

50 376
1959
25

50376
1959
25

UNIVERSITE DE LILLE

FACULTE DES SCIENCES

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES DE SCIENCES NATURELLES

DIVISION NUCLEAIRE DANS LA CELLULE TETRAEDRIQUE
DE POLYPODIUM VACCINIFOLIUM

présenté à Lille, en Décembre 1959

par LALOUX Lillian

DIVISION NUCLEAIRE DANS LA CELLULE TETRAEDRIQUE

DE POLYPODIUM VACCINIFOLIUM

Lorsque le sujet m'a été proposé, je fus assez surpris d'apprendre que je devrais travailler la nuit. En effet au cours de travaux antérieurs effectués sur la même fougère pendant le jour, on n'avait jamais observé de division de la cellule tétraédrique, elle ne se divisait donc peut-être que la nuit. Et j'ai pu, dès le début de mes travaux, mesurer le bien fondé de ces paroles de Carnoy parodiant une phrase de Montaigne : "La cytologie est une de ces grandes personnes revêches, ardues et quinquaises, qui veulent être gagnées par beaucoup de soin, d'attention et de persévérance".

Cette Polypodiacee exotique est cultivée dans les serres chaudes du Jardin Botanique de Lille surtout à titre ornemental, notamment sur des souches portant des Polypodiacees épiphytes du genre Platyserium. Je me rendis donc au Jardin Botanique un certain jeudi, 4 Décembre 1959. Entouré de plantes exotiques cultivées à un degré d'humidité à peu près constant et à une température avoisinant toujours 20°C, je fixai in situ des pointes de Polypodium. Ces fixations furent faites de 13 h. à 7 h. le lendemain matin à raison d'une fixation toutes les heures.

Le fixateur employé fut le mélange de Benda de composition suivante :

7,5 cc d'ac chromique à 1 %

2 cc d'ac osmique à 2 %

1 goutte d'ac acétique cristallisable.

La durée de fixation a été de 24 heures.

Les pointes furent ensuite lavées à l'eau courante pendant 2 heures afin de bien éliminer le fixateur, puis déshydratées selon la méthode suivante dite méthode rapide.

alcool 15°, 30°, 50°, 70°	10' dans chaque
80°	30'
95°	10' en changeant au bout de 5mn
absolu	10'
absolu + toluène	15'
toluène	1 h.
toluène + paraffine	1 h.
paraffine	3 bains d'une heure
puis inclusion.	

Cette méthode au premier abord se révéla mauvaise, puisque des treize blocs qui se trouvaient inclus aucun ne me donna de bonnes coupes.

Après avoir passé une deuxième nuit en prélevant par précaution deux pointes toutes les heures de 19 h. à 7 h. le 26 Février 1959, j'utilisai avec succès la méthode suivante de déshydratation : après le lavage des pointes j'ai débarrassé celles-ci de la quantité énorme de poils qui les entourait, puis après passage dans les premiers alcools comme précédemment nous avons laissé les pièces dans :

alcool absolu	1 h
alcool + xylène	1 h.30
xylène 1	2 h.
xylène 2	2 h.
xylène 3	17 h.
xylène + paraffine	2 h.
paraffine 55°	2 h.
"	2 h.
"	2 h.
"	15 h.

Par cette méthode j'ai pu obtenir de bonnes coupes.

Ces coupes de IO M ont été collées à l'albumine de Mayer, puis séchées à l'étuve à 20° pendant 2 jours ou à 40° pendant une douzaine d'heures. Après avoir déparaffiné les coupes et les avoir réhydratées par passage dans la série descendante :

Xylol, Chloroforme, alcool 100°, 95°, 80°, 30°, H₂O.

- Passage dans l'eau oxygénée à 40 % de 1 h. à 2 h. afin d'éliminer le fixateur.

- Lavage à H₂O.

La coloration a été faite à l'hématoxyline ferrique comme suit après mordantage à l'alun de fer à 3 % pendant 6 h. les coupes sont demeurées 24 h. dans le bain d'hématoxyline.

Après régression dans l'alun de fer à 2 % les coupes sont demeurées quelques minutes dans le Rouge Congo pour colorer le cytoplasme. Ensuite les coupes ayant été déhydratées dans la série montante alcool 80... absolu, CHCl₃, Xylol, nous avons procédé au montage au baume du Canada.

La plupart des observations ont été faites avec un objectif de I24 X et un oculaire I5 X.

Nous avons enfin pu voir la cellule tétraédrique, encore appelée cellule initiale. Cette cellule comme son nom l'indique est un tétraédre, ce qui fait que dans une coupe longitudinale elle apparaît comme un triangle. La base du tétraédre est tournée vers l'extérieur. En se cloisonnant parallèlement à ses trois faces latérales la cellule initiale donne naissance à tous les tissus de la tige (voir fig.1).

Dans la racine la cellule terminale se divise de la même façon mais cette fois elle se divise selon ses quatre faces. Les cellules qui proviennent de divisions parallèles à la base donnant la coiffe (voir fig.2 - 3).

Cette initiale se distingue des cellules avoisinantes par son volume beaucoup plus important ; dans la racine 47 M, 32,2 M contre 22 M, 11,4 M dans la tige 75 M, 60 M contre 32 M x 14,5 M, par un noyau également plus volumineux ; racine 21,5 M, 14,5 M contre 8 x 17 M tige 21,5 x 37 contre 8 M, 17 M.

Dans le noyau interphasique, on observe un réticulum aux anastomoses nombreuses et où les granulations nodales sont régulièrement réparties (fig. 4 - 5 - 6). Dans certains de ces noyaux on peut observer des filaments d'allure parallèle (fig.4 et 6) dont nous verrons la provenance à la fin des phénomènes télophasiques. Les nucléoles se trouvent généralement au nombre de deux ou trois.

C'est à partir de ce réticulum que vont s'individualiser les chromosomes prophasiques (fig.7). Nous assisterons d'abord à un relâchement des anastomoses entre les filaments chromatiques, ces anastomoses disparaîtront presque toutes pour donner naissance à des filaments si-

neux, d'allure irrégulière. C'est ce que nous représentent les fig.8 et 9 où quelques fines anastomoses subsistent, les denticules que l'on constate de loin en loin seraient le vestige des anciennes anastomoses. Les fig. 10 et 11 représentent sensiblement les mêmes stades, mais comme l'on peut aisément s'en rendre compte les filaments ont gardé une relation très nette avec le nucléole, c'est là un fait sur lequel nous reviendrons. Ces filaments chromatiques déjà partiellement individualisés se régularisent ensuite pour devenir grêles et flexueux (fig.12) bien qu'ils gardent encore entre eux quelques anastomoses très fines. L'évolution terminale serait des chromosomes libres de toute anastomose (fig.12). Un filament ne se libère donc pas simultanément de toutes ses anastomoses et dans un même noyau certains filaments sont déjà libres alors que d'autres présentent encore quelques anastomoses (fig.12a).

D'un stade ultérieur de cette prophase que je n'ai pu trouver et où les chromosomes seraient tous complètement individualisés on passe très rapidement au groupement des chromosomes en plaque équatoriale. Vue de profil les chromosomes de la périphérie sont placés perpendiculairement à l'axe du fuseau, alors que vers le centre, ils semblent être placés parallèlement à celui-ci (fig.13 -14) et plus ou moins recourbés.

Ce fuseau s'ébauche aux derniers stades de la prophase pour être complètement formé au stade de la plaque équatoriale. Il présente une structure fibrillaire très nette, surtout entre les deux groupes de chromosomes anaphasiques (fig.15 - 16).

On remarquera sur la fig.13 un des chromosomes périphériques présentant un espace clair (a) limité par deux fins tractus. Ceci a été présenté par R. de Litardière comme une tendance à l'individualisation de microchromosomes (L'élément chromosomique dans la caryocinèse somati-

que 1920 pages 405 à 408 ou comme un argument en faveur de la réunion dans un chromosome d'entités intimement associées les unes aux autres et pouvant s'isoler sous l'influence de causes pathologiques. Ces aspects ne doivent pas selon lui être imputés au fixateur, mais plutôt à une insuffisance de substance chromosomique, qui ne remplir plus le "boyau" (gaine d'enveloppe).

Dans de nombreuses métaphases vues de profil que j'ai eu l'occasion de rencontrer, je n'ai jamais pu voir de corps globuleux pouvant représenter un nucléole et n'ayant fait que des coupes longitudinales je n'ai pu m'assurer de la véracité de ce fait en examinant des métaphases vues du pôle. Toutefois certaines des métaphases vues de profil étaient suffisamment claires pour que l'on puisse y déceler un nucléole, ce que je n'ai pu faire. Aussi pouvons-nous penser qu'il n'existe plus de nucléole en métaphase ou que lorsqu'il existe ce n'est qu'une exception. La substance chromatique se serait alors portée sur les filaments anachromatiques, ou peut-être aurait-elle simplement "fondu" progressivement dans le suc nucléaire ou dans le mélange du suc nucléaire et de la substance fusoriale. De toute façon il est reconnu que les nucléoles sont moins importants en fin qu'en début d'anaphase et d'une manière ou d'une autre une partie de la substance nucléolaire s'est portée sur les filaments. Nous verrons au cours des phénomènes catachromatiques ce qu'il faut penser quant à l'origine et peut-être la destinée de ce nucléole.

Toujours est-il qu'au cours de l'anaphase où les chromosomes filles se séparent pour monter de l'équateur vers les pôles je n'ai pu observer de nucléole et il faut donc bien admettre dans ce cas qu'à l'anaphase le nucléole a complètement disparu. Les chromosomes à ce stade semblent avoir une insertion pour la plupart terminale ou subterminale.

En effet bien que les figures soient floues (fig. 15-16) on peut aisément se rendre compte en comparant leur longueur avec celle des chromosomes métaphasiques, qu'ils ne peuvent avoir pour la plupart qu'une insertion subterminale ou terminale et non médiane.

Les chromosomes continuant leur ascension et le fuseau se raccourcissant se tassent en arrivant au pôle. Ceci nous amène aux fig. 17-18-19 où les chromosomes semblent collés entre eux, tout au moins à leur extrémité proximale, et peut-être faudrait-il voir là l'origine de certaines anastomoses qui se produiraient ainsi que l'a mentionné R. de Litardière (cit. page 367) :

"Ces anastomoses sont dues à l'accolement, dans plusieurs points de leurs parois, de chromosomes voisins, pressés les uns contre les autres par suite du tassement polaire. La substance des chromosomes étant gélatineuse et visqueuse et leur surface n'étant pas absolument régulière, il se produit, où ils sont écartés les uns des autres, des tractus entre les points qui se trouvaient en contact". Cependant il faut avouer que si sur nos figures les extrémités chromosomiques proximales du pôle semblent en contact il n'en est pas de même des extrémités distales. Faudrait-il en conclure que toutes les anastomoses ne se formeraient pas de la même façon ? La figure 20 semble bien nous prouver le contraire ; en effet en deux points a et b de cette figure nous voyons deux chromosomes renflés à leur extrémité distale en forme de gouttelettes. Ces gouttelettes sont légèrement soudées entre elles et il est probable qu'un stade ultérieur nous montrerait ces extrémités se séparant pour donner une anastomose confirmant ainsi l'opinion de R. de Litardière.

Les anastomoses se formeraient donc toutes selon le même mode, mais il

y aurait écart dans le temps et les anastomoses se formeraient progressivement de l'extrémité proximale vers l'extrémité distale (fig.20-21). Le suc nucléaire augmentant de volume, les chromosomes s'écartent (fig. 22-23) et les anastomoses deviennent de plus en plus fines (fig.24).

Mais les extrémités tout à fait proximales des chromosomes ne se détacheraient pas l'une de l'autre, du moins la majeure partie de celles-ci. C'est ce que nous montre la figure 21 où l'on voit les chromosomes présentant déjà quelques anastomoses converger vers le centre en un point plus fortement chromatique, ce stade viendrait juste après celui des figures 17-18-19. Il serait suivi du stade représenté par la figure 22 où les chromosomes sont déjà beaucoup plus écartés et les masses chromatiques beaucoup mieux individualisées. On observe en quelque sorte 2 masses chromatiques reliées par deux anastomoses massives. Les anastomoses entre chromosomes ne sont pas visibles, la figure de division étant trop différenciée. La figure 25 prise dans un poil représente sensiblement le même stade. Au stade suivant on assisterait à l'individualisation de ces masses ; c'est ce que nous représente la figure 24 où le noyau peu différencié nous montre bien les anastomoses existant entre filaments. Sur la figure 23 où les noyaux télophasiques fortement différenciés laissent voir des chromosomes très faiblement teintés convergeant vers des masses fortement chromatiques on s'aperçoit que ces masses présentent l'aspect de véritables nucléoles et de plus elles semblent bien symétriques par rapport au plan équatorial du fuseau. Ce dernier fait a été reconnu depuis longtemps par de nombreux cytologistes comme caractéristique de fin de télophase. Or ici la présence du fuseau, la présence des deux noyaux filles et l'allure des chromosomes nous montrent bien que nous

sommes en fin de télophase. Nous serions donc arrivés à la fin de la télophase où les nucléoles sont symétriques par rapport à la membrane équatoriale. Et si l'on regarde ces chromosomes, convergeant vers les masses chromatiques il est évident que l'on a beaucoup d'analogie avec les figures 21, 22, 24 et 25 et il y aurait de la fig.21 à la fig.23 simple étirement de la masse chromatique (provenant de l'accolement des chromosomes) qui se serait de ce fait émiettés en 2 ou 3. C'est ainsi que l'on arriverait à la figure 23, 24 où les chromosomes semblent soit directement en relation avec le nucléole, soit en relation avec eux par des anastomoses semblables aux anastomoses chromosomiques. Dans ces conditions on peut dire que les nucléoles proviennent des chromosomes et doivent être formés des mêmes substances que ces derniers.

La figure 25bis semble confirmer cette conclusion. Dans ce tassement polaire vu en semi-profil on observe des chromosomes dont la forme particulière rapprochant sensiblement celle d'un crochet nous fait penser que nous sommes déjà en période de formation du suc nucléaire avec gonflement du futur noyau du bas vers le haut ; ceci peut-être à cause de la migration de la substance fusoriale vers les pôles. Nous sommes donc tout à fait en début de télophase et l'on peut déjà apercevoir deux corpuscules fortement chromatiques vers lesquels converge la plus grande partie des chromosomes. Nous aurions donc là encore des nucléoles en formation.

La figure 20 nous représente sensiblement le même stade ; En a et b se trouvent des gouttelettes que nous avons attribuées à la formation d'anastomoses entre chromosomes voisins. Mais en c se trouve une gouttelette chromatique où je n'ai pu distinguer de dédoublement me permettant de penser que ce soit des chromosomes en voie de séparation. On aurait donc un nucléole et non formation d'une anastomose entre chromosomes voisins.

Le nucléole se formerait dès le début de la télophase, nous pourrions presque dire à la fin de l'anaphase. Il subirait à partir de ce moment toute une évolution jusqu'à la fin de la télophase où il serait en quelque sorte bien individualisé. Et ces aspects, ces relations observées entre chromosomes et nucléoles ne sont pas sans nous rappeler certains aspects anachromasiques où l'on voit des filaments chromatiques en relation avec les nucléoles. On assisterait aux phénomènes inverses des phénomènes télophasiques, tant pour les nucléoles que pour les chromosomes. R. de Litardière a décrit des relations directes entre les nucléoles quand ils persistent en métaphase et les chromosomes (f.87 du mémoire de R. de Litardière) et même une liaison par un fin tractus anastomotique. Le transport de la substance nucléolaire sur les chromosomes serait donc complet à la métaphase et à l'anaphase. Mais on peut admettre aussi qu'une partie de la substance nucléolaire s'est dispersée dans la caryolymphe, celle-ci comprenant à la fois le suc nucléaire, la substance fusoriale et le cytoplasme.

Le noyau télophasique se transforme en noyau interphasique par augmentation de volume et renforcement des anastomoses, ce qui nous amène à l'aspect réticulé caractéristique de l'interphase. Le noyau présente un fond beaucoup moins clair que le noyau prophasique ou télophasique, en effet la chromatine est beaucoup plus concentrée dans ces noyaux.

Mais tous ces stades de division n'ont pas été observés uniquement dans la cellule tétraédrique dont les divisions sont rares. Pour une soixantaine de coupes examinées provenant d'une trentaine de pièces comprenant à la fois des extrémités de tige et de racine on ne

compte en effet que deux figures de division de la cellule tétraédrique dans des radicelles ; une fin de télophase à 21 h. où on peut observer la symétrie des nucléoles par rapport à la membrane équatoriale (fig.26) un tassement polaire à 0 h. Cette division est représentée par les figures 18-19. L'axe du fuseau étant arrivé obliquement sur la lame du rasoir a coupé cette division en deux tronçons ; sur le premier on aperçoit un groupe entier de chromosomes et une partie de l'autre groupe, sur le second tronçon on aperçoit le reste des chromosomes de cet autre groupe. La cellule initiale qui semble bien être à l'origine des cellules méristématiques (voir schéma des figures de division observées au voisinage de différentes cellules tétraédriques) se divise donc moins souvent que l'on pourrait le penser étant donné la croissance très rapide du *Polypodium vacciniifolium*. Il faut aussi noter que pour une plante qui se développe aussi rapidement, le méristème est peu développé. Nous y avons observé de nombreuses divisions. La différenciation des cellules se ferait donc très rapidement.

Nous reviendrons d'ailleurs à cette différenciation lorsque j'aurai parlé de la cellule tétraédrique de la tige et de l'épiderme qui l'entoure (fig.1). J'ai en effet été frappé dès le début par la difficulté de différencier cette cellule tétraédrique.

Alors que toutes les cellules du méristème étaient déjà différenciées, la cellule tétraédrique et les cellules de l'épiderme apical ne l'étaient pas encore. Ce qui fait qu'il m'est arrivé d'observer des cellules méristématiques beaucoup trop différenciées et des cellules de l'épiderme qui ne l'étaient pas encore. Des cellules de cet épiderme convenablement différenciées m'ont permis de conclure que cette difficulté

de coloration était due à d'énormes et nombreux nucléoles qui masquaient toute structure aussi bien dans les cellules épidermiques que dans la cellule tétraédrique qu'au point de vue nucléaire se comporte comme les précédentes. Plus exactement ces nucléoles ne masquaient pas toute structure ; si l'on suit la différenciation au fort grossissement on observe au cours de cette différenciation un réticulum assez net pour ne pas douter de son existence sur les bords du noyau, alors qu'au centre on ne peut absolument rien distinguer. Lorsque cette différenciation est plus poussée on voit le réticulum pâlir de plus en plus et se confondre avec le suc nucléaire gris sombre, alors que prennent forme 5 ou 6 gros nucléoles (fig.27). Le terme final est un noyau de fond grisâtre sur lequel se détachent nettement les nucléoles.

Dans le méristème au contraire nous observons des noyaux facilement différenciables et présentant deux ou trois nucléoles de grosseur plus habituelle (fig.27-28).

Dans l'épiderme (fig.29) et les poils (f.30) nous avons trouvé des noyaux de teinte généralement foncée comme dans l'épiderme entourant la cellule tétraédrique et présentant deux ou trois nucléoles aussi importants que dans les cellules de celui-ci.

En s'éloignant du méristème (fig.31) nous nous sommes aperçus que nous avions des cellules de plus en plus nombreuses, présentant des nucléoles de plus en plus nombreux (fig.32) dont certains semblent reliés par de fins tractus. Par exemple dans le méristème où le noyau elliptique de 17 M sur 8 M occupe presque toute la cellule on trouve 2 ou 3 nucléoles, parfois 4 alors que :

à	255 M	noyau sous épidermique	à 5	nucléoles
	340 M	parenchyme sous-épidermique	4	nucléoles
	394	" central	4	nucléoles
	425	" "	4	nucléoles
	510	parenchyme cortical	4 à 5	nucléoles
	"	" "	4	nucléoles
	642	" central	4	"
	735	noyaux à	8	nucléoles
	I 020	"	6	nucléoles partout
	I 190	"	6	nucléoles
	I 615	"	13	nucléoles

Des bourgeonnements du nucléole ont pu être observés (fig.31, 33, 33bis). Le bourgeon est relié au nucléole par un tractus plus ou moins coloré (le tractus qui relie le bourgeon au nucléole dans la fig. 33bis est beaucoup plus pâle qu'il n'est sur la figure).

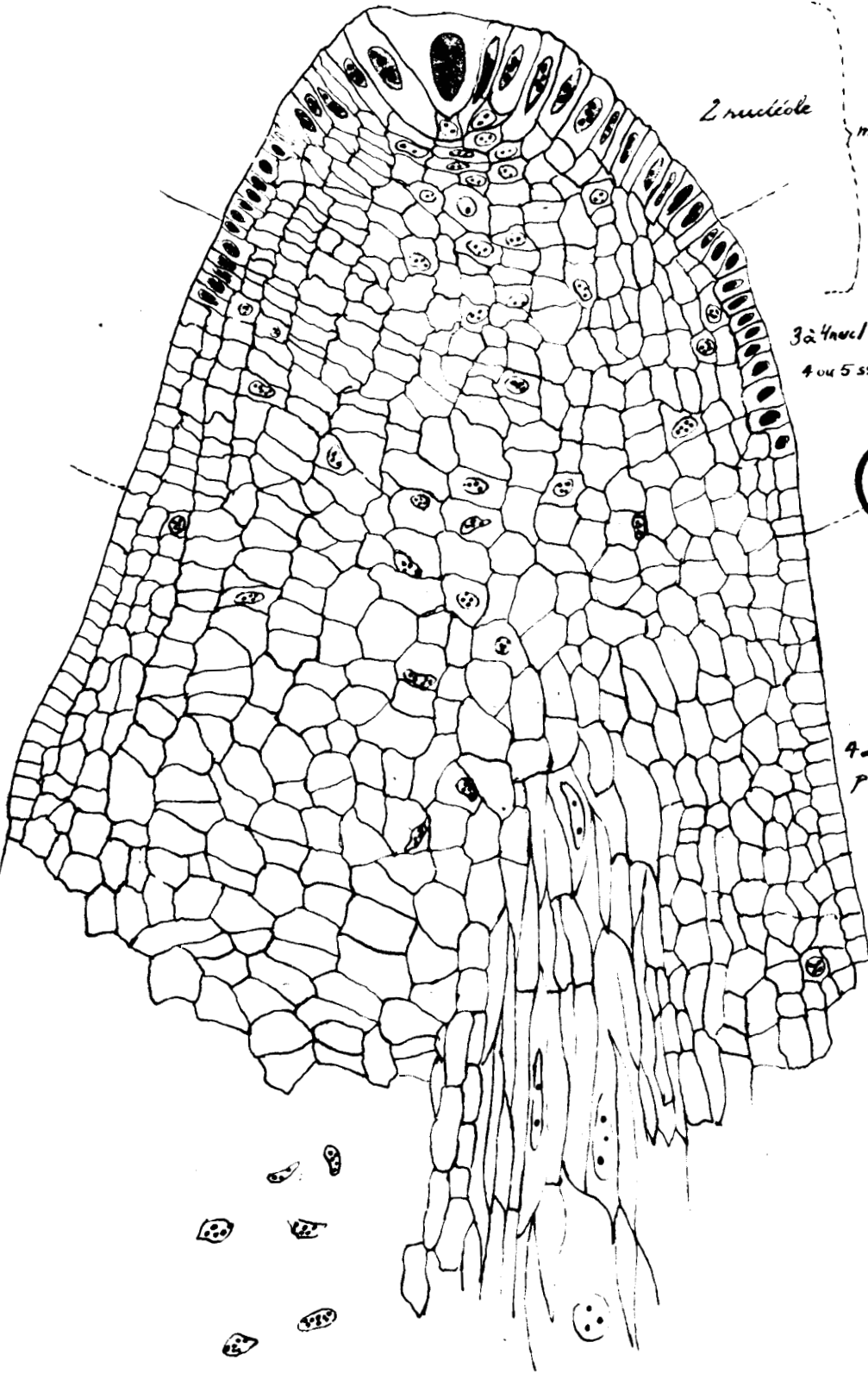
Ces faits énoncés au sujet du nucléole s'éclairent quand on se souvient qu'au fur et à mesure qu'on s'éloigne d'une zone méristématique vers une zone différenciée l'évolution du noyau interphasique vers la quiescence consiste en un enrichissement en substance colorable et en une multiplication des régions de concentration de celle-ci. On assiste également à une augmentation de volume et au bourgeonnement nucléolaire dans certains cas. Tout ceci serait l'indice d'une grande activité synthétisante.

Et comme nous l'avions constaté le noyau méristématique interphasique se transforme rapidement en noyau quiescent (petitesse du méristème).

Ce méristème m'a d'ailleurs montré des divisions à toutes les heures de la nuit ainsi que sur des coupes faites le jour à 14 h. et à 15 h.30. Peut-être faudrait-il voir là une action des conditions particulièrement régulières de température et d'humidité qui règnent dans la serre chaude. Il est probable que la cellule tétraédrique se divise également jour et nuit, mais contrairement à ce qu'on aurait pu croire en admettant qu'elle soit à l'origine de toutes les cellules de l'organe, elle se divise rarement et peut-être plus la nuit que le jour.



Fig 1 = PLANCHE I



2 nucléole

meristème

100 μ —

3 à 4 nucl au centre

4 ou 5 ss. épider

200 μ —



300 μ —

4 à 5 nucléoles

partout

400 μ —

500 μ —

600 μ —

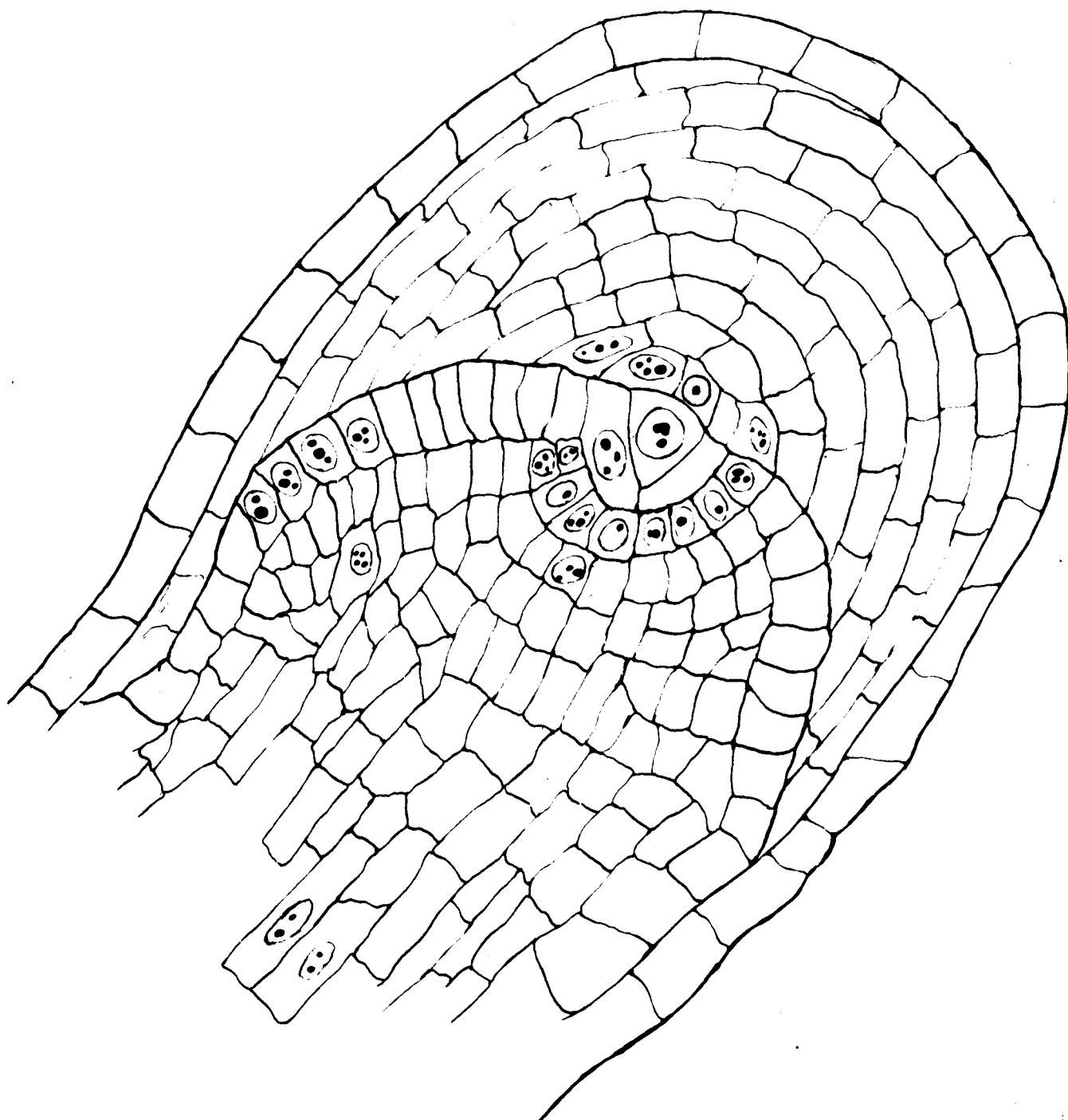
5 à 6 nucléoles

partout

99 fois plus

700 μ —

à partir de 1500 μ une douzaine de nucléoles



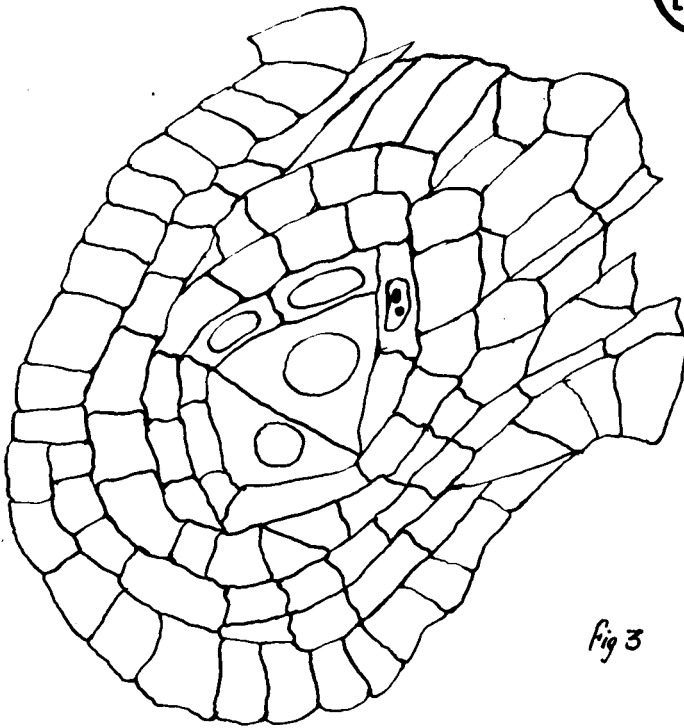


Fig 3

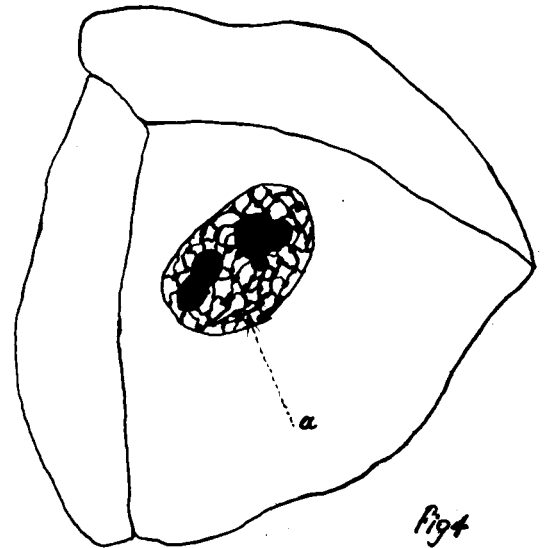


Fig 4

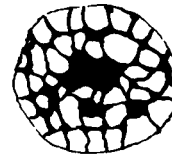


Fig 5

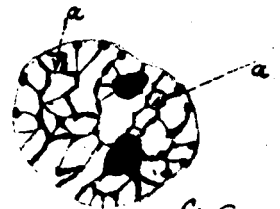


Fig 6

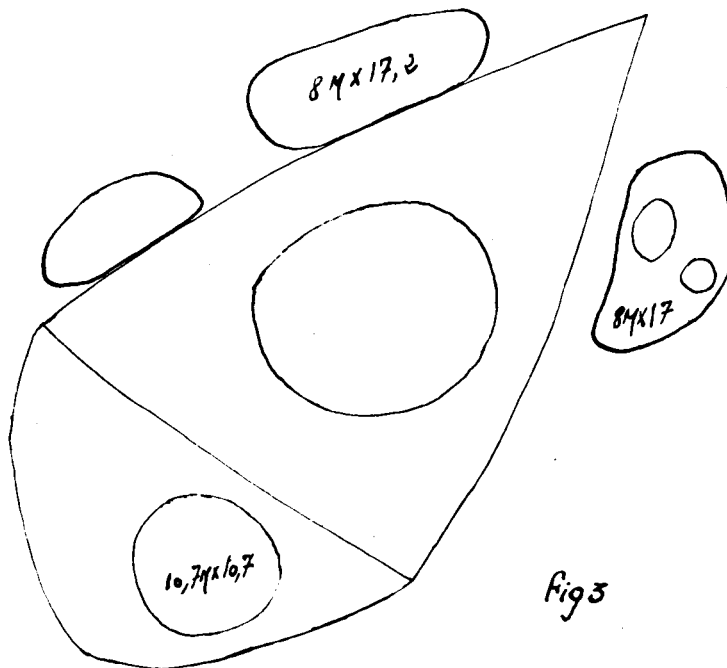


Fig 3



Fig 10



Fig 7



Fig 8



Fig 9

PLANCHE IV



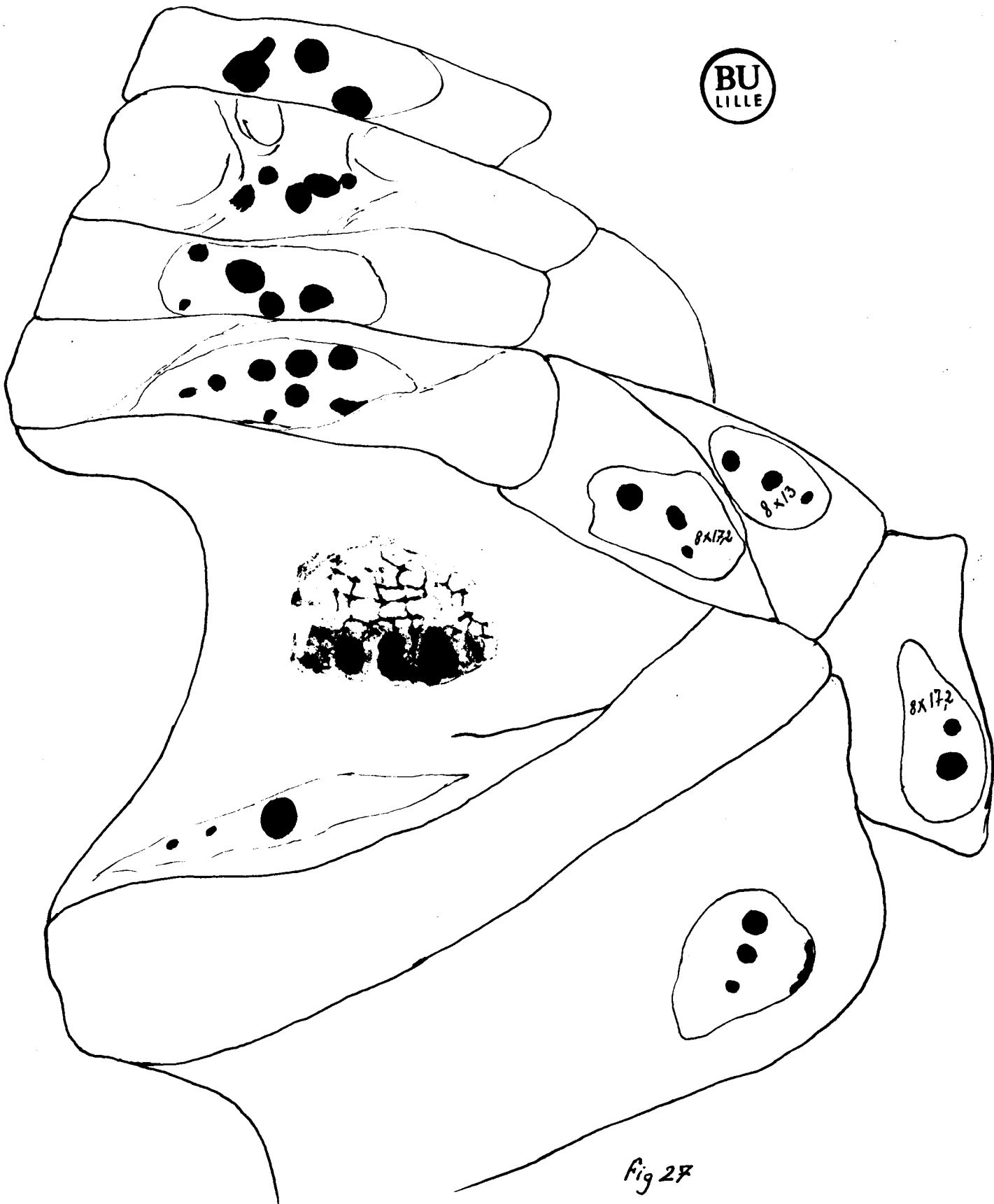
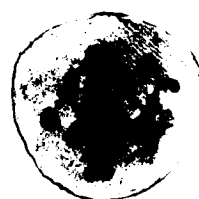
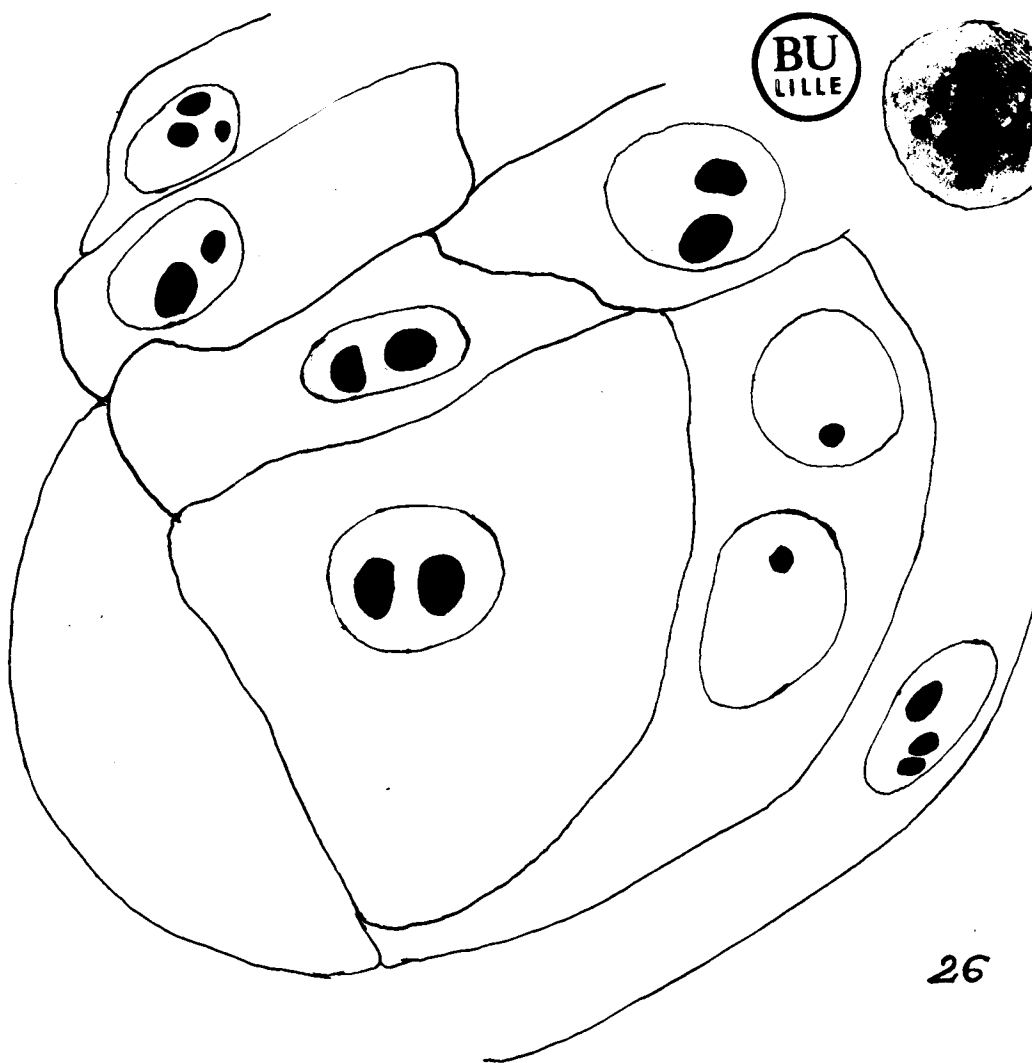


Fig 28

BU
LILLE



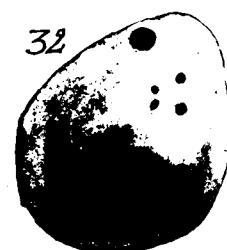
31



32



32



26



33



35



35 bis

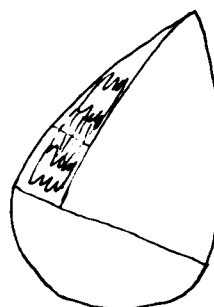
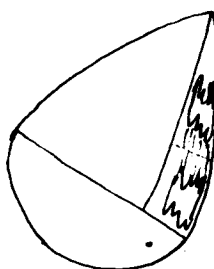
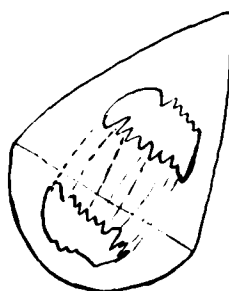
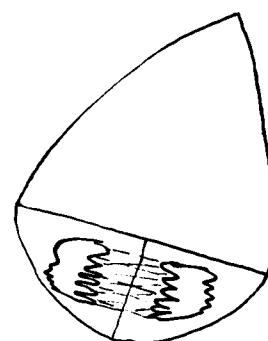


schéma des divisions
observées au voisinage
d'une cellule tétraédrique
de radicelle