

Techniques

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **11 (1955-1956)**

Heft 6

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

PREMIERE PARTIE

Techniques

1. *Matériel.*

Ainsi que nous l'avons relevé dans l'avant-propos, les recherches de notre laboratoire ont porté sur le *Lens culinaris* MED., qui est un matériel facile à cultiver, tant par la croissance rectiligne de ses racines, que par le pourcentage élevé de ses germinations. L'étude cyto-physiologique des pointes de racines qui nous a été proposée nous a conduit à utiliser la même plante, puisque nous savions par les travaux antérieurs quelles étaient les conditions du développement radicaire (80, 85, 98). En outre, les cellules possèdent $2n = 14$ chromosomes (SAKAMURA, 1920, cité par HEITZ, 44), nombre assez bas pour permettre une étude précise du comportement de la mitose. Cet argument d'ordre morphologique justifie le choix que nous avons fait.

2. *Technique de culture.*

La mise en germination des graines a toujours été précédée de leur imbibition dans de l'eau tiède et à l'obscurité pendant 48 heures, après contrôle du pouvoir germinatif de chaque lot à l'aide du chlorure de 2, 3, 5 - triphényltétrazolium à 1 % (cf. PILET, 80). A la suite de cette opération préliminaire, les graines étaient placées dans le milieu de culture approprié.

Le développement des racines de *Lens* en fonction des facteurs externes susceptibles de l'influencer a été étudié méthodiquement par PILET (80) qui a mis au point une méthode généralement employée au laboratoire, et plus récemment, par PILET et WENT (98). Ainsi, la plupart des cultures ont été faites en boîte de Petri, sur papier-filtre, ou en sciure humide, milieux que nous préciserons lors de chaque expérience. Nous ne sommes donc pas revenu sur l'analyse des conditions de température, d'humidité ou d'éclairage, mais nous mentionnerons chaque fois les limites dans lesquelles nous nous sommes placé, nous bornant ainsi à renvoyer aux études susmentionnées.

3. *Traitements.*

Ils ont été effectués au moyen d'acide β -indolyl-acétique (ABIA) et d'hydrazide maléique (HM). Les concentrations, comme les applications ayant varié, nous préciserons également les conditions pour chacun des essais.

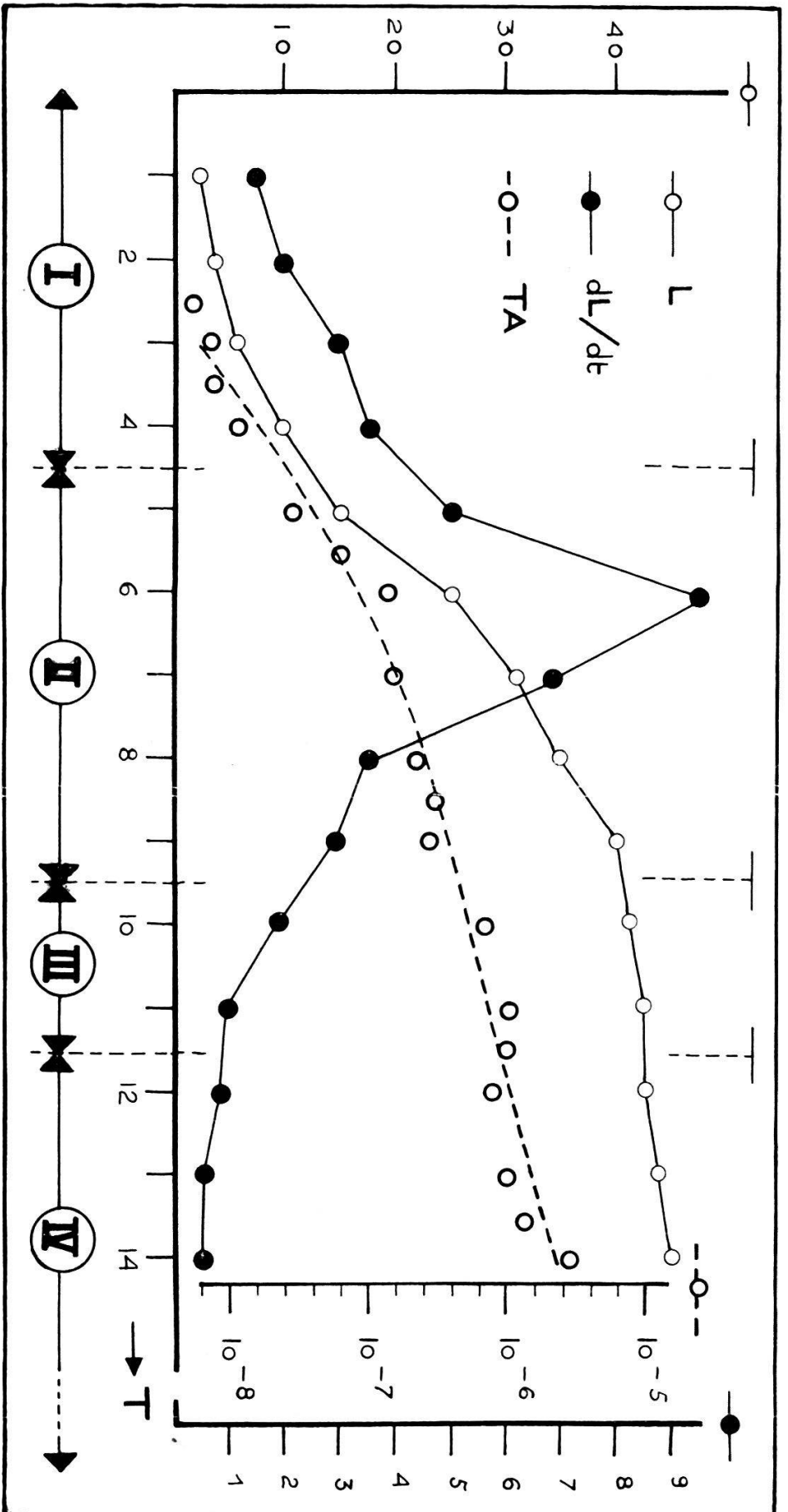


Fig. 1. — Les phases de la croissance radiculaire.

L == Longueur totale des racines, en mm. — dL/dt == Vitesse d'allongement, en mm/24 h.
 TA == Teneur en auxines, en mol. ABIA / 200 mgr de poids frais, pour des fragments prélevés à $5 \cdot 10^{-1}$ mm du sommet et longs de $25 \cdot 10^{-1}$ mm.
 T == Temps en jours, compté à partir du début de la germination (racine : $1 \cdot 10^{-1}$ mm).

(D'après P.-E. PIER : *Mém. Soc. vaud. Sc. nat.* 10, 137, 1951. — *Experientia* VII/7, 262, 1951. *Phyton* (Austria) 4, 247, 1953. — *Bull. Soc. Bot. suisse* 66, 26, 1956.)

4. *Choix des racines.*

a) *Avant traitement* : Dans la plupart des cas, les lots de graines ont été cependant traités au moment de la mise en culture, et il est clair qu'aucune question de choix n'intervenait. Mais dans quelques expériences, nous avons soumis au traitement des racines âgées de quelques jours, ce qui nous a obligé à agir avec prudence : en effet, des racines peuvent avoir même longueur et un âge différent, ou même âge et longueur différente, et, de ce fait, présenter un comportement tout autre : cette même remarque nous oblige ainsi à tenir compte de la teneur des racines en auxines (PILET, 80, 82, 83), et de leur activité enzymatique (PILET, 91; PILET et GALSTON, 94). C'est la raison pour laquelle tous les traitements auxiniques n'ont été effectués que sur des racines de même âge et de même longueur.

b) *Après traitement* : Nous aurons l'occasion de constater que l'activité mitotique de la racine décroît au fur et à mesure que cette dernière s'allonge [cf. chap. 1 (3)]. Cependant, elle est sensiblement la même chez les racines d'âge égal, tandis que chez des racines très jeunes, des différences minimales de longueur ne correspondent pas à des activités méristématiques différentes. Pour l'examen du taux des mitoses, nous avons toutefois prélevé régulièrement des racines de même longueur.

La récolte des racines s'est faite généralement durant des périodes assez courtes, qui correspondaient précisément à la durée des essais, soit, au maximum 12 jours; ce temps marque en effet la succession des trois phases de la croissance radriculaire, susceptibles de nous intéresser (fig. 1) :

Comme nous le verrons dans l'étude du comportement rythmique des cinèses méristématiques, l'activité mitotique n'est pas du tout constante durant la journée; c'est pourquoi dans chaque série de recherches, nous avons effectué les prélèvements des racines à la même heure, soit généralement à 10 heures.

Enfin, nous devons remarquer ici qu'il n'est pas égal, au point de vue mitotique, d'examiner des racines provenant de cultures où elles étaient serrées les unes contre les autres, ou, au contraire, dispersées. En effet, il pourrait arriver que dans le premier cas, ces racines aient poussé dans une région où la teneur en eau, par exemple, différait de celle du reste de la culture : les résultats acquis par l'étude d'un tel groupe serré ne donneraient pas une image exacte de l'essai réalisé. Nous avons pensé qu'il était préférable de prélever des racines dans toute l'étendue de la culture, et nous verrons au paragraphe 9 un exemple pratique qui nous permet de justifier cette méthode.

5. *Technique cytologique préparatoire.*

Pour examiner l'activité mitotique d'une pointe de racine, on peut procéder par dissociation de l'extrémité de la pointe entière, après coloration, sur lame (dite méthode d'étalement) ou par la technique habituelle d'inclusion, de coupe et de coloration.

La première méthode, préconisée par LA COUR (55) est rapide; elle a l'avantage de réduire considérablement la durée des manipulations préparatoires. Nous avons estimé toutefois qu'elle ne répondait pas au but que nous nous étions proposé, parce que, en dissociant ainsi le méristème, on conserve des cellules de la coiffe, ou de régions déjà différenciées, donc pratiquement hors du méristème. En outre, dès nos premières recherches, nous avons constaté que certaines mitoses avaient un axe fusorien désorienté relativement à l'axe principal de la racine (fig. 2 A). Nous avons primitivement l'intention de diriger notre étude dans cette voie, et il eût été impossible de faire des mesures relatives à ces déviations par la méthode de dissociation. Toutefois, les résultats statistiques ne nous ont pas permis de tirer de nombreuses conclusions sur l'importance de ce phénomène, mises à part nos recherches sur l'HA. Nous avons donc choisi la seconde méthode, et pratiqué de la façon suivante :

Les pointes de racines, longues de 5 à 8 mm, ont été fixées pendant 24 heures à l'aide de la solution de Nawaschine : formol à 16 % : 8 cc, acide acétique glacial : 2 cc, et acide chromique à 1 % : 20 cc. Après quoi, les organes étaient déshydratés à l'alcool, selon les techniques courantes. Afin d'éviter le passage dans le xylol, qui durcit généralement les organes, nous avons utilisé l'essence de cèdre, d'abord en solution alcoolique de plus en plus saturée, puis pure. Une variante permettant de raccourcir ce temps d'éclaircissement a donné de bons résultats avec l'emploi d'acétate d'amyle. Enfin, les racines étaient incluses dans la paraffine.

Les coupes longitudinales, d'une épaisseur de 10 μ ont été sériées, et nous avons choisi régulièrement les 10 coupes les plus axiales. La coloration s'est effectuée au moyen de cristal-violet, selon les indications de GAGNEU (27) et JOHANSEN (47) : la méthode est rapide et donne d'excellents résultats, les noyaux colorés en violet se détachant sur un fond très clair, si l'on a eu soin de différencier très rapidement à l'alcool, puis à l'essence de girofle. Nous avons remarqué cependant que le cristal-violet n'est pas à recommander pour des préparations durables, car il s'atténue au bout de quelques mois déjà.

6. *La notion de méristème.*

Le terme de méristème est une désignation complexe, qui, dans son sens le plus large, représente l'ensemble des cellules d'un tissu en voie de division. En ce qui concerne le méristème radicaire, il est très difficile de le localiser exactement, et nous avons remarqué qu'il existait une certaine confusion entre les auteurs; les connaissances acquises à son sujet étant beaucoup moins nombreuses que celles du méristème caulinaire, par exemple.

Au point de vue morphologique, ESAU (24) a désigné par méristème apical (ou apex radicaire) l'ensemble des cellules initiales

et de leurs dérivées immédiates, tant que celles-ci ne sont pas nettement différenciées. Cet auteur a insisté sur le fait que le méristème ne se délimite que très mal puisque la différenciation cellulaire se déroule de façon continue, tant morphologiquement que physiologiquement. Au point de vue cytologique, KAPLAN (49) a proposé le terme d'euméristème, pour nommer un tissu dont les cellules, ayant un protoplasme abondant et des parois minces, sont isodiamétriques. Les cellules initiales, qui ne sont pas isodiamétriques, devraient être exclues de cette dénomination. En outre, elles se divisent toujours de la même manière, ce qui n'est pas le cas pour leurs dérivées.

Enfin, les recherches physiologiques de PILET (80, 81, 89), et de PILET et MEYLAN (96), ont permis à ces auteurs de constater que c'est au niveau des cellules en voie de division que la circulation latérale des auxines est la plus abondante. Cette région se caractérise donc physiologiquement par un gradient propre. Toutefois, il n'est pratiquement pas possible de séparer nettement la zone de division de celle de l'élongation cellulaire, des mitoses se rencontrant encore abondamment dans les régions où les cellules ont commencé leur élongation.

Nous inspirant de ces quelques remarques, nous avons décidé de tenir compte à la fois des critères morphologiques, cytologiques et physiologiques, et de désigner dans ce travail par méristème le tissu en voie de division, dérivé des initiales, et comprenant des cellules isodiamétriques. Nous insistons encore sur la difficulté à fixer la limite proximale, l'importante notion physiologique développée ci-dessus ne pouvant être utilisée comme critère chez des tissus fixés.

7. Morphologie chromosomique.

La détermination du nombre chromosomique de *Lens* a été établie en 1920 par SAKAMURA (cité par HEITZ, 44). HEITZ (44) a confirmé le nombre $2n = 14$, et une description détaillée du déroulement de la mitose a été donnée par MIRANDA (72). Enfin, SENN (105) également, a été amené à confirmer les travaux précédents en établissant une carte phylogénétique de la famille des Légumineuses. Il a précisé que $2n = 14$ est commun à toutes les variétés de *Lens*. Nous n'avons donc pas jugé utile de reprendre l'étude de la cinétique chromosomique de *Lens*, ni la description du noyau au repos.

8. L'index mitotique.

a) *Travaux antérieurs* : plusieurs auteurs se sont intéressés à la numération des cinèses méristématiques, et un certain nombre de méthodes ont été proposées dans l'intention d'établir leurs fréquences. Un des premiers modes d'expression a été formulé en 1917 par MINOT (71), qui a défini le pourcentage du nombre total des mitoses comptées dans un

même tissu, par le terme d'« index mitotique ». Par la suite, cette notation a été modifiée et surtout précisée, et l'index mitotique a été considéré depuis comme étant le rapport

$$\text{index mitotique} = \frac{\text{nombre de cinèses}}{1000 \text{ cellules}}$$

Dans ses recherches sur la durée des phases mitotiques chez l'*Allium cepa*, LAUGHLIN (58) a examiné un nombre de champs suffisant pour y compter 1000 cellules, à l'aide des méthodes classiques de coupe et d'inclusion. Ces champs étaient compris entre la pointe de la racine et une distance de celle-ci égale à deux diamètres radiculaires.

Une autre méthode a été proposée par PIRES SOARES (99) : dans ses travaux sur les cultures de tissus animaux, cet auteur définit l'index mitotique comme étant le rapport du nombre de cinèses au nombre de cellules en repos. Nous estimons que cette notation est critiquable, car elle conduit inévitablement à des erreurs d'interprétation : un index de 100 % ne correspond ainsi qu'à la moitié des cellules en voie de division, objection relevée d'ailleurs par DEYSSON (16).

On peut évidemment utiliser la notion d'index mitotique sans préciser le nombre de cellules compté réellement. Ainsi, l'on peut rapporter les résultats, soit à 100 cellules, soit à 1000 cellules; mais dans les deux cas, toute méthode aura une valeur très restreinte si l'on ne recense pas un nombre de cellules supérieur à 100 ou à 1000. MEITES (67) a bien indiqué ses résultats relativement à 1000 cellules dans ses recherches sur les racines d'*Allium* et de *Lupinus*, mais il n'a pas précisé le nombre total compté réellement. Tandis que DEYSSON (16) a examiné un nombre de cinèses pour 1500 à 3000 cellules, puis il ramenait l'index à 1000 cellules. Dans l'intention de décrire les rythmes stathmocinétiques chez les racines d'*Allium*, MANGENOT (65) a établi des cartes des régions méristématiques, où étaient reportés les divers stades mitotiques comptés parmi 300 à 1300 cellules, et ramenés à 100 cellules.

D'autres méthodes de recensements mitotiques ont été utilisées (WAGNER 111, PATTERSON 79), où l'on ne s'est pas servi de la notation dont nous venons de parler. Bien que parfaitement justifiées dans les recherches auxquelles elles se rapportaient, nous ne les avons pas utilisées, car elles ne pouvaient servir à l'étude que nous nous étions proposée.

b) *Technique personnelle.* Nous avons procédé aux recensements mitotiques de la façon suivante :

parmi les dix coupes longitudinales voisines du plan sagittal, nous avons choisi celle qui paraissait être la plus axiale (en fait, la plus large, à un niveau donné), afin d'être à peu près certain de pouvoir comparer toujours les mêmes régions méristématiques (fig. 2 B). Lorsque les coupes sont légèrement éloignées de l'axe de la racine, ou quelque peu obliques (ce cas est fréquent, vu la difficulté d'orienter la racine au moment où on la coupe), des modifications peuvent intervenir dans l'index mitotique. A ce propos, pour rechercher dans quelle mesure ces variations pouvaient influencer nos résultats, nous avons déterminé l'index mitotique dans des coupes sagittales et dans des coupes faites à une certaine distance de celles-ci (tableau I):

TABLEAU I

Variation de l'index mitotique à des distances variables du plan sagittal

Lot	Distance de l'axe	Nombre de cell.	Nombre de mit.	Ind. mit. ^{0/100}
A	0	665	115	172
	40 μ	627	102	169
B	0	1276	165	128
	60 μ	1285	159	124
C	0	986	74	74
	90 μ	1104	80	72

Nous constatons que les amplitudes sont faibles : la valeur de l'index mitotique décroît légèrement lorsqu'on s'éloigne de l'axe de la racine, résultat auquel on pouvait du reste facilement s'attendre. En fait, les écarts dus à l'impossibilité d'orienter parfaitement les coupes n'ont pas de grande importance.

Nous inspirant de la méthode de MANGENOT (65), et à l'aide d'un microscope muni d'une chambre claire, nous avons reporté sur papier le nombre total de noyaux visibles dans le

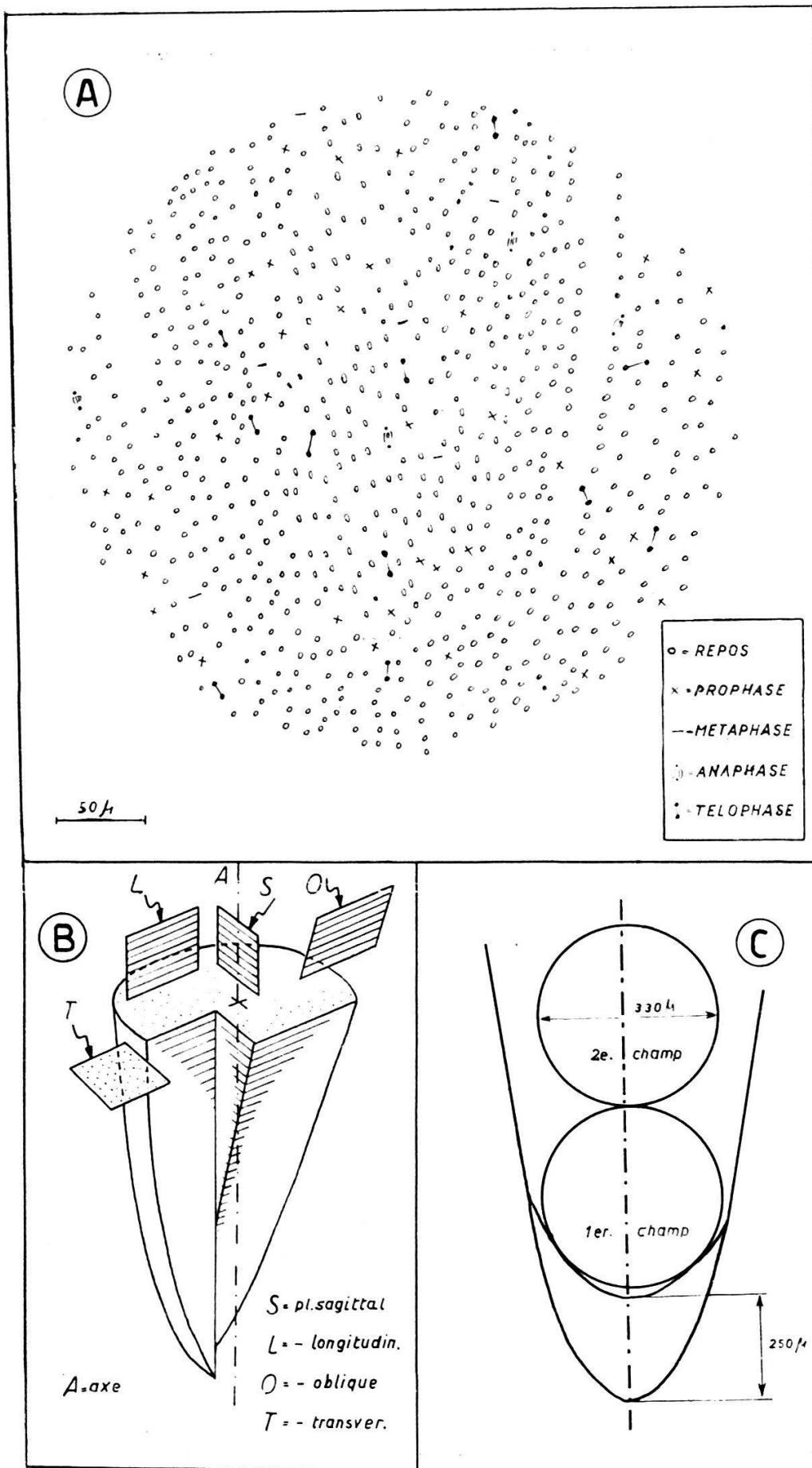


FIG. 2. — Technique des recensements :

- A — diagramme d'une pointe de racine normale ;
- B — orientation de la coupe ;
- C — disposition des champs microscopiques.

champ microscopique des coupes choisies, en indiquant chaque stade par un signe approprié, pour les compter ensuite. Nous avons jugé plus commode de ne considérer que les cinq stades classiques de la mitose, soit l'interphase, la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase. Les étapes intermédiaires, souvent plus difficiles à préciser, ont été intégrées de cette façon dans les cinq stades. La figure 2 A montre le diagramme d'une coupe effectuée dans la pointe d'une racine normale.

Dans la région méristématique, le champ microscopique ayant un diamètre de 350 μ nous a permis de dénombrer en moyenne 500 à 600 noyaux. Estimant qu'il était nécessaire, comme nous l'avons vu plus haut, de recenser le plus grand nombre de noyaux, nous avons toujours examiné deux champs microscopiques, pris à partir des initiales, et tangents sur l'axe principal de la racine (fig. 2 C). De cette façon, nos observations sortaient quelque peu des limites du méristème proprement dit (c'est-à-dire, hors de la zone des cellules isodiamétriques), mais comme nous étions toujours dans la zone de division, nous justifions notre méthode selon les remarques faites au paragraphe 6 à propos du méristème.

Ainsi, nous avons pu observer, au total, un nombre de noyaux toujours supérieur à 1000, ce qui nous a permis d'accorder une valeur assez bonne à nos déterminations d'index mitotiques. Signalons cependant que lors des traitements à l'hydrazide maléique, nous avons dû faire une exception : dans ces cas, en effet, les racines se caractérisent, entre autres, par une augmentation du volume cellulaire, et donc par une diminution du nombre des cellules pour les champs considérés, si bien que nous aurions bien largement dépassé la limite méristématique proximale, si nous avions voulu recenser 1000 cellules. Nous avons donc dû nous borner à n'établir des index mitotiques qu'à partir de 600 à 800 cellules en moyenne.

9. Application : détermination de l'index mitotique dans deux prélèvements de racines non traitées.

Pour illustrer la méthode décrite ci-dessus et préciser nos conditions de mesure, nous avons réalisé au début de nos recherches, l'essai suivant : un prélèvement local de racines a été effectué dans une culture de plantules non traitées, et âgées de 3 jours : ces racines étaient donc serrées les unes contre les autres, et nous avons déterminé leur index mitotique. Nous avons trouvé les valeurs suivantes pour chaque racine : 117, 112, 116, 124, 115.

Nous avons alors cherché la moyenne réelle de ce groupement, à l'aide du calcul des probabilités², ce qui nous a permis de dresser le tableau II A :

TABLEAU II A							TABLEAU II B						
Racine	I. M.	d	d ²	σ ²	σ	E	Racine	I. M.	d	d ²	σ ²	σ	E
a	117	0	0				f	106	1	1			
b	112	5	25				g	115	10	100			
c	116	1	1				h	95	10	100			
d	124	7	49				i	107	2	4			
e	115	2	4				j	102	3	9			
$\bar{X} = 117$		$\Sigma d^2 = 79$		19,7	4,4	1,9	$\bar{X} = 105$		$\Sigma d^2 = 214$		53,5	7,3	3,2

TABLEAU II : *variation de l'index mitotique en fonction de la nature du prélèvement.*

d = différence entre la moyenne \bar{x} et chaque variant.

σ² = variance; σ = écart-type; E = erreur moyenne de la moyenne.

Cet essai nous montre des valeurs assez proches les unes des autres, et, comme les racines avaient poussé ensemble dans une zone très restreinte, nous avons supposé qu'elles pouvaient présenter une stimulation mitotique réciproque, hypothèse qui rejoindrait la théorie du rayonnement mitogénétique de GURWITSCH (43)³.

Nous ne sommes toutefois pas certain d'avoir dans toute la culture des conditions absolument identiques de croissance : nous avons déjà relevé au paragraphe 4 l'importance de ce

² Rappelons qu'un collectif se caractérise par trois paramètres : la moyenne, l'écart-type, et l'erreur moyenne (ou précision de la moyenne).

Après avoir fait la moyenne arithmétique \bar{x} des n mesures, on détermine la somme des carrés des différences d entre chaque mesure et la moyenne; on obtient alors la valeur de l'écart-type :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}}$$

puis de l'erreur moyenne de la moyenne : $E = \frac{3}{\sqrt{n}}$

Ce dernier paramètre est très utile pour localiser la moyenne réelle; en physiologie, on compte qu'il y a 95 % de chances pour que cette dernière soit comprise entre $x \pm 2 E$.

³ Dans cette théorie, il était supposé que des organes en voie de croissance induisent chez leurs voisins immédiats une augmentation de la fréquence des mitoses, et réciproquement, grâce à l'émission d'un rayonnement hypothétique.

facteur, et nous avons plutôt supposé qu'il pouvait exister dans une culture un certain nombre de zones, où les racines présenteraient une activité mitotique semblable. C'est pourquoi, parallèlement à l'essai qui vient d'être décrit, nous avons recherché dans les mêmes conditions l'index mitotique d'une série de racines prélevées au hasard, dans toute la même cuve à culture, en admettant cette fois, que chacune représenterait une zone d'activité. Nous avons alors établi le tableau II B.

Nous remarquons que les valeurs sont plus éloignées les unes des autres que précédemment. Elles nous indiquent que les différences observées vont à l'encontre d'une stimulation commune à toute la culture. Et comme nous le faisons remarquer, elles représentent peut-être des zones d'imbibition variable de la sciure.

C'est pourquoi, dans l'intention d'obtenir une représentation plus conforme de l'ensemble d'une culture, nous avons prélevé les racines au hasard dans tous les essais. Pour chaque lot, les différences n'étant pas considérables, nous avons effectué les déterminations d'index mitotiques sur cinq racines, nombre relativement bas, mais imposé par la longueur des techniques préparatoires.

DEUXIEME PARTIE

Le rythme des mitoses

1. *Introduction.*

Beaucoup de phénomènes dont la plante est le siège présentent des variations d'intensité dans leur déroulement quotidien. Ainsi, l'on a pu mettre en évidence depuis longtemps déjà, une série de processus à périodicité nycthémerale, tels que la photosynthèse, la respiration, la transpiration, la vitesse de croissance, la perméabilité, les mouvements d'ouverture et de fermeture des fleurs, les mouvements de veille et de sommeil chez certaines feuilles, etc. Alors qu'autrefois on attribuait ces variations à des causes exogènes (par exemple, l'alternance du jour et de la nuit, ou d'autres facteurs physiques ambiants), depuis une trentaine d'années, on fait appel de plus en plus à des actions endogènes, c'est-à-dire liées étroitement au métabolisme d'un organe ou de la plante, conséquences en dernier lieu de facteurs exogènes.

Au reste, les organes eux-mêmes sont soumis à des variations rythmiques journalières, et plus particulièrement, ceux