

50376
1955
18

50376
1955
18

MEMOIRE
présenté à la FACULTE DES SCIENCES
de LILLE
pour obtenir le Diplôme
D'ETUDES SUPERIEURES DE BOTANIQUE
par René MUTIN

-:-:-:-:-

le 10 Février 1955



2/

ASPECTS NUCLEAIRES DANS LES CELLULES
DE L'AXE HYPOCOTYLE de CUCURBITA PEPO
SOUS L'INFLUENCE DE DIVERSES SUBSTANCES
par René H U T I N

=====

11

=L'étude du métabolisme des différents constituants des cellules a été réalisée dans de nombreux travaux scientifiques.

Ainsi les variations de volume du noyau et du nucléole sont l'indice de modifications de ce métabolisme. Ce volume est en outre fonction de l'état physiologique de la cellule.

Il fut constaté qu'une certaine concentration de sucre dans la cellule est nécessaire à la condensation de substances amyclacées dans les plastes.

ALBERT MAIGE a démontré sur PHASEOLUS que l'inanition hydrocarbonée entraîne une dégradation du noyau et du cytoplasme suivie d'une mort rapide de la cellule. Par contre si l'on fournissait à celle-ci pendant sa désorganisation une quantité suffisante de solution nutritive directement assimilable telle que le glucose ou le saccharose on détermine la régénération du cytoplasme et du noyau.

Sur ces résultats physiologiques sont venus se greffer des études cytologiques plus récentes. Elles furent réalisées par des méthodes de fixation et colorations sur différents tissus et en particulier sur l'axe hypocotylé PHASEOLUS et CUCURBITA PEPO par Mr et Mme Maurice HOCQUETTE, par Maurice HOCQUETTE et Victor PRUDHOMME.

Serge PAUL par une étude chimique quantitative du phosphore des acides ribo et desoxyribonucléiques sur l'axe hypocotylé de PHASEOLUS VULGARIS L. a permis de faire une comparaison entre les variations de volume du noyau et de sa structure et du nucléole suivant l'état physiologique de la cellule.

Melle BUSTRAEN compléta ces différentes études par celle de la variation quantitative de l'azote organique ainsi que les diverses quantités d'azote minéral et ammoniacal que peuvent contenir des axes hypocotylés de : PHASEOLUS VULGARIS . L. et ceci pendant un jeûne glucidique et une régénération cellulaire effectuées dans les mêmes conditions que les expériences précédentes.

Mr et Mme Maurice HOCQUETTE firent d'autres expériences en employant l'acide folique qui intervient dans la synthèse des nucléoprotéines. Il n'a pas d'action si on l'emploie au cours des jeûnes; mais en solution avec des glucides il déclenche rapidement la régénération et conduit à l'mitose.

Il était intéressant pour faire suite aux observations et conclusions précédentes de tenter une série

5
d'expériences en faisant appel à l'action de l'acide folique additionné de diverses substances chimiques sur des axes hypocotylés de CUCURBITA PEPO

=Albert MAIGE au cours de ses expériences sur des hypocotyles de haricots a étudié la réaction du noyau et du nucléole. Ces hypocotyles peuvent alors subir un jeûne de huit jours après la digestion de leur amidon de réserve, jeûne permettant d'obtenir des noyaux et nucléole très réduits et dont l'accroissement sera plus facile à apprécier.

Le jeune hydrocarboné amena une diminution du noyau et du nucléole, encore plus sensible pour ce dernier que pour le premier.

La température joue un rôle important. La décroissance est accélérée par une élévation de température, et elle devient plus rapide lorsque la cellule a consommé ses réserves jusqu'à l'établissement d'un équilibre qui correspond à l'état d'inanition.

Après transfert sur saccharose à 5% à une température de 24° il constata un accroissement constant de la masse du noyau et du nucléole, la variation étant plus accusée pour ce dernier.

Albert MAIGE a pu établir par ces travaux que l'état physiologique de la cellule restant constant les dimensions du noyau et du nucléole le restent également, mais si l'état physiologique change pour la cellule, il en est de même pour les volumes du noyau et du nucléole qui essaient de rétablir un nouvel équilibre.

A cette étude physiologique firent suite les recherches cytologiques de Maurice HOCQUETTE et Victor PRUDHOMME sur ces noyaux et nucléoles.

Ils en conclurent que "l'axe hypocotylé de PHASEOLUS se présente comme une région où les noyaux quiescents sont caractérisés par un enrichissement, par rapport aux noyaux interphasiques des méristernes, en substances chromatiques "

L'hyperactivité du nucléole qui se manifeste par des amas chromatiques et des nucléoles surnuméraires, l'accumulation d'acides nucléiques combinés sont en rapport avec l'activité trophique des cellules.

Chez le haricot l'accumulation d'amas chromatiques serait due à l'hyperactivité de la synthèse protidique et ces corps seraient une localisation d'acide thymonucléique qui présiderait à la synthèse des acides ribonucléiques.

6

Lors du jeûne, abstraction faite de la diminution générale du volume des cellules, du noyau et du nucléole, les structures observées restent semblable à celle du noyau en régénération.

M.M. Maurice HOCQUETTE et Victor PRUDHOMME notent néanmoins une diminution de chromatophilie du centre du nucléole et des granulations chromatiques plus petites, moins colorables, moins nombreuses dans l'enkylème nucléaire. Le corps nucléolaire n'est d'ailleurs pas retrouvé dans toutes les figures. Par conséquent on observe dans l'ensemble une diminution de colorabilité.

Si on place les embryons après le jeûne glucidique sur une solution de saccharose à 5% dans une étuve à 30% on voit après 48 h qu'ils retrouvent leur volume primitif et même supérieur à celui-ci.

La régénération du noyau s'accompagne donc d'une augmentation considérable du nombre et de la taille des granules chromatiques assimilables à des prochromosomes. C'est là le phénomène fondamental de cette étude sur milieu nutritif. Cette substance forme des granulations plus nombreuses que les chromocentres normaux mais ayant les mêmes caractères et qui marqueraient conclut M. Maurice HOCQUETTE "une hyperactivité de la synthèse protidique et correspondrait à une localisation momentanée d'acide thymonucléique et à une étape dans la synthèse et l'évolution de l'acide ribonucléique".

Victor PRUDHOMME a observé des structures qui sont nettement différentes de celles du noyau quiescent. Aussi pense-t-il que l'embryon normal se nourrit grâce aux réserves cotylédoniques qui sont glucidiques mais aussi protidiques tandis que dans les expériences décrites l'embryon dépourvu de ses cotylédons se nourrit exclusivement de sucres d'où déséquilibre nutritif qui lui fait conclure que "une nutrition abondante mais équilibrée conduirait à la formation de nucléoles annexes, bien constitués, une nutrition abondante mais moins équilibrée conduirait à la dissémination chromatique".

SERGE PAUL, pour vérifier l'hypothèse exprimant le fait que l'accumulation de substance chromatique en granulations plus nombreuses que les chromosomes normaux, pourrait correspondre à la localisation momentanée d'acide thymonucléique a effectué une série d'analyses portant sur le phosphore des acides ribo et desoxyribonucleiques et sur le phosphore total de ces substances dans les hypocotyles de PHASEOLUS pris dans les mêmes conditions que précédemment.

Ces analyses ont été effectuées par la méthode W.C. SCHNEIDER applicable aux tissus animaux et modifiée ici pour être adaptée aux tissus végétaux.

Il fut constaté que le jeûne glucidique amène une consommation rapide de l'acide ribonucléique et par conséquent une destruction des protides phosphorés, il montre la vulnérabilité de l'acide ribonucléique dont le phosphore représentait au départ 15 fois la quantité de celui de l'acide desoxyribonucléique et qui après 13 jours de dénutrition atteint à peu près sa valeur. L'invulnérabilité de l'acide desoxyribo-nucléique au contraire apparaît car son taux de phosphore est constant pendant les phénomènes de catabolisme et d'anabolisme successifs.

M.M. Maurice HOCQUETTE, Jean MONTREVIL et Serge PAUL font remarquer que " la constance de ce taux en dépit des modifications du métabolisme apparaît ainsi comme un caractère fondamental cellulaire" Ne voyant pas de rapport direct entre cette stabilité de l'acide desoxyribonucléique et les destructions ou synthèses protidiques amenant la diminution ou l'augmentation de la masse, du nombre, de la colorabilité des amas chromatiques dans le noyau quiescent Maurice HOCQUETTE, Jean MONTREVIL et Serge PAUL pensent qu'il faut peut-être admettre que l'acide desoxyribonucléique, sans se transformer, interviendrait dans l'élaboration et même participerait à la constitution des amas chromatiques, ceci même momentanément".

Mr et Mme Maurice HOCQUETTE admettent que, le taux d'acide desoxyribonucléique restant constant alors que les masses chromatiques peuvent diminuer ou croître, c'est l'acide ribonucléique qui est lysé ou synthétisé, cependant en même temps l'acide desoxyribonucléique se concentre ou se disperse dans le noyau. Ces conclusions sont appuyées par l'utilisation dans les expériences de colorants tels que le May-Grundwald et le Giemsa qui colorent les desoxyriboprotéines en violets rouge et les ribonucléoprotéines en bleu.

Mlle Ginette BUSTRAEN effectua par la méthode de HJELDAHL des analyses quantitatives de l'azote au cours du jeûne et de la régénération cellulaire par nutrition glucidique d'axes hypocotylés de PHASEOLUS.

Il apparaît que l'azote organique diminue pendant le jeûne (pour 100 axes de 41,44 mmg = 16,24 mmg) pour remonter le premier jour de la nutrition glucidique. Une synthèse protidique s'effectue donc bien dans le noyau en présence de sucres assimilables et à l'obscurité, une dégradation se produit au cours du jeûne.

Des analyses par la technique de SOLDBAUER ont

permis de déterminer dans les mêmes conditions expérimentales que précédemment les quantités d'azote total. Par différence avec les résultats précédents, on constate une augmentation de l'azote minéral durant le jeûne, sa diminution au moment de la nutrition carbonée, puis nouvelle augmentation dès le début du second jeûne. La quantité de nitrate varie à peine jusqu'au début du second jeûne. La quantité de nitrate varie à peine jusqu'au début de l'apport glucidique, elle baisse légèrement en même temps que la régénération cellulaire et augmente avec le jeûne qui la suit.

A partir du 4ème jour, l'ammoniaque qui ne représentait pas d'importantes variations voit sa quantité augmenter fortement jusqu'au 7ème jour, diminuer avec la nutrition glucidique puis remonter à nouveau.

Maurice HOCQUETTE et Melle Ginette BUSTRAEN tirent en conclusion que les régions hétérochromatiques des noyaux quiescents de l'axe hypocotylé PHASEOLUS sont bien le lieu d'une synthèse protidique et que les éléments qui concourent à cette synthèse sont dans les conditions expérimentales, d'une part, une forme glucidique du phosphore; combinaison du sucre fourni et de substances phosphorées issues de la dégradation de nucléoprotéides pré-existants, d'autre part à la fois non seulement l'azote minéral se trouvant au début des expériences dans les cellules et les produits de dégradation des protéides qui s'y accumulent durant le jeûne mais encore les nitrites ou même les nitrates absorbés par les axes et résultant de phénomènes de nutrification à la surface de ceux-ci.

M. et Mme Maurice HOCQUETTE ont remarqué que les noyaux quiescents des axes hypocotylés de CUCURBITA PEPO et PHASEOLUS possèdent des amas chromatiques dont le nombre et la taille varient avec les conditions physiologiques et ils s'établirait des états successifs d'équilibre qui s'opposeraient à la stabilité des noyaux interphasiques où les en-chromocentres sont toujours constatés de forme et de taille et où leur nombre est très voisin de $2n$
(CUCURBITA PEPO $2n = 24$)

Les amas chromatiques d'un tel noyau sont tous morphologiquement équivalents entre eux. Mais on peut leur reconnaître une triple origine : ce sont ou bien des en-chromocentres, ou bien des bourgeons amphophiles détachés du nucléole, ou bien de simples condensations de substances chromatiques en des points quelconques de l'enchylème nucléaire. Leur nature est la même : concentrations d'acide desoxy-ribonucléiques au niveau desquelles se synthétise de l'acide ribonucléique.

La surface du nucléole renferme l'acide desoxy-ribonucléique qui peut comme celui des en-chromocentres se dispenser dans l'enchylème nucléaire. Il n'est donc pas un simple lieu d'accumulation de réserves de substances chromatiques en rapport direct avec la mitose, mais une région de synthèse protidique au même titre que les en-

18
chronocentres et autres amas chromatiques.

La notion de permanence du taux des acides desoxyribonucléiques devrait maintenant remplacer celle d'autonomie et d'individualité des chromosomes dans le noyau quiescent. La constance du nombre chromosomique serait la conséquence de la permanence du taux d'acides desoxyribonucléiques.

Des expériences faites avec l'acide folique en solution avec des glucides, M. et Mme Maurice HOCQUETTE conclurent que " l'élaboration native et intense des protéines, l'élévation rapide du rapport nucléoplasmique provoquent, au moment de la régénération, un état d'instabilité que l'acide folique accentue jusqu'à déclencher une rupture d'équilibre qui mène à l'apoptose.

Faisant suite à ces dernières expériences nous allons à notre tour faire agir de l'acide folique en solution avec des glucides mais cette fois additionné de différentes substances chimiques. Les expériences réalisées ont été effectuées sur des axes hypocotylés de CUCURBITA PEPO.

Des Courges saines et sèches nous extrayons le germe et en isolons l'axe hypocotylé. Ces axes sont alors déposés dans des boîtes de Pétri entre deux buvards d'abord imbibés d'eau distillée. Ils y séjourneront durant sept jours consécutifs pendant lesquels ils absorberont toute leur réserve glucidique.

Au bout de ce laps de temps, il est nécessaire de commencer la régénération sinon les axes cessent d'être sains.

L'examen d'une coupe prise sur un axe ayant été 24h sur eau distillée montre des cellules bourrées de réserves masquant partiellement le noyau inclus dans leur masse. Le volume du noyau est environ 1/15 de celui de la cellule.

Après 7 jours de jeûne les réserves ont disparues le noyau a diminué de volume et l'enclème nucléaire est parsemée de nombreux amas chromatiques assez petits, bien colorés. Toutes les cellules d'un même organe ne réagissant pas de la même façon selon leur état physiologique, le nucléole est de ce fait parfois bien visible, parfois inexistant. Le cytoplasme présente de très grandes vacuoles.

Les axes sont alors transportés, toujours en boîtes de Pétri sur des solutions nutritives auxquelles nous donnerons les numéros de série I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII.

Nous avons alors fait des prélèvements d'axes à intervalles réguliers et nous avons observé les coupes colorées au GIEMSA qui en colorant les acide desoxyribonucléiques et ribonucléiques font ainsi apparaître les amas chromatiques du noyau cellulaire.

Les solutions nutritives contiennent chacune :

N° de Série	I	II	III	IV
Constituants	20cm ³ de solution de saccharose 5% acide folique 0,1g Pentothénate de sodium $\frac{1}{10000}$	20cm ³ de solution de saccharose 5% acide folique 0,1g acide β indol-acétique $\frac{1}{10.000}$	20cm ³ de solution de saccharose 5% acide folique 0,1g acide β indol-propionique $\frac{1}{10000}$	20cm ³ de solution de saccharose 5% acide folique 0,1g Mésoinositol $\frac{1}{1.000.000}$

N° de Série	V	VI	VII	VIII
Constituants	20cm ³ de solution de saccharose 5% acide folique 0,1g Pentothénate de sodium $\frac{1}{10.000}$ NO ₃ K 0,02g à 0,1% Phosphate mono-potassique 0,01g à 0,05%	20cm ³ de solution de saccharose 5% acide folique 0,1g acide β indol-acétique $\frac{1}{10.000}$ NO ₃ K 0,02g à 0,1% Phosphate mono-potassique 0,01g à 0,05%	20cm ³ de solution de saccharose 5% acide folique 0,1g acide β indol-propionique $\frac{1}{10.000}$ NO ₃ K 0,02g à 0,1% Phosphate mono-potassique 0,01g à 0,05%	20cm ³ de solution de saccharose 5% acide folique 0,1g Mésoinositol $\frac{1}{1.000.000}$ NO ₃ K 0,02g à 0,1% Phosphate mono-potassique 0,01g à 0,05%

11

Nos observations s'échelonnent toutes les deux heures : 2, 4, 6, 8 puis 12 heures.

Nous avons constaté les faits suivants :

I- Les noyaux sont sphériques ou fusiformes et présentent de grosses granulations. Au bout de 4h. de régénération, un grain beaucoup plus gros et très chromatophile apparaît alors que les autres amas chromatiques diminuent de volume tout en restant cependant très colorés. Au bout de 12 heures nous retrouvons les premiers stades. Un noyau présenterait dès 2 heures de régénération une invagination montrant une tendance à l'émittose.

II- Les observations montrent ici des noyaux à grains chromatiques assez volumineux et bien marqués. A chaque prélèvement nous pouvons constater un allongement de quelques amas.

Ainsi après 6 heures de régénération une coupe montre un noyau occupé transversalement par un amas chromatique allongé.

Il n'est pas de nucléoles visibles dans de telles cellules. Après 12 heures les noyaux ne sont plus pour la plupart sphériques mais présentent des pointements et parfois une tendance à s'étrangler, menant à l'émittose.

Le cytoplasme est bien régénéré. Une cellule trinuécléée est observée au bout de 8 heures de régénération.

III- Dans cette série les amas chromatiques montrant un allongement certain sont encore plus nombreux que pour la série II. Les noyaux sont rarement sphériques et prennent parfois des formes amœboïdes en émettant de petits prolongements. L'enchylène nucléaire en dehors de quelques gros amas plus ou moins allongés est parsemé de petits grains assez nombreux eux aussi bien colorés. Dès que nous atteignons 4 heures de régénération les coupes étudiées présentent des cellules binuéclées.

IV- Les premières observations après 2 heures de régénération nous permettent de constater une forte disproportion entre le volume nucléaire et cellulaire, le premier restant plus petit.

Si le noyau est plus gros, il est peu chromatophile et n'apparaît que par son nucléole très bien représenté car bien coloré.

Après 6 heures de régénération nous observons une dégénérescence nucléaire presque totale.

- De l'étude de ces quatre séries, il apparaît que l'acide folique en solution avec du saccharose et de l'acide "B" indolacétique ou de l'acide "B" indolpropionique, provoquent non seulement une élaboration hative et intense des protéines au moment de la régénération qui même à un état

12
d'instabilité déclanchant l'amitose (cellules binuclées, trinuclées, étranglement du noyau, forme amoeboïde de celui-ci). Chose déjà remarquée précédemment par Monsieur et Madame HOCQUETTE, mais aussi un allongement des amas chromatiques, (sui sont pour certains d'entre eux des pro-chromosomes) faisant penser à une organisation mitotique que nous pourrions qualifier ici de pro - prophase, la figure prophasique n'étant toutefois pas nettement visible.

Dans la série I, le Pentothénate de Na n'a pas eu sur les axes hypocotylés une action identique. Quant à la série IV le mesoinositol, bien qu'en très faible dose s'est montré toxique et a provoqué la dégénérescence nucléaire entraînant la mort des cellules et par là même celle des axes eux-mêmes qui brunissent et se dessèchent.

V- Les observations après 2 heures de régénération montrent que les noyaux de la majorité des cellules restent au stade quiescent, sont assez volumineux avec un ou deux nucléoles bien apparents et des amas chromatiques nets mais petits et égalant environ le nombre $2n$.

Les autres noyaux plus chromatophiles, moins volumineux, présentent une tendance à l'amitose par leur déformation plus ou moins prononcée. Ici les amas chromatiques sont plus nets et plus volumineux, et on ne peut plus distinguer le nucléole. Après 4 heures de régénération les observations sont identiques bien que les noyaux très chromatophiles prennent une forme amoeboïde plus prononcée. Dans les stades suivants nous retrouvons toujours les noyaux au stade quiescent, peu colorés, surtout apparents par leurs nucléoles mais la plupart d'entre eux très chromatophiles sont petits et semblent entrer dans une phase de dégénérescence.

Vers 12 heures les noyaux encore homogènes ne sont plus sphériques, mais le contour nucléaire présente des sinuosités. Les grains de chromatine apparaissent encore, bien colorés, et parfois assez gros. Au stade 4 heures, nous observons des cellules binuclées.

VI - Comme pour le groupe précédent dès la 2ème heure nous remarquons deux sortes de noyaux : les uns assez volumineux, peu colorés avec un ou deux nucléoles très nets, les autres plus chromatophiles avec amas chromatiques très nets également.

Certaines cellules présentent des noyaux qui au lieu d'un cytoplasme abondant ont la particularité d'avoir un enchylème nucléaire contenant de nombreuses granulations sphériques ayant l'image du nucléole. Ainsi dans une cellule nous en comptons huit.

Pour 4h, 6h, 8 heures, nous retrouvons les noyaux quiescents tandis que ceux présentant une coloration plus prononcée prennent la forme de fuseau, le nucléole est cependant bien visible.

13

Cette forme fusiforme est sans doute due à leur position dans le cytoplasme périphérique contre la paroi cellulaire.

Après 12 heures de régénération les noyaux baignent dans un cytoplasme très dense, ils sont très chromatophiles et les amas chromatiques ne sont plus distincts. Le nucléole est parfois encore visible. Sans doute avons nous là des noyaux à un stade intermédiaire entre la quiescence et l'interphase. Au stade 4 heures nous notons des cellules binucléées.

VII- Les coupes après 2 heures et 4 heures de régénération nous font observer des noyaux sphériques volumineux avec prochromosomes bien nets à la limite nucléocytoplasmique. Des déformations nucléaires montrent une tendance dans certaines cellules à l'amitose.

A partir de 8 heures de régénération nous observons des noyaux à peine visibles, avec nucléole et fine ponctuation chromatique. Des cellules binucléées sont relevées et les noyaux sont parfois très déformés.

VIII- La première observation après 2 heures sur cette solution nous fait constater des noyaux tout à fait ordinaires sphériques avec ponctuation chromatique et nucléole.

Par la suite la proportion de tels noyaux diminue et apparaissent des noyaux déformés. Une nette tendance de l'amitose est observable et des cellules binucléées avec parfois les 2 noyaux encore accolés, apparaissent. Le cytoplasme est peu régénéré.

A partir de 12 heures les embryons brunissent, se dessèchent et les préparations montrent une dégénérescence des noyaux dont la caryolymphe est mélangée au cytoplasme.

--- De l'observation de ces quatre séries nous remarquons immédiatement que nous n'avons plus observé l'allongement des prochromosomes. L'état d'instabilité qui déclenche l'amitose existe toujours surtout pendant les 4 premières heures de régénération mais dans la majorité des observations le stade quiescent est dédolé. Ceci est bien illustré par les amas chromatiques morphologiquement semblables entre-eux et des nucléoles bien visibles.

Dans la série IV, avec l'acide B indolpropionique nous décelons même un stade qui peut s'accompagner de début d'amitose plus ou moins marquées vers 12 heures de régénération.

L'addition de NO_3K et de phosphate monopotanique aux séries I, II, III, IV a donc eu pour effet semble-t-il de donner aux préparations une plus grande stabilité. Il y a une élaboration intense et hâtive des protéines puisque nous observons des amas chromatiques bien chromatophiles et volumineux ainsi que des amitoses, mais ceci surtout dès le début du temps de régénération. Les noyaux prennent ensuite la figure de noyaux quiescents ou interphasiques.

14

Cette nutrition équilibrée conduit à la formation de nucléoles annexes (cas exceptionnel avec huit), et à la dissémination chromatique, les amas diminuant de volume et étant plus nombreux.

Le Mesoinositol dans la série VIII s'est montré tout aussi toxique que dans la série IV et a conduit à une dégénérescence nucléaire.

— Toujours sur le même matériel, c'est-à-dire sur des axes hypocotylés de CUCURBITA PEPO ayant subi un jeûne sur eau distillée de sept jours, nous allons faire agir simplement une solution de saccharose 5% additionnée de Nitrate, de phosphate, puis de l'ensemble nitrate plus phosphate.

=20 cm³ de saccharose 5% + nitrate =

Dans cette série comme dans toutes les séries déjà vues et à voir nous retrouvons toujours 2 types de réactions du noyau selon l'état physiologique des cellules.

Tantôt les noyaux sont volumineux, peu chromatophiles, tantôt plus petits et très chromatophiles. Les premiers sont l'image d'un noyau au sein duquel il existe un équilibre qui lui donne une stabilité en faisant un noyau quiescent ou interphasique. Pour les autres cet équilibre n'est pas atteint.

Dans cette série les amas chromatiques au fur et à mesure que la régénération se poursuit grossissent légèrement jusqu'à la 4^{ème} heure. Ils sont sphériques, bien colorés et se trouvent à la périphérie du noyau. Un ou deux grains sont beaucoup plus volumineux (nucléoles?)

Après 8 heures de régénération la majorité des noyaux dénote une nette tendance à l'amitose et nous relevons de nombreuses cellules binuclées.

Après douze heures les noyaux deviennent très volumineux (1/3 de la cellule) les prochromosomes sont toujours bien nets et sphériques. Par la suite nous n'aurons pas de changement les coupes observées après 24 heures de régénération montrant une morphologie cellulaire identique.

=20 cm³ de saccharose 5% + phosphate : Ici encore l'état physiologique joue un rôle important dans le comportement cellulaire de nos préparations mais cependant nous aurons des différences beaucoup moins nettes.

Jusqu'à la 4^{ème} heure de régénération la caryolymphe présente une structure granuleuse avec seulement quelques granulations légèrement plus volumineuses que l'on pourrait considérer comme prochromosomes. Les nucléoles sont bien apparents et souvent ont une forme ovale.

11

. A la 6^{ème} heure de régénération, les nucléoles sont disparus et les prochromosomes bien nets, volumineux sont apparus. Nous relevons de nombreuses cellules binucléées ou des bourgonnements cellulaires. Il y a donc tendance à l'ameitose.

Après 8 heures de régénération : les nucléoles réapparaissent la caryolymphe devient granuleuse et il semble que nous entrons là dans une interphase, en effet aux observations de 12 heures et 24 heures de régénération nous retrouverons les stades vus à 4 h. et 8 h.

Le cytoplasme s'est très bien régénéré.

20 cm³ de saccharose 5% + nitrate + phosphate :

Dès la première observation nous constatons que les cellules possèdent un cytoplasme très bien régénéré et le noyau possède un nucléole volumineux.

Dans toutes les observations suivantes nous observerons toujours des noyaux nucléolés ce qui prouve qu'il y a là une grande stabilité et qu'un équilibre existe.

Nous aurons des prochromosomes nets après 4h, 8h et entre ces stades, une caryolymphe granuleuse.

Là où les prochromosomes seront apparents nous pourrions observer des cellules binucléées, donc il y aurait lien avec l'apparition des prochromosomes une tendance à l'ameitose.

--- De ces observations nous pouvons déduire que le nitrate et le phosphate régénèrent très bien le cytoplasme cellulaire.

Avec le nitrate nous avons pu observer de très gros prochromosomes et l'aboutissement à une tendance à l'ameitose.

Avec le phosphate la stabilité cellulaire est plus grande bien que nous passions d'un stade quiescent ou interphasique à une tendance à l'ameitose pour revenir ensuite à un stade de repos.

Le nitrate provoquerait donc une élaboration intense des protéines, puisque les amas chromatiques n'ont cessé de grossir, tandis que la potasse tend plutôt à un retour vers un équilibre nucléaire lorsque l'élaboration des protéines a atteint un certain seuil ce qui explique que l'on retrouve des stades de quiescence à périodes fixes.

---- Continuons nos séries d'expériences en utilisant toujours des axes hypocotylés de CUCURBITA PEPO ayant jeuné 7 jours et cette fois nous allons faire agir :

Une solution A = 20 cm³ de saccharose 5% + acide folique 0,1g (0.052)

16
A la première observation c'est-à-dire après 2 heures de régénération nous remarquons des cellules avec noyaux sphériques de taille normale. Les amas chromatiques sont bien nets et situés sur pourtour du noyau, à la limite nucléocytoplasmique.

Après 4 heures de régénération, les noyaux pour la proportion de 5% environ ont tendance à s'allonger et montrent parfois un petit étranglement faisant penser à l'amitose. Les amas chromatiques sont toujours visibles dans une caryolymphe peu colorée.

Après 6 heures beaucoup de noyaux sont dégradés. La limite nucléocytoplasmique semble avoir disparue et les amas chromatiques sont disséminés dans tout le cytoplasme.

Là où nous observons encore des noyaux ils sont petits et possèdent un ou plusieurs amas très chromotophiles très volumineux.

Après 12 heures de régénération, les noyaux montrent des caractères de dégénérescence étant de très petite taille ou très déformés.

Une solution B = 20 cm³ de saccharose 5% + acide folique (0,1g) 0.05% + NO₃K (2cg) + (P04) KN² (1cg)

Après 2 heures de régénération nous pouvons observer des noyaux peu chromotophiles avec prochromosomes assez gros et bien nets. Ces noyaux ont une tendance vers la forme en fuseau ou polygonale.

Ensuite les amas chromatiques grossissent, la chromatophilie du noyau s'accroît et après 6 heures pour la majorité des cas, on ne peut apercevoir les prochromosomes dans la caryolymphe très colorée.

Après 8 heures de régénération, les mêmes observations sont faites mais nous trouvons des cellules binucléées qui atteignent vers 12 heures la proportion d'environ 10%.

Le cytoplasme présente dans cette série de grandes vacuoles, les travées cytoplasmiques sont nombreuses.

Une solution C = 20 cm³ de saccharose 5% + acide folique (0,1g) 0.05% + NO₃K (2 Cg) + (P04) KN² (1 cg) + acide B indol-acétique.

Les noyaux sont assez peu volumineux et ceci durant toute la régénération. Après 2 heures nous observons déjà des amas chromatiques bien nets qui parfois ont une légère tendance à l'allongement.

Après 6 heures apparition du nucléole alors que les amas chromatiques diminuent en nombre.

Après 8 heures les noyaux présentent une caryolymphe granuleuse où souvent le nucléole est visible.

Les noyaux se déforment et sont quelquefois picnotiques.

Le cytoplasme dans cette série d'expériences

est toujours bien régénéré.

De ces différentes études sur la régénération glucidique d'axes hypocotyles de CUCURBITA PEPO en présence de différentes substances nous pouvons dégager les idées suivantes :

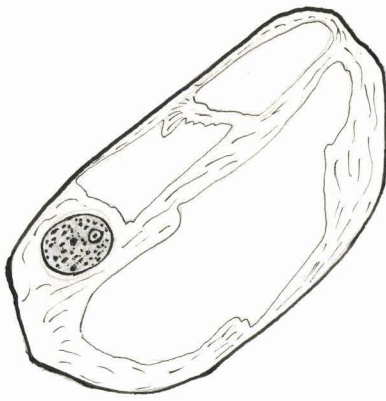
=L'acide folique en présence d'acide B indolacétique ou B indolpropionique déclenche une organisation mitotique observée dans l'allongement de certains amas chromatiques = prochromosomes.

Toutefois si un début de prophase fut observé les stades suivants n'apparaissent pas.

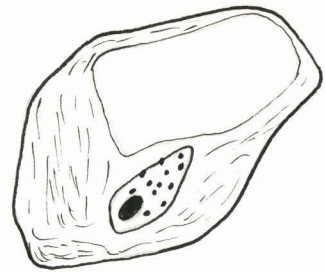
=L'addition de $\text{NO}_3^- \text{K}$ et de $(\text{PO}_4)^{3-} \text{KN}$ 2 provoque une stabilité cellulaire qui interdit le déclenchement de toute organisation mitotique (allongement des prochromosomes marquant une tendance à la prophase) et si le nitrate permet une élaboration intense des protéines, le phosphate tend au contraire à ramener les noyaux à la quiescence lorsque ces protéines ont atteint une certaine quantité, un certain taux.

D'autre part la potasse amène une diminution de volume des vacuoles, la masse totale du cytoplasme se trouve augmentée de ce fait, et ainsi le rapport nucléocytoplasmique diminuant la stabilité cellulaire se trouve renforcée.

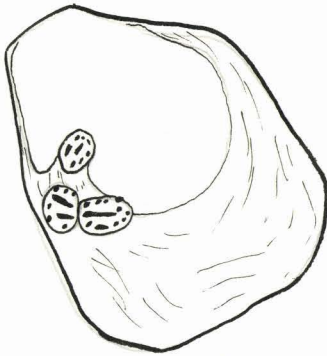
PLANCHE 1



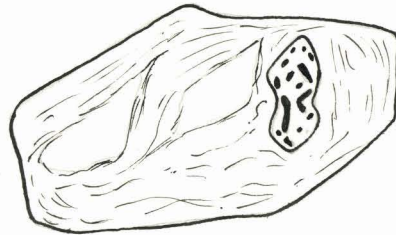
Après 7 jours de jeûne



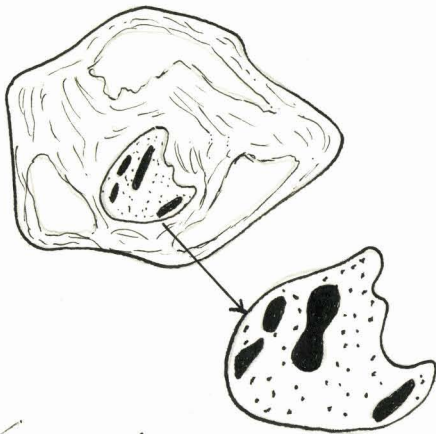
I : 4 heures



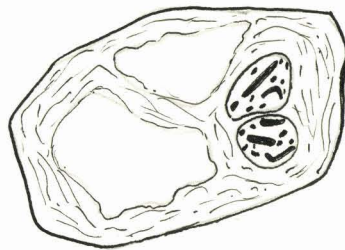
II : 8 heures



II : 12 heures

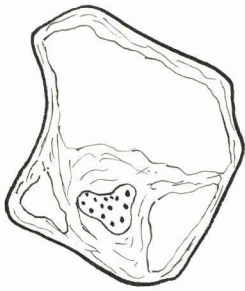


III : 2 heures

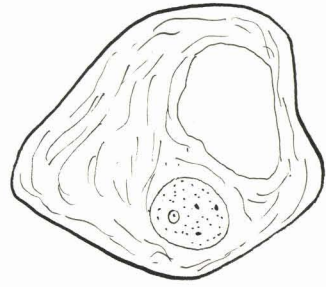


III : 6 heures

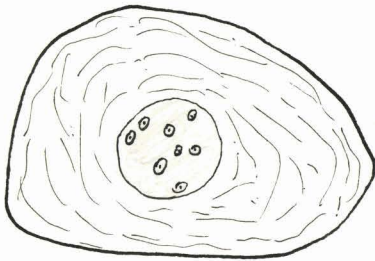
PLANCHE 2



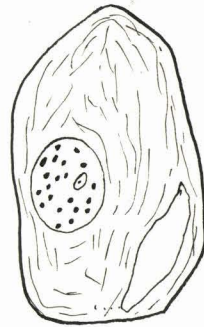
IV : 2 heures



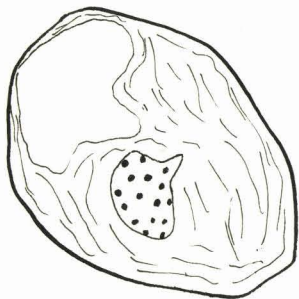
V : 8 heures



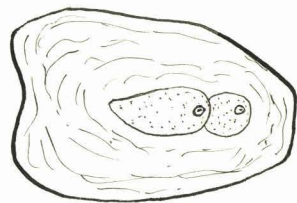
VI : 2 heures



VI : 8 heures



VII : 2 heures

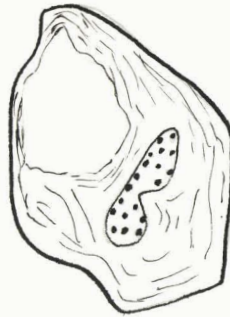


VII : 12 heures

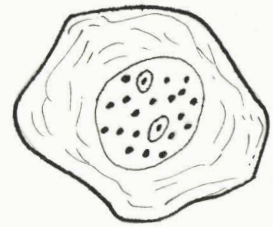
PLANCHE 3



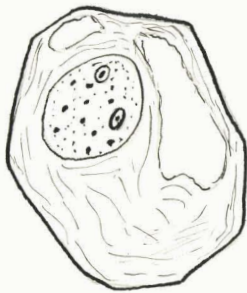
Saccharose
+ Nitrate = 2 heures



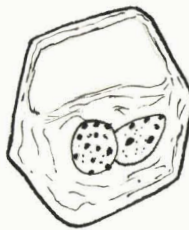
S.N. = 8 heures



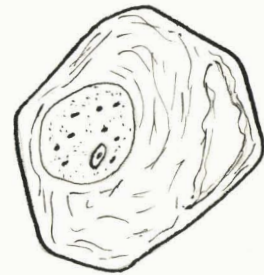
S.N. = 12 heures



Saccharose
+ Phosphate : 2 heures

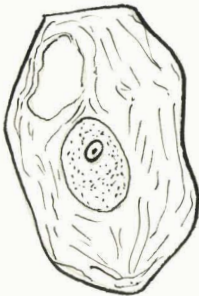


S.P. = 6 heures

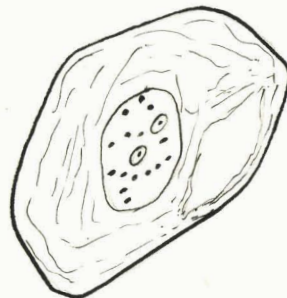


BU
LILLE

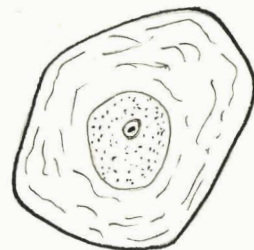
S.P. = 24 heures.



Saccharose
+
Nitrate
+
Phosphate : 2 heures



S.N.P. = 4 heures

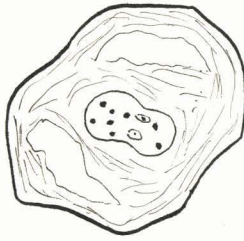


S.N.P. = 12 heures

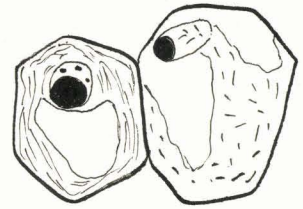
PLANCHE 4



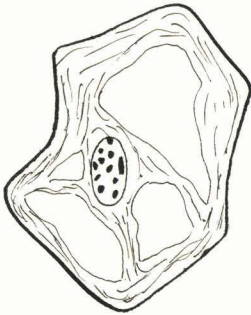
A : 2 heures



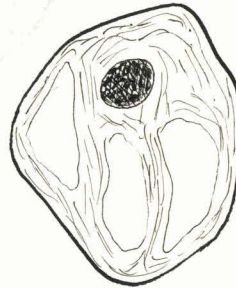
A : 4 heures



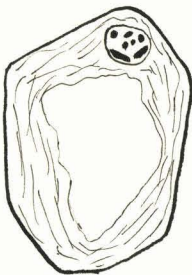
A : 6 heures



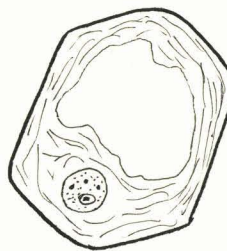
B : 6 heures



B : 8 heures



C : 4 heures



C : 6 heures