté dans les dernières pousses annuelles,

- présence aléatoire, fonction de la distance à partir du cœur et du niveau de prélèvement, à l'intérieur d'un cône n'intéressant pas les derniers accroissements produits.

Pour mieux décrire ce mode de dépôts quantitativement, nous avons dénombré tous les vaisseaux obstrués sur plusieurs sections transversales entières d'un *Populus trichocarpa* de 25 m de haut, respectivement à 3 m, 9 m et 18 m. Nous avons divisé la surface de chaque rondelle en rectangles de 6×1 cm sur lesquels nous avons prélevé une coupe mince de 20 à 25 μ d'épaisseur.

En utilisant avec une lumière rasante et modérée une loupe binoculaire de grossissement $\times 40$, nous avons pu, grâce à la différence de réfringence entre la cellulose et les cristaux, localiser et compter cerne par cerne les vaisseaux obstrués. Nous avons, par ailleurs, calculé la surface de chacun des accroissements correspondants pour obtenir une densité moyenne par unité de surface pour chaque année (voir annexe 1 et figures 6 et 7).

Discussion

On peut observer que les accroissements annuels au voisinage du cambium, là où la circulation de la sève est la plus importante, sont dépourvus de cristaux.

De plus, si la densité des dépôts diminue régulièrement du cœur vers l'écorce du fait de l'augmentation de la surface des cerne successifs (voir figure 6), le nombre des vaisseaux obstrués peut augmenter ou diminuer au hasard d'année en année et d'un niveau à l'autre (voir figure 7).

Ces deux remarques nous montrent que le nombre de cristaux déposés n'est pas lié à la rapidité de croissance de l'année considérée, mais qu'il s'agit d'un *phénomène-retard* progressif de dépôts de beaucoup postérieur à l'année de végétation.

FIG. 4. — *Positif de radiographie d'une planche de cœur de 10 mm d'épaisseur de Populus trichocarpa prise à une hauteur de 10 m. Les inclusions minérales sont encore très importantes (X 2)*

FIG. 4. — *X-ray photograph positive print of heartwood board ten millimeters in thickness taken at the height of 10 meters. The mineral streaks are yet very important (X 2)*

2.212. Dans les branches et les racines.

Pour avoir une vue d'ensemble de toutes les parties de l'arbre, nous avons radiographié des sections de branches, prises à une fourche par exemple, et des sections de racines de différents diamètres, et sur chaque radiographie nous avons pu constater la présence de cristaux dans les vaisseaux.

FIG. 5. — Positif de radiographie de planches radiales de 10 mm d'épaisseur de *Populus trichocarpa* prises à 2, 4, 8, 14, 18, 20 et 23 mètres de hauteur. Noter l'abondance et la localisation particulière des dépôts dans les planches 2, 4, 8 (grandeur nature)

FIG. 5. — Radiograph positive print of radial boards ten millimeter in thickness of *Populus trichocarpa* taken at 2, 4, 8, 14, 18, 20, 23 meters height. Note the abundance and the particular localisation of the deposits in the boards 2, 4, 8 (original size)

2.22. Localisation à l'intérieur des cellules.

L'examen de toutes les coupes transversales radiographiées montre que les zones de bois initial et de bois final sont indifféremment affectées. Parfois, une bande continue de vaisseaux obstrués peut même chevaucher une limite de cernes.

FIG. 6. — *Densité des vaisseaux obstrués dans Populus trichocarpa aux niveaux 3, 9, 18 mètres pour chaque année du cœur vers l'écorce*

FIG. 6. — *Density of the filled vessels in Populus trichocarpa at levels 3, 9, 18 meters for each year from the heartwood to the bark*

En se reportant à la figure 5, on peut noter sur l'échantillon en coupe transversale prélevé à 2 mètres (2) des dépôts circulaires, aussi bien dans le bois initial que dans le bois final. Pour l'échantillon pris au niveau de 8 mètres (8), les vaisseaux obstrués recouvrent la limite de deux années consécutives. Ceci confirme que les précipitations interviennent bien après la formation des accroissements annuels en cause.

2.221. *Mode de dépôts dans les vaisseaux.*

Sur des coupes transversales effectuées au microtome et observées à la loupe binoculaire ($\times 40$), les vaisseaux présentent, soit un tapissage interne, soit un remplissage partiel,

FIG. 7. — Variation du nombre de vaisseaux obstrués dans le tronc de *Populus trichocarpa* aux niveaux 3, 9, 18 mètres et pour chaque année du cœur vers l'écorce

FIG. 7. — Variation in number of the filled vessels in the bole of *Populus trichocarpa* at the levels 3, 9, 18 meters and for each year from heartwood to the bark

comme lors d'un début de dépôt, ou bien dans le cas le plus fréquent, un colmatage complet; à plus fort grossissement, en effet, on peut observer un véritable moulage du vaisseau en vraie grandeur (figure 8), et les empreintes de deux ponctuations du vaisseau qui apparaissent sur un fragment de cristal (figure 9) montrent bien que la cavité se trouvait intégralement remplie.

La remarque la plus importante qui puisse être faite est que les vaisseaux obstrués ne sont jamais endommagés et ne correspondent pas à des zones de bois attaquées ou en voie

FIG. 8. — Sur la photo prise au microscope électronique Stéréoscan, on peut voir une partie de vaisseau complètement rempli avec ses ponctuations en relief (X 3 000)

FIG. 8. — Scanning electron microscope photograph showing a part of a full-filled vessel with its pits relief (X 3 000)

FIG. 9. — Surface détaillée d'un fragment de cristal montrant l'empreinte de deux ponctuations (X 12 000)

FIG. 9. — Detailed surface of a crystal chip showing the print of two pits (X 12 000)

de destruction. Elle corrobore l'idée que la présence de ces cristaux est un des aspects de la physiologie normale de l'arbre (voir figures 10 et 11).

FIG. 10. — Coupe transversale montrant la répartition des vaisseaux obstrués dans le bois d'aubier normal de *Populus trichocarpa* ($\times 40$)

FIG. 10. — Transverse section showing the distribution of filled vessel in the normal sapwood of *Populus trichocarpa* ($\times 40$)

Le remplissage de ces vaisseaux freine la circulation de la sève dans la région des dépôts. En effet, comme on peut le voir sur la figure 4, les vaisseaux remplis se trouvent décalés dans le sens longitudinal les uns par rapport aux autres et bloquent, de proche en proche, le passage de la sève. Cet écoulement lent de la sève peut favoriser, par un phénomène de saturation, les précipitations et contribuer à augmenter les dépôts cristallisés.

Nous avons pu constater, dans chaque cas, après dissolution des cristaux dans l'acide chlorhydrique N/10, que toutes les membranes des vaisseaux étaient intactes. De plus, au cours de cette attaque, nous avons pu apercevoir un dégagement gazeux qui sera étudié plus loin.

2.222. Mode de dépôts dans les fibres.

Un examen attentif des coupes a permis de voir, autour des vaisseaux colmatés, des groupes de fibres colmatées elles aussi. Dans ce cas, on peut penser que les ponctuations des vaisseaux en anastomose avec les ponctuations des fibres laissent passer, de proche en proche, la sève et les substances qui précipitent et contribuent ainsi à étendre la zone de colmatage (voir figure 12).

FIG. 11. — Coupe transversale montrant sur la gauche des cristaux dans des vaisseaux du bois final, et en haut à droite dans un vaisseau du bois initial près de la limite de cerne ($\times 120$)

FIG. 11. — Transverse section showing on the left crystals within vessels of latewood and on the right within vessel of earlywood close to the limit of two rings ($\times 120$)

FIG. 12. — Coupe transversale montrant des vaisseaux et des fibres remplis avec les mêmes cristaux ($\times 120$)

FIG. 12. — Transverse section showing vessels and fibers filled with the same crystals ($\times 120$)

L'essai de dissolution des cristaux par l'acide chlorhydrique a été repris. Il a laissé apparaître les fibres intactes. Au cours de cet essai, nous avons observé l'apparition lente mais continue de gaz localisé au-dessus de chaque fibre, comme dans le cas des vaisseaux, ce qui tend à montrer que les vaisseaux et les fibres sont colmatés par la même substance.

2.3. — *Méthodes physiques et physico-chimiques mises en œuvre pour déterminer la nature chimique des cristaux*

La quantité exceptionnellement faible de précipité contenu dans chaque vaisseau obstrué et l'extrême difficulté de sa récupération ont rendu les déterminations très délicates et nous ont conduit à employer plusieurs méthodes de microanalyse, parfois à la limite de leurs possibilités d'utilisation.

2.31. *Chromatographie en phase gazeuse.*

2.311. *Choix de la méthode.*

Nous avons été amenés à choisir la chromatographie à la suite d'une observation faite sur des coupes minces de bois contenant des inclusions.

Dans un premier temps, nous avons recherché les oxalates parce que le calcium avait été signalé sous cette forme dans le végétal par de nombreux auteurs. Nous avons utilisé la méthode de R. W. KENNEDY *et al.* (1968, *op. cit.*); cette recherche s'est révélée négative.

C'est au cours de cette manipulation que nous avons observé sous le microscope bino-culaire un dégagement gazeux sur les vaisseaux et les fibres contenant les substances opaques.

C'est ce dégagement gazeux, sous forme de bulles très fines fixées à la coupe du végétal, qui nous a donné l'idée de tenter une analyse par chromatographie en phase gazeuse, à la condition d'obtenir un dégagement en volume suffisant pour effectuer les prélèvements nécessaires à la manipulation.

A ce moment, nous avons pensé que les dépôts pouvaient être formés de carbonate de calcium qui, en milieu aqueux acide, donnerait par réaction ionique :

2.312. *Matériel et mode opératoire.*

Nous avons utilisé des coupes longitudinales de *Populus trichocarpa* de 20 à 25 μ d'épaisseur prélevées dans les parties du cœur de l'arbre contenant le plus d'inclusions. Un gramme de végétal fournit en moyenne 250 à 300 de ces coupes; pour chaque détermination, nous avons utilisé 3 g environ de bois, ce qui, compte tenu de la solubilité du CO_2 dans l'eau, nous a permis d'obtenir un dégagement gazeux suffisant de 30 à 35 microlitres.

Dans un bêcher d'eau distillée de 2 litres, après ébullition prolongée, nous avons soumis l'eau et les coupes minces à un dégazage vigoureux dans un dessiccateur de grandes dimensions pour éliminer l'air dissout dans le liquide et occlus dans les vaisseaux du végétal.

Au bout de 30 minutes, le dégazage terminé, nous avons recouvert les coupes immergées et saturées avec un entonnoir muni d'une tige très fine et dont l'extrémité est obturée, après immersion, par une pastille découpée dans du caoutchouc de silicone du type septom, utilisée sur les appareils de chromatographie en phase gazeuse pour assurer l'étanchéité des orifices d'injection des échantillons.

Après addition d'HCl 2N au contact des coupes, les bulles formées se dégagent lentement et viennent se rassembler sous le bouchon de caoutchouc où elles sont retenues. Elles peuvent être alors prélevées à l'aide d'une seringue Hamilton de 10 microlitres.

Nous avons pratiqué ces analyses de chromatographie en phase gazeuse à l'École Nationale Supérieure des Industries Chimiques de Nancy, au département de Génie Chimique, sous la direction de M. SUTRE, Ingénieur du C.E.R.C.H.A.R.

Le chromatographe utilisé était un Perkin Elmer F 73 T dont le système de détection est assuré par une thermistance. Les caractéristiques de fonctionnement étaient les suivantes :

- gaz vecteur : Hydrogène au débit de 72 cm³ par minute,
- température du four : 100°,
- sensibilité de la détection pour toute l'échelle du chromatographe : 10 mV pour les injections d'air et de CO₂ technique, et 2,5 mV pour le gaz des échantillons de peupliers,
- volume de gaz injecté à chaque mesure : 10 microlitres,
- vitesse d'enregistrement du graphospot : 30 millimètres par minute.

La colonne de un mètre de longueur était remplie par du gel de silice pour séparer l'air du CO₂. Compte tenu de notre hypothèse de départ, nous avons choisi pour étalonner la colonne et déterminer les temps de rétention des gaz :

- le gaz CO₂ technique qui contient 99,3 % de CO₂ et 0,7 % d'air,
- l'air ambiant.

Les temps de rétention étaient respectivement, dans l'ordre des passages :

- pour l'air : 20 secondes, soit 10 millimètres sur le graphique,
- pour le CO₂ : 106 secondes, soit 53 millimètres sur le graphique.

Ils sont repérés du point d'injection des gaz au maximum du signal correspondant (figure 13).

2.313. Résultats.

Sur la figure ci-après sont placés, côte à côte, les chromatogrammes correspondant :

- 1) aux injections d'air ambiant,
- 2) aux injections de gaz carbonique technique,
- 3) aux injections de « gaz » de peuplier.

La comparaison de l'ordre de sortie des composés du chromatogramme n° 3 et l'identité des temps de rétention de ces composés repérés sur les chromatogrammes n°s 1 et 2 permettent d'affirmer qu'il s'agit bien d'air et de gaz carbonique.

Le prélèvement gazeux recueilli au-dessus des coupes de végétal contient du CO₂ principalement. Il provient bien de la dissolution des cristaux. L'importance du « pic » montre que la majeure partie des sels déposés se trouvent sous forme de carbonates.

Malgré plusieurs essais, il n'a pas été possible d'éliminer totalement l'air résiduel qui provient de la méthode de prélèvement et d'injection des échantillons.

Les résultats obtenus par la chromatographie dans ce cas précis ne peuvent être que qualitatifs, car l'impossibilité de peser directement les cristaux ne permet pas de ramener le volume de gaz dégagé au poids de cristaux utilisés pour le dégagement.

Cette méthode nous a permis de vérifier qu'il s'agissait bien de carbonates, mais il nous a fallu utiliser d'autres méthodes pour recouper ces résultats et reconnaître la présence éventuelle d'autres sortes de cristaux.

Tel est le but des études aux rayons X et en microscopie électronique que nous avons réalisées à l'École des Mines, dans le Laboratoire de Métallurgie de M. le Professeur FAIVRE, sous la direction de M. GANTOIS.

FIG. 13. — Diagramme de chromatographie montrant l'identification du gaz dégagé à partir des cristaux situés dans les coupes de bois de peuplier (3); l'air (1) et le CO₂ technique (2) ont été choisis comme gaz de référence.

FIG. 13. — Chromatographic record showing the determination of the nature of gas released from crystals included in sections of *Populus* (3); the air (1) and the technical CO₂ (2) are selected as gas reference.

2.32. Diffraction des rayons X.

2.321. Préparation des échantillons et mode opératoire.

L'extrême petitesse des dépôts sur une coupe microscopique ne permet pas de soumettre aux rayons X une seule coupe car l'intensité des rayons diffractés serait alors trop faible.

Nous avons donc écrasé sur une surface adhésive — un ruban autocollant — un grand nombre de vaisseaux colmatés prélevés sur une série de coupes minces pour constituer une plage recouverte de cristaux en quantité suffisante, soit une plaque de 2 cm de long sur 1 cm de large.

Les résultats de l'analyse chromatographique nous avaient guidé dans le choix des substances témoins à soumettre en même temps que notre échantillon aux rayons X comme substances étalons. Nous avons retenu le carbonate de calcium, le carbonate de magnésium et le carbonate de potassium.

Les clichés de la figure 14 ont été obtenus par transmission selon le montage Guinier-Seemann-Bohlin avec une chambre multiple Eraf Nonius et un générateur C.G.R. 6 50, d'une puissance de 500 W, soit en fonctionnement, pour un courant de 10 mA, une tension de 50 kV. Les échantillons ont été soumis à 15 heures d'exposition.

2.322. Résultats.

Sur la figure 14 :

— le cliché n° 1 rassemble dans l'ordre, de gauche à droite, les spectres des carbonates de potassium (a), de magnésium (b), de calcium (c).

— le cliché n° 2 montre, de gauche à droite, les spectres du carbonate de calcium cristallisé (d) et des cristaux extraits du bois de peuplier (e) et (f).

La comparaison entre les spectres (c) et (d) d'une part, et les spectres (e) et (f) des cristaux étudiés, montre que ceux-ci sont formés en majeure partie de carbonate de calcium.

Cependant, il existe des raies supplémentaires qui, comme dans beaucoup de cas, peuvent être dues, soit au support organique : film plastique et colle, soit à la présence d'autres substances cristallisées en quantité plus faible et qui, malgré des temps d'exposition très longs, donnent des raies de faible intensité.

2.33. Microscopie électronique.

A l'aide d'un microscope électronique Philips E. M. 300, nous avons obtenu des clichés de diffraction électronique sur les mêmes cristaux déposés sur des grilles fines recouvertes d'un film de collodion. Ce microscope possède une platine goniométrique qui permet de prendre des clichés du même cristal sous différentes orientations.

Par opposition avec les spectres de diffraction aux rayons X qui intègrent la diffraction d'un grand nombre de cristaux et donnent un effet global qui rend compte de la présence du constituant le plus important, la microscopie électronique permet d'atteindre chaque cristal susceptible de diffracter. Aussi, avons-nous obtenu, au cours de cette étude, de nombreux clichés de diffraction de substances inconnues.

La détermination de ces substances sera intéressante à faire pour connaître les associations de tous les minéraux existant dans ces cristaux. Elle fera l'objet d'études ultérieures plus complètes. Nous pouvons signaler dès maintenant que leur importance relative est faible par rapport à celle du carbonate de calcium.

2.34. Microscope électronique à balayage.

Nous avons utilisé un microscope électronique à balayage du type Stéréoscan au Laboratoire de M. le Professeur BARO à la Faculté des Sciences de Metz, avec l'aide de Mlle BALTZINGER et de M. BHAMBRI SUSHIL.

Cette technique, dérivée de la microscopie électronique (MENY et CHAMPIGNY, 1969 — PHILIBERT, 1968), utilise comme faisceau incident des électrons primaires ayant une énergie maximale de 30 kV, et comme signal de détection, les électrons rétrodiffusés dans différentes directions, ainsi que les électrons secondaires de faible énergie émis par la surface de l'objet observé.

A cet effet, nous avons recouvert l'objet d'une très fine couche d'or-palladium par évaporation sous vide pour le rendre conducteur et permettre dans notre cas une meilleure observation de l'image.

Les signaux recueillis sont amplifiés et modulent la brillance du faisceau d'un tube cathodique d'observation. Ce faisceau balaye le tube en synchronisme avec le balayage de la sonde électronique sur l'échantillon.

L'image résultante a une apparence de relief à cause du contraste produit par la variation du nombre d'électrons recueillis liée à la microtopographie et aussi grâce à la très grande profondeur de champ du système. Elle apparaît sur l'écran cathodique et, avec un temps de pose de 40 à 100 secondes, elle peut être photographiée.

Résultats

Cette technique complémentaire permet de mieux visualiser le phénomène étudié, comme le montrent les figures 15 et 16, ainsi que les figures 8 et 9 insérées plus haut.

3. — ANALYSE QUANTITATIVE

3.1. — *Exposé des buts poursuivis*

L'analyse qualitative nous a permis d'identifier, de localiser et de dénombrer les cristaux présents, cerne par cerne. De nombreux auteurs, dont J. GAGNAIRE (1968) et RALSTON et PRINCE (1963) ont déjà étudié globalement la distribution des ions minéraux dans les différentes parties des arbres feuillus ou résineux.

Nous avons cherché à aller plus loin en procédant à une analyse quantitative, cerne par cerne, de l'ion Ca^{++} et des autres éléments majeurs susceptibles de l'accompagner : K^+ , Mg^{++} , et de l'anion phosphore exprimé en P_2O_5 .

La connaissance de la distribution des ions minéraux dans chaque accroissement permet en effet :

- de suivre le niveau atteint par chacun des ions en fonction de l'âge du bois et de mettre en évidence les relations existant entre eux,
- de considérer si, du point de vue de ces teneurs, le groupe des années constituant

FIG. 15. — Deux lignes de vaisseaux voisines, l'une vide, l'autre remplie de Ca CO_3 parfaitement cristallisé, monocristal et translucide. ($\times 1\ 200$).

FIG. 15. — Two adjacent lines of vessels, one empty, the other filled with Ca CO_3 perfectly crystallized, monocrystal and translucent. ($\times 1\ 200$).

FIG. 16. — Fragments de cristaux brisés par le passage de la lame de microtome. Les cristaux ont des formes géométriques très nettes. ($\times 3\ 000$).

FIG. 16. — Crystals fragments broken by the microtome blade. They have very marked geometrical shapes. ($\times 3\ 000$).

le bois d'aubier est fondamentalement différent du groupe des années formant le bois de cœur ou duramen coloré.

Il nous a été possible, en effet, de constater sur des radiographies et à l'aide du comptage des vaisseaux obstrués des différences importantes entre ces deux groupes (voir figures 6 et 7).

3.2. — Matériel et méthode

3.21. Matériel et origine du prélèvement.

Le Populetum de Velaine-sous-Amance possède un sol du type sol-brun lessivé à pseudo-gley. Le plancher de la nappe est généralement assez proche de la surface. La hauteur de celle-ci est variable et même peut submerger le sol. La roche-mère est constituée de limon sur marnes. Le taux de saturation en surface atteint 50 %, en profondeur 100 % au voisinage des marnes ; en conséquence, le sol est bien pourvu en éléments Ca^{++} , Mg^{++} , K^{+} ; il n'y a jamais de calcaire.

Nos échantillons ont été prélevés sur un *Populus trichocarpa* de 15 ans, d'une part, 3 jeunes plants de la même espèce et 3 *Populus robusta* de 13 ans, d'autre part.

Les premiers ont été utilisés comme matériel exploratoire, les autres pour l'analyse chimique quantitative proprement dite.

3.22. Méthodes.

3.221. Échantillonnage exploratoire.

Dans le bois de *Populus trichocarpa* « Fritz Pauley » adulte, à l'aide de clichés radiographiques aux rayons X, nous avons sélectionné des échantillons de bois d'aubier sans cristaux et de bois de cœur contenant des cristaux.

Ces échantillons débités dans les mêmes conditions pèsent approximativement 1 gramme, avec cette différence que nous avons circonscrit pour le bois de cœur le plus possible de zones contenant les inclusions minérales.

De ce fait, les teneurs ont pu être artificiellement augmentées, et cela dans le but de faire mieux ressortir les rapports existant entre les différents ions au cours d'analyses exploratoires.

3.222. Analyse quantitative proprement dite.

Les jeunes plants de *Populus trichocarpa* âgés, l'un de 3 ans et les deux autres de 2 ans, ont été étudiés à chaque entre-nœud sur des sections entières afin de confirmer l'augmentation des sels minéraux apportés par la présence de cristaux (voir figures 2 et 3).

Sur les *Populus robusta* (arbres I, II et III de notre étude), nous avons prélevé des sections entières de chaque arbre dans la bille de pied, que nous avons découpées selon chaque accroissement annuel. Les limites de cernes ont été précisées à l'aide de clichés radiographiques aux rayons X, qui nous ont par ailleurs révélé la présence de vaisseaux obstrués sur chaque section.

Ces accroissements annuels ont été numérotés de 1 à 13 à partir du cœur vers l'écorce.

Les échantillons ont été minéralisés dans des capsules en silice au four à moufle à 500° C.

Les cendres ont été reprises à l'acide perchlorique dilué au demi. La solution de passage spectrophotométrique a été amenée à la normalité 1 N en acide perchlorique : HClO_4 .

Le calcium et le potassium ont été déterminés par spectrophotométrie d'émission, le magnésium par spectrophotométrie d'absorption atomique, le phosphore par colorimétrie au réactif vanado-molybdique.

3.3. — Résultats

3.31. Analyse exploratoire.

Les résultats sont donnés ci-dessous en $\frac{0}{100}$ pour le P_2O_5 et en milliéquivalent/100 g de bois sec pour les cations.

TABLEAU 2

N°	Échantillons de bois d'aubier sans cristaux				Échantillons de bois de cœur avec cristaux			
	Ca ⁺⁺	K ⁺	Mg ⁺⁺	P ₂ O ₅	Ca ⁺⁺	K ⁺	Mg ⁺⁺	P ₂ O ₅
1	70	33	1,66	0,40	2000	120	16,2	0,43
2	63,5	26	1,83	0,50	1865	83	19,1	0,56
3	68	30	1,33	0,53	1920	113	20,4	0,45
4	76,5	19	1,50	0,67	2015	123	17,5	0,44
5	65	19	1,00	0,53	1865	93	16,6	0,44
6	65	25	1,33	0,53	2310	126	15,4	0,40
Moyenne	68	25	1,44	0,52	1995	109	17,5	0,45

Échantillons de bois d'aubier sans cristaux = samples of sapwood without crystals

Échantillons de bois de cœur avec cristaux = samples of heartwood with crystals

Moyenne = mean value

Ca⁺⁺, K⁺ et Mg⁺⁺ sont exprimés en meq/100 g de bois sec = Ca⁺⁺, K⁺ and Mg⁺⁺ are expressed in milliequivalent per hundred grams oven-dry weight of wood.

P₂O₅ est exprimé en % de bois sec = P₂O₅ is expressed in % oven-dry weight of wood.

Pour les ions Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, K⁺, les différences sont évidentes et les augmentations sont liées à la présence des cristaux dans le bois de cœur. Pour le phosphore sous forme de P₂O₅, on constate une diminution significative lorsque l'on passe de l'aubier au bois de cœur ; bien que celui-ci ait été sélectionné par la présence de cristaux, on peut déjà en déduire que le calcium n'est pas fixé sous forme de phosphate.

Il est à noter que ce sont là des échantillons choisis après examen à l'aide de radiographies ; en l'absence de contrôle préliminaire, ils auraient pu constituer des prises d'essais pour la détermination des taux de cendres et des analyses minérales, mais les ordres de grandeur des résultats auraient alors été modifiés.

3.32. Étude des jeunes plants.

3.321. Tableau des résultats.

TABLEAU 3

	années 1 + 2 + 3	années 1 + 2	année 1
Plant de 3 ans =			
Ca ⁺⁺	19,00	7,20	10,30
K ⁺	7,60	2,48	5,30
P ₂ O ₅	1,25	0,87	1,67
Plant de 2 ans, n° 1 =			
Ca ⁺⁺	—	8,64	8,44
K ⁺	—	2,39	3,57
P ₂ O ₅	—	1,89	1,25
Plant de 2 ans, n° 2 =			
Ca ⁺⁺	—	8,40	10,70
K ⁺	—	2,54	3,80
P ₂ O ₅	—	1,68	1,72

Plant de 3 ans = 3 year old plant
 Plant de 2 ans = 2 year old plant
 années 1 + 2 + 3 = rings 1 + 2 + 3
 Ca⁺⁺ et K⁺ sont exprimés en meq/100 g de bois sec = Ca⁺⁺ and K⁺ are expressed in milliequivalent per hundred grams oven-dry weight of wood.
 P₂O₅ est exprimé en %_{ov} de bois sec = P₂O₅ is expressed in %_{ov} oven-dry weight of wood.

3.322. Discussion.

Sur des très jeunes plants, nous constatons les mêmes phénomènes, à savoir :

- une augmentation simultanée des teneurs Ca⁺⁺ et K⁺ comme le laissaient prévoir les accumulations de cristaux (figures Nos 2 et 3 du plant de 3 ans),
- une similitude des teneurs en phosphore sous forme P₂O₅ pour chaque entre-nœud étudié.

En première et deuxième année, le Ca⁺⁺ est abondant et il n'y a pas de cristaux ; on en déduit que, dans cette zone périphérique où la circulation de sève est abondante, il se trouve sous forme, soit de sels minéraux solubles, soit de sels organiques solubles, soit encore engagé dans la matière organique.

En troisième année, une partie importante du calcium est en plus précipitée sous forme de carbonate de calcium.

3.33. — Étude des sections entières de *Populus robusta*.

L'interprétation des figures 17 à 23 permet de dégager trois phénomènes principaux :

- l'identité du comportement des 3 arbres,
- la répartition en trois ensembles distincts d'années recouvrant le voisinage du cambium, la partie de l'aubier et le bois de cœur,
- l'existence d'un antagonisme entre le groupe des cations Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, K⁺ et le P₂O₅, et une opposition classique aubier-bois de cœur.

3.331. Vue d'ensemble et comparaison graphique des trois arbres.

Il est remarquable de constater (figures 17, 18, 19, 20) que la répartition des ions Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, K⁺ et du phosphore sous forme P₂O₅ est très semblable pour les trois arbres I, II et III sur l'ensemble des accroissements annuels étudiés (voir annexe 2).

Pour un élément donné et pour un cerne donné, les mesures faites sont toujours très voisines et forment un ensemble de courbes de variations très cohérent.

La représentation simultanée de toutes les courbes de variations pour le même arbre sur le même graphique et la faible dispersion des mesures permettent de repérer des zones de localisation des sels minéraux très marquées.

3.332. Effet de la proximité du cambium.

L'imprégnation par la sève de l'accroissement annuel le plus voisin du cambium provoque l'augmentation de la quantité des sels minéraux (figures 21, 22, 23). On sait que la

FIG. 17. — Courbes de variation année par année de la teneur en Ca^{++} dans trois *Populus robusta* I, II, III. Distinction entre l'aubier et le cœur.

FIG. 17. — Course, ring per ring, of the amount of Ca^{++} in three *Populus robusta* I, II, III. Discrimination between sapwood and heartwood.

sève a un pH inférieur à 7 ; donc ces sels se trouvent principalement sous des formes très solubles de sels-acides organiques et de phosphates acides substitués.

Nous donnons dans le tableau ci-dessous les valeurs correspondantes des concentrations en meq/100 g de bois sec dans le premier cerne sous écorce (n° 13) et dans le cerne immédiatement voisin (n° 12). C'est grâce aux analyses détaillées conduites cerne par cerne que nous avons pu mettre en évidence, pour la première fois semble-t-il, cette distinction.

TABLEAU 4

Ions	1 ^{er} cerne à partir du cambium	2 ^e cerne à partir du cambium	Δ (C)
Arbre I :			
Ca ⁺⁺	38,80	6,30	+ 32,50
Mg ⁺⁺	4,51	1,74	+ 2,77
K ⁺	9,40	2,36	+ 7,04
P ₂ O ₅	2,16	0,92	+ 1,08
Arbre II :			
Ca ⁺⁺	5,70	5,40	+ 0,30
Mg ⁺⁺	1,22	1,44	— 0,22
K ⁺	3,00	1,86	+ 1,14
P ₂ O ₅	0,93	0,97	— 0,04
Arbre III :			
Ca ⁺⁺	11,50	5,90	+ 5,60
Mg ⁺⁺	2,01	1,54	+ 0,47
K ⁺	4,81	2,08	+ 2,73
P ₂ O ₅	1,16	0,70	+ 0,46

Ions = ions.

1^{er} cerne à partir du cambium = first ring from the cambium.

2^e cerne à partir du cambium = second ring from the cambium.

Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, K⁺ sont exprimés en meq/100 g de bois sec = Ca⁺, Mg⁺⁺, K⁺ are expressed in milliequivalent per hundred grams oven-dry weight of wood.

P₂O₅ est exprimé en ‰ de bois sec = P₂O₅ is expressed in ‰ oven-dry weight of wood.

Note. La différence constatée entre les deux premiers cernes montre que, dans le cas de prélèvement d'échantillons pour la détermination du taux de cendres, il convient de s'affranchir de la zone périphérique de la section retenue.

En effet, on atteint dès le deuxième accroissement annuel la valeur moyenne observée pour les cernes constituant la zone de l'aubier.

3.333. Effet de l'aubier.

Le caractère essentiel du bois d'aubier est d'être homogène vis-à-vis des concentrations des constituants minéraux.

On n'enregistre que de faibles variations autour du niveau moyen de chaque palier de concentration pour chaque ion tout au long des cernes successifs composant le bois d'aubier, du n° 12 au n° 6.

Les ions Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, K⁺ sont sous forme soluble, amenés par la sève et aussi sous forme insoluble et cristallisée, essentiellement sous forme de CaCO₃, comme on a pu les dénombrer au cours des comptages précédents (voir figures 6 et 7 et tableau 1).

Le phosphore est en majeure partie sous forme de phosphates acides substitués dans la sève brute qui imprègne l'aubier. Le phosphore sous forme P₂O₅ atteint 1 ‰ dans le bois d'aubier.

FIG. 18. — Courbes de variation année par année de la teneur en Mg^{++} dans trois *Populus robusta* I, II, III. Distinction entre l'aubier et le cœur.

FIG. 18. — Course, ring per ring, of the amount of Mg^{++} , in three *Populus robusta* I, II, III. Discrimination between sapwood and heartwood.

3.334. Effet du bois de cœur.

L'examen en séquence des accroissements annuels montre une augmentation brutale des concentrations en cations sur un espace minimum de deux années.

— Cation Ca^{++} :

L'accumulation a son effet maximum pour le calcium : Ca^{++} . La moyenne du palier commun aux trois arbres est de 6 meq pour 100 g de bois sec pour l'aubier.

On observe sur deux ans une augmentation brutale de Ca^{++} en meq égale au moins à cinq fois la valeur de ce palier (voir tableau page 94).

N° arbre	Cerne n° 5	Cerne n° 3	$\Delta(\text{Ca}^{++})$ meq
I	16,8	57,7	+ 40,9
II	7,2	35,6	+ 28,4
III	5,9	47,2	+ 41,3

Les autres années du bois de cœur sont caractérisées par des concentrations très élevées en Ca^{++} .

FIG. 19. — Courbes de variation année par année de la teneur en K^+ dans trois *Populus robusta* I, II, III. Distinction entre l'aubier et le cœur.

FIG. 19. — Course, ring per ring, of the amount of K^+ , in three *Populus robusta* I, II, III. Discrimination between sapwood and heartwood.

FIG. 20. — Courbes de variation année par année de la teneur en P_2O_5 dans trois *Populus robusta* I, II, III. Distinction entre l'aubier et le cœur.

FIG. 20. — Course, ring per ring, of the amount of P_2O_5 in three *Populus robusta* I, II, III. Discrimination between sapwood and heartwood.

— Cation Mg^{++} :

L'accumulation du Mg^{++} est moins caractéristique, mais suit les mêmes lois que celle de Ca^{++} .

Le palier « bois d'aubier » existe, mais il est ici moins constant. La concentration en Mg^{++} augmente, en effet, d'une manière progressive lorsque l'on se rapproche du bois de cœur. Cependant, l'accumulation de Mg^{++} entre les cernes n° 5 et n° 3 est très nette, comme pour le Ca^{++} .

N° arbre	Cerne n° 5	Cerne n° 3	$\Delta(\text{Mg}^{++})$
I	4,10	8,93	+ 4,83
II	2,81	7,30	+ 4,49
III	2,36	7,92	+ 5,56

FIG. 21. — Courbes de variation comparées du groupe des cations Ca^{++} , Mg^{++} , K^{+} et de l'anion P_2O_5 dans l'aubier et le cœur — *Populus robusta* n° I.

FIG. 21. — Comparative variations of group of cations Ca^{++} , Mg^{++} , K^{+} and of anion P_2O_5 observed in the sapwood and in the heartwood — *Populus robusta* I.

FIG. 22. — Courbes de variation comparées du groupe des cations Ca^{++} , Mg^{++} , K^{+} et de l'anion P_2O_5 dans l'aubier et le cœur — *Populus robusta* n° II.

FIG. 22. — Comparative variations of group of cations Ca^{++} , Mg^{++} , K^{+} and of anion P_2O_5 observed in the sapwood and in the heartwood — *Populus robusta* II.

— Cation K^{+} :

L'accumulation de K^{+} est plus continue que celle du Mg^{++} et du Ca^{++} .

Dans le bois d'aubier, les concentrations sont constantes pour les cerne n°s 12, 11, 10, 9 ; elles augmentent très progressivement jusqu'au cerne n° 5. Du cerne n° 5 au cerne n° 3, comme pour les autres cations, l'augmentation devient très significative.

FIG. 23. — Courbes de variation comparées du groupe des cations Ca^{++} , Mg^{++} , K^{+} et de l'anion P_2O_5 , dans l'aubier et le cœur — *Populus robusta* n° III.

FIG. 23. — Comparative variations of group of cations Ca^{++} , Mg^{++} , K^{+} and of anion P_2O_5 , observed in the sapwood and in the heartwood — *Populus robusta* III.

Pour les trois arbres, nous avons :

N° arbre	Cerne n° 5	Cerne n° 3	$\Delta(\text{K}^{+})$
I	2,98	5,06	+ 2,08
II	3,68	4,89	+ 1,21
III	4,67	7,40	+ 2,73

— Anion P

Le phosphore a été le seul anion analysé choisi comme anion caractéristique participant à l'équilibre acido-basique du milieu.

Nous assistons à une diminution de concentration de l'élément lorsque nous passons de l'aubier au bois de cœur. Il existe, on l'a vu, un palier dans le bois d'aubier d'une moyenne de $1 \frac{0}{100}$; dans le bois de cœur, où les apports de sève et les échanges ont cessé complètement, le palier n'est qu'à $0,1 \frac{0}{100}$.

On peut penser que le phosphore, à ce niveau, compte tenu de sa faible concentration, se trouve uniquement engagé dans des complexes organiques.

Le point de rupture est encore le cerne n° 5. Cette année peut servir de repère pour les phénomènes d'accumulations ou d'élutions minérales ; nous lui avons donné le nom de *cerne-charnière*.

Notre discussion prendra donc appui sur le rôle charnière du cerne n° 5 ; c'est en effet à ce niveau que l'on passe de la zone du bois d'aubier au bois de cœur, à la fois du point de vue de l'aspect visuel des colorations caractérisant les bois de cœur colorés et du point de vue du bilan minéral.

Pour l'anion P_2O_5 , c'est le point d'arrivée aux concentrations constantes les plus basses, et pour les groupes des cations, le point de départ des accumulations importantes. Il existe une opposition entre P_2O_5 et le groupe de cations.

Cette opposition est plus nette si l'on exprime que le rapport cation sur anion est 60 fois plus fort dans le bois de cœur que dans le bois d'aubier.

Dans cette zone de passage, on assiste d'abord à une élution du phosphore contenu dans le bois d'aubier, à un départ du phosphore minéral au niveau des cernes n°s 7, 6 et 5, puis à une accumulation rapide des cations au niveau des cernes n°s 5, 4 et 3.

En résumé, si l'on considère l'année de rang n comptée à partir du cœur comme année de transition entre l'aubier et le bois de cœur, les années $n + 1$ et $n + 2$ voient leur teneur en phosphore décroître jusqu'à l'année n , tout en conservant constantes leurs teneurs en cations, et les années $n - 1$, $n - 2$ voient leurs concentrations en cations augmenter rapidement tout en conservant constantes leurs teneurs en phosphore.

4. — CONCLUSION

Cette étude nous a paru nécessaire en raison de l'importance et du caractère général de l'existence de cristaux, constitués en majeure partie de carbonate de calcium, dans le bois des espèces du genre *Populus*.

L'ampleur du phénomène dépasse les simples remarques faites dans la littérature sur leur présence éventuelle dans les parties anormales du bois et indique, au contraire, que l'on a affaire à un processus physiologique normal des espèces considérées.

D'un point de vue qualitatif, à la suite des premières recherches, il se dégage les faits suivants :

— dans les trois sections étudiées à ce jour, seules les sections *Aigeiros* et *Tacamahaca* contiennent des cristaux ; la section *Leuce* en est dépourvue. Lorsqu'une section contient des cristaux, toutes les espèces des groupes qui appartiennent à cette section en sont pour-

vues. Nous pensons que ce caractère peut fournir un critère supplémentaire de détermination de la section à laquelle appartient un arbre considéré dans le genre *Populus*;

— lorsqu'un arbre contient des cristaux, on en trouve dans toutes les parties de l'arbre : branches, tiges, racines ; ils sont déposés dans les vaisseaux et les fibres du bois sain et normal. Ils sont essentiellement concentrés dans un cylindre central entourant la moelle où leur présence est constante et on les observe de façon aléatoire dans un cône excluant les cerne les plus extérieurs;

— ils peuvent atteindre des densités élevées et variables dans plus de la moitié du volume total de la tige.

La formation du bois de cœur et l'augmentation des teneurs en sels minéraux sont deux phénomènes très souvent rapprochés dans la littérature. Cependant, cette constatation a toujours été faite sur des arbres âgés, avec un bois de cœur constitué, sans tenir compte de l'aspect chronologique de l'apparition des dépôts cristallisés.

Or, nous avons montré sur de jeunes plants de *Populus trichocarpa* de trois ans, ainsi que sur *Populus trichocarpa* de quinze ans, la présence de cristaux abondants avec un duramen encore peu différencié.

Nous pouvons donc signaler, dans ce cas, un aspect nouveau concernant les relations existant entre la formation de bois de cœur et l'augmentation de la teneur en sels minéraux, à savoir que l'accumulation des sels minéraux peut précéder dans le temps, et de beaucoup, la formation de celui-ci.

L'étude quantitative des cations Ca^{++} , Mg^{++} , K^{+} et de l'anion phosphore sous forme P_2O_5 , faite cerne par cerne, a permis de mettre en évidence sur *Populus robusta* les variations très fines des concentrations des divers ions et l'existence d'un cerne caractéristique de transition que nous avons appelé *cerne-charnière* entre le bois d'aubier et le bois de cœur.

Les teneurs en phosphore, qui se situent sur un palier élevé dans les années du bois d'aubier, décroissent et se stabilisent au seuil le plus bas pour ce *cerne-charnière* ; ceci indique qu'il est épuisé en phosphore et qu'il commence à subir l'accumulation croissante des cations.

Il sépare deux bois aux teneurs minérales différentes et pourrait, de ce fait, apparaître comme une limite ou un élément de différenciation *analytique* des zones aubier-bois de cœur.

Des études plus approfondies, actuellement en cours, portant sur un *Populus trichocarpa* analysé entre-nœud par entre-nœud et, pour chaque entre-nœud, cerne par cerne, nous permettront de confirmer ou d'infirmer l'existence de ce cerne limite tout au long de la tige.

Des échantillons plus nombreux provenant de *Populets* différents français ou étrangers seront étudiés dans un travail ultérieur, afin de recouvrir les cinq sections du Genre avec un plus grand nombre d'espèces.

Enfin, pour tenter de mettre en évidence la généralité du phénomène, des études seront entreprises sur le bois d'aubier et le bois de cœur d'arbres d'autres genres.

Si un *cerne-charnière* analytique apparaissait de façon constante, il pourrait servir de base à un procédé commode de délimitation de l'aubier dans les espèces à bois de cœur non coloré.

Reçu pour publication en septembre 1971.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos sincères remerciements à :

M. LEMOINE pour ses conseils et les échantillons collectés dans le Populetum de Velaine-sous-Amance dont il a la responsabilité,

M. NAHAL, Professeur à la Faculté d'Agronomie, Université d'Alep - Syrie, et M. RAHME, Assistant, pour les échantillons fournis.

MM. PERRIN et THIRIET pour la collecte, le débit et le façonnage des échantillons,

Mme GARROS et M. MICHEL pour les travaux de coupes microscopiques de végétal et de radiographie,

MM. SUTRE et MICHELOT pour les analyses de chromatographie en phase gazeuse,

M. GANTOIS pour les travaux de microscopie électronique et aux rayons X,

Mlle BALTZINGER et M. SUSHIL pour les observations au microscope électronique à balayage Stéréoscan.

SUMMARY

CRYSTALS OF CALCIUM CARBONATE IN THE WOOD OF THE GENUS *POPULUS* — CONSEQUENCES ON THE DISTRIBUTION OF MINERAL SUBSTANCES IN THE HEARTWOOD FORMATION.

The evidence of crystal deposit first arose from the visual examination and the densitometric recording of X-ray photographs of increment cores.

A survey concerning some species of 3 sections, report in table 1, shows that crystals are present in all the species of the section *Aigeiros* and *Tacamahaca* and absent in the species of the section *Leuce*.

From an investigation on young trees, it appears that the deposit of crystals begins as soon as the 3rd ring of the 1st internode.

Crystals are present in the whole tree (fig. 4 and 5) excepted the first rings near the bark where the sap flow is abundant. The appendix 1 summarizes the number and the density per ring of the occluded vessels at 3 different levels.

The occlusion of vessels is sometimes partial, more often total ; in this case the crystals give a moulding of the vessel (see electromicroscope figures 8 and 9 where the print of 2 pits is apparent). Crystallisation occurs also within fibers (fig. 12) surrounding the filled vessels.

Several physical and physico-chemical methods have been used for the determination of crystals. For gas chromatography several hundreds of thin sections were soaked in hydrochloric acid and the gas obtained were identified as carbon dioxide (fig. 13).

From X-ray diffraction spectrum it appears (fig. 14) that crystals specially consist of calcium carbonate in association with minute quantities of other minerals.

Quantitative chemical analysis have been done for several cations ; Ca^{++} , Mg^{++} and K^{+} and for the Phosphorus measured in terms of P_2O_5 .

For young trees table 3 shows that the mineral salts are only present in the 3rd ring that is the ring where crystals were observed.

Three older trees were also investigated. It appears from fig. 17 to 20 that the variations for these trees were quite similar : the phosphorus is more abundant within the sapwood ; it decreases near the 5th ring and its dose becomes 10 times lower in the heartwood.

The results for the cations are quite opposite : high level in the heartwood, and low level in the sapwood (table 2, appendix 2, and tables included in the text section 3334).

A particular attention is paid to this 5th ring which may be called hinge-ring from the point of view of the analytic separation of mineral substances.

Elsewhere the table 4 shows a sharp diminution of the cations from the 1st to the 2nd ring from the cambium, and a more questionable variation for the phosphorus.

Thus modifications of the ionic concentration if corroborated by further investigations might serve to distinguish sections of the genus *Populus* and to delimitate sapwood in species with non colored heartwood.

Elsewhere this study has shown that to conserve to literature crystals in the genus *Populus* arise from a normal physiological process and not at all from defects or other abnormal phenomena.

ZUSAMMENFASSUNG

DIE FESTSTELLUNG VON KALZIUMKARBONATKRISTALLEN IM HOLZ DER GATTUNG *POPULUS* — EINFLUSS AUF DIE MINERALIENVERTEILUNG IM KERNHOLZ.

Es wurde eine systematische Untersuchung über das Auftreten von Kristallen im Holz von Jungpflanzen und Bäumen der Gattung *Populus* durchgeführt, nachdem an Röntgenaufnahmen von zahlreichen Bohrspaltenproben das Vorhandensein von Kristallen festgestellt worden war. Es wurde eine qualitative und quantitative Untersuchung der kristallinen Ablagerungen durchgeführt.

Die qualitative Analyse zeigt, dass in den Sektionen *Aigeiros* und *Tacamahaca* ständig Kristalle vorhanden sind, während diese in der Sektion *Leuce* vollständig fehlen. Die Anzahl der verstopften Gefäße wurde jahringweise an vollständigen mikroskopischen Stammschnitten von *Populus trichocarpa* ausgezählt. Die Verteilungsmodalitäten der Ablagerungen in den Gefäßen und Fasern des Stammes, der Zweige und der Wurzeln werden dargestellt. Die verschiedenen Analysemethoden (Gas-Chromatographie, Röntgenspektrographie, klassische Elektronenmikroskopie und Stereoscan — Elektronenmikroskopie) haben ergeben, dass die Kristalle nahezu ausschliesslich aus Kalziumkarbonat bestehen.

Die quantitative chemische Untersuchung der Kationen Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ und des Phosphorations an *Populus robusta* und *Populus trichocarpa* erlaubte jahringweise die erreichten Konzentrationen zu berechnen und die durch das Auftreten von Kristallen festgestellten Variationen zahlenmässig zu belegen.

- Desweiteren wurden an jedem Querschnitt analytisch drei Jahrringgruppen unterschieden :
 — der erste Jahrring nach dem Kambium,
 — das übrige Spintholz,
 — das Kernholz,

wobei ein Grenzzahrring festgestellt werden konnte, welcher bezüglich der Ionenkonzentration einen Übergang vom Splint zum Kernholz darstellt.

RIASSUNTO

MESSA IN EVIDENZA DI CRISTALLI DI CARBONATO DI CALCIO NEL LEGNO DEI PIOPI — CONSEGUENZE SULLA RIPARTIZIONE DEI IONI MINERALI LEGATA ALLA FORMAZIONE DEL DURAME.

Una ricerca sistematica della presenza di cristalli nel legno del genere *Populus* su giovani piantine ed su alberi adulti fu intrapresa dopo la loro scoperta sui film esposti ai raggi X durante le analisi di numerosi campioni ottenuti sotto la forma di carotine di sondaggio, colla trivella di Pressler.

I depositi cristallizzati furono analizzati qualitativamente e quantitativamente.

Lo studio qualitativo ha mostrato una presenza costante dei cristalli nelle sezioni *Aigeiros* e *Tacamahaca* e una mancanza completa nella sezione *Leuce*. Il numero dei vasi ostruiti fu determinato, anello a anello, usando sezioni radiali microscopiche, pezzi a pezzi, della superficie intera del fusto di *Populus trichocarpa*.

Le modalità della ripartizione dei depositi nei vasi e nelle fibre del tronco, dei rami e delle radici furono descritti.

Le analisi fatte mediante la chromatografia in fase gassosa, la spettroscopia ai raggi X e la microscopia elettronica classica e a analisi del tipo STEREOCAN hanno dimostrato che i cristalli erano per la maggiore parte formati dal carbonato di calcio.

Lo studio quantitativo chimico su *Populus robusta* e su *Populus trichocarpa* dei cationi Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ e dell'anione fosforo a permesso di cifrare anello a anello le concentrazioni raggiunte e le variazioni osservate colla presenza dei cristalli.

Inoltre, abbiamo separati analiticamente tre gruppi di anni su ogni sezione :

- l'anello vicino della zona cambiaria,
 — la parte dell'alburno,
 — il durame,

ed abbiamo messi in evidenza un *anello-cerniera* che serve di transizione dal punto di vista delle concentrazioni in ioni tra l'alburno e il durame.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOUREAU E., 1957. — *Anatomie Végétale*, tome III, p. 572-574, 1^{re} édition, Presses Universitaires de France, Paris.
- ELLIS E. L., 1967. — Minerals, crystals, and heartwood. *XIV^e Congrès IUFRO*, Section 41, Munich.
- GAGNAIRE J., 1967. — *Recherches sur la détection des pollutions radioactives par les végétaux*. Thèse Docteur ès Sciences, Faculté des Sciences de l'Université de Grenoble.
- KENNEDY R. W., SASTRY C. B. R., BARTON G. M. et ELLIS E. L., 1968. — Crystals in the wood of the genus *Abies* indigenous to Canada and the United States. *Canadian Journal of Botany*, vol. 46, n° 10, 1221-1228.
- MENY L. et CHAMPIGNY M., 1969. — Quelques applications métallurgiques du microscope électronique à balayage. *J. Microscopic*, 8, 663-676.
- METCALFE C. R. et CHALK L., 1950. — *Anatomy of Dicotyledons : leaves stem and wood in relation to taxonomy, with notes on economic use*. Oxford, Clarendon Press, 2 vol.
- MIA A. J., 1969. — Light and electron microscope studies of crystalline substances in *Acer Saccharum* mineral stain. *Wood Science*, vol. 2, n° 2, 120-124.
- PANSHIN A. J. et DE ZEEUW C., 1964. — *Textbook of wood technology*, vol. 1, p. 154, 155, 159, seconde édition, McGraw-Hill Book Company, New York.
- PHILIBERT J., 1968. — La microscopie électronique à balayage et ses applications métallurgiques. *Revue de Physique Appliquée*, tome III, décembre, p. 325-330.
- POLGE H., 1966. — *Etablissement des courbes de variation de la densité du bois par exploration densitométrique de radiographies d'échantillons prélevés à la tarière sur des arbres vivants. Applications dans les domaines technologique et physiologique*. Thèse Docteur ès Sciences Appliquées, Faculté des Sciences de l'Université de Nancy.
- POLGE H., 1967. — *Première appréciation de la qualité du bois de Populus trichocarpa cultivé dans le Populetum de Velaine*. Document à usage interne, Station de Recherches sur la Qualité des Bois du C.N.R.F.
- RALSTON C. W. et PRINCE A. B., 1963. — Accumulation of dry matter and nutrients by Pine and Hardwood forests in the Lower Piedmont of North Carolina. *Forest-Soil relationships in North America*, p. 76-94, Youngberg, Corvallis.
- RECORD S. J., 1927. — Occurrence of calcium carbonate deposits in woods. *Tropical woods*, n° 12, p. 22-26.

ANNEXE I

Niveau 3 mètres :

N ^{os} des cernes de l'intérieur vers l'extérieur	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Nombre de vaisseaux obstrués	234	256	229	442	362	214	423	682	265	6	0	33	12	0	0
Surface des cernes (en cm ²)	0,37	0,78	3,68	6,20	12,4	21,2	31,0	49,5	39,6	76,7	72,9	82,7	73,2	79,5	87,5
Densité moyenne ...	632	328	62,2	71,2	29,2	10	13,6	13,7	6,7	0,07	0	0,40	0,16	0	0

Niveau 9 mètres :

Numéros des cernes de l'intérieur vers l'extérieur	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nbre de vaisseaux obstrués	357	474	430	36	50	4	0	0	0	0
Surface des cernes (en cm ²)	2,15	5,28	20,7	33,9	25,9	34,2	36	37	74	43
Densité moyenne	166	89,7	2,07	1,06	2	0,11	0	0	0	0

Niveau 18 mètres :

Numéros des cernes de l'intérieur vers l'extérieur	1	2	3	4	5	6
Nombre de vaisseaux obstrués	10	468	3	0	0	0
Surface des cernes (en cm ²) ...	0,50	3,3	11,4	19	23,8	31,5
Densité moyenne	20	142	0,26	0	0	0

Niveau 3 m = at level 3 meters Niveau 9 m = at level 9 meters Niveau 18 m = at level 18 meters

Numéros des cernes de l'intérieur vers l'extérieur = Number of the rings from the inner to the outer

Nombre de vaisseaux obstrués = Number of filled vessels

Surface des cernes (cm²) = area of annual rings (cm²)

Densité moyenne = average density

ANNEXE 2

N° arbre	N° des cernes de l'intérieur vers l'extérieur	P ₂ O ₅	Calcium	Magnésium	Potassium
I	1	0,09	55,6	10,20	5,04
	2	0,09	62,7	9,85	5,45
	3	0,09	57,7	8,93	5,06
	4	0,08	47,1	7,80	4,15
	5	0,06	16,8	4,10	2,98
	6	0,32	7,7	3,61	3,77
	7	0,53	6,9	2,59	4,16
	8	0,14	6,4	1,91	3,25
	9	0,90	6,8	1,93	1,96
	10	0,94	6,7	2,01	2,45
	11	0,92	6,4	1,85	1,87
	12	0,92	6,3	1,74	2,36
	13	2,16	38,8	4,51	9,40
II	1	0,08	49,8	8,28	5,60
	2	0,09	42,7	7,30	5,46
	3	0,07	35,6	7,30	4,89
	4	0,07	22,8	4,79	4,12
	5	0,07	7,2	2,81	3,68
	6	0,70	6,7	3,30	3,98
	7	0,92	6,9	2,18	3,40
	8	0,93	6,7	2,01	2,62
	9	1,08	6,5	2,21	1,93
	10	1,17	6,2	2,22	2,12
	11	1,04	5,9	1,64	1,76
	12	0,97	5,4	1,44	1,86
	13	0,93	5,7	1,22	3,00
III	1	0,10	39,1	8,87	8,53
	2	0,10	40,9	8,14	8,94
	3	0,10	47,2	7,92	7,40
	4	0,05	15,0	4,32	5,54
	5	0,06	5,9	2,36	4,67
	6	0,56	6,6	2,59	5,65
	7	0,61	6,0	1,70	4,47
	8	0,66	6,2	1,72	3,54
	9	0,76	5,8	1,67	2,65
	10	0,86	6,7	1,94	2,40
	11	0,81	6,3	1,73	1,96
	12	0,70	5,9	1,54	2,08
	13	1,16	11,5	2,01	4,81

N° arbre = Number of the trees.

N° des cernes de l'intérieur vers l'extérieur = Number of the rings from the inner to the outer.

P₂O₅ est exprimé en %_{ov} de bois sec. = P₂O₅ is expressed in %_{ov} oven-dry weight of wood.

Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ et K⁺ sont exprimés en meq/100 de bois sec. = Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ et K⁺ are expressed in milliequivalent per hundred grams oven-dry weight of wood.