

50376
1972
191-1

50376
1972
191-1

M E M O I R E

Présenté à la FACULTE des SCIENCES de l'UNIVERSITE de LILLE

pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures de

SCIENCES NATURELLES

par

Thérèse VERMEERSCH



=====

STRUCTURE NUCLEAIRE EXPERIMENTALE

chez VANILLA PLANIFOLIA GRISEB.

=====

TEXTE

Mémoire soutenu le 7 Mai ?
devant la commission d'examen.

I N T R O D U C T I O N

Dans cet exposé nous étudierons les caractères que présentent les noyaux dans les racines aériennes de VANILLA PLANIFOLIA GRISEB. (Flore britannique West India)

Nous considérerons les noyaux dans les différents territoires de l'extrémité de la racine.

- la coiffe
- le méristème
- la région supra méristématique dans laquelle nous distinguerons l'épiderme
la zone parenchymateuse
le cylindre central.

Nous passerons ensuite à l'étude de l'influence du jeûne sur la structure nucléaire.

Enfin, nous chercherons à déterminer quelle peut être l'action de diverses substances sur la structure nucléaire. Nos expériences porteront sur le saccharose

- l'acide ascorbique
- l'acide indol B acétique.

LA RACINE DE VANILLA PLANIFOLIA

Avant de noter nos observations, rappelons que nous avons travaillé sur les racines aériennes de *Vanilla Planifolia* qui est une Orchidée épiphyte.

Nous avons utilisé des extrémités de racines ou des fragments coupés avant la différenciation du voile.

Nous avons pris de préférence des racines contenant peu de chlorophylle: les chloroplastes gênant l'observation des noyaux.

TECHNIQUES

Rappelons brièvement les techniques employées.

Nous avons utilisé le fixateur de Benda qui se compose

de : 7,5 cm³ d'acide chromique à 1 %

2 cm³ d'acide osmique à 2 %

1 goutte d'acide acétique glacial.

Les fragments de racines séjournèrent 24 heures dans le fixateur, puis ils étaient soumis à un lavage de 24 heures.

Ensuite, nous les avons déshydratés par passage dans la série montante des alcools: à 15, 30, 50, 70, 80, 95° puis alcool absolu.

puis alcool absolu + chloroforme

et chloroforme pur.

La déshydratation était totale quand les objets tombaient au fond des tubes où on les avait déposés.

Avant de procéder à l'inclusion dans la paraffine, nous avons placé les objets à l'étuve dans :

un bain moitié paraffine
moitié chloroforme pendant 2 heures
deux bains successifs d'une demie heure.

Nous avons alors inclus les objets dans la paraffine et avons fait avec le mi crotome des coupes longitudinales de 10 microns d'épaisseur dans les racines.

Les coupes collées par la colle de Mayer étaient séchées à l'étuve pendant 48 heures.

Puis passage dans :

xylo

chloroforme

série descendante des alcools jusqu'à 30°

lavage à l'eau

1 heure dans l'eau oxygénée à 20 volumes

lavage à l'eau.

Nous avons alors laissé séjourner les coupes dans une solution d'alun de fer à 2 %.

Nous avons observé qu'un séjour d'une heure dans l'alun de fer, puis de deux heures dans l'hématoxyline, était suffisant.

Nous avons ensuite regressé dans une solution d'alun de fer en suivant cette régression au microscope.

(La régression est plus longue pour les cellules de la coiffe, du méristème et de la région corticale, que pour les cellules supra méristématiques du cylindre central)

Enfin les coupes des objets ont été déshydratées
dans la série montante des alcools,

puis chloroforme

et xylol.

Nous avons monté les coupes dans le baume du Canada
et les avons fait sécher plusieurs jours à l'étuve après les
avoir tenues pressées sous une plaque de verre.

Il nous était alors possible de procéder à l'observa-
tion microscopique.

Nous avons utilisé pour toutes nos observations

un objectif à immersion: grossissement 100

un oculaire " " 20

Toutes les dimensions étaient donc multipliées
par 2.000.

I - ETUDE des NOYAUX dans la RACINE de VANILLA PLANIFOLIA

Cette étude a été commencée par Madame G. HUREL-PY qui définissait ces noyaux comme appartenant à un

Type à prochromosomes ou à euchromocentres

Madame G. HUREL-PY notait que: ces corpuscules logés sur le pourtour de la membrane se transformeraient en chromosomes à la prophase, par apparition de prolongements peu distincts d'abord du fond nucléaire et bien plus visibles par la suite.

En effet, à un faible grossissement, et à première vue, les noyaux de la vanille semblent bien correspondre à ce type.

Les noyaux, de forme sphérique, présentent

un nucléoplasme assez dense

un gros nucléole sphérique

de nombreuses granulations disposées dans la cavité nucléaire, et, surtout à la périphérie du noyau.

Mais, Madame HUREL-PY avait remarqué qu'il n'y a pas un type de noyaux, mais plusieurs et elle appelait ces noyaux "polymorphes"; elle constatait que "les uns ne contiennent que des granulations chromatiques variant de la grosseur de petits points à peine visibles, à celle de gros prochromosomes.

- D'autres contiennent un mélange de grosses granulations et de quelques filaments épais.

- D'autres enfin, sont formés de fines granulations et de filaments grêles parfois très longs."""

L'explication de ces divers aspects du noyau a été trouvée dans l'étude de la prophase par Madame PANCA EPTIMIU-HEIM "" Les noyaux qui semblent se comporter comme des noyaux à prochromosomes, ne représentent en réalité que des noyaux à réseau tellement léger que son évidence échappe au début de l'analyse. Les chromocentres de diverses tailles semblent épars dans le nucléoplasme. Lorsque le noyau entre en activité cinétique, son volume augmente, sa chromaticité s'accroît. C'est à ce moment que certains filaments du réseau se renforcent et deviennent de plus en plus visibles. Sur ces minces filaments, on observe de petits granules qui ne tardent pas à s'incorporer dans la substance des chromosomes.""

Nous avons pu vérifier ces opinions en étudiant des coupes longitudinales faites dans des extrémités de racines. Ces racines avaient été fixées aussitôt après récolte.

A - CARACTERES COMMUNS A TOUS LES NOYAUX

- 1°- Forme - Les noyaux ont une forme sphérique, régulière.
- 2°- Nucléole Un nucléole rond, nettement coloré par l'hématoxyline, occupe généralement le centre du noyau. Il est souvent entouré par un très léger cerne "périnucléolaire".

Nous avons noté que, dans quelques très rares cellules, proches du méristème, le noyau contenait deux nucléoles dont le volume total est le même que celui du nucléole unique.

(Ce fait, d'ailleurs très rare, sera observé plus loin dans des fragments de racines ayant subi différentes opérations.

Ce phénomène peut se produire dans d'autres cellules proches du méristème: cellules du parenchyme cortical, jeunes cellules à raphides.)

3°- Granulations chromatiques

Au début de l'analyse, avec un grossissement de 800, les noyaux de vanille nous ont semblé être du type à prochromosomes.

Nous avons assimilé les granulations chromatiques à des prochromosomes et nous avons remarqué que selon la zone de la coupe étudiée, leur volume et leur nombre variaient: en moyenne 9 à 15.

Remarquons que ces "prochromosomes" sont également répartis dans le nucléoplasme, non seulement à la périphérie du noyau, mais aussi plus près du nucléole.

Mais le nucléoplasme ne semble pas homogène

à l'immersion, avec un grossissement de 2.000, on aperçoit entre les granulations chromatiques un réseau très léger et ténu, à peine coloré par l'hématoxyline et fréquemment interrompu. Aux noeuds de ce réseau, nous distinguons parfois de très légers épaississements chromatiques.

Le noyau de la racine de vanille est donc

un noyau réticulé à réticulum très fin
et à chromocentres.

B - ETUDE DES NOYAUX DANS LES TERRITOIRES DE LA RACINE

1°- Coiffe - (fig. 1)

- Les cellules de la coiffe présentent des formes irrégulières.
- Les noyaux sont de forme régulièrement sphériques de taille moyenne.
- Le nucléole est petit, sphérique, très bien coloré par l'hématoxyline, léger cerne périnucléolaire.
- Le nucléoplasme est généralement très coloré par l'hématoxyline (une régression par l'alun de fer plus longue est nécessaire pour l'étude de ces cellules)
- Les chromocentres se présentent sous forme de 10 à 12 granulations chromatiques nettes.
- le réticulum très léger est très difficile à distinguer dans le nucléoplasme.

2°- Méristème - (fig. 2)

- Nous n'avons pas étudié les noyaux en division. Notons cependant que $2n = 32$ (étude faite par madame P. EFTIMIU HEIM) Nous n'avons étudié que les noyaux interphasiques
- Les cellules de la région méristématique sont les plus petites cellules que nous étudiâmes dans une coupe longitudinale de racine de vanille. Ces cellules sont généralement aussi hautes que larges.

- Le noyau occupe un volume important par rapport à la cellule.
- Le nucléole est sphérique, de taille moyenne, très fortement coloré par l'hématoxyline.
- Les chromocentres sont très nets, très colorés, au nombre de 9 à 10.
- Le nucléoplasme est très dense, on ne distingue que très peu un réticulum très ténu et fréquemment interrompu.

3°- Région supra-méristématique

a) Cellules épidermiques (fig. 3)

- Le volume du noyau semble réduit par rapport à celui des cellules.
- Le noyau présente les mêmes caractères que le noyau des cellules de la coiffe.
- volume réduit du nucléole
- 10 chromocentres nets dans un nucléoplasme moyennement coloré.

b) Cellules du parenchyme cortical (fig. 4 et 5)

Dans toutes les coupes longitudinales de racine de vanille, nous distinguons 2 files de grosses cellules parenchymateuses.

- Le volume de ces cellules augmente très rapidement quand on s'éloigne du méristème.

- Le noyau est de forme très régulièrement sphérique, de taille moyenne par rapport à la cellule, son volume est proportionnel à celui de la cellule.
- Le nucléole sphérique, bien coloré, est de taille très importante dans les cellules proches du méristème, le nucléole occupe environ le quart du noyau. (fig. 4)
Dans les cellules éloignées du méristème, le nucléole est relativement plus petit: il occupe environ le sixième du noyau. (fig. 5)
- Chromocentres généralement au nombre de 10, répartis à la périphérie du noyau.
- Nucléoplasme très coloré, réticulum très rarement observable.

c) Cellules à raphides (fig. 6)

De grandes cellules contenant de nombreuses et longues aiguilles de raphides sont très fréquentes.

On ne peut observer le noyau de ces cellules que près du méristème.

- Le noyau est de forme très régulièrement sphérique, généralement très grand, sa taille est proportionnelle à celle de la cellule.
- Le nucléole de forme sphérique, très coloré est de très grande taille: il occupe environ le cinquième du noyau. Il est entouré d'un léger cerne.
- II chromocentres très colorés, très nets, sont répartis à l'intérieur du noyau.

- Le nucléoplasme est généralement assez peu coloré. On peut y distinguer un réticulum très léger, présentant parfois aux noeuds de très petits empâtements de chromatine.

d) Cylindre central - Cellules proches des vaisseaux -

- Les cellules, au fur et à mesure que l'on s'éloigne du méristème, s'allongent et augmentent de volume.
 - Les noyaux sont généralement de forme sphérique, de taille moyenne, proportionnelle à celle des cellules (fig. 7 et 8) Certains noyaux dans les cellules très allongées de la région vasculaire sont de forme ovale ou allongée (fig. 9)
 - Le nucléole est toujours sphérique, bien coloré, de taille moyenne. Il est souvent entouré d'un léger cerne.
 - Dans la plupart des noyaux, les chromocentres sont bien marqués au nombre de 10 à 15, répartis dans le nucléoplasme; mais surtout à la périphérie du noyau. Donc le nombre des chromocentres augmente dans la région supra-méristématique.
 - Le nucléoplasme est clair. On y distingue assez facilement un réticulum très léger aux mailles assez lâches. Sur les noeuds du réticulum on distingue de très petits empâtements de chromatine sous forme d'un léger pointillé
- Cellules éloignées de la région vasculaire (parenchyme interne) fig. 10
- Les cellules sont plus larges.
 - Le volume du noyau est plus grand, en rapport avec celui de la cellule.

- Le noyau est toujours de forme sphérique.
- Le volume du nucléole est généralement un peu plus réduit quand on s'éloigne du méristème. Mais certains noyaux présentent un nucléole très développé.

Les noyaux que nous venons de décrire sont les plus fréquents, mais certains dans la même région, ne répondent pas à cette description.

Les différences portent sur l'aspect des chromocentres nous avons vu que lorsque les chromocentres sont bien représentés sous forme de granulations nettes, ils sont au nombre de 10 à 15.

Parfois, ces chromocentres se présentent sous forme de granulations beaucoup plus petites, plus nombreuses: 30 dans certains cas (fig. II)

Enfin, ces chromocentres sont parfois réduits à des points innombrables réunis par de très fines anastomoses qui forment un léger réticulum continu. (fig. I2 - I3)

Remarquons que le nombre et la taille des chromocentres sont en rapport inverse l'un de l'autre.

Cette diversité dans les caractères des noyaux avait été observée par Madame HUREL-PY qui appelait ces noyaux "polymorphes"

Madame P.EPTIMIU-HEIM concluait en disant que ""Cette diversité du réticulum et des chromocentres paraît exprimer le fait que la chromatine est à des degrés divers, répartie entre l'enchylène, et disposée en anastomoses filiformes reliant les chromocentres.

Certaines de ces anastomoses sont nettement marquées, d'autres sont si ténues qu'elles sont à peine teintées par l'hématoxyline.

On peut évoquer à ce propos la notion d'Euchromatine
et Hétérochromatine
créée par Keitz.

Entre ces deux éléments du noyau n'existent que des différences d'ordre physique révélées d'une manière empirique par une électivité différente pour l'hématoxyline.

l'Euchromatine serait la fraction de chromatine qui, sans disparaître complètement, se dilue dans le réseau et le suc nucléaire.

l'Hétérochromatine serait la fraction qui subsiste pendant la période de repos, à un état de densité voisin de celui réalisé dans les chromosomes."

L'organisation nucléaire ne semble pas unique dans cette espèce puisqu'on y trouve plusieurs types de structure.

II - ETUDE DE LA RESISTANCE AU JEUNE DE LA RACINE DE VANILLE

Après cette étude du noyau interphasique et quiescent de la racine de vanille fixée dans des conditions normales, nous avons observé la résistance au jeûne de la racine de vanille.

Technique

Pour cette étude du jeûne, nous avons placé les fragments de racine entre deux buvards, dans des boîtes de Pétri.

Nous arrosions le buvard avec de l'eau distillée et plaçons les boîtes de Pétri dans une étuve à 25°, à l'obscurité.

Résultats

Nous avons constaté que cette résistance au jeûne est faible: la durée de vie dans ces conditions, varie de 3 à 4 jours. Après ce laps de temps, tous les fragments de vanille sont épuisés.

Ce manque de résistance ne nous surprend pas, car les fragments de racine de vanille, gonflés d'eau, ne contiennent que très peu de réserves. Ces racines aériennes, avant de contribuer à nourrir la plante en s'enfonçant dans le substratum, sont alimentées par les apports de sève.

- Nous allons étudier l'évolution de la structure des noyaux durant ce jeûne, dans les différentes régions de la racine en la comparant aux noyaux de racine n'ayant pas jeûné.

A - Région méristématique

Dès le 2ème jour de jeûne (fig. 14) nous notons

- une diminution nette de volume des cellules
- une diminution parallèle de volume du noyau
- une légère diminution de volume du nucléole
- le nombre et l'aspect des chromocentres n'ont pas changé.

B - Région supra-méristématique

1°) Cellules parenchymateuses

- diminution de volume des cellules
- " " " " du noyau très peu sensibles.
- de même, nous n'observons qu'une très légère diminution de volume du nucléole. (fig. 15)

2°) Cellules à raphides

- ces cellules et leurs noyaux ne semblent pas subir de changements appréciables. (fig. 16)

3°) Cylindre central

2 jours de jeûne

- légère diminution de volume des cellules
 - " " " " du noyau
- (près du méristème fig. 17)

Si nous nous éloignons du méristème (fig. 18) :

- pas de diminution sensible du volume des cellules
- mais importante diminution de volume du noyau
- le nucléole subit une légère diminution de volume plus marquée si on s'éloigne du méristème.
- les chromocentres sont toujours très nets: 9 à 10
- nucléoplasme clair.

3 jours de jeûne (fig. 19)

- on observe la même diminution de volume du noyau
- " " " " " " " du nucléole
- les chromocentres ne changent pas d'aspect
- dans certains noyaux, ils sont réunis par des anastomoses qui forment un réticulum très net (fig. 20)

4 jours de jeûne (fig. 21)

- le volume du noyau est plus petit qu'au bout de 3 jours de jeûne.
- diminution nette de volume du nucléole.
- les chromocentres sont toujours très nets, ils se présentent parfois sous forme de grosses granulations dont le volume est très peu inférieur à celui du nucléole. On en compte généralement 7. (Ceci se produit surtout dans les noyaux les plus éloignés des vaisseaux conducteurs.

Le réticulum est toujours ténu, il ne semble pas diminuer.

Remarque: Notons que dans toutes les coupes étudiées, nous avons remarqué des noyaux très grands, comme dans une racine non traitée ;

- à gros nucléole
- à nombreux chromocentres
- présentant un réticulum bien marqué

En résumé. Dans la plupart des cellules: cylindre central
parenchyme interne
nous avons observé une diminution de volume de la cellule

" " " " du noyau

et surtout : diminution de volume du nucléole

(le rapport $\frac{\text{nucléole}}{\text{noyau}}$ diminue)

C'est en effet le nucléole fournit au cours du jeûne une partie des aliments indispensables à la vie de la cellule.

Les chromocentres ne changent que très peu d'aspect; ils sont gros, en général peu nombreux: 9 à 10, et ce nombre descend jusqu'à 7.

Nous avons remarqué que dans les cellules où le noyau présente un gros nucléole: cellules du parenchyme cortical
cellules à raphides
le noyau ne change pas de caractère.

CONCLUSION : Les noyaux dans les différentes cellules de racine de vanille réagissent de façon différente
Chaque cellule semble avoir sa physiologie propre.

III - ETUDE DES NOYAUX DE RACINE^S DE VANILLE

NOURRIES PAR UNE SOLUTION DE SACCHAROSE A 5 %

- Pour étudier l'action d'une nourriture saccharidique, nous avons comme précédemment placé les fragments de racines entre deux feuilles de buvard, dans une boîte de Pétri. Nous avons arrosé le buvard avec une solution de saccharose à 5% et placé les boîtes de Pétri dans une étuve à 25° à l'obscurité.
- L'aliment glucidique était ainsi fourni à la racine et nous avons constaté que la vie de ces fragments était prolongée: 7 jours de vie au lieu de 4 dans le jeûne glucidique. Nous allons suivre les caractères du noyau durant la période de nourriture saccharidique, dans les différents territoires de la racine. (Nous adopterons toujours cet ordre d'étude lors des expériences qui suivront).

A - REGION MERISTEMATIQUE Nous comparons les noyaux à ceux de racines n'ayant pas jeûné.

Dès le 2ème jour (fig.22)

- diminution de volume de la cellule
- pas de diminution de volume du noyau
- " " " " " " " nucléole
- 7 ou 8 chromocentres
- nucléoplasme dense

Au bout de 7 jours (fig.23)

- diminution de volume du noyau

- diminution de volume du nucléole
- 7 chromocentres
- nucléoplasme clair, réticulum observable

B - REGION SUPRAMERISTEMATIQUE

I°- Cellules parenchymateuses

2 jours (fig.24)

- diminution de volume de la cellule
- pas de diminution de volume du noyau
- le volume du nucléole n'a pas changé (il semble dans certains noyaux avoir légèrement augmenté) il occupe environ le 1/5 du noyau.
- 8 à 11 chromocentres
- réticulum léger et ténu.

6 jours (fig.25)

- mêmes proportions des cellules et du noyau
- le volume du nucléole semble diminuer quand on s'éloigne du méristème
- 8 à 10 chromocentres

7 jours (fig.26)

- mêmes constatations
- le volume du nucléole diminue encore.
- 8 chromocentres

2°- Cellules à raphides

2 jours (fig.27)

- noyau volumineux dans cellule volumineuse
- le nucléole est très important, il semble avoir augmenté de volume, il occupe parfois plus du 1/4 du volume du noyau.
- 8 à 11 chromocentres.

7 jours (fig.28)

- cellules et noyaux présentent les mêmes caractères qu'au bout du 2ème jour
- Ces cellules ne semblent pas s'épuiser.

3°- Région du cylindre central parenchyme interne

2 jours (extrémité de racine) fig.29

-
- le volume des cellules diminue
 - le volume des noyaux semble diminuer
 - le volume du nucléole ne diminue pas (léger cerne périnucléolaire)
 - le réseau chromatique est souvent bien visible
 - 9 à 10 chromocentres.

3 jours (fragment loin du méristème) fig. 30

- le volume des cellules et des noyaux ne varie pas
- le volume du nucléole commence à décroître
- 9 à 13 chromocentres

4 jours (fragment loin du méristème)

- le volume des cellules et des noyaux est identique
- le volume du nucléole ne varie plus dans les noyaux voisins des vaisseaux conducteurs (fig.31)

dans les noyaux du parenchyme, le volume du nucléole diminue légèrement (fig. 32)

5 jours - fig. 33

6 jours - fig. 34

7 jours - fig. 35 Durant ces trois derniers jours de vie, l'évolution que subit le noyau est très progressive.

Au bout de 7 jours, nous constatons que dans tous les noyaux: près ou loin du méristème, le volume du nucléole a nettement diminué.

Remarque A l'intérieur d'une même coupe, dans une même région, tous les noyaux ne présentent pas un nucléole de même volume. Chaque noyau semble garder une individualité physiologique et par conséquent chaque cellule.

En résumé , nous pouvons dire que :

- la durée de vie est prolongée, avec le saccharose elle est de 7 jours, alors qu'elle n'était que de 4 jours dans le jeûne glucidique.
- le volume du noyau est généralement diminué au bout de 2 jours, puis il reste constant.
- le volume du nucléole dans la plupart des cellules diminue, mais cette diminution de volume est moins importante que dans le jeûne.
- le nombre de chromocentres est en moyenne 10 à 11.

L'épuisement des cellules est moins rapide, les noyaux sont moins rapidement modifiés.

Une nourriture exclusivement saccharique n'est pas suffisante pour assurer la vie des cellules, d'autres aliments sont nécessaires.

IV - SURVIE PAR LE SACCHAROSE

Nous avons fait jeûner les pointes et les fragments de vanille durant 3 jours, c'est à dire jusqu'à la limite de résistance au jeûne. Puis nous avons nourri les fragments de racine avec une solution de saccharose à 5%.

La vie des racines est alors prolongée. Le maximum de survie est de 4 jours.

Nous allons comparer la structure des noyaux à celle de noyaux ayant jeûné 3 jours.

I°- Cellule parenchymateuses

1er jour de survie (fig.36)

- même diminution de volume des cellules
- pas de " " " des noyaux
- le nucléole augmente de volume
- 9 chromocentres

2ème jour (fig.37)

- diminution de volume du nucléole

3ème jour fig.

- pas de changement net

4ème jour (fig.38)

- diminution importante de volume du nucléole

2° - Cellules à raphides

2ème jour de survie (fig. 39)

- le volume des cellules diminue
- le volume du noyau ne diminue pas
- de même, le volume du nucléole ne diminue pas, au contraire, il semble subir une légère augmentation de volume, il occupe le 1/4 du volume du noyau.

3° -- Cylindre central - Parenchyme interne

1er jour (fig. 40)

- noyau toujours de forme sphérique (légère diminution de volume des cellules.
- pas de diminution de volume du noyau
- nucléole sphérique dont le volume ne diminue pas comme il l'aurait fait si le jeûne avait été prolongé.

Le saccharose empêche l'épuisement total des réserves.

-- 8 à 9 chromocentres - réticulum net -

2ème jour (fig. 41)

- noyau sphérique
- pas de diminution de volume du noyau
- légère diminution de volume du nucléole: dans certaines cellules du parenchyme, cette diminution est plus nette, dans certains cas, les chromocentres ont une taille voisine de celle du nucléole (fig. 42)
- 8 à 9 chromocentres
- réticulum fin facilement observé

3ème jour

pas de changement appréciable

4ème jour (fig. 43)

diminution sensible du volume du nucléole.

CONCLUSION

- Cette étude de survie par le saccharose nous montre que ce sucre prolonge la vie des racines.
- Le volume des cellules diminue
- Par épuisement, le volume des noyaux semble diminuer aussi (comme dans le jeûne)
- Le nucléole diminue de volume après trois jours de jeûne. Si on nourrit la racine ensuite avec une solution de saccharose, le volume du nucléole augmente, mais, très rapidement, le saccharose ne suffit plus à la nutrition de la cellule, et le nucléole recommence à diminuer de volume.

Notons que la diminution de volume du nucléole est plus importante au bout de trois jours de jeûne qu'après trois jours de jeûne et 4 jours de survie, et surtout qu'après 7 jours de saccharose.

V - ACTION DE L'ACIDE ASCORBIQUE
SUR LA RACINE DE VANILLE

Acide ascorbique ou acide hexuronique: vitamine C

substance relativement simple, apparentée aux glucides

sa formule brute est $C_6 H_8 O_6$

on l'extrait de sucs de certains végétaux

on sait en faire la synthèse

L'acide ascorbique se présente sous la forme d'un solide blanc cristallisé, soluble dans l'eau.

Nous avons utilisé une solution d'acide ascorbique à I pour mille.

Nous avons pu maintenir des fragments de racine en vie en les arrosant (comme il a été expliqué précédemment) avec la solution à I/100 d'acide ascorbique.

La durée de vie était de 8 jours

A - Cellules de la région méristématique

3ème jour fig. 44

- diminution de volume des cellules
- légère diminution de volume du nucléole
- 6 à 7 gros chromocentres

4ème jour

pas de changement appréciable dans la structure nucléaire

5ème jour fig.45

dans certaines cellules, le volume du nucléole diminue.

B - Région méristématique

1°- Cellules parenchymateuses

5ème jour fig. 46

légère diminution du volume des cellules

" " " " du nucléole

9 à 11 chromocentres

6ème jour

7ème jour

pas de changements appréciables

8ème jour

dans la structure du noyau

mais nous observons une nette diminution de volume de la cellule et du noyau.

2°- Cellules à raphides

Elles présentent le même aspect que dans un fragment non traité (fig. 47)

Le volume des cellules est sensiblement le même

Le noyau est de forme parfaitement sphérique, comme dans les autres cellules.

Le nucléole, de volume très important, rond, occupe le 1/4 ou le 1/5 du volume du noyau.

Il est entouré d'un léger cerne.

10 chromocentres nets sont répartis dans le nucléoplasme mais dans certains noyaux ils peuvent être réduits à de fines granulations réparties sur les intersections d'un réticulum très fin et très serré (fig. 48)

3°- Cylindre central - Parenchyme interne

2_jours Le noyau a le même aspect qu'avant le jeûne (fig.49)

Le nucléole est très nettement coloré, sphérique,
même volume qu'avant le jeûne.

Présence d'un léger cerne périnucléolaire

10 à 11 chromocentres

(Nous trouvons, comme dans toutes les coupes, quelques
gros noyaux à nucléole très gros, les chromocentres
sont alors plus petits, le réticulum formé de
petites mailles serrées est nettement observable)

fig. 50.

3_jours fig. 51

Légère diminution de volume du nucléole

8 gros chromocentres

4_jours pas de changement de la structure du noyau

5_jours diminution de volume du nucléole (fig. 52)

apparition dans le parenchyme de noyaux à nucléole
réduit (fig. 53)

6_jours l'aspect du noyau est le même

dans les cellules proches des vaisseaux conducteurs
les noyaux présentent aussi un nucléole réduit fig 54

7_jours la structure des noyaux ne présente pas de modifi-
cations sensibles.

VI - SURVIE PAR L'ACIDE ASCORBIQUE

Après trois jours de jeûne, nous avons traité les racines de vanille avec une solution à 1 o/oo d'acide ascorbique. La vie des fragments soumis à ce traitement est prolongée de 4 jours.

Nous allons étudier les caractères des noyaux au cours de ce traitement, et les comparer avec des noyaux de fragments ayant jeûné 3 jours.

1°- Cellules parenchymateuses (fig. 56)

- diminution de volume des cellules
- " " " des noyaux
- mais pas de diminution de volume du nucléole
7 à 8 chromocentres

2°- Cellules à raphides (fig. 57)

- diminution de volume des cellules
- " " " des noyaux
- légère diminution de volume du nucléole
8 à 9 chromocentres

3°- Cylindre central - Parenchyme interne

- 1er jour de survie la coupe a été faite dans un fragment de la racine éloigné du méristème.
Le nucléole est de volume assez réduit (phénomène général chez les cellules les plus éloignées du méristème) fig. 58

2ème jour

3ème jour

pas de diminution de volume du nucléole
même nombre de chromocentres: 8 à 10 (fig. 59)

4ème jour

fig. 60.- La coupe a été faite dans une
extrémité de racine.

Si nous comparons ces noyaux avec ceux de fragments maintenus
en survie par une solution de saccharose pendant 4 jours, nous
constatons que :

le nucléole a moins diminué de volume dans le fragment maintenu
en vie par l'acide ascorbique.

les cellules s'épuisent moins vite: ceci est surtout visible
pour les cellules du parenchyme.

VII - SURVIE PAR
LE SACCHAROSE
L'ACIDE ASCORBIQUE

Après trois jours de jeûne, nous avons nourri des racines de vanille pendant deux jours avec du saccharose à 5 o/o. Puis nous les avons maintenues avec l'acide ascorbique à 1 o/oo durant 3 jours.

Nous comparerons les caractères des noyaux à ceux d'une racine en survie depuis 2 jours, par le saccharose.

1° - Cellules parenchymateuses - fig. 61, 62, et 63.

L'aspect des noyaux de ces cellules ne change pas
Le nucléole garde le même volume.

2° - Cellules à raphides - fig. 64 et 65.

Nous observons une légère diminution de volume du nucléole.

3° - Cylindre central - Parenchyme interne - fig. 66, 67 et 68.

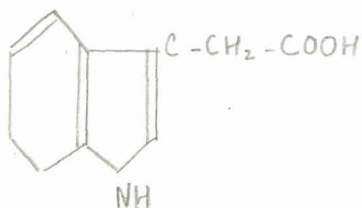
Nous observons une diminution peu importante et très progressive du nucléole.

Le volume du nucléole semble avoir diminué un peu moins que dans la survie avec le saccharose seul.

VIII - ACTION DE L'ACIDE INDOLE B ACETIQUE SUR
LA STRUCTURE NUCLEAIRE DE LA VANILLE

L'acide indole B acétique ou hétéro auxine joue un rôle important dans la croissance des cellules.

Il est étroitement apparenté au tryptophane (acide aminé) par sa formule



Des fragments de vanille ont été traités par une solution à 1 pour 10.000 d'acide indole B acétique.

La durée de vie semble être assez courte: 6 jours.

A - Région méristématique

3_jours

fig. 69

- diminution rapide du volume de la cellule
- légère diminution du volume du noyau (toujours sphérique)
- le nucléole sphérique, bien coloré, ne subit pas de diminution de volume
- moyenne de 10 chromocentres par noyau.

5_jours

fig. 70 -

- nouvelle diminution de volume de la cellule, mais dans de faibles proportions.
- le volume du noyau ne varie pas
- le nucléole subit une légère diminution de volume

6_jours

fig. 71

- très légère diminution de volume du nucléole.

B - Région supra-meristématique

I°- Cellules parenchymateuses

3_jours fig. 72

- le volume de la cellule diminue un peu, surtout lorsque l'on s'éloigne du méristème.
- le volume du noyau diminue de la même façon au fur et à mesure que l'on s'éloigne du méristème.
- 8 à 9 chromocentres.

5_jours fig. 73

- le noyau présente les mêmes caractères, nous observons cependant :
- une légère diminution de volume du nucléole.

6_jours fig. 73 bis

- la structure du noyau ne semble pas évoluer
- nombre moyen de chromocentres : 8

2°- Cellules à raphides

3_jours fig. 74

- diminution du volume des cellules
- légère diminution de volume du noyau
- le volume du nucléole ne diminue pas. En effet, il occupe environ le 1/4 du volume du noyau. (dans de jeunes cellules à raphides, très rares nous trouvons 2 nucléoles dont le volume total équivaut au volume du nucléole unique)
- nombre moyen de chromocentres: 9

5_jours

6_jours Nous ne notons aucun changement dans la structure nucléaire.

3°- Cylindre central - Parenchyme interne

2_jours fig. 75

- diminution rapide de volume des cellules
et du noyau
- diminution plus faible du volume du nucléole
présence d'un cerne périnucléolaire
- 9 à 11 chromocentres
- le nucléoplasme clair montre un léger réseau
de chromatine à mailles fines, fréquemment
interrompu.

3_jours fig 76

- pas de changement dans le nucléole

4_jours

- dans les cellules les plus éloignées du méris-
tème (fig. 77 et 78), le volume du nucléole
diminue.

Cette diminution est plus importante dans les
cellules du parenchyme interne que dans celles
du cylindre central.

5_jours fig. 79

- la diminution de volume du nucléole se généralise
dans toutes les cellules.

6_jours fig. 80

- nous ne notons aucune évolution dans la struc-
ture nucléaire.

Si nous comparons la structure nucléaire après 6 jours d'acide indol 3 acétique, avec celle obtenue par nutrition pendant 6 jours avec le saccharose, nous constatons que :

- le nucléole des cellules proches du méristème (cylindre central, parenchyme, cellules à raphides) ne subit qu'une faible diminution de volume.
- le nucléole des cellules éloignées du méristème diminue davantage.

En comparant cette structure nucléaire avec celle d'une racine soumise pendant 6 jours à l'acide ascorbique, nous faisons la même constatation.

La diminution du nucléole augmente avec la distance
du méristème.

IX - SURVIE PAR L'ACIDE INDOL B ACETIQUE

Une solution à 1 0/000 d'acide indol B acétique prolonge de 3 jours des racines de vanille soumises pendant 3 jours au jeûne

Comparons la structure nucléaire des racines maintenues en survie par l'acide indol B acétique, à celle des racines ayant jeûné 3 jours.

A - Région méristématique

1er jour de survie fig. 81

- le volume de la cellule n'a pas diminué
- " " du noyau " " "
- le volume du nucléole semble subir un léger accroissement
- 8 à 9 chromocentres

3ème jour de survie fig. 82

- le volume de la cellule ne diminue pas
- " " du noyau " " "
- le volume du nucléole commence à diminuer très légèrement.

B - Région supra-méristématique

I °- Cellules parenchymateuses

1er jour de survie fig. 83 et 84

- les volumes de la cellule et du noyau n'ont pas changé
- le volume du nucléole augmente nettement, à quelque distance que l'on soit du méristème.

2ème jour

- le volume de la cellule diminue un peu
- le noyau garde le même volume
- dans les cellules éloignées du méristème, le nucléole subit une légère diminution de volume (fig. 86)
- dans les cellules proches du méristème, son volume reste constant (fig. 85)

3ème jour

- le volume de la cellule diminue un peu
- " " du noyau " " "
- le volume du nucléole diminue très légèrement près du méristème (fig.87)
- " " " " " " davantage quand on s'éloigne du méristème (fig.88)

2°- Cellules à raphides

(Dans de très jeunes cellules, très rares : deux nucléoles)

1^{er} jour fig 89

- pas de diminution de volume de la cellule
- " " " " " du noyau
- le volume du nucléole augmente un peu

2ème jour fig 90

- diminution de volume de la cellule
- " " " " du noyau
- légère diminution de volume du nucléole

3ème jour fig 91

- le noyau présente les mêmes caractères que précédemment

Remarquons que dans ces cellules, la diminution de volume du nucléole est faible.

3°- Cylindre central - Parenchyme interne

1^{er} jour de survie fig 92 et 93

nous comparons la structure nucléaire dans ces cellules à celles des racines ayant jeûné 3 jours.

- le volume de la cellule diminue
- le nucléole augmente de volume - présence d'un cerne périnucléolaire.
- 9 à 11 chromocentres selon la taille
- nucléoplasme clair où on distingue un réticulum à mailles assez lâches, fréquemment interrompu.

2^{ème} jour fig. 94 et 95

- diminution de volume du nucléole, nette surtout dans les cellules du parenchyme plus éloignées de la région méristématique.

3^{ème} jour fig. 96 et 97

- nouvelle diminution de volume du nucléole dans toutes les cellules.

Si nous comparons la structure nucléaire après 3 jours de survie grâce à l'acide indol B acétique, à celle obtenue par la survie avec le saccharose ou avec l'acide ascorbique, nous constatons une diminution de volume du nucléole plus importante, surtout si l'on considère les cellules éloignées du méristème.

CONCLUSION

Les observations que nous avons faites sur les racines de VANILLA PLANIFOLIA examinées avant les expériences ou soumises à des traitements divers, nous prouvent que les noyaux de la vanille sont très polymorphes.

Leurs réactions aux différentes conditions de nutrition peuvent être différentes - dans les divers territoires de la racine
- à l'intérieur d'un même territoire
dans les différentes cellules.

Chaque cellule des tissus différenciés offre une physiologie qui lui est propre.

D'une façon générale :

- le rapport des volumes $\frac{\text{du nucléole}}{\text{du cytoplasme}}$ est sensiblement constant
- le volume du nucléole est directement lié à la nutrition

Il est important dans les racines n'ayant subi aucun traitement.

Il diminue dans des proportions importantes durant le jeûne (réduit 4 à 5 fois)

La vie des cellules est prolongée par nutrition avec une solution

- (de saccharose
- (d'acide ascorbique
- (ou d'acide indol B acétique

et le volume du nucléole subit des variations en relation avec l'action de ces substances.

Nous constatons cependant un épuisement relativement rapide des cellules, car la nutrition expérimentale utilisée est incomplète.

Le nucléole nous apparaît donc bien comme un organite sensible aux variations du métabolisme.

Le nombre, le volume des chromocentres varient peu au cours des différentes expériences. Cette stabilité relative pourrait résulter de la différenciation précoce des cellules.

BIBLIOGRAPHIE

EFTIMIU-HEIM (Mme Panoa)

- Recherches sur le noyau des Orchidées

Le Botaniste, série XXXI, 1941, pp 65-110, pl VI - IX

HOCQUETTE (M.)

- Quelques aspects de la physiologie cellulaire

Biologisch Jaarboek, Gand 1950, pp 40-48

- Considérations sur quelques problèmes de cytophysiologie

Bull. Soc.Bot.Nord de la France - T.IV,1951,pp 1-6.

HOCQUETTE (M.) et PRUDHONNE (V.)

- Le noyau quiescent de l'axe hypocotylé de *Phaseolus vulgaris* L

C.R. des séances de l'Académie des Sciences

T 234, 1952, pp 1303-5.

- La structure nucléaire de l'axe hypocotylé de *Phaseolus vulgaris* pendant le jeûne glucidique et au cours des diverses étapes de la régénération cellulaire.

C.R. Acad.des Sciences, T 234, 1952, pp.1772-74

HOCQUETTE (Mr et Mme M.)

- Région hétérochromatique du noyau quiescent de *Cucurbita* et de *Phaseolus*. Action de l'acide folique

C.R. Acad.des Sciences. T.236, 1953, pp. 841-4

- Note de cytophysiologie

Bull.Soc.bot. nord de la France. T VI,1953, pp.18-20

- Rôle physiologique du nucléole dans un noyau quiescent
CR. du 8^{ème} Congrès Bot. 1954, Sect. 9 & 10, pp.107-8

HOCQUETTE (M.)

- Noyaux interphasiques et noyaux quiescents (type à chro-
mosomes) Acide désoxyribonucléique et individualité des
chromosomes.

CR. VIIIème congrès Bot. 1954, Sect. 9 & 10, pp.106-7

- Amas chromatiques, nucléoles et synthèse protidique
CR. Académie des Sciences, T.238, 1954, pp.607-8.

HOCQUETTE (M.) GILBIN (B.) et HUTIN (R.)

- Action de l'acide Indol B acétique sur les noyaux
quiescents au cours de la synthèse protidique.

Noyaux à euchromosomes.

CR. Académie des Sciences 1955, T.240; pp.1126-27.

HOCQUETTE (M.) LAMBERT (G.) et FOVET (M.)

- Structure nucléaire de *Pisum sativum*.

CR. Acad. Sciences 1956, T.242, pp. 815-97.

HOCQUETTE (M.) et BRUNNEL (J.P.)

- La structure nucléaire du noyau d'*Allium cepa*
Ses modifications avec la physiologie cellulaire.

CR. Acad. Sciences 1956, T.245, pp. 2132-33.

HOCQUETTE (M.) et LANTREIBECQ (Y.)

- La région périnucléolaire de quelques types de noyaux
de végétaux supérieurs.

CR. Acad. Sciences 1957, T.244, pp 490-91.

HOCQUETTE et RIGAUT (J.)

- Acide ascorbique et Structure nucléaire chez *Phaseolus vulgaris*.

CR Acad. Sciences 1957; T.245, pp.2061-2083

HUREL-PY (Mme G.)

- Etude des noyaux végétatifs de *Vanilla planifolia*
Revue de Cytologie et Cyto physiologie
1939, TIII, pp 129-132.

