

50376  
1963  
64

50376  
1963  
64

UNIVERSITE DE LILLE

FACULTÉ DES SCIENCES

---

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du**

DIPLOME D'ÉTUDES SUPÉRIEURES  
DE SCIENCES NATURELLES

---

Modification de la structure des noyaux  
dans les racines de betterave  
soumises à l'action de l'azote gazeux



**Soutenu à Lille, en Mai 1963**

**par Françoise LAGADEC**

Plan du mémoire.

	pages
I <u>Cycle mitotique</u>	2
II <u>Méthodes de travail :</u>	
A) Techniques de fixation	9
B) Techniques de coloration	10
C) Traitements subis par le matériel à inclure.	12
III <u>Modifications caryologiques à la suite des traitements.</u>	
A) Betteraves témoins	13
B) Betteraves ayant subi un traitement de 8 jours d'azote	14
C) Betteraves ayant subi un traitement de 15 jours d'azote	20
D) Betteraves ayant subi un traitement de 21 jours d'azote	25
E) Betteraves ayant subi un traitement de 28 jours d'azote	28
Contrôle par la coloration de Feulgen	29
IV <u>Autres éléments cellulaires</u>	30
V <u>Conclusions</u>	31

Les observations nucléaires réalisées sur des racines de betterave soumises à l'azote gazeux ont montré (2) (3) que l'azote gazeux pouvait favoriser les synthèses protidiques. Le travail qui nous a été confié, se propose de préciser ces observations, sur le même matériel, en faisant varier notamment la nature des fixateurs et la durée de l'action de l'azote gazeux de 8 à 28 jours.

Ces recherches proprement dites, réalisées selon les techniques classiques de cytologie, sont précédées d'une part, de l'observation des noyaux quiescents de betterave normales, et d'autre part, de l'étude du cycle mitotique des apex radiculaires. Il convenait, en effet, pour ces observations caryologiques, de connaître, en vue de faciliter les interprétations ultérieures, le rythme des mitoses dans le végétal considéré.

## Etude du cycle mitotique.

Notre travail a consisté à dénombrer les mitoses dans les extrémités radiculaires et il comportait notamment :

1) Germination : Les glomérules, trempés durant une heure, sont mis à germer dans des boîtes de Pétri. Trois à quatre jours plus tard, les racines ont une longueur variant de 0,5 à 1cm. Elles possèdent une zone pilifère bien développée. A ce stade, nous prélevons les méristèmes radiculaires et les fixons à intervalle d'une heure pendant 24 heures consécutives.

2) Fixation : Le fixateur, employé couramment dans des travaux de ce genre, est l'alcool acétique (trois parties d'alcool absolu et une partie d'acide acétique glacial). Nous l'avons utilisé pendant un temps variant de 48 à 72 heures. La fixation est suivie d'un passage à l'alcool à 95° et d'un lavage à l'eau distillée.

3) Coloration : Elle a été réalisée selon la technique de Feulgen, qui rappelons le, s'effectue en deux temps :

a) - L'hydrolyse, par l'acide chlorhydrique normal, durant 12 minutes, à une température de 60°, a pour but de scinder les nucléoprotéines du noyau et de libérer les fonctions aldéhydes des acides nucléiques.

b) - La coloration proprement dite : Les extrémités radiculaires sont placées dans le réactif de Schiff préparé depuis moins de 10 jours selon la formule suivante :

Fuchsine basique (cristaux)	Ig.
Eau distillée	200cm <sup>3</sup>
Acide chlorhydrique normal	20cm <sup>3</sup>
Métabisulfite de potasse (cristaux)	Ig.

Après quinze minutes, les apex se colorent légèrement et au bout de trente minutes, les extrémités radiculaires ont pris une teinte violet pourpre.

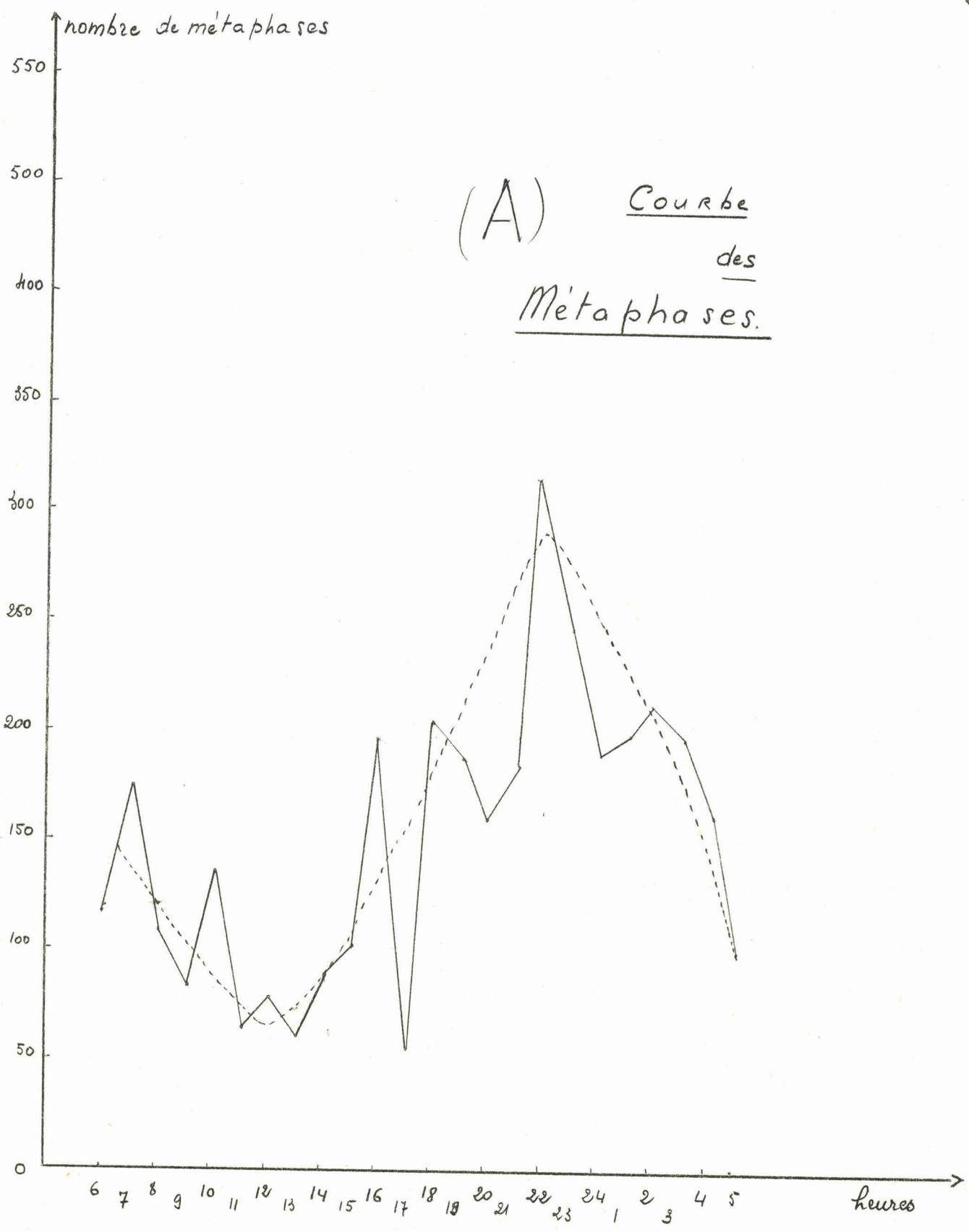
4) Observation : Nous pratiquons un étalement de chaque apex radiculaire sur lame dans une goutte d'acide acétique à 20%. Nous recouvrons d'une lamelle et nous exerçons une légère pression de façon à dilacérer les cellules.

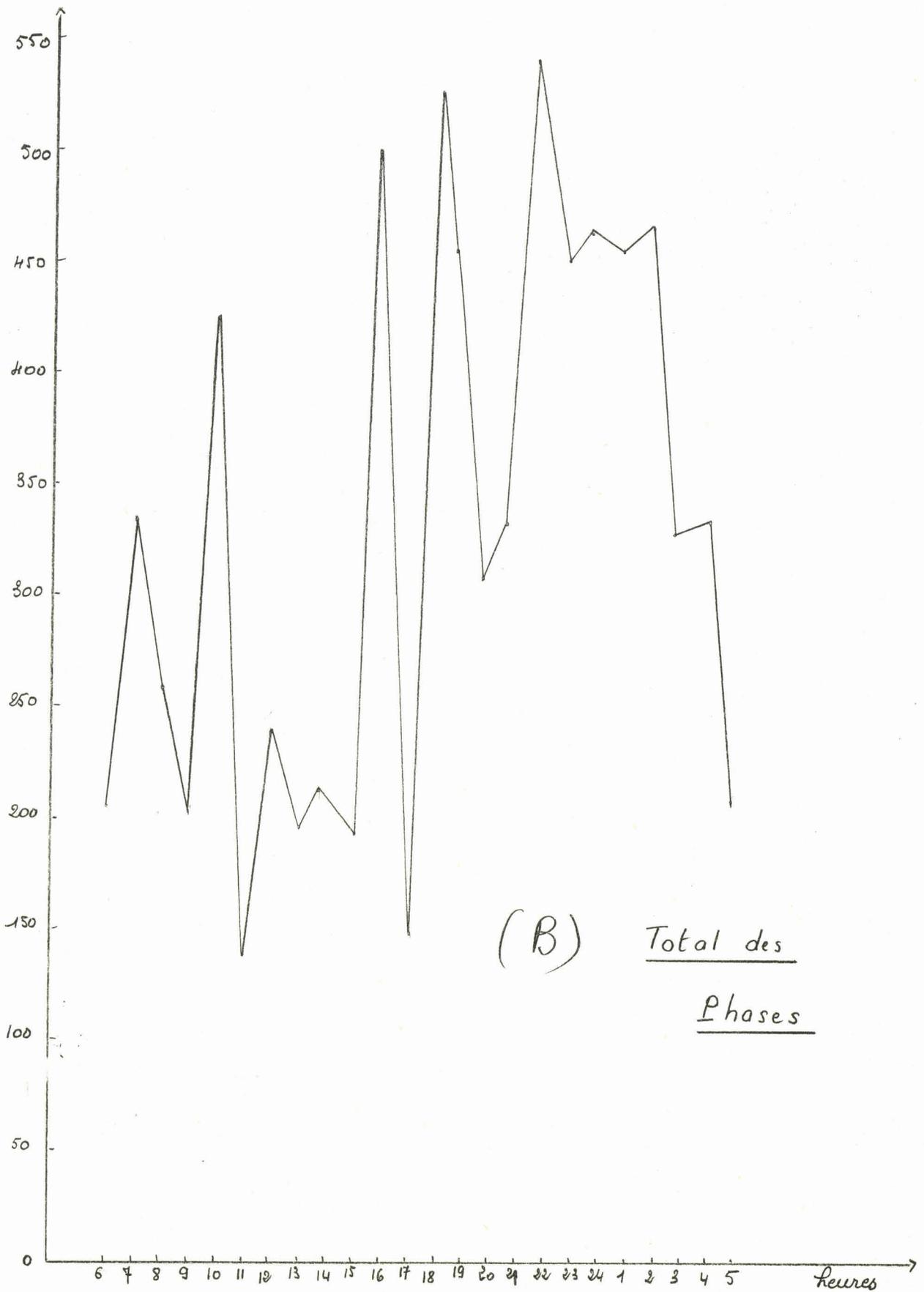
Nous observons à l'objectif à immersion : la recoloration de la fuchsine décolorée par l'anhydride sulfureux est spécifique de la chromatine hydrolysée. Les substances, à fonction aldéhyde, apparues sont des acides thymiques contenant un pentose : le désoxyribose à fonction aldéhydique libre. La réaction de Feulgen révèle la présence de ce désoxyribose dans la chromatine.

Dans les méristèmes radiculaires, nous observons les différents stades de division. Pour chacun des 24 prélèvements, nous avons étudié 5 racines dans lesquelles nous avons compté les figures correspondantes à chacune des phases de la

mitose. Les tableaux présentés plus loin (p.5) donnent le détail de cette numération dont les résultats sont traduits sur les graphiques A et B (p.6.7).

Heures	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase	Total
5	24	102	87	43	206
6	31	117	28	29	205
7	53	175	51	55	334
8	63	108	43	46	260
9	22	96	42	43	203
10	130	136	71	88	425
11	12	64	48	16	140
12	47	92	48	52	239
13	45	61	39	50	195
14	34	89	47	42	212
15	32	103	24	33	192
16	111	199	96	95	501
17	22	68	38	23	146
18	97	205	153	71	526
19	92	176	104	84	456
20	37	162	58	51	308
21	50	186	47	50	333
22	82	217	72	71	542
23	67	247	80	55	449
24	70	192	103	95	460
1	73	200	99	82	454
2	77	213	94	77	461
3	31	186	65	46	328
4	55	163	51	62	331





Sur la courbe A (p. 6) nous avons porté en abscisse les heures de fixation et en ordonnée le nombre de métaphases. Nous constatons que le nombre de noyaux se trouvant à cette phase de division passe par un maximum entre 18 et 4 heures et par un minimum entre 11 et 15 heures.

Nous retrouvons sur la courbe B (p. 7) des résultats voisins qui confirment l'existence d'une période où les divisions sont peu nombreuses entre 11 et 15 heures.

Pour assurer la meilleure reproductibilité à nos résultats et permettre des interprétations judicieuses, nous avons toujours effectué les fixations en un point précis de ces courbes : 10 heures.

Techniques de fixations.

Nous avons eu recours aux deux fixateurs suivants :

1) Fixateur de Nemea dont Milovidov (4) donne la composition suivante :

Acide chromique	50 parties
Bichromate de potassium	50 "
Formol neutre	8 "

2) Fixation selon Helly :

Bichlorure de mercure	5g
Bichromate de potassium	2,5g
Sulfate de sodium	1g
Eau distillée	100cc.

mélange encore appelé Zenker-formol , ce dernier étant ajouté au mélange juste avant l'emploi.

Ces deux fixateurs préparés immédiatement avant l'usage, nécessitent deux bains consécutifs de 24 heures chacun. Un lavage pendant 48 heures en eau courante précède la déshydratation et l'inclusion dans la paraffine. Les coupes ont été faites au microtome à l'épaisseur de 7,5 et 5 microns.

Techniques de colorations.

A) Coloration de type Volkonsky :

La coloration avait été mise au point dans un précédent travail consacré à la betterave (2) pour la recherche des bactéries. Elle comprenait :

1) Passage à la Rubine acide à 5% dans l'eau anilinée pendant 5 minutes sur platine chauffante.

2) Lavage à l'eau distillée.

3) Différenciation à l'aurentia à 0,5% dans l'alcool à 70°.

4) Lavage à l'eau distillée.

5) Traitement par le mélange suivant :

Acide molybdique	1g
Soude caustique normale	10cc
Eau distillée	90cc.

6) Lavage à l'eau distillée.

7) Coloration par le Bleu de Unna de composition suivante:

Bleu de Unna	1/2
Glycérine	1/4
Eau distillée	1/4

- 8) Lavage à l'eau distillée.
- 9) Différenciation au tannin orange de Unna.
- 10) Lavage à l'eau.

Pour nos recherches caryologiques, nous avons apporté les modifications suivantes (1) :

- a) augmentation de la durée du bain de bleu de Unna jusqu'à 25 minutes au lieu de 20;
- b) diminution de la durée au tannin soit de 30 à 45 secondes au lieu de 2 minutes;
- c) prolongation de la durée du bain de Rubine soit de 8 à 10 minutes au lieu de 5;
- d) réduction de la différenciation à l'aurentia soit 2 minutes au lieu de 3.

Dans ces conditions, le contenu cellulaire est relativement pauvre en inclusions : le nucléole, riche en acides ribonucléïques est coloré en rouge, l'acide désoxyribonucléïque en bleu.

#### B) Coloration de Feulgen :

Elle est effectuée sur lames, dans des conditions évoquées au début de ce mémoire. Le noyau est rouge violacé, et le nucléole reste incolore ou légèrement grisé.

Traitements subis par le matériel à inclure.

Nous avons, tout d'abord, fixé à titre de référence des betteraves n'ayant subi aucun traitement, que nous appelons dans la suite de ce travail, betteraves témoins. Les prélèvements ont été effectués dans la partie basale des racines tubérisées dont le diamètre ne dépassait pas 2 cm. Dans ces prélèvements, nous distinguons deux zones : d'une part, la zone périphérique correspondant au parenchyme cortical et d'autre part la zone centrale vascularisée.

Pour le traitement à l'azote, nous avons simplement placé ces extrémités dans un dessiccateur. Ce récipient est d'abord vidé et l'air est remplacé par de l'azote gazeux provenant d'une bouteille de gaz comprimé. L'atmosphère est renouvelée plusieurs fois. La durée de ce traitement est variable. Nous avons retiré et fixé des fragments de racines de betterave qui ont subi, 8, 15, 16, 21 et 28 jours d'azote gazeux.

Modifications caryologiques à la suite des traitements.

Il était nécessaire, pour apprécier les variations de structures, d'étudier les betteraves témoins.

A) - Betteraves témoins.

1) Zone périphérique :

Nous observons, dans les cellules de forme rectangulaire, des noyaux lenticulaires ou fusiformes. Ils sont situés contre la paroi cellulaire. La membrane nucléaire est très nette; elle limite le nucléoplasme, formé de chromatine bleu-pâle, en fin réseau. Le nucléole, très homogène, de forme sphérique, est coloré en rouge très vif. Il est limité par un fin liseré périnucléolaire bleu vif, lui-même entouré d'une zone claire, vide, hyaline, nettement observable en faisant varier la mise au point. Dans ce type de noyau normal, le nucléole représente environ en superficie le 1/10 au 1/6 de celle du noyau.

Il est assez fréquent de rencontrer plusieurs nucléoles (jusqu'à 3) dans le même noyau; ils sont alors de taille différente les uns des autres : les plus petits étant, le plus souvent, situés dans le milieu du noyau. (Pl. I N° 2)

2) Zone centrale :

Les cellules y sont de taille supérieure à celle de la

zone précédente. Les noyaux, de forme ~~sphérique~~ sphérique, le plus souvent, sont en position centrale. Le suc nucléaire est représenté par un fin réseau de chromatine. Le nucléole, parfaitement sphérique, rouge vif, de structure homogène occupe une position centrale. Suivant la mise au point, nous observons le liseré périnucléolaire comme ci-dessus, bleu clair, fin et homogène ou l'auréole claire, hyaline qui l'entoure. Dans cette région, les noyaux ne possèdent qu'un seul nucléole, de taille comprise comme ci-dessus, de 1/10 à 1/6 du volume du noyau. (Pl. ↙ N° ↙)

B) - Betteraves ayant subi un traitement de 8 jours d'Azote

I) Zone périphérique :

Dans cette région, des cellules de forme rectangulaire, possèdent un seul noyau allongé ou fusiforme. Il occupe une position latérale dans la cellule, la membrane nucléaire est très nette. L'enchylème est formé de chromatine dont le réseau est plus dense que chez les témoins. Nous avons pu observer des structures nucléaires variant autour de trois types principaux.

Dans les premiers, si le nucléole, de teinte rouge, est souvent homogène, nous avons pu observer, parfois, des variations de couleur au sein de sa masse. Le liseré périnucléolaire, régulier, de couleur bleue, homogène chez les témoins, prend ici, une épaisseur très irrégulière et une colo-

ration variant sur le pourtour d'un même nucléole du bleu clair au bleu foncé. Il semble par endroits se décoller de la masse nucléolaire et présente des petites excroissances arrondies. La zone hyaline, séparant le nucléole de la Caryolymphe, est nette pour une certaine mise au point. Le nucléole occupe une position bien précise dans le noyau : il est situé tout contre la paroi nucléaire, sa taille est de  $1/6$  à  $1/4$  de celle du noyau. (Pl. I N° 4)

Dans les seconds, c'est la masse nucléolaire elle-même qui, soulevant le liseré périnucléolaire, émet un bourgeon dont la coloration, dans cette phase initiale, est la même que celle de la masse qui lui a donné naissance. La surface atteint environ  $1/10$  de celle du nucléole. (Pl. IX N° 30 - 31)

Un troisième type de noyaux est caractérisé par l'existence, à côté d'un nucléole normal ou en voie de bourgeonnement, d'une vésicule, homogène de couleur terne, très pâle, bleu gris, volumineuse ne laissant parfois que peu de place au fin réseau de chromatine. (Pl. I N° 3 - Pl. II N° 5)

Nous avons observé dans une cellule du parenchyme secondaire (Pl. II N° 6) un noyau de forme arrondie, à membrane nucléaire fine, dont l'enchylème se divisait nettement en deux zones : la première, périphérique finement granuleuse, bleu noir, la seconde centrale également granuleuse mais dont les condensations de chromatine sont plus importantes que précédemment. Ces deux régions sont séparées par une limite

épaisse, noire, en rapport avec le nucléole unique, situé lui-même à la frontière de ces deux zones. Il présente un bourgeon très court. La zone hyaline est bien individualisée. Peut-être est-il possible d'interpréter cette image rarement rencontrée comme un aspect de fin de prophase.

## 2) Zone centrale :

Les cellules de cette région présentent chacune un noyau dont le nucléole émet pratiquement toujours un bourgeon, soit allongé et fin, soit court et trapu (Pl. IV N° 11.12). Mais, cependant, l'observation la plus intéressante est, à nos yeux, la fréquente présence de cellules binucléées, qu'il ne semble possible d'attribuer qu'à l'action de l'azote gazeux. (Pl. II N° 7) -

Les deux noyaux ovales sont souvent entourés d'un lambeau de cytoplasme qui occupe le centre de la cellule. Ils sont très proches l'un de l'autre et fréquemment en contact. Ils possèdent un unique nucléole, en position centrale dans le noyau, qui émet un bourgeon. Le liseré péri-nucléolaire bleu clair est net. Pour une mise au point différente, la zone hyaline est bien individualisée. La caryolymphe, bleu pâle, finement granuleuse est homogène.

Un second type de cellules binucléées (Pl. II N° 8) est caractérisé par la présence de deux noyaux n'ayant, en contact, qu'une faible portion de membrane nucléaire. Celle-

ci est bien individualisée. La chromatine forme un réseau de fines granulations bleues. Le nucléole unique émet un ou deux bourgeons. Le liseré périnucléolaire, très net, est hétérogène : il présente des épaisissements sur son trajet. La zone hyaline épouse les contours de la masse nucléolaire et des bourgeons.

Nous avons observé, pour la même durée d'action d'azote gazeux, des stades plus tardifs de cellules binucléées, à noyaux éloignés l'un de l'autre. (Pl. IX N° 32). Ils tendent à prendre une forme allongée au lieu d'avoir une forme ovale. Ils possèdent une membrane nucléaire nette, de la chromatine régulièrement partie. Le nucléole, de très grande taille, au centre, occupe une superficie de  $1/5$  à  $1/4$  de celle du noyau. Il présente parfois 1 à 2 excroissances. Le liseré périnucléolaire net, pour une certaine mise au point, entoure le ou les bourgeons d'aspect identique au nucléole dont ils sont issus. Nous notons une très large zone hyaline créant un fossé entre la masse nucléolaire et le suc nucléaire.

Le troisième type de cellules binucléées, sur lequel nous attirons tout spécialement l'attention, est caractérisé par la présence d'une ébauche de membrane dans la région médiane de la cellule (Pl. III N° 9). Cette fine membrane sépare le territoire cellulaire en deux zones; chaque région possède un noyau. Mais, la membrane néoformée n'a, encore, aucun lien avec la membrane cellulaire. Les deux noyaux, de

taille identique, de forme ovalaire ont une membrane nucléaire très nette. Ils possèdent leur nucléole unique qui, souvent, bourgeonne :

- Le premier révèle une chromatine régulièrement granuleuse, au sein de laquelle le nucléole, de petite taille, est hétérogène; nous observons une masse très opaque, occupant le centre, entourée de zones de couleurs différentes. Le liseré périnucléolaire régulier présente en deux endroits de fines expansions. Par contre, la zone hyaline est peu visible.

- Le second noyau, pour la même mise au point montre une échancrure dans sa partie supérieure la plus arrondie. La chromatine est plus irrégulièrement répartie : au centre, nous y trouvons un nucléole, unique très sphérique, à allure normale, c'est-à-dire ne bourgeonnant pas. La masse nucléolaire est homogène. Le liseré périnucléolaire est invisible contrairement à la zone hyaline qui apparaît, très nette.

Dans de rares cas, un amas de substance nucléaire finement granuleuse, pouvant correspondre par son importance à l'agglomération de plusieurs noyaux, a été remarqué (Pl. III N°10 ). Il présente trois nucléoles, de forme sphérique, d'aspect normal et sans bourgeon. Si le liseré périnucléolaire est invisible, il n'en est pas de même de la zone hyaline qui est bien individualisée. Pour une autre mise au point un quatrième nucléole apparaît : il est de taille inférieure aux précédents, nous observons une tache centrale

très foncée et l'entourant une zone plus claire. Le liseré périnucléolaire ne contourne pas exactement la masse précédente comme si cette dernière avait subi une rétraction. Cet amas est formé d'un suc nucléaire à chromatine finement granuleuse.

C) - Betteraves ayant subi un traitement de 15 jours d'Azote.

I) Zone périphérique :

Par rapport au traitement précédent, les noyaux des cellules sont plus volumineux. La chromatine (Pl. IX N° 33 ), répartie régulièrement, renferme deux nucléoles, l'un central l'autre excentrique, bourgeonnant tous les deux, de très grande taille correspondant environ au tiers de celle du noyau. Le nucléole central émet deux bourgeons, l'un globuleux, l'autre allongé, diamétralement opposé. Le suc nucléolaire est homogène et le liseré périnucléolaire visible, de couleur bleu clair, est très fin.

Le second nucléole, excentrique, chevauche la membrane nucléaire. Il émet deux bourgeons tout-à-fait comparables dans leur position et dans leur forme à ceux du premier nucléole. Les zones hyalines entourant généralement les masses nucléolaires ne sont pas visibles.

Le dessin (Pl. IX N° 34 ) pourrait représenter un stade postérieur à celui que nous venons de décrire. Nous y voyons un nucléole complètement extérieur au noyau; seul un fin tractus l'entoure et rejoint le noyau.

Dans certaines régions, des cellules, de petite taille, possèdent un noyau arrondi, appliqué contre la paroi cellulaire (Pl. IV N° 17). Le liseré périnucléolaire qui semble sur tout son pourtour décollé de la masse nucléolaire émet aussi un diverticule à l'extrémité duquel nous avons noté une

tache rouge, provenant sans aucun doute du nucléole. La zone hyaline, bien visible, est large.

Autour de cet ensemble, la chromatine est condensée en granulations beaucoup plus importantes que celles observées jusqu'ici.

## 2) Zone centrale :

C'est dans cette partie de la betterave que fonctionnent les assises surnuméraires responsables de l'accroissement en épaisseur. La taille des cellules est variable : près de l'assise génératrice, les cellules restent petites. Un peu plus loin, elles sont de taille bien plus grande et constituent le parenchyme secondaire.

- Dans les petites cellules, dont les membranes sont sinueuses, les noyaux sont très gros, le rapport nucléoplasmique est élevé, les nucléoles bourgeonnent de façons diverses : nous avons représenté quelques types de bourgeons (Pl. IV N° 13.14) ...
- Dans les cellules du parenchyme secondaire, le rapport nucléoplasmique est plus faible que précédemment mais les nucléoles sont très volumineux si on les compare à ceux des témoins et de plus ne présentent plus l'homogénéité de coloration de ces derniers; en effet, il est fréquent d'y observer des plages d'intensité de coloration très variable. Ils émettent toujours des bourgeons généralement très trapus, sphériques et

homogènes. Le liseré périnucléolaire est très net, épais au point de présenter par endroits, des calottes hémisphériques, colorées en bleu foncé. Il s'interrompt, parfois, au niveau de bourgeons nucléolaires nettement différenciés tels que nous les avons représentés (Pl. IV N° 15) et dont la coloration rouge indiquerait qu'une transformation chimique se produit en même temps qu'augmente la taille des excroissances. La zone hyaline, large est nettement visible.

Comme nous l'avons déjà souligné pour une durée plus courte, le séjour des betteraves pendant 15 jours à l'azote a provoqué l'apparition de cellules binucléées. La forme, la structure, la taille des noyaux de ces cellules binucléées, ne semblent pas avoir subi de modifications importantes. Attirons simplement l'attention sur le dessin (Pl. V N° 19).

Les axes longitudinaux de chacun des noyaux sont orthogonaux. Certaines observations permettent de préciser qu'ils proviennent l'un de l'autre, en effet :

- La longueur et la largeur de chaque noyau se correspondent presque exactement.
- La situation des nucléoles, dans chacun des noyaux, leur taille, leur structure sont tout-à-fait comparables. Cependant, nous n'avons jamais observé d'images pouvant correspondre à une division mito-

tique ou amitotique. La condensation chromatique en amas, nettement plus volumineux que ceux des noyaux des cellules uninucléées, visible sur le noyau supérieur, pourrait néanmoins permettre de penser à un stade préprophasique. Cette structure d'ailleurs ne se retrouve pas dans le noyau inférieur où les granulations, beaucoup plus fines, sont nettement réparties suivant plusieurs courbes concentriques.

Par ailleurs, comme le montre le dessin (Pl. IV N° 16 ) les granulations peuvent aussi se rassembler en un certain nombre de plages tandis que les autres parties du noyau semblent complètement vides.

Pour avoir suffisamment de matériel, nous avons été amenés, dans certains cas, à faire plusieurs séries de traitements dans l'atmosphère d'azote. Nous allons rendre compte maintenant des résultats acquis pour des fragments ayant subi une durée d'exposition à l'azote, très voisine de la précédente.

L'observation traduite sur le dessin (Pl. V N° 18 ) est assez particulière en même temps qu'assez fréquente. En effet, dans le noyau dont l'enchylème, homogène, ne montre aucune des fines granulations décrites jusqu'à présent nous remarquons, au contraire, des condensations importantes dont la coloration bleu noir intense indique qu'elles sont cons-

tituées d'acides désoxyribonucléiques. Par contre, les quatre bourgeons, visibles, sur le dessin à la périphérie du noyau mais à l'intérieur de la membrane nucléaire épaisse, sont rouges, violacés, couleurs qui, dans la technique de Volkonsky, révèlent les acides ribonucléiques.

La microphotographie en couleurs (I6 N. A. 52. I7) qui se rapporte à la même série d'expériences mais qui n'a, nous insistons, été observé qu'une seule fois, montre un filament bleu décrivant une spirale à laquelle nous n'avons pu donner de signification caryologique.

D) - Betteraves ayant subi un traitement de 21 jours d'Azote.

I) Zone périphérique :

L'augmentation de la durée du traitement à l'azote gazeux se traduit par des observations identiques à celles décrites précédemment : bourgeonnement nucléolaire - Pl. IV N° 14 - Pl. IV N° 15).

Mais, en outre, quelques observations semblent pouvoir se rapporter à des phases plus tardives du processus. En effet, comme le représente le dessin (Pl. V N° 21), l'émission de bourgeons nucléolaires peut aller jusqu'à atteindre la membrane nucléaire : à partir du gros nucléole ont pris naissance des petits nucléoles qui ne sont plus rattachés au premier que par un fin pédicelle et tendent à se rapprocher de la périphérie de la membrane nucléaire qu'a déjà atteint le liseré périnucléolaire. En effet, celui-ci, ainsi que la zone hyaline, cernent toute la masse nucléolaire.

Le dessin (Pl. V N° 20) montre d'ailleurs que des bourgeons nucléolaires peuvent arriver à la limite du noyau.

Dans le domaine des cellules binucléées, la prolongation du traitement montre que le processus de formation de la membrane, signalé lors des traitements précédents, s'est poursuivi.

Dans le dessin (Pl. VI N° 22) nous remarquons :

- I) La longueur de leur grand axe est tout-à-fait comparable,

- 2) la distance qui sépare le nucléole-père du nucléole-fils est égale pour les deux noyaux. Cependant leur forme est différente : l'un est lenticulaire allongé, l'autre est en forme de fuseau large, mais tous deux sont situés dans le même plan d'observation microscopique.

Compte tenu de ces observations, il semble possible de les interpréter comme provenant l'un de l'autre, l'un se présentant dans la préparation comme ayant subi une rotation de  $90^\circ$  par rapport à l'autre. Dans chacun des deux noyaux, de plus, au point de vue structure, nous remarquons une grande analogie (liseré périnucléolaire net, zone hyaline bien individualisée, bourgeons nucléolaires, homogènes et rouges). Entre les deux noyaux passe nettement une fine membrane très sinueuse se raccordant d'un côté à la membrane de la cellule. Elle est en contact avec le noyau lenticulaire et semble, si l'on fait varier la mise au point, atteindre la membrane de l'autre côté de la cellule.

En aucun cas, dans les betteraves normales examinées dans la région correspondante, nous n'avons pu observer de telles images. La taille de la cellule et la fragilité de la jeune membrane montrent bien qu'il vient d'y avoir une division.

## 2) Zone centrale :

Nous avons retrouvé ici également des cellules binucléées. Le dessin (Pl. VI N° 23) et la microphotographie

couleurs (2I A I 4) qui sera projetée rendent compte de cette observation.

Nous voyons que, les deux noyaux, de forme arrondie, localisés dans la région médiane de la cellule, ne sont pas situés dans le même plan. Leurs membranes nucléaires sont fines, continues et homogènes. Quant à la jeune membrane si elle n'apparaît pas dans cette observation, nous l'avons retrouvée dans cette zone comme l'indique la photo (2I A IOI 5). Cette image nous permet de retrouver ce que nous avons déjà signalé (la position des nucléoles, la situation identique des nucléoles-fils par rapport aux nucléoles-pères). Mais, nous notons, ici, en outre, une accumulation, de part et d'autre de la jeune membrane cellulaire qui vient de se former entre les deux noyaux, d'une série de granulations rouges réparties linéairement.

Une autre observation (Pl. VI N° 24) qui ne semble pas pouvoir se ranger à côté des précédentes. Dans ce noyau, vraisemblablement coupé obliquement par le rasoir, la membrane nucléaire a disparu et les petits nucléoles entourés de leur liseré périnucléaire bleu sont sur le point d'être libérés dans le cytoplasme.

A la partie inférieure, nous avons représenté quelques plastes toujours très abondants chez les betteraves traitées, se distinguent facilement des nucléoles par leur coloration rouge pâle et l'absence de liseré périnucléolaire et de zone hyaline.

E) - Betteraves ayant subi un traitement de 28 jours d'azote.

I) Zone périphérique :

Nous observons un bourgeonnement nucléolaire intense. Le dessin (Pl. VIII N° 28) montre qu'à côté du nucléole-père, central dans le noyau, se répartissent dans l'enchylème, trois nucléoles-fils, de taille inférieure au nucléole-père. Mais, il est important, nous semble-t-il, de faire remarquer au moins que, pour l'un des nucléoles-fils le liseré périnucléolaire le rattache encore au nucléole central. Pour les autres, en faisant varier la mise au point, nous avons pu suivre, mais avec beaucoup moins de netteté, le trajet du liseré périnucléolaire.

Les cellules binucléées sont toujours présentes et dans les cellules que nous avons choisies de représenter (Pl. VII N° 25, 26) les fines membranes cellulaires sont bien individualisées.

Sur l'un de ces dessins (Pl. VII N° 26) la membrane cellulaire est en train de se former et passe assez exactement entre les noyaux. Toutefois, si son parcours est net en dehors du noyau, à l'intérieur de ce dernier, il est diffus. Nous remarquons que la partie supérieure du noyau au contact de l'ébauche de membrane cellulaire a subi une invagination en forme d'entonnoir dont l'axe semble souligner la ligne suivant laquelle les deux noyaux se sépareront.

Dans les dessins (Pl. VII, VIII N<sup>o</sup> 35, 34 ) cette séparation s'est nettement effectuée et nous pouvons suivre le parcours de la membrane entre les deux noyaux.

Les observations que nous avons réalisées, montrent clairement que la jeune membrane cellulaire dont nous venons de parler est en relation avec la prolongation du traitement à l'azote, car nous voyons nettement que sa formation est très récente et nous ne pouvons en rien la comparer à celle qui entoure les grandes cellules où elles prennent naissance.

## 2) Zone centrale :

Le dessin (Pl. VIII N<sup>o</sup> 29 ) montre un noyau qui pourrait ressembler à ceux qui ont été décrits dans le cas de dégradation nucléaire par lobation. Nous signalons cependant que cette observation est extrêmement rare.

En dehors de cette observation, nous n'avons rien remarqué qui n'ait déjà été décrit.

## La coloration de Feulgen.

L'application de cette coloration à notre matériel montre que les bourgeons nucléolaires et les extrusions nucléaires qui en découlent sont constitués d'acides ribonucléiques.

Autres éléments cellulaires.

Nous pouvons signaler la présence de plastes dont la coloration rouge franc périphérique leur donne une allure d'anneau. Ils ont été observés chez les betteraves témoins et celles soumises au traitement d'azote gazeux. Néanmoins, leur nombre passe par un maximum chez les betteraves à 15 jours d'azote et ensuite décroît pour les betteraves traitées à 21 et à 28 jours d'azote.

Des cristaux cubiques, bleus que Molliard interprète comme des cristallofides protéiques, sont fréquents chez les betteraves traitées.

Enfin, des cristaux d'asparagine remplissent complètement certaines cellules.

### Conclusions.

Les observations que nous avons réalisées sur les betteraves traitées peuvent se résumer comme suit :

1) - Quelque soit l'heure de fixation, nous pouvons toujours rencontrer toutes les phases de la division mitotique. Le cycle mitotique est caractérisé par un nombre maximum de divisions entre 19 et 2 heures.

2) - A partir d'un nucléole, souvent de grande taille, il y a fréquemment émission de 1 à 5 bourgeons qui finissent par se détacher du nucléole central et se répartissent quelquefois dans le suc nucléaire.

3) - L'application des méthodes de Volkonsky et de Feulgen montre que ces bourgeons sont constitués d'acides ribonucléiques.

4) - Le liseré périnucléolaire bleu, qui entoure les nucléoles des betteraves non traitées, suit la progression du bourgeonnement nucléolaire jusqu'à ce que celui-ci atteigne la limite nucléaire.

5) - Dans certains cas, des condensations de chromatine ont été observées, rappelant des figures préprophasiques, toutefois le nombre de ces condensations est très variable et sans rapport apparent avec le nombre de chromosomes.



- La présence d'assez nombreuses cellules binucléées est certaine, de même que la formation d'une membrane néoformée qui, dans les traitements prolongés, apparaît entre les noyaux.

7) - La taille, la forme, la situation des nucléoles-fils, la position de ces derniers indiquent que les noyaux des cellules binucléées proviennent l'un de l'autre par scission.

8) - Nous n'avons jamais observé d'images correspondant aux phases de la division mitotique.

9) - Cette dernière constatation pose l'important problème de l'origine de la jeune membrane néoformée. L'absence de division mitotique ne permet pas, en effet de la considérer comme résultant de la condensation de phragmoplastes issus du fuseau.

L'interprétation des structures nucléaires que nous venons de rappeler brièvement montre que l'azote gazeux détermine un état d'hyperactivité du métabolisme cellulaire qui peut aller, et nous considérons ce résultat comme important, jusqu'à la division nucléaire suivant un mode qui reste obscur. Il convient de remarquer à ce propos que ces divisions se sont produites dans de grandes cellules adultes complètement différenciées dont l'azote a pu réveiller l'activité nucléaire.

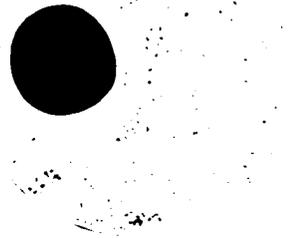
Bibliographie.

- 1) - D. CROUZET            Quelques preuves cytologique de la présence de bactéries dans le tubercule de pomme de terre.  
D.E.S. Lille Mai 1961.
- 2) - M. HIVET              Recherches cytologiques de bactéries dans les racines de betteraves saines.  
D.E.S. Lille février 1962.
- 3) - M. HOCQUETTE, B. MONTUELLE, M. POIX :  
Le noyau quiescent de la betterave à sucre et la synthèse protidique.  
C. R. A. S. Se. t 255 p. 2499. 2500  
Bulletin de la Société Botanique de France 1962.
- 4) - P.F. MILOVIDOV      Méthodes permettant la différenciation histologique des bactéries symbiotes et des chondriomes.  
Bull. Histol. Appliq. 1928 - 5 - 382 - 391.

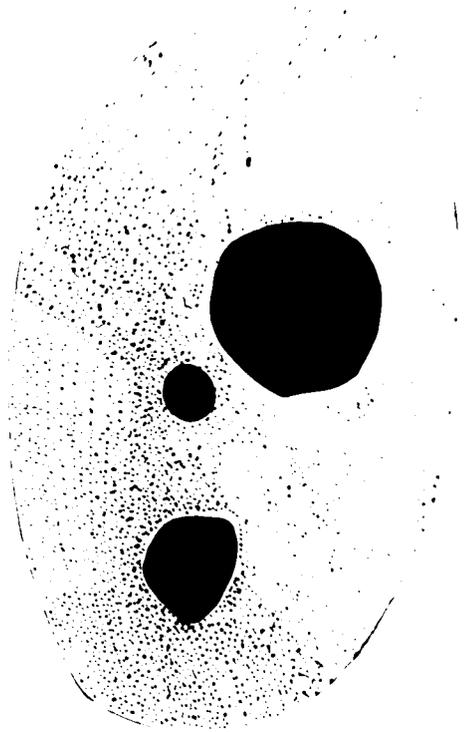
PL. I



1



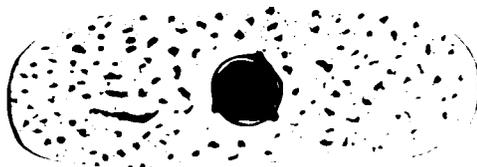
2



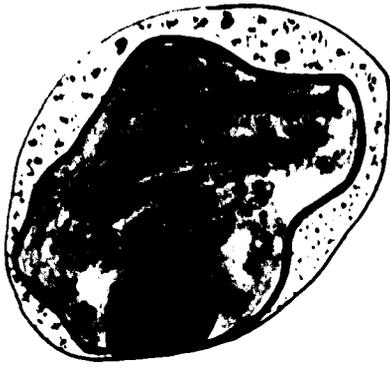
3



4



PL. II



5



6



7

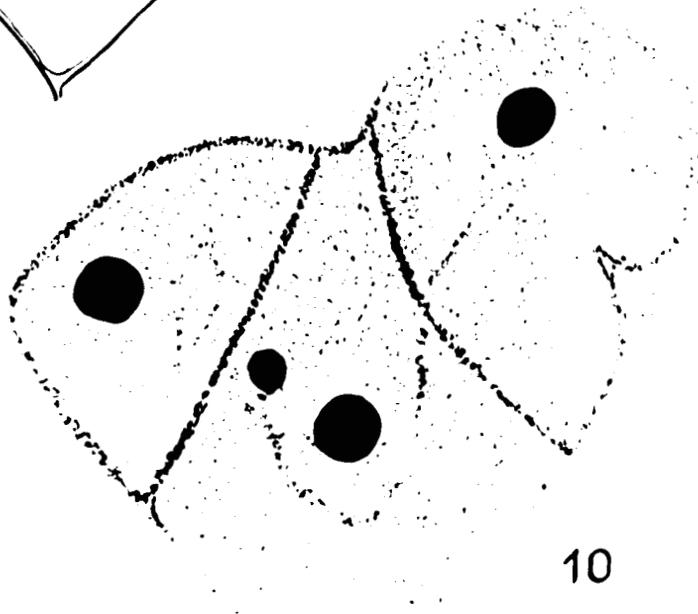


8

PL. III



9



10

# PL. IV



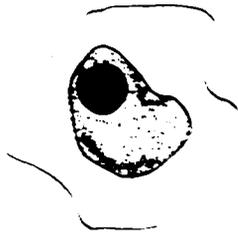
11



15



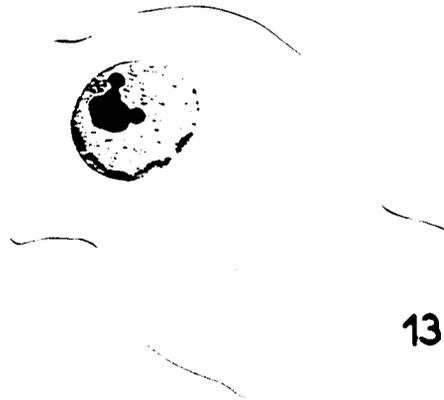
12



14



13



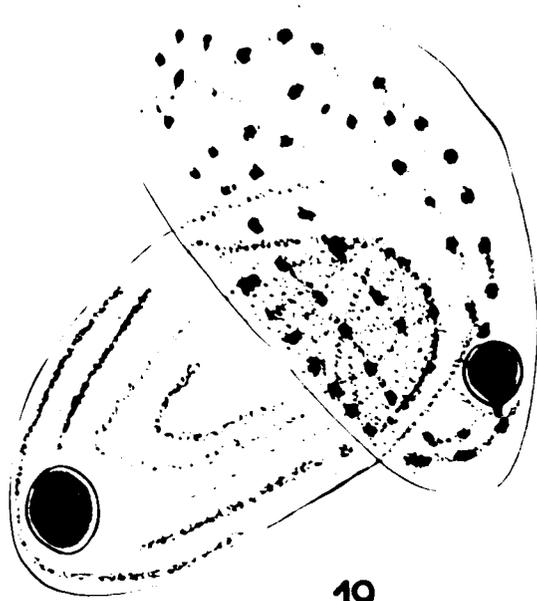
17



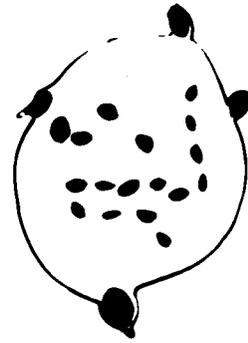
16



# PL.V



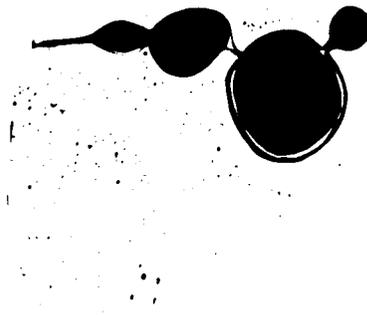
19



18



20



21

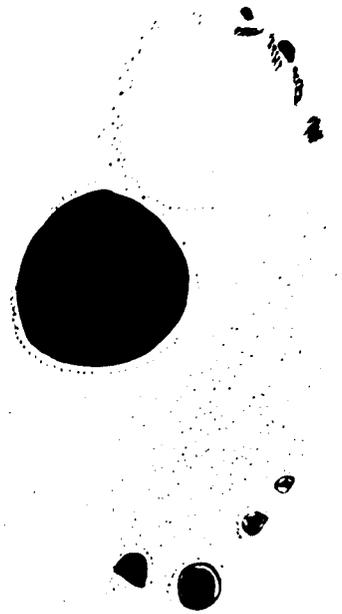
# PL. VI



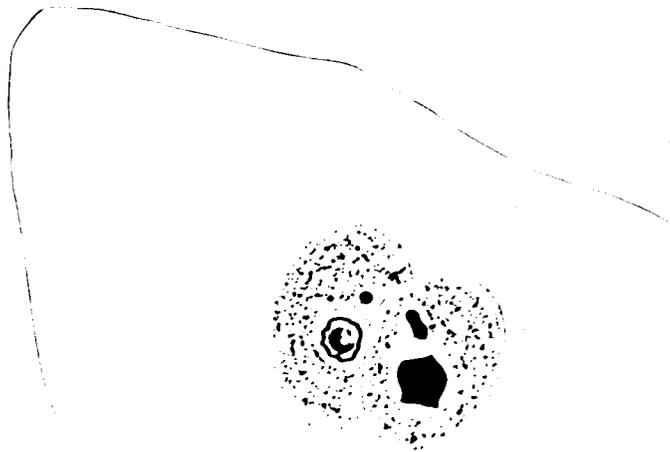
22



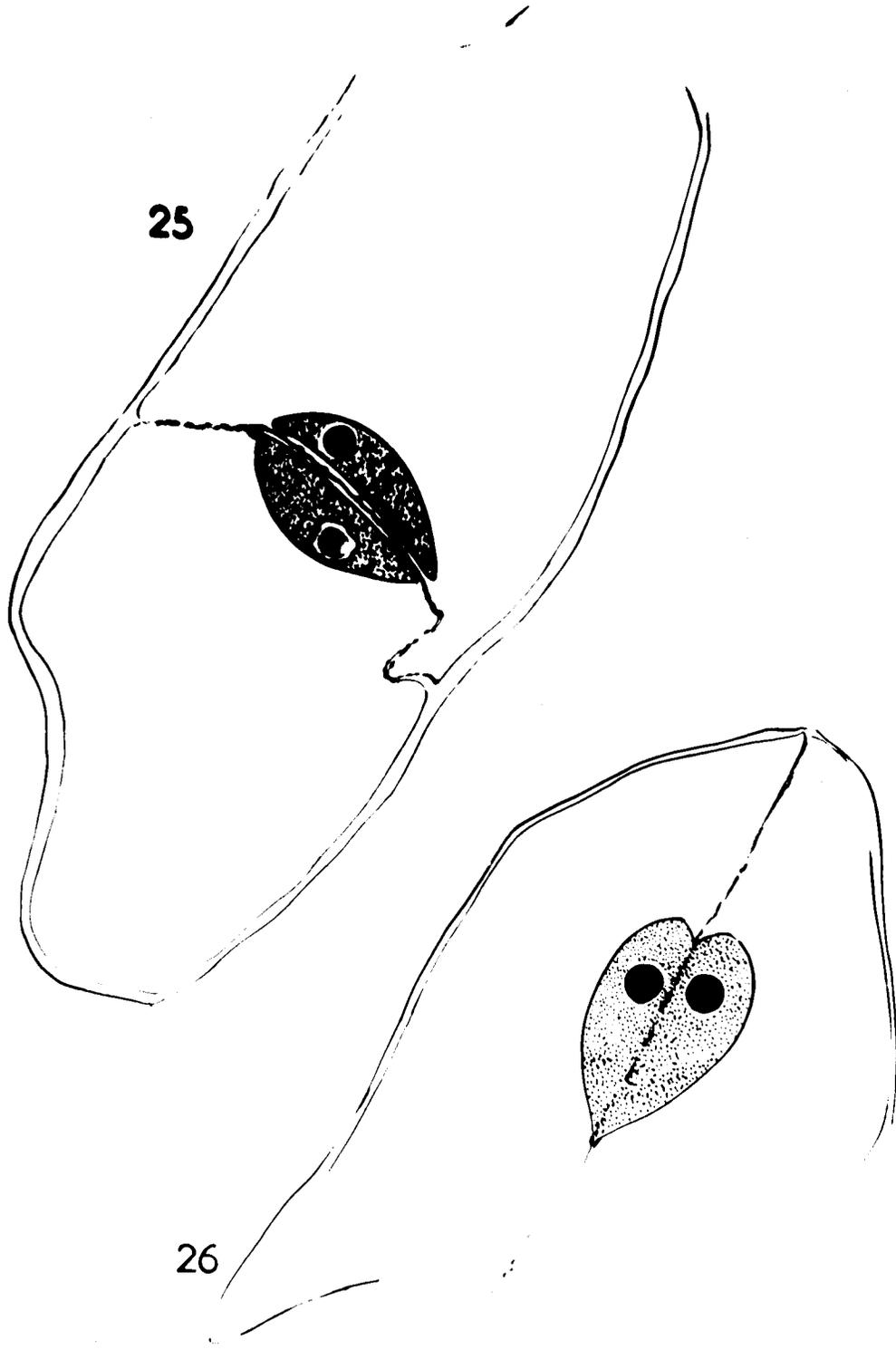
24



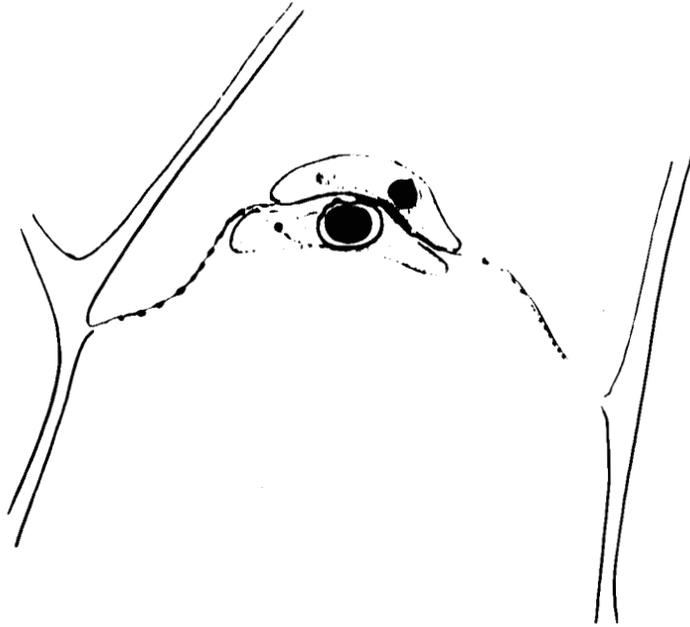
23



# PL.VII



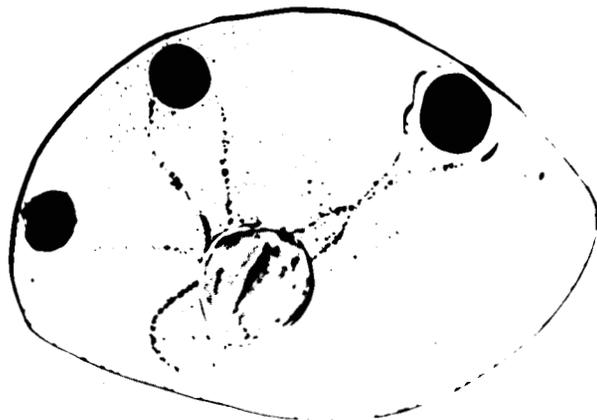
# PL. VIII



27



29

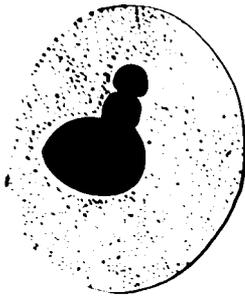
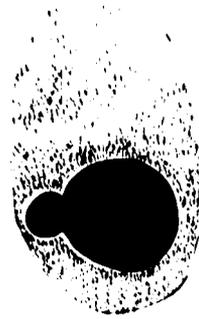


28

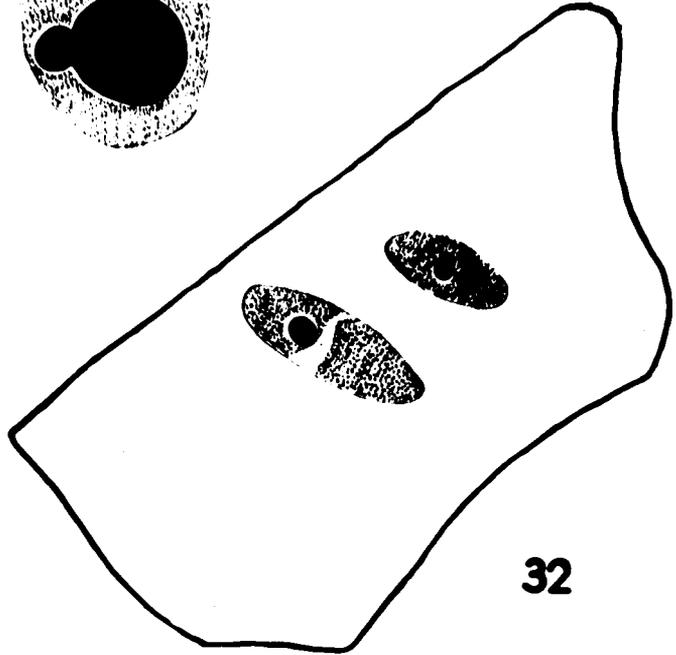
# PL. IX



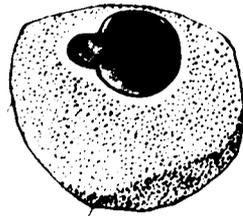
30



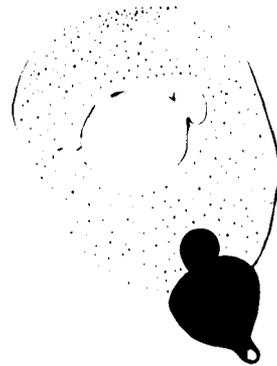
31



32



34



33

