50376
1956
22

50376
1956
22

Thèse

présentée à la Faculté des Sciences de Lille
en vue de l'obtention du Diplôme d'études supérieures de Botanique
par Fernande Lemaire

Thèse soutenue le Mars 1956
devant la Commission d'examen

INFLUENCE DE LA NUTRITION

SUR LA STRUCTURE DU NOYAU DE PISUM SATIVUM (VARIETE SUCREE)

Les études sur le noyau, menées par M. Hocquette, font apparaître que dans une région particulière des embryons végétaux étudiés, le noyau, à l'état de repos possède de la chromatine variable dans ses caractéristiques notamment dans le nombre de ses granulations. Celles-ci peuvent se concentrer ou se disperser grandir ou s'amoinrir. Tout cela, sous l'influence de la nutrition de l'embryon.

Ces résultats ne gênent d'ailleurs pas la théorie selon laquelle chaque cellule possède à sa naissance un même nombre de chromosomes. En effet, dans les méristèmes (régions où les cellules se divisent activement) tous les noyaux semblent également pourvus de chromatine et ainsi prêts à maintenir la stabilité de l'élément chromatique dans les cellules-filles. Leur nombre d'euchromosomes est pair et fixe.

Nous poursuivrons ces études sur le pois sucré, *Pisum sativum* dont les réserves sont à l'état de sucre et non d'amidon. Une manière facile de perturber la nutrition d'une cellule est de la faire jeûner. Pour cela nous extirpons des plantules de *Pisum sativum*. Sans leurs cotylédons et sur eau distillée, ils n'ont aucune ressource. Placés entre deux buvards humidifiés, ils sont introduits dans une étuve à 28 degrés. Nous coupons de temps en temps les méristèmes, lesquels se développent aux deux extrémités de l'axe hypocotylé (Jeunes feuilles, tige et racine). Dans ces méristèmes en effet, les noyaux ont une chromatine constamment sous forme de chromosomes véritables, tant les mitoses se succèdent rapidement.

Le pois sucré peut jeûner neuf jours (c'est-à-dire 9 fois 24 heures) ce qui est relativement long. Mais c'est la

limite supérieure car les embryons, sains jusqu'à ce moment-là, dépérissent ensuite très rapidement dans les quelques heures qui suivent.

Dans les premiers jours de jeûne, les chromocentres, masqués par les réserves (lesquelles se colorent vivement par le Giemsa) ne sont pas visibles. Il faut attendre le 5ème jour pour qu'ils apparaissent, d'un bleu indigo.

Ils sont très petits et de formes variées :

- Ronds ●
- Allongés } }
- Recourbés C 2
- De formes irrégulières *
- OU alors punctiformes ○

Nous les caractériserons par leur nombre (surtout), leur forme, leur chromatophilie, leur orientation s'il y a lieu.

Les chromocentres semblent accrochés aux mailles d'un réseau achromatique plus réfringent que le suc nucléaire coloré en bleu pâle. Dans certaines conditions il est très visible (par exemple en éclairant latéralement la préparation) ou bien sous l'action de certaines substances qui en élargissent les mailles. Les fibres de ce réseau présentent parfois une orientation radiale aboutissant au centre du noyau confondu quelquefois avec le nucléole. Les mailles ont souvent des formes géométriques. Les chromocentres y sont attachés souvent au point d'intersection de 2 fibres, parfois ils s'étalent sur elles.

Le nucléole, particulièrement bien colorable par le Giemsa en bleu violet peut présenter des variations de taille considérables et aussi des formes particulières que nous étudierons au fur et à mesure de leur apparition car elles s'intègrent

dans les résultats de ces expériences.

Noyau quiescent de Pisum sativum

Aspect de la substance chromatique au cours du jeûne de 9 jours.

Nos observations commencent au 5ème jour de jeûne. Avant, dans les jours de jeûne n° 1-2-3-4, nous ne les voyons pas. Au jour 5, dans un enkylème nucléaire pâle, nous distinguons un nucléole petit punctiforme ne se distinguant pas des chromocentres, colorable en bleu indigo.

Comptons les chromocentres vus dans 20 noyaux et faisons la moyenne de ces nombres. Nous pouvons dresser la liste suivante :

- 5ème jour : 15 granulations
- 6ème " : 13 granulations
- 7ème " : Une dizaine - Plutôt 9 granulations
- 8ème " : 8,4 granulations - 9
- 9ème " : " " "

Parfois (notamment au 6ème jour) le nucléole masqué par des chromocentres, peut apparaître avec une zone centrale grise (donc peu colorable) et une zone périphérique colorée en bleu.

Le Giemsa colore l'acide désoxyribonucléique en rose-

Aspects des noyaux après cinq jours de Jeûne

Nombreuses granulations

Dans d'autres cellules:

15 chromocentres

17 chromocentres

13 chromocentres

Aspects des noyaux après six jours de Jeûne

10 chromocentres

Tractus reliant
le noyau à la
membrane

16 chromo-
centres

Zône plus
colorable du
nucléole

10 chromocentres

Aspects
même
cellule :

maillages du réseau
chromatinique

17 chromocentres

Dans d'autres cell-
lules:

17 chromocentres

13 chromocentres

13 —

Aspects des noyaux après sept jours de Jeûne

Dans d'autres cellules

9 chromocentres	
9	—
8	—
8	—
10	—
13	—
14	—
7	—

10 chromocentres

11 chromocentres

Aspects des noyaux après huit jours de Jeûne

10 chromocentres fins très peu visibles

Nucléole absent

le réseau sibilantique très serré, forme un ensemble de points refringents très nombreux

Dans d'autres cellules

ou compte 11 chromocentres

8 —

8 —

6 —

Aspects des noyaux après neuf jours de Jeûne

Nucléole invisible

8 chromocentres

Le réseau achromatique
n'est en général
pas visible

9 chromocentres

11 chromocentres

Dans d'autres cellules

7 chromocentres

8 —

9 —

6 chromocentres
nucléole non visible

7 chromocentres

violet, l'acide ribonucléique en bleu. Nous avons donc constaté une diminution très nette du nombre des chromocentres, de 15 et peut-être plus (au 1er jour), il tombe à 8 au 9ème jour de jeûne. Cela correspondrait (les expériences antérieures l'ont démontré) à une concentration de l'acide désoxybonucléique et perte de l'acide ribonucléique.

Le chromocentre est formé d'un complexe d'ADN et d'ARN, le premier transmet la constante héréditaire de cellule en cellule. Son taux ne varie pas. Tout ce qui lui est possible de faire, c'est changer de forme mais sa quantité est fixe. Par contre, l'acide ribonucléique peut disparaître et augmenter. Sa quantité est sous la dépendance de l'état physiologique de la cellule.

L'acide thymonucléique préside à la formation de l'acide ribonucléique. En cette phase de lyse de l'acide ribonucléique, le nucléole a sa région centrale (faite surtout d'acide ribonucléique) très peu colorée, tandis que sa région périphérique riche en acide désoxyribonucléique est plus colorable.

Les axes hypocotylés que nous venons de former sont cependant susceptibles de se régénérer : Le phénomène observé pendant le jeûne n'est pas irréversible. Par une nourriture abondante les embryons rendent au cytoplasme sa teneur normale en éléments indispensables à la santé de la cellule. L'équilibre nucléoplasmique, rompu pendant le jeûne par insuffisance de protéines nucléiques se rétablit. Toutes les étapes de ce rétablissement d'équilibre se reflètent dans l'aspect du noyau. Celui-ci essaye de reprendre son nombre primitif de chromocentres. L'acide désoxyribonucléique va pour cela se résoudre en nombreux granules, il augmente ainsi sa surface de contact avec le cytoplasme.

Effet de la solution saccharique après 8 heures :

26 petits chromocentres
punctiformes, très dispersés
Réseau achromatique serré très réfringent

19 ou 20 chromocentres

13 chromocentres

Chaque granulé devient alors le point de départ d'une reconstitution d'acide ribonucléique. L'ensemble de ce granulé d'acide désoxyribonucléique et de l'acide ribonucléique formé à son voisinage, constitue un chromocentre. Ce chromocentre grossit par accumulation d'acide ribonucléique. Ce nucléole également devient plus colorable en son centre par acquisition d'acide ribonucléique et quelquefois par formation de chromocentres à son pourtour.

Cette augmentation de la matière chromatique est observée dans l'expérience suivante :

Entre 2 disques de buvard imbibés de solution saccharique à 5 %, nous plaçons à l'étuve des embryons ayant jeûné 7 jours. (En effet, nous limitons le jeûne à 7 jours, car après 9 jours les embryons sont trop affaiblis pour subir une régénération). Nous faisons des coupes de 2 heures en 2 heures et nous observons une très nette augmentation du nombre des chromocentres. De 9-10 chromocentres pendant le jeûne nous arrivons rapidement vers 10 heures à en obtenir une vingtaine. Cependant ces chromocentres restent petits, punctiformes, également répartis dans l'enchylème^{me} nucléaire. Le nucléole reste de faibles dimensions, plus colorable qu'en temps de jeûne, dans sa partie centrale et on le distingue des autres chromocentres : ce qu'on ne pouvait pas faire pendant le jeûne. A son pourtour (très rarement) peuvent s'accoler des chromocentres, lui donnant un aspect étoilé sur lequel nous donnerons par la suite des précisions.

Cependant, certaines substances (telles que l'acide folique) sont activatrices de la formation protéinique. Elles doivent donc favoriser la régénération. Il faut craindre cependant qu'elles ne fassent tomber la cellule d'un déséquilibre par

insuffisance d'acides nucléiques, dans un autre par excès de ces substances. Par jeu de ces solutions et de leurs antagonistes nous essayerons sur *Pisum sativum*, de voir dans quelles mesures on peut sauvegarder cet équilibre.

Etude de la régénération par la substance n° 1.

- 20 cm³ solution de saccharose à 5 %
- Acide folique 0,1 g (à 0,5 %)
- Pantothénate de Na 1/10 000ème

Au bout de 2 heures de régénération : les noyaux de taille moyenne, sphériques, présentent un contour net, ce qui indique une membrane nucléaire en bon état. Ils sont placés au centre de la cellule, renflés. Les chromocentres, peu nombreux (9 en moyenne) sont plus colorables qu'au stade de jeûne qui vient de finir. Ils présentent des formes irrégulières, masquent un nucléole petit et peu colorable. Le réseau achromatique sur lequel est attachée la chromatine est à mailles lâches, géométriques et très visibles quand on éclaire la préparation latéralement. De nombreux tractus forment un réseau autour du noyau et se perdent dans le cytoplasme qui est optiquement vide.

Après 4 heures de régénération les noyaux s'allongent, prennent des formes elliptiques. Les chromocentres s'allongent également, ont des formes d'haltères, ils sont plus gros que précédemment, groupés autour du nucléole et peuvent s'accoler à celui-ci en se pliant. Le nucléole est large, bien colorable à

sa périphérie.

Au bout de 6 heures : On ne relève pas de changements notables. Toutes les cellules sont pareilles qu'au stade précédent. Seuls, la forme du noyau et l'allongement des chromocentres peuvent varier.

Après 8 heures de régénération cependant, on relève 2 sortes de cellules : les unes uninucléées ont des chromocentres arrondis, semblables à ceux du stade de 6 heures précédant, mais plus nombreux (une quinzaine au moins). Dans d'autres cellules au contraire, on trouve 2 pelotons de chromocentres, ce sont 2 masses où le nucléoplasme est sous forme de filaments réfringents, supportant des chromocentres allongés, disposés aux deux pôles de la cellule, cela ressemble à un aspect amitotique. Cependant les chromocentres se séparent en 2 masses et nous ne pouvons pas dire si elles reçoivent une égale quantité de chromocentres. De plus, le stade d'étranglement du noyau n'a pas été vu. Il faut donc penser que cette division du noyau équivaut seulement à un procédé tendant à donner plus d'espace à toute cette matière protidique, pour rétablir l'équilibre nucléocytoplasmique.

Au bout de 10 heures de régénération : On compte une vingtaine de chromocentres dont la colorabilité a diminué légèrement dans les cellules uninucléées. Dans les cellules binucléées par contre, ils sont moins nombreux.

Après 12 heures de régénération : les cellules uni ou binucléées ont le même aspect que précédemment. La chromatophilie du centre du nucléole a un peu augmenté, depuis le début de l'expérience. La périphérie du nucléole reste davantage colorable.

Effet de la substance I après 2 heures de régénération

10 chromocentres

Effet de la substance I après 4 heures de régénération

Effet de la substance I après 6 heures de régénération

Effet de la substance I après 8 heures de régénération

Noyau se divisait en
formant 2 pelotons de chromosomes allongés

Conclusion sur la régénération par pantothénate, acide folique, saccharose.

Le noyau augmente de taille. L'acide désoxyribonucléique se résoud en grains sans doute plus petits qu'au jeûne mais plus nombreux. Chacun peut alors présider à la confection d'un véritable chromocentre par la formation, l'addition d'acide ribonucléique. En se dispersant l'acide thymonucléique augmente sa surface de contact avec le cytoplasme. Les chromocentres grossissent par gain d'acide ribonucléique, leur colorabilité augmente. Cet excès de protéines nucléiques conduit la cellule à une multiplication (phénomène qui se rencontre quand le rapport nucléoplasmique est déséquilibré). Elle parvient à scinder en 2 masses, son noyau. Cela donne lieu à la formation de cellules binucléées peu nombreuses. Le nucléole ne produit pas de bourgeons ni de granules chromatiques bien caractérisés. Le déséquilibre n'est donc pas très poussé. Cette régénération du noyau est d'ailleurs parallèle à celle du cytoplasme, laquelle se manifeste par des alvéolisations dans ce dernier.

Régénération par la substance nutritive n° 2.

- 20 cm³ de solution saccharique à 5 %.
- Acide folique 0,1 g (à 0,5 %.)
- Acide β indolacétique 1/10 000ème

Après 2 heures de régénération le noyau n'a pas changé par rapport au stade précédent (7ème jour de jeûne glucidique).

De petite taille, sphérique, placé au centre de la cellule. Les chromocentres sont réduits, dispersés uniformément dans tout le nucléoplasme. Leur chromatophilie est faible. Le nucléole ne se différencie pas beaucoup des chromocentres.

Après 4 heures de régénération : Bien souvent le noyau quitte le centre de la cellule pour gagner des points voisins de la membrane cellulosique et nous trouvons 2 aspects différents de ce noyau :

a) ~~Au milieu de la ligne~~, Les uns en bonne santé ont augmenté de taille par rapport au stade précédent, sphériques gonflés (on peut voir l'ombre du noyau projetée sur le cytoplasme en éclairant latéralement la préparation) ; les chromocentres ont des formes irrégulières, anguleuses. On distingue parmi eux de très petits éléments et d'autres qui ont nettement grossi par rapport au stade précédent (en effet, on les voit bien au grossissement 400 contrairement à ceux du stade précédent). Bien colorés. Le nucléole a grossi également, mais c'est une granulation sans aspect nouveau. Il a un aspect étoilé, peu colorable en son centre.

b) D'autres noyaux, au contraire, ont un aspect très particulier : leurs contours sont irréguliers, de grosse taille ; les chromocentres semblent sortir du noyau. Ils se trouvent en effet, hors d'une masse bleu clair, d'aspect plat (ne projetant pas d'ombre éclairés latéralement). Cette masse pourrait être le résidu d'un noyau ayant perdu ses chromocentres. En effet, au niveau de l'échappement des chromocentres, la membrane nucléaire semble déchirée. Le nucléole se retrouve soit dans la masse des chromocentres, soit dans la masse bleu pâle.

Il a grossi.

D'autres cellules encore, ont un noyau sans membrane avec chromocentres allongés placés sur une masse réfringente. Le peloton de courts bâtonnets a déjà été vu lors de l'expérience n° 1. On trouve des cellules binucléées nombreuses.

Après 6 heures de régénération : Dans les cellules binucléées nombreuses, les noyaux nouvellement formés sont caractérisés par une taille faible, une forme arrondie. La chromatine est un peu chromatophile. Le nucléole est petit mais bien colorable. Leur diminution de taille résulte du fait que la chromatine s'y est partagée entre les 2 noyaux.

Les noyaux n'ayant pas subi d'amitose n'ont pas changé de dimensions. Ils sont gros, bien colorables, à chromatine abondante. Le nucléole présente nettement un aspect "étoilé" c'est-à-dire qu'il paraît produire des granulations sur toute sa périphérie. Des chromocentres le masquent, il est plus colorable en son centre que dans l'expérience n° 1.

Après 8 heures de régénération : Les cellules uninucléées ont les mêmes aspects que précédemment. Le nucléole est toujours "étoilé". Des amitoses s'amorcent.

Après 10 heures : On trouve encore des cellules binucléées nombreuses.

Après 12 heures : Mêmes aspects que précédemment, mais il y a de plus en plus de nucléoles à l'état de travail.

Effet de la substance II après 2 heures de régénération

Chromocentres peu visibles au grossissement 400

Effet de la substance II après 4 heures de régénération

Chromocentres bien visibles au grossissement 400

petit nucléole

masse bleu pâle optiquement vide

nucléole

13 chromocentres

Effet de la substance II après 6 heures de régénération

cellule binucléée

Les chromocentres
se distinguent mal
au grossissement 400

Effet de la substance II après 8 heures de régénération

2 pelotons de chromocentres filamenteux

alvéolisation
du cytoplasme

Les chromocentres
sont visibles
au grossissement 400

Effet de la substance II après 10 heures de régénération

Conclusion sur l'effet de la substance n° 2: Acide folique, saccharose, acide β indolacétique.

L'acide β indolacétique conjugué avec l'acide folique conduisent les cellules à un déséquilibre très net. Les nombreuses cellules binucléées relevées le prouvent. Les nucléoles travaillent davantage que dans l'expérience n° 1.

Le Pois sucré "répond" très vite à cette substance. En effet, les aspects anormaux commencent dès 4 heures. Cependant, toutes les cellules ne scindent pas leur noyau et la dégénérescence n'est pas fréquente. Le déséquilibre est donc limité. Le Pois sucré est un matériel résistant.

Régénération par la substance n° 3.

- 20 cm³ de saccharose à 5 %.
- Acide folique (0,1 g.)
- Acide β indolpropionique 1/10 000ème.

Après 2 heures : le noyau, sphérique, a une taille moyenne. Il possède des chromocentres très chromatophiles au nombre de 9 en moyenne, à formes anguleuses et tailles variées. Le nucléole présente l'aspect relevé pour la substance 1 et 2. Il est donc en activité. Le réseau achromatique est fin.

Après 4 heures : les noyaux des cellules binucléées ont augmenté de taille. On y relève un élément chromatique à

l'état de chromocentres allongés, au nombre de (13,14,15) massés autour du nucléole. Celui-ci, plus volumineux, est placé au centre d'une zone plus claire du nucléoplasme. Immédiatement à côté du nucléole, on peut remarquer un globule, masquant parfois

le nucléole. Serait-ce un nucléole surnuméraire ? Il semble bien en effet que ces 2 corpuscules présentent la même chromatophilie à ce stade.

Dans d'autres cellules on relève au contraire, des amitoses dont nous pouvons décrire l'aspect suivant qui semble assez frappant : Le noyau étalé sur presque toute la cellule est relié par de très fins et nombreux tractus à la membrane cellulosique. Les chromocentres ont pris des formes allongées, flexueux, ils sont dirigés dans le sens de plus grande dimension du noyau. Puis d'autres cellules ont un autre aspect. Entre 2 masses de chromocentres à peu près égales, un étranglement se précise. Finalement, les deux masses chromatiques se séparent, s'éloignent l'une de l'autre. La masse résiduelle bleu pâle reste entre elles deux. Nous n'avons pas observé ce que devient cette masse ensuite, si elle se divise. Toujours est-il qu'ensuite nous observons des cellules binucléées. Celles-ci sont rares (par rapport au nombre observé pour la substance précédente). Le nucléole se dédouble également. On en retrouve 2 petits, 1 dans chaque masse.

Après 6 heures : 7 cellules binucléées sont vues. Chaque noyau petit, sphérique, présente des chromocentres en haltères. L'élément chromatique est en général bien fourni, 15 chromocentres en général. Le nucléole bleu pâle, commence à devenir plus colorable et présente toujours sa zone périphérique plus foncée que son centre.

Après 8 heures : Des cellules viennent de subir une "amitose", de fins tractus relie encore un noyau à un amas de chromocentres situé à l'autre pôle de la cellule. Dans les cellules uninucléées, le noyau de grande taille présente environ 19 chromocentres. D'autres cellules encore dégèrent. La colorabilité des chromocentres diminue, les formes des noyaux sont très irrégulières, et il est alors impossible de compter les granulations chromatiques.

Après 10 heures de régénération : les granulations chromatiques s'amointrissent, perdent leur chromatophilie. On en compte une vingtaine dispersés dans le nucléoplasme. Bien souvent le nucléole seul persiste vraiment visible, très colorable et entouré d'un amas de chromocentres punctiformes accolés à sa périphérie. De nombreuses cellules dégèrent et alors il n'est plus possible de réaliser des coupes.

Conclusion sur cette régénération : Saccharose, acides folique et β indolpropionique.

La solution 3 provoque une régénération du cytoplasme. Cette régénération par l'acide folique et β indolpropionique crée un déséquilibre du rapport nucléoplasmique qui conduit à la division du noyau par amitose. La chromatine présente une nette tendance à former des grains allongés groupés autour du nucléole,

État de la substance III après 2 heures de régénération

10-9 chromocentres

8 chromocentres

État de la substance III après 4 heures de régénération

10 chromocentres

Cytoplasme à granulations re-fringentes nombreuses

Zône plus claire dans le nucleoplasme

chromocentres non visibles

14 chromocentres

- Dans d'autres cellules :
- 13 chromocentres
 - 14 ———
 - 15 ———

t de la substance III après 4 heures de régénération

nucleole

masse bleu pâle réfringente

3 phases d'une fragmentation du noyau

Stade 1 : Etirement
Chromocentre allongé

masse pâle réfringente

masse filamenteuse

nucleole

Stade 2 : Etranglement

masse bleu pâle réfringente, optiquement vide

nucleole Stade 3 : Scission

Effet de la substance III après 6 heures de régénération

Cellule binucléée

Cellule uninucléée

Effet de la substance III après 8 heures de régénération

19 chromocentres

Fin de fragmentation du noyau -
le noyau finit de se diviser

Effet de la substance III après 10 heures de régénération

19
chromocentres dispersés

21
chromocentres

aspect du noyau interphasique des méristèmes.

Substance régénératrice n° 4.

- 20 cm³ de saccharose à 5 %.
- Acide folique (0,1 g.)
- Mésoinositol 1/1 000 000ème.

Après 2 heures de régénération : On peut relever 3 aspects des cellules :

a) Les unes ont un noyau sphérique ou ovalaire avec chromocentres punctiformes, gros, peu nombreux (6 ou 7), bien colorés. Le nucléole est bien visible, bien qu'assez pâle.

b) D'autres cellules présentent un noyau en voie de division. Celui-ci présente un amas réduit, entouré d'une membrane, relié par de fins tractus à une masse étalée, à chromocentres allongés, disposés sur la matière nucléaire réfringente. Ces 2 masses n'ont que peu de chromocentres bien colorables il est vrai. C'est une phase d'amitose.

c) Dans d'autres cellules, on voit encore des noyaux très déformés. Ce sont des masses étalées au travers de toute la cellule, presque dépourvues de chromocentres. Il n'y a pas de nucléole apparent. Les chromocentres ne sont pas non plus bien caractérisés, colorés en gris-bleu.

Ce stade montre l'effet toxique du mésoinositol, combiné à l'action amitogène de l'acide folique, et cet effet dépend de l'état physiologique de la cellule.

Les premières conservent leur noyau presque typique.

étuve.

Il est impossible de pratiquer des coupes sur les embryons en toutes les cellules présentent ce dernier aspect. Ultérieurement, ils sont à proximité de celui-ci, mais dans le cytoplasme. Presque filamenteuses. Les chromocentres n'existent pas dans le noyau : peuvent aussi avoir des expansions anormales, globuleuses ou précédemment décrits (type 3 du stade 2 heures). Mais les noyaux toutes les cellules sont dégénérées. Elles présentent les aspects Au bout de 8 heures d'action de la substance : Presque

rare, à noyaux peu colorables et chromocentres fins. 3 cellules à dégénérescence nette. Les cellules binucléées sont rare et trouble, c'est-à-dire moins brillant qu'un noyau sain). bon état. 3 cellules à noyau anormal (à nucléoplasme peu colorables uninucléées du stade 2 heures. La chromatine y est en au hasard, on relève 6 cellules à noyaux identiques à ceux des Après 6 heures de régénération : Sur 12 cellules prises

diminué, est peu colorable. angulaires par exemple). Le nucléole, qui n'a pas beaucoup tent que peu de chromocentres (6 ou 7) à formes anguleuses (tri- autres, uninucléées, les noyaux tous de même taille, ne présentent les cellules binucléées, nous voyons des noyaux petits. Dans les A 4 heures de la régénération, dans de nombreuses Le mésosinistol.

Les troisièmes enfin, sont complètement détruites par noyau se divise sous l'action de l'acide folique. Les secondes résistent au mésosinistol mais leur folique, ou tout au moins très peu de changement. Il n'est pas perturbé ni par le mésosinistol, ni par l'acide

Conclusion sur la régénération par la substance 4.

L'essai de régénération par la substance à base de mésoinositol fait apparaître la toxicité de ce dernier qui enraye l'action amitogène de l'acide folique. Son action toxique est cependant lente car autour de 4 heures de régénération, les noyaux se divisent activement. C'est à partir de 6 heures que le mésoinositol détruit véritablement toutes les cellules. Le Pois sucré résiste donc relativement bien à cette action toxique. Le sucre serait antitoxique (antagoniste du mésoinositol).

Après cette première série d'expériences où les substances ont en commun saccharose et acide folique et diffèrent par un seul corps, nous pensons pouvoir conclure : L'acide indolacétique accompagné d'acide folique, rompt l'équilibre nucléoplasmique. Après 4 heures d'effet, les cellules binucléées sont nombreuses. L'acide β indolpropionique accompagné d'acide folique est moins puissant; les cellules sont moins nombreuses.

Quant au pantothénate, il est encore moins actif.

Avec le mésoinositol, le Pois sucré présente encore des amitoses dès 2 heures de régénération. Or jamais, même avec l'acide indolacétique les amitoses ne commencent avant 4 heures. Par ailleurs, le mésoinositol est toxique puisqu'il conduit à une dégénérescence très marquée à 10 heures. On pourrait donc penser que cette toxicité provient justement de sa trop grande aptitude à rompre l'équilibre du rapport nucléoplasmique. A partir d'un certain seuil, il est destructeur, avant ce taux, peut-être n'est-il qu'accélérateur de la vie cellulaire. Le Pois sucré d'ailleurs résiste assez bien (par rapport à d'autres matériels). Avant 10 heures, la dégénérescence n'est pas complète. Le sucre

et de la substance IV après 2 heures de régénération :

et de la substance IV après 4 heures de régénération

Chromocentres triangulaires

État de la substance IV après 6 heures de régénération

cellule binucléée

État de la substance IV après 8 heures de régénération

masse bleue optiquement vide
Aspects dégénératifs des cellules

expansion nucléaire globuleuse

constituerait donc un élément antitoxique. Toutes ces substances agissent différemment d'une cellule à l'autre. Cela dépend de l'état physiologique de la cellule.

Aucune de ces substances n'influencent vraiment le nucléole. Il y a régénération évidente mais plutôt par la réaction des chromocentres. Le nucléole à travers toutes ces substances ne subit que peu de modifications. Il n'y a pas ou très peu de productions nuclé^{ol}aires (seulement des granules chromatiques qui peuvent venir de lui), mais pas de nucléole surnuméraire (1 seul a été vu). Parmi les aspects étoilés de ce nucléole, nous ne pouvons dire si les chromocentres formés sont rattachés au nucléole par un pédicelle. Nous n'avons pas vu de pédicelle.

Régénération par la substance n° 5.

- 20 cm³ de solution saccharique à 5 %.
- Acide folique à 0,1 g (à 0,5 %.)
- Nitrate de potassium 0,02 g (à 0,1 %.)
- Phosphate monopotassique 0,01 g (à 0,05 %.)
- Pantothénate de sodium 1/10 000ème.

Au bout de 2 heures : Les noyaux, de petite taille ont une forme sphérique, à chromocentres peu colorables, fins, punctiformes. Peu nombreux (une dizaine) et n'occupent pas de place particulière vis-à-vis du nucléole. En somme l'aspect est peu différent de celui du jeûne qui vient de finir. Le nucléole

grand, est pâle. A sa périphérie s'accroissent des grains chromatiques extérieurement ~~est~~ intérieurement. Cet aspect a déjà été vu dans les dernières expériences. Ici, il est mieux caractérisé.

Au stade 4 heures : On ne relève pas de cellules binucléées. Les noyaux s'allongent, prennent un aspect elliptique, les chromocentres s'allongent, prennent des formes d'haltères, se rapprochent du nucléole. Le nucléole est pâle, large, étoilé.

Après 6 heures de régénération : Nous ne remarquons aucune cellule binucléée. L'aspect a, en réalité, peu changé depuis le stade précédent. Dans certaines cellules cependant, des nucléoles surnuméraires apparaissent (2 ou 3). Ce sont surtout des grains arrondis, de même colorabilité que le nucléole et disposés très près de celui-ci. Tout autour, on trouve les chromocentres. La périphérie du nucléole normal est mieux marquée cependant que celle des autres nucléoles.

Après 8 heures : La taille des noyaux peut être irrégulière (volumineux ou très petits). Les chromocentres deviennent de plus en plus nombreux. Les cellules binucléées sont peu nombreuses (nous en avons vu 3), mais quelquefois le noyau présente une invagination qui progresse. Le nucléole reste grand, à périphérie plus colorable.

Nous relevons encore 2 cellules binucléées. Elles ont une chromatine bien colorable, à l'état de chromocentres qui s'arrondissent. Le réseau paraît se resserrer et les chromocentres se répartir également dans l'enhyalème nucléaire. Mais alors à ce stade apparaît un nouvel aspect du nucléole. Il est d'ailleurs plus visible sous cet aspect dans les expériences 6 et 7. C'est pourquoi nous n'insisterons pas trop maintenant. D'ailleurs,

Effet de la substance V après 2 heures de régénération

Effet de la substance V après 4 heures de régénération

Effet de la substance V après 6 heures de régénération

Effet de la substance V après 8 heures de régénération :

Effet de la substance V après 10 heures de régénération

Cellule binucléée -

autour de ce halo clair, nous ne distinguons pas de granulations foncées.

Après 12 heures : Quelques nucléoles ont ce dernier aspect. La chromatophilie générale diminue.

Pour le moment, nous ne tirerons pas de conclusion sur la solution 5 : En effet à première vue, nos résultats semblent incompatibles. Le travail du nucléole, l'apparition de nucléoles surnuméraires s'opposent à la rareté des amitoses. Le noyau d'ailleurs semble typiquement quiescent avec ses chromocentres régulièrement disposés, bien colorables et arrondis, au nombre de 15 ou 17.

Régénération par la solution n° 5.

- 20 cm³ de solution saccharique à 5 %.
- Acide folique 0,1 g (à 0,5 %.)
- No K 0,02 g (à 0,1 %.)
- PO H NA 0,01 g (à 0,05 %.)
- Acide β indolacétique 1/10 000ème.

Au bout de 2 heures de régénération : Les noyaux de grande taille présentent un réseau achromatique lâche. Les noyaux ont des formes très variées : triangulaires, quadrangulaires, elliptiques en général allongées. Les chromocentres semblent bien visibles, allongés, très colorables, de grande taille. On en trouve 10 en moyenne. Le nucléole est large, pâle. Quelquefois,

on en trouve 2 ou 3.

Après 4 heures de régénération : Le réseau est de plus en plus lâche (c'est un des cas où il se voit le mieux), avec des mailles géométriques. Les chromocentres, massés autour du nucléole sont toujours volumineux à formes allongées. Le nucléole a un aspect particulier. Autour d'une granulation arrondie très colorée, une auréole blanche présente à sa périphérie des groupes de chromocentres. Des chromocentres pourraient provenir du travail de ce nucléole car leur nombre augmente. A ce stade nous en comptons 15 - 16. Des nucléoles surnuméraires peuvent exister aussi. Très fréquemment nous voyons le nucléole ci-dessous? Nous

ne pouvons pas dire si les chromocentres sont rattachés au nucléole par un pédicelle.

Après 6 heures de régénération : On trouve des cellules binucléées moins nombreuses que dans l'expérience 2 (c'est-à-dire avec la solution 6 sans les nitrates et phosphates). Les noyaux y sont arrondis et se sont partagés 17 chromocentres en moyenne. D'autres cellules restent uninucléées avec 13 chromocentres. Dans ces noyaux de grande taille, le nucléole présente toujours l'aspect décrit ci-dessus.

Après 8 heures de régénération : De nouvelles cellules binucléées s'observent. La chromatine est extrêmement colorable. Les noyaux elliptiques peuvent avoir des nucléoles surnuméraires. Ce qui frappe dans l'aspect de ces noyaux, c'est la colorabilité des chromocentres. Jamais encore la chromatine n'est apparue

avec autant de colorabilité.

Après 10 heures : Dans une caryolymphe très colorable, les chromocentres sont peu visibles. Ils sont groupés autour du nucléole présentant toujours son halo clair. Dans d'autres cellules, il peut avoir un aspect irrégulier par accollement de chromocentres à sa surface. Très colorable en son centre il a une périphérie encore plus colorable. Jamais depuis le commencement

des expériences, il n'a eu cette extrême colorabilité (en bleu violet). Il peut également bourgeonner et on retrouve des nucléoles surnuméraires (2 ou 3).

Le réseau achromatique est très lâche à mailles géométriques très nettes. Le noyau de grande taille peut en outre bourgeonner prenant ainsi une forme irrégulière. Les chromocentres ont augmenté en nombre (on en compte 13 ou une quinzaine dans les cellules où ils sont les mieux visibles).

Conclusions sur la régénération par solution n° 6 : saccharose, acides folique et β indolacétique, sels potassiques.

Cette régénération conduit à la formation de cellules binucléées moins nombreuses qu'en l'absence des sels potassiques. Ce qui prouve la présence parmi ces 2 sels d'un antagoniste de l'acide folique. Les chromocentres se groupent autour du nucléole, s'allongent donnant ainsi un aspect interphasique à ces noyaux. Le nucléole très colorable, très grand, auréolé, étoilé, montre qu'il fabrique activement de l'acide ribonucléique. Finalement,

Effet de la substance VI après 2 heures de régénération

12 chromocentres
allongés
dans un noyau
très allongé -

11 chromocentres
noyau allongé
au travers de la cellule

d'autres cellules
13 chromocentres
12 —

nucleoles

11 chromocentres

Effet de la substance VI après 4 heures de régénération

16 chromocentres

16 chromocentres

15 ou
13 chromocentres

14 chromocentres

Dans d'autres cellules : 12 chromocentres
13 —

4 de la substance VI après 6 heures de régénération

13 chromocentres

Cellule uninucléée

4 de la substance VI après 8 heures de régénération

17 chromocentres

13 chromocentres

14-15 chromocentres

de la substance VI après 10 heures de régénération

BU
LILLE

le nombre des chromocentres s'élève à 17% Les noyaux formés dans cette régénération ont donc une matière chromatique stabilisée par rapport aux expériences 1, 2, 3, 4, mais le déséquilibre nucléocytoplasmique se manifeste cependant par la production d'amitoses. Le réseau achromatique prend d'autre part une netteté qu'on observe rarement en d'autres cas.

Régénération par la solution n° 7.

- 20 cm³ de solution saccharique à 5 %.
- Acide folique 0,1 g (à 0,5 %.)
- Nitrate de Potassium 0,02 g (à 0,1 %.)
- Phosphate monopotassique (à 0,05 %.)
- Acide β indolpropionique à 1/10 000ème.

Cette substance ne différant de la substance 3 que par l'addition de nitrate et phosphate potassiques, nous pouvons déduire de ces 2 sels :

Après 2 heures de régénération : Nous distinguons une dizaine de chromocentres bien colorés, dans des noyaux de taille moyenne. Ils sont fins, bien colorables, de formes irrégulières. Le cytoplasme de la cellule ne présente pas d'alvéolisation.

Après 4 heures de régénération : On note une tendance à l'allongement des chromocentres et du noyau tandis que de rares noyaux se scindent en 2 globules . 13 chromocentres environ se

répartissent alors entre les 2 masses. Dans tous les autres noyaux la forme est alors sphérique. Les chromocentres sont au nombre de 12. Il peut exister 2 nucléoles, mais plus souvent un seul, présente un aspect auréolé. On en trouve de très beaux exemples.

Après 6 heures de régénération : Toujours certains noyaux ont des formes allongées. L'aspect ne diffère pas de celui du stade précédent. Mais les chromocentres sont légèrement plus nombreux (13 en moyenne). Nous avons vu une cellule binucléée.

Après 8 heures : Le noyau a encore augmenté de taille, il est sphérique, très chromatophile. Les chromocentres sont très sains d'aspect, une quinzaine environ. Le nucléole large peut s'être dédoublé, ou présenter l'aspect précédent mais il reste moins colorable généralement que dans l'expérience n° 6.

Certains noyaux présentent de nombreuses expressions granulaires sur le pourtour. Le réseau achromatique a de larges mailles.

Après 10 ou 12 heures d'effet : La chromatophilie diminue.

Conclusion sur la régénération par la substance n° 7 : Saccharose, acide folique, acide β indolpropionique, sels potassiques.

Cette expérience montre une régénération où la cellule conserve son équilibre mieux que dans l'absence des sels potassiques. On n'a décelé ici qu'une seule cellule binucléée (après 6 heures de régénération). Il faut donc que les sels potassiques constituent un apport antagoniste de l'acide folique et l'acide β indolpropionique. Le déséquilibre s'est cependant manifesté par l'allongement des noyaux et des chromocentres et le groupement

et de la substance VIII après 2 heures de régénération

16 chromocentres

17 chromocentres

Dans d'autres cellules
16 chromocentres
17 ———

et de la substance VII après 4 heures de régénération

Nucléole
non visible.

14
Chromocentres

Cellule prête à se binucléer

Dans d'autres cellules:
on compte

- 14 chromocentres
- 8 ———
- 11 ———
- 10 ———

12 chromocentres

Et de la substance VII après 6 heures de régénération

Une trentaine de petits chromocentres punctiformes
Noyau sphérique

Dans d'autres cellules :

12 chromocentres

12 ———

14 ———

19 chromocentres

14 chromocentres

Cellule binucléée

14 chromocentres

12 chromocentres

+ de la substance VII. après 8 heures de régénération

13 chromocentres
gros nucléole
Réseau à mailles lâches

Nucléole à aspect étoilé
Chromocentres non visibles
expansions nucléaires

15 chromocentres

10 chromocentres

16 chromocentres

20 chromocentres

de ces derniers autour du nucléole. Ces aspects rapprochent ces noyaux quiescents des noyaux méristématiques qui ne reviennent jamais au stade réellement quiescents, mais gardent toujours des aspects de préparation à la mitose. Cette expérience est également intéressante par ses figures nucléolaires. En effet le nucléole apparaît soit avec un aspect étoilé, entouré de nombreux chromocentres nouvellement formés par le nucléole, soit entouré de nombreux chromocentres, soit entouré d'une auréole claire, non colorée avec de nombreux chromocentres disposés à la périphérie de celle-ci. Dans cette expérience ces aspects sont les plus nets. De plus, on peut conclure que l'acide β indolpropionique est moins puissant que l'acide β indolacétique parce que la production de cellules binucléées est moindre. Cela avait été déjà vu dans la première série d'expériences.

Régénération par la substance n° 8.

- 20 cm³ de saccharose à 5 %.
- Acide folique 0,1 g.
- Mésoinositol à 1/1 000 000ème.
- Nitrate de potassium : 0,02 g.
- Phosphate de potassium : 0,01 g.

Après 2 heures : On trouve des noyaux de grosse taille à formes irrégulières souvent déchiquetées. Nous comptons dès ce stade de nombreux chromocentres. 12 au moins, souvent plus gros,

renflés, globuleux, bien colorables. Certaines cellules ont 2 petits nucléoles ou bien un très large n'ayant pas d'auréole blanche. D'autres cellules ont un noyau amoéboïde. D'autres noyaux encore sont très réduits.

Après 4 heures : Les noyaux ont augmenté de taille, le réseau s'est beaucoup élargi. Les mailles sont très nettes et géométriques. Les chromocentres qui y sont attachés sont bien visibles, gros, groupés autour du nucléole qui a un aspect normal, toujours 12 chromocentres. On note une légère alvéolisation du cytoplasme autour du noyau.

Après 6 heures d'effet de la substance : Certains noyaux, allongés présentent des formes amoéboïdes à nombreux tractus et expansions globuleuses, grands, placés au centre des cellules. Les chromocentres, gros, bien colorés sont nettement groupés autour du nucléole. Celui-ci a acquis un aspect auréolé, mais a une forme irrégulière avec expansions globuleuses ci-dessous.

La substance a donc agi fortement sur le nucléole. On relève une quinzaine de chromocentres.

Après 8 heures, la chromatophilie diminue, le nucléole est peu visible. Les chromocentres sont peu visibles également. La caryolymphe est très pâle. Les noyaux ont des formes irrégulières qui indiquent la dégénérescence.

Après 10 heures : il n'est plus possible de faire de coupes dans les embryons restés à l'étuve. La dégénérescence est complète.

4 de la substance VIII après 2 heures de régénération

Noyau à forme
amoéboïde

11 chromocentres

16 chromocentres

Noyau très petit
rouge violacé

11 chromocentres

20 chromocentres

18 chromocentres

Dans d'autres cellules on trouve - 12 chromocentres
- 18 chromocentres

Effet de la substance VIII après 4 heures de régénération

Réseau très nettement dessiné

Dans d'autres cellules

13 chromocentres

12 ———

11 ———

bord déchiqueté et peu visible

Noyau large

10 chromocentres

mailles lâches

10 chromocentres

membrane déchirée à certains endroits

nucleoles surnuméraires

12 chromocentres

alvéolisation du cytoplasme

de la substance VIII après 6 heures de régénération

15 chromocentres

13 chromocentres

11 chromocentres

8 chromocentres

expansion nucléaire globuleuse

et de la substance VIII après 8 heures de régénération

chromocentres non
visibles

Chromocentres très fins
et très dispersés

Conclusions sur cette deuxième série d'expériences (5-6-7-8).

Dans ces 4 dernières expériences, nous avons observé de très nettes modifications du nucléole. Il a présenté une auréole incolore avec chromocentres punctiformes accolés à la périphérie de cette auréole, et cet aspect précédait d'ailleurs souvent des phases de très grande colorabilité du nucléole (violet). Cela doit faire penser à une augmentation en richesse de ses constituants acides ribo et désoxyribonucléique. D'autre part il grossit atteignant 7 fois le volume qu'il a au jeûne. Il élabore donc des substances qui l'enrichissent et vont même grossir la masse des granulations chromatiques. En outre, on note des nucléoles surnuméraires. Il y a donc là, activité du nucléole.

Cependant, dans les expériences 5-6-7-8 un fait paraît en contradiction avec cet aspect du nucléole, c'est la rareté des amitoses. Alors il faut penser que dans les 2 éléments apportés dans ces substances et qui ne se trouvent pas dans les 4 premières substances, il existe un stabilisateur, et un activateur du nucléole (puisque l'activité de ce dernier est apparente). B. Gilbin a montré que cet élément stabilisateur est le phosphate de potassium. Le nitrate agit donc sur le nucléole en lui donnant ses aspects particuliers. Or le nombre de chromocentres est toujours en fin d'expérience compris entre 15 et 20. Puisque dans ces expériences le nucléole produit des nucléoprotéines, il faut donc que le phosphate agisse sur les chromocentres. Il stabilise les chromocentres, ceux qui ne proviennent pas du nucléole. En présence de phosphate l'acide désoxyribonucléique se disperse moins qu'en son absence, il n'aurait pas (ou moins) tendance à multiplier ses granulations.

On peut conclure également que les sels potassiques sont indispensables à une régénération rationnelle de la cellule. Nous avons peut-être là déjà un aspect de la division du travail qui veut que chaque élément du noyau prenne part à la régénération nucléole et chromocentres. On peut résumer ainsi cette action :

Le mésoinositol voit sa toxicité également diminuée par le mélange phosphate nitrate. Cela pourrait s'accorder avec les résultats de la première série suivant lesquels, avant d'être destructeur, le mésoinositol peut avoir un effet toxique sur les cellules.

Quoiqu'il en soit, nous constatons que la cellule est mieux régénérée dans cette série que dans la première. Les noyaux quiescents se sont formés grâce à une nutrition équilibrée. En effet, dans la première série, ils pouvaient surtout disposer de

carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Dans la seconde série, en plus de ces derniers éléments, l'azote et le phosphore. Les noyaux quiescents et bien régénérés sont d'ailleurs le résultat parallèle à une régénération du cytoplasme, laquelle s'est manifestée par l'alvéolisation de ce cytoplasme.

Régénération par la solution A.

- 20 cm³ de solution saccharique à 5 %.
- Acide folique 0,1 g (à 0,05 %.)

Après 2 heures de régénération : Les noyaux, de tailles moyennes, sphériques, présentent un réseau achromatique lâche. (20 mailles du réseau occupent la moitié de la surface du noyau). Les chromocentres, au nombre de 9 sont également répartis dans l'enchylème nucléaire sans s'approcher spécialement du nucléole. Ce dernier est petit, punctiforme, il ressemble beaucoup à celui du 7ème jour de jeûne. La régénération n'est donc pas très avancée.

Après 4 heures : Certains noyaux poussent des prolongements globuleux. D'autres s'allongent. Les chromocentres aussi s'allongent, se groupent souvent autour d'un nucléole qui a légèrement grossi. En moyenne, on compte 12 chromocentres. Ici le noyau ressemble à ces noyaux interphasiques, qui près de commencer une mitose, ont des chromocentres allongés et groupés autour du nucléole, stade qui a été dénommé : proprophase. Le réseau achromatique est à ce stade très bien visible. Les mailles lâches sont

géométriques. On relève quelques cellules binucléées. (3-4).

Après 6 heures : Le nombre des chromocentres est encore de 12 environ. Bien colorables, ils sont allongés, de même les noyaux sont à formes allongées.

Après 8 heures : On compte encore environ 13 chromocentres. Certains noyaux en ont 16. Le cytoplasme commence donc à bien se régénérer, ce qui se manifeste par une coloration plus grande du cytoplasme avec apparition de zones plus foncées, granuleuses.

Après 10 heures : Nous voyons plusieurs cellules binucléées. Le nombre de chromocentres est voisin de 22. Les chromocentres sont donc très abondants dans les cellules bi et uninucléées. Un seul nucléole est apparu à ce stade, bien colorable, large, à forme étoilée. Le nucléoplasme autour de lui est légèrement plus clair. A ce stade beaucoup de noyaux perdent de leur chromatophilie et sont presque tous arrondis.

Au stade 12 heures : Les embryons étant en mauvais état, nous ne faisons pas de coupes. C'est une dégénérescence complète.

Conclusions sur la régénération par la substance A : saccharose, acide folique seul.

Cette substance montre l'action de l'acide folique. Il agit sur les cellules après 4 heures. A ce stade, on trouve des cellules binucléées. Cela indique que le cytoplasme étant régénéré, le noyau reconstitue ses acides et ensuite ses protéines. Cette active formation de nucléoprotéïdes conduit la cellule au déséquilibre nucléoplasmique se traduisant par une division du noyau par un mode rudimentaire : L' amitose. Cependant, chez le Pois sucré, les cellules binucléées, rapidement formées ne sont

let de la substance A après 2 heures

11 chromocentres

10 chromocentres

10 chromocentres

Dans d'autres cellules

8, 12, 12, 9, 8, 11, 6 - 12, 7, 11, 9 chromocentres

let de la substance A après 4 heures

Dans d'autres cellules

12 chromocentres

- 15 -
- 12 -
- 9 -
- 13 -
- 11 -
- 15 -

Cellule binucléée

de la substance A après 6 heures

13 chromocentres

10 chromocentres

Dans d'autres cellules
 - 11 chromocentres
 - 8 —

Le réseau est plus fin
 Les alvéoles recouvrent
 1/3 de la surface du
 noyau

de la substance A après 7 heures

9 chromocentres

13 chromocentres

17 chromocentres

Cellule binucléée

Effet de la substance A après 10 heures

On relève 3 cellules binucléées

17 chromocentres

expansion
nucléaire

19 chromocentres
partagés entre les
2 noyaux

Dans une autre cellule
15 chromocentre

22 chromocentres

Dans d'autres noyaux
21 chromocentres
23 —
22 —
19 —

jamais très abondantes. (Cette action dépend de l'état physiologique de la cellule). En outre, les chromocentres augmentant en nombre et cette hausse ne semble limitée que par la dégénérescence. On compte plus d'une vingtaine de chromocentres, larges, bien colorables. Par contre le nucléole n'a pas été affecté par l'acide folique. Il ne revêt pas d'aspect particulier. Il augmente simplement sa colorabilité. On note de rares aspects étoilés au stade 10 heures (

Donc l'acide folique (amenant le noyau à posséder un grand nombre de chromocentres) agit surtout sur les chromocentres et très peu sur le nucléole. L'acide folique semble également élargir les mailles du réseau achromatique qui devient bien visible

Régénération par la substance B.

- 20 cm³ de solution de saccharose à 5 %.
- Acide folique 0,1 g (à 0,05 %)
- # Nitrate de potassium 2 cg.
- Phosphate monopotassique 1 CG.

Après 2 heures : Dans des noyaux de taille moyenne, sphériques, relativement peu colorables, on trouve une douzaine de chromocentres ce qui prouve que la solution a déjà mieux régénéré le cytoplasme, et par là, le noyau des cellules que dans l'expérience précédente (où on n'en trouvait que 9 en moyenne). Ils sont également répartis dans l'enchylème nucléaire, sphériques

plus gros que dans le jeûne. Le nucléole est grand avec périphérie plus colorable. Parfois on remarque des aspects étoilés peu nombreux.

Après 4 heures de régénération : Les noyaux ont augmenté de taille. Ils sont vraiment très grands dans certaines cellules. Certains noyaux bourgeonnent, s'allongent, produisent des prolongements filiformes. Ils peuvent prendre des formes irrégulières, et se plaquer contre la membrane cellulosique. Les chromocentres sont au nombre de 14 en moyenne, mais la chromatine est relativement peu colorable. Ils ont des formes irrégulières, mais larges. Quant au nucléole, (on peut en trouver plusieurs). Autour de lui se groupent des chromocentres. Il peut présenter un aspect d'activité.

Après 6 heures : Le noyau a grossi. Il occupe un très grand volume par rapport à la cellule. Il présente de nombreuses expansions filamenteuses et bourgeonne. Il peut avoir jusqu'à 24 chromocentres, gros, anguleux, très colorables, groupés autour du nucléole. Ce nucléole est large. Il présente un halo clair avec chromocentres de nouvelle formation.

Après 8 heures : La dégénérescence commence dans certaines cellules. Là, le noyau extrêmement réduit, présente un petit nombre de chromocentres arrondis. Dans d'autres, les noyaux, de taille moyenne ou grande, ont des formes très irrégulières souvent géométriques allongés. La membrane disparaît, le nucléole peu visible apparaît gris-pâle, distendu. De nombreuses expansions relient le noyau au cytoplasme. Les chromocentres y sont au nombre de 9-10. Dans les noyaux non dégénérés, on compte encore 13 à 15 chromocentres épais et allongés.

Effet de la Substance B après 2 heures de régénération

8 chromocentres

12 chromocentres
 dans d'autres cellules:
 9-10-13
 11-13-17
 15-12 chromocentres

nucloles
 surnuméraires
 Nucleole large

11 chromocentres

Effet de la Substance B après 4 heures de régénération

Nucloles
 surnuméraires

expansion
 globuleuse

Chromatine peu colorable

Effet de la substance B après six heures de régénération.

20 chromocentres

expansion
filamenteuse

19 chromocentres

24 chromocentres

Alvéolisation
du cytoplasme

15 chromocentres

Effet de la substance B après huit heures de régénération.

15 chromocentres

Noyau dégénéré
à forme anormale
quadrangulaire

les chromocentres
ne sont pas visibles

Nucléo-
plasma
optiquement vide

Après 10 heures et 12 heures : La dégénérescence est complète. Les coupes sont impossible à réaliser.

Conclusion sur la régénération par la substance B : Acide folique, sels potassiques, saccharose.

La substance B ne diffère de la précédente que par l'addition de sels potassiques à l'acide folique. On constate aussitôt une action sur le nucléole qui devient producteur de chromocentres. On note des nucléoles surnuméraires.

Après 2 heures : Le cytoplasme est déjà mieux régénéré qu'avec l'acide folique seul. On trouve déjà 12 chromocentres alors que précédemment on en comptait une dizaine (souvent moins). Le nombre des chromocentres va ensuite monter rapidement, plus rapidement qu'avec l'acide folique seul. Il peut atteindre 26 après 6 heures. Corrélativement, le nucléole revêt des aspects étoilés, auréolés qui révèlent son activité. Par la suite, au contraire, le nombre des chromocentres retombe progressivement à 16 et même 13. On peut penser que cette baisse est une conséquence du rôle régulateur du phosphate monopotassique. Il contre-carre l'action de l'acide folique et finalement vers 10 heures, le nombre des chromocentres se stabilise entre 16 et 13, et nous ne décelons pas de cellules binucléées malgré un bourgeonnement et un allongement du noyau vers 2 heures d'effet. L'action du phosphate est également plus lente que celle de l'acide folique (qui détermine vers 6 heures une production exubérante de chromocentres.).

Régénération par la substance C.

- 20 cm³ de saccharose à 5 %.
- Nitrate de Potassium 0,02 g.
- Phosphate de Potassium 0,01 g.
- Acide β indolacétique 1/10 000ème.

Après 2 heures de régénération : Au bout de 2 heures d'effet de la solution, les noyaux présentent des formes irrégulières. Les chromocentres sont en nombre voisin de 10, peu colorables. Le nucléole est au contraire volumineux, colorable en violet. Il n'y a rien de particulier à dire pour ce stade. On ne voit pas de cellules binucléées.

Après 4 heures : Les noyaux ont grossi. Ils présentent des formes sphériques et un nombre voisin de 12 chromocentres de formes allongées disposés autour du nucléole, et sur les tractus qui entourent le noyau. La forme du noyau est elle aussi allongée. Il peut présenter des expansions globuleuses. Le nucléole peut être très colorable, entouré de chromocentres qu'il a sans doute formés. Ils peuvent être 2 avec cet aspect, dans un même noyau. En général, les noyaux ressemblent à des noyaux interphasiques, par leurs chromocentres allongés et massés autour du nucléole.

Après 6 heures de régénération : Le noyau très allongé est relié par de nombreux tractus au cytoplasme. On compte 12-13 chromocentres punctiformes en moyenne. Il est rare que certains noyaux en aient 20 environ. Le réseau achromatique est lâche, bien visible. Le nucléole est encore auréolé. La chromatine est très bien colorable. Il semble que la régénération soit à peu près parfaite.

Dans le stade 8 heures : Le nucléole persiste bien visible avec son auréole. Les chromocentres sont toujours au nombre de 13 (15 au plus). Certains noyaux se scindent en 2 parties. Ce sont là les débuts d'amitoses.

Conclusions sur la régénération par la substance C : sels potassiques, acide β indolacétique.

L'acide β indolacétique, en l'absence d'acide folique, réalise une multiplication plus ordonnée des chromocentres. On n'a pas constaté de grand débordement de chromatine (par exemple 26 chromocentres). Les granulations chromatiques, ici au nombre de 13 en moyenne, constamment allongées, groupées autour du nucléole, donnent un aspect interphasique aux noyaux. Les noyaux à formes allongées (en général), ne se divisent pourtant jamais (en tous cas, nous n'avons pas relevé de cellules binucléées). Le nucléole produit activement des chromocentres sous l'action du nitrate. On voit divers aspects de ce nucléole, étoilé, même parfois 2 nucléoles dans un même noyau. En comparant le nombre de chromocentres obtenus à celui que présente le noyau, vers le 5ème jour de jeûne, on voit qu'il est à peu près le même.

Nous aurions donc formé des noyaux à chromatine relativement stable (moins menacée par l'amitose). Ils ont de grandes ressemblances avec les noyaux méristématiques, mais ne se divisent pas. L'acide β indolacétique serait donc antagoniste de l'acide folique par le fait qu'il limite le nombre des chromocentres. Dans cette expérience, le réseau achromatique a également des mailles allongées.

substance C. Après 4 heures d'effet, aspect des noyaux

15 chromocentres

9 chromocentres

14 chromocentres

15 chromocentres

et de la substance C après 6 heures de régénération

nucleole déformé

12 chromocentres

tractus

12 chromocentres

21 chromocentres

Dans d'autres cellules
11 chromocentres
10 —

État de la substance C après 8 heures de régénération

Noyau se scindant en 2 parties

Aspects dégénératifs du noyau

Régénération par la substance D

- 20 cm³ saccharose à 5 %.
- Acide folique, 0,1 g à 0,5 %.
- Acide β indolacétique 1/10 000 ème.
- Nitrate de Potassium, 0,02 g à 0,1 %.
- Phosphate de Potassium, 0,01 g à 0,05 %.

Cette substance a la même composition que la substance n° 6.

L'aspect du noyau dans cette dernière expérience montre que l'action conjuguée de l'acide folique et de l'acide β indolacétique conduit à une plus grande stabilisation qu'en présence de l'acide folique seul, mais cette substance D stabilise cependant moins l'équilibre que dans le cas de la solution C (avec l'acide β indolacétique seul).

Les noyaux revêtent cependant des aspects interphasiques. On ne relève que très peu de cellules binucléées. La cellule est donc près d'atteindre son équilibre.

L'action de cette substance se traduit donc par des résultats suivants :

- Le nitrate de potasse agirait sur le nucléole. Il en résulterait une production de chromocentres.
- L'acide folique multiplierait les chromocentres d'une manière désordonnée. Cette augmentation ne cesse qu'avec la dégénérescence.
- L'acide β indolacétique multiplierait les chromocentres en limitant leur nombre. Cette hausse du nombre des

granulations est donc plus rationnelle et n'atteint pas le nombre atteint avec l'acide folique seul.

Le phosphate tendrait alors à empêcher l'action de l'acide folique en agissant sur les chromocentres. Finalement, la cellule se rapproche de l'équilibre nucléoplasmique. C'est donc une régénération rendue rationnelle par l'acide β indolacétique et activée par l'acide folique.

L'aspect du noyau dans cette dernière expérience montre que l'action conjuguée de l'acide folique et de l'acide β indolacétique conduit à une plus grande stabilisation du nombre des chromocentres qu'en présence de l'acide folique seul. Cependant, ce nombre reflète un noyau encore moins équilibré qu'en acide β indolacétique seul. Les noyaux revêtent des aspects interphasiques. Peu de cellules binucléées sont relevées. La cellule s'approche d'un équilibre nucléocytoplasmique.

On peut penser :

- Le nitrate agirait sur le nucléole, il en résulterait une production de chromocentres.

- L'acide folique multiplierait les chromocentres d'une façon désordonnée. Cette augmentation ne cesse qu'avec la dégénérescence (dans nos expériences).

- L'acide β indolacétique multiplierait les granules chromatiques en limitant leur nombre cependant. Cette hausse est plus rationnelle qu'avec l'acide folique seul.

- Le phosphate tend à empêcher l'action de l'acide folique par son action sur les chromocentres. Finalement, c'est une régénération rendue rationnelle par l'acide β indolacétique et activée par l'acide folique.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

En résumé, ces expériences ont montré que le noyau quiescent de *Pisum sativum* (variété sucrée) est sous la dépendance de la nutrition. Les glucides, en particulier, influent sur la taille du noyau, sa colorabilité. Cette colorabilité est en réalité celle des granulations chromatiques. Elles sont susceptibles dans le noyau quiescent, de varier de nombre, de taille, de forme et de disposition vis-à-vis du nucléole. Les travées du réseau achromatique peuvent également s'élargir ou se resserrer suivant les conditions de nutrition.

Pendant le jeûne, la cellule détruit l'acide ribonucléique de son noyau et amoindrit ainsi la taille de ses chromocentres. Corrélativement, l'acide désoxyribonucléique qui ne préside pas à la formation d'acide ribonucléique diminue le nombre de ses granules et par là même, ses contacts avec le nucléoplasme. Cette diminution du nombre des grains d'acide désoxyribonucléique, parallèlement à une lyse de l'acide ribonucléique conduit à un amoindrissement général de l'élément chromatique dans le noyau qui perd de sa colorabilité. Les chromocentres au nombre de 8-9, sont petits, punctiformes et également répartis dans l'enchylème nucléaire. Ils n'occupent pas de position particulière vis-à-vis du nucléole. Celui-ci n'a pas d'aspect particulier, mais il peut disparaître quand le jeûne est prolongé au maximum. Les mailles du réseau achromatique semblent alors se resserrer.

Si nous effectuons maintenant la régénération par glucose seul (à 5 %), nous assistons alors au phénomène inverse de celui observé pendant le jeûne. Les granulations vont augmenter

légèrement en masse et vont atteindre un nombre voisin de 14. L'acide désoxyribonucléique s'est condensé en grains très fins, plus nombreux, augmentant ainsi sa surface de contact avec le nucléoplasme. Il préside à la formation de l'acide ribonucléique qui augmente le volume des chromocentres. D'une façon générale, l'élément chromatique du noyau s'enrichit. Le nucléole cependant, n'a pas d'aspect d'activité et l'augmentation de la masse des chromocentres est due seulement à ces chromocentres eux-mêmes.

L'addition de certaines substances augmente la productivité en acide nucléique par les chromocentres. L'acide folique par exemple, conduit le noyau à posséder jusqu'à 26 chromocentres épais, bien fournis, allongés. On remarque que cette activité protéinogène coïncide avec un élargissement de mailles du réseau achromatique. Cependant, il y a excès de protéines nucléiques et la cellule va devoir rétablir son équilibre nucléoplasmique. Ce seul moyen pour cela est ce se diviser, écoulant ainsi son excès d'acides nucléiques. En réalité, elle n'arrive qu'à diviser son noyau que par un procédé très rudimentaire de fragmentation. Cependant, les chromocentres s'allongent ainsi que la forme générale du noyau. L'aspect du noyau et de ses chromocentres fait alors penser à l'organisation d'un noyau méristématique près de se diviser. On a qualifié cet aspect de stade pré-prophasique. Le nucléole pendant cette régénération présente un aspect d'activité. Il est étoilé par accolement à sa périphérie de chromocentres qu'il vient de former lui-même. Cet aspect est rare. Cette régénération du noyau est parallèle à celle du cytoplasme de la cellule. La première est une conséquence de la seconde, qui se manifeste par des alvéolisations dans le cytoplasme.

L'acide indolacétique ajouté au saccharose à 5 %, augment lui aussi le nombre des chromocentres, et leur taille mais d'une manière moins désordonnée que l'acide folique. Il semble limiter leur nombre à 17 environ et leur donne des aspects nettement méristématiques. C'est lorsqu'il agit seul qu'on trouve les meilleurs aspects prophasiques.

L'acide β ^{prophasique} indolacétique agit de même mais son action est moins puissante.

Dans toutes les expériences précédentes, le nucléole a une activité ralentie par rapport à celle qu'il a quand les éléments nutritifs contiennent des sels potassiques. Sous l'action du nitrate il grossit. A la périphérie, des chromocentres sont accolés. Ils semblent s'être formés aux dépens du nucléole. Le nombre des granulations augmenteront donc par cette fonction du nucléole. Cependant, en présence de sels potassiques, même en présence d'acide folique, les chromocentres ne sont jamais aussi nombreux qu'en l'absence de ces sels. Il faut donc que l'un des 2 éléments freine la formation des chromocentres. Il a été montré dans des expériences antérieures que le phosphate a ce rôle. Contrairement au nitrate qui augmente le nombre des chromocentres peut-être par action sur le nucléole, le phosphate tend à faire opposition à leur multiplication. On note également dans la nutrition à base des sels potassiques un brunissement et une dilatation des mailles du réseau achromatique.

Certaines expériences faites avec le mésoinositol montre la toxicité de cet élément, et la grande résistance que lui oppose le Pois sucré. Mais l'action toxique du mésoinositol est précédée d'une action tonique et elle est d'autre part atténuée

par le phosphate de potassium.

Ainsi se manifeste dans le noyau quiéscant l'action d'une nutrition relativement équilibrée ou déséquilibrée et quelques indices d'une modification plus particulière de différentes régions du noyau sous l'influence de substances diverses, des chromocentres par les glucides, des nucléoles par les nitrates.