

# EVOLUTION CHROMOSOMIQUE EN RAPPORT AVEC LE NUCLÉOLE DANS LE *GOSSYPIUM HERBACEUM*.

— R. Vuković et Lj. Glišić —

(Beograd, 15. IV. 1929)

Avec Planche V et VI

## Introduction.

Nous nous sommes proposés d'étudier cytologiquement les plantes, qui sont endémiques dans notre pays ou celles qu'on cultive plus ici qu'ailleurs, dont nous pourrions plus facilement nous procurer que les autres travailleurs les matériaux d'étude. Si notre premier choix est tombé sur le *Gossypium herbaceum*, la raison en est, que nous avons commencé tous les deux à étudier cet objet avant notre collaboration mutuelle. Le *Gossypium* d'ailleurs a été étudié par les différents auteurs anglais, et ils ont soulevé des problèmes bien intéressants tant au point de vue de la cinèse somatique que celle de la maturation. Denham (1924) a étudié la cinèse premeiotique et meiotique dans le *Gossypium barbadense* var. *maritima*, et en ce qui regarde la première il pense, que l'augmentation de la chromatine se fait dans la prophase et c'est „by a process of budding“ de nucléole. Dans les premiers stades de la prophase le nucléole paraît souvent être soutenu par une ou deux bandes de la substance achromatique, qui passe en diamètre à travers la cavité du noyau. En même temps que le noyau augmente de volume des globules apparaissent de plus en plus, sériés sur un réseau achromatique mince, qui simultanément s'épaissit et devient plus visible. Il pense, que le spirème continu „which fragments in diakinesis“ se reconstitue pendant la télophase.

Dans ce travail à cause de l'espace restreint nous nous occuperons de l'évolution des chromosomes en tant seulement qu'ils ont des rapports avec les nucléoles, laissant pour le moment de côté toutes les autres questions. Ainsi nous ne parlerons pas de l'anaphase qui montre les petits chromosomes tout à fait homogènes, sans aucune trace de fente ou de clivage longitu-

dinal. De même nous n'entrerons pas dans la question de la division chromosomique qui s'opère, semble-t-il, vers la fin de la prophase. Nous parlerons principalement de la télophase, pendant laquelle les chromosomes se disfont et les nucléoles se forment, et de la prophase, où le cas contraire se présente: la formation des chromosomes et la disparition des nucléoles.

Les jeunes racines de *Gossypium herbaceum* ont été fixés au liquide de Bouin et de Flemming faible, mais tous les deux fixateurs nous ont donné les mêmes résultats. Le matériel était coupé de 5—8  $\mu$  et coloré par l'hématoxyline de Heidenhain.

## Observations personnelles

### A. Le noyau télophasique (Planche V).

Les chromosomes une fois arrivés aux pôles restent intimement serrés les uns contre les autres. Ils représentent ensemble une masse fortement colorée. Sur cette masse, on peut néanmoins distinguer une zone périphérique plus foncée, se découpant nettement du reste de la masse. On observe en outre dans l'intérieur même de la masse de nombreuses trainées plus foncées qui cheminent à travers toute la masse et laissent ensemble l'aspect d'un réseau. Ces trainées distinctes rappellent les chromosomes anaphasiques. On pourrait en dire autant de la zone périphérique, mais les chromosomes n'y sont point distincts. Le reste de la masse, de couleur moins foncée, provient très probablement des chromosomes lesquels, tout en restant compacts à leur intérieur, se gonflent à leur périphérie produisant une matière moins foncée.

En s'accroissant, le noyau s'éclaircit progressivement, mais cet éclaircissement ne se produit pas dans des différents points du noyau; il s'éclaircit d'une manière uniforme dans toute son étendue. Les trainées plus foncées apparaissent alors plus distinctes et plus éloignées les unes des autres. Quant à la zone périphérique, elle paraît se découper en plusieurs grumeaux unis par des filaments chromatiques<sup>1</sup> minces (Fig. 1). De pareils grumeaux chromatiques liés entre eux par des filaments minces, chromatiques eux aussi, apparaissent aux angles où les trainées se croi-

<sup>1</sup> Sous cette expression „chromatique“ nous n'entendons que les parties fortement colorées du noyau, sans lui donner pour le moment une signification morphologique quelconque.

sent ou paraissent se croiser. Le nombre de ces grumeaux est à ce stade assez considérable. Nous en avons compté souvent plus de 30, mais n'arrivant jamais au nombre de 40. Ces grumeaux sont répartis dans toute l'étendue du noyau, mais surtout à la périphérie, où ils forment une sorte de couronne périphérique déjà mentionnée. Les grumeaux sont de dimensions différentes; ceux qui sont plus gros proviennent probablement de l'union de deux ou de plusieurs petits grumeaux (Fig. 2).

Fig. 3 nous présente un noyau télophasique encore plus grossi et à l'aspect déjà changé. Les grumeaux chromatiques sont beaucoup plus grands, mais au nombre assez inférieur à celui de la figure précédente. Cette diminution du nombre provient sans doute de l'union ou de la fusion de plusieurs grumeaux; leur forme d'ailleurs paraît le prouver. Pendant que la forme de ces masses chromatiques dans les Fig. 1 et 2 est plus ou moins sphérique ou ovale, celle de la figure présente est au contraire plus longue et irrégulière avec des protubérances, qui marquent probablement les bouts libres des particules chromatiques fusionnées. Même à ce stade les grumeaux, qui vont devenir des nucléoles, s'arrondissent peu à peu, tandis que les grumeaux périphériques restent allongés. Les filaments qui unissent ces masses chromatiques diffèrent de ceux des figures précédentes. Pendant que ceux-là étaient tous chromatiques, ceux-ci sont de deux sortes. Les uns, et cela en nombre plus petit, sont chromatiques et les autres, en nombre plus grand, sont nettement déchromatinisés. A ce stade la membrane nucléaire n'est pas encore formée. Dans un stade ultérieur, où la membrane nucléaire apparaît déjà, le nombre de masses chromatiques est encore plus restreint (Fig. 4, 5). (Ces masses se détachent peu à peu de la périphérie et s'approchent du centre. Les filaments déchromatinisés ne se trouvent pas seulement entre les masses chromatiques, mais ils sont également attachés à la membrane nucléaire d'un côté et aux masses chromatiques de l'autre. Il paraît ainsi que toute la cavité nucléaire est remplie d'un réseau très peu coloré sur lequel se trouvent attachées les masses chromatiques de grandeur et de forme différentes (Fig. 5, 6, 7, 8). A côté de masses plus volumineuses on trouve aussi aux noeuds des mailles des granules très petits. Ces granules sont liés à deux et même à trois filaments, mais quand ces masses chromatiques augmentent de volume, les filaments attachés à leur pourtour sont beaucoup plus nombreux.

Vers la fin de la télophase les masses chromatiques montrent la tendance de se fusionner toutes en un amas d'abord tout à fait irrégulier, lequel en prenant les contours plus réguliers et en s'arrondissant devient un grand nucléole (Fig. 7, 8); ou bien elles forment plusieurs amas chromatiques, qui peu à peu deviennent des nucléoles séparés (Fig. 5, 6). Dans le premier cas, on observe, au centre du noyau — ou peu s'en faut — un nucléole, et les bandes chromatiques dont la plupart rayonnent autour de se dernier (Fig. 8). À la périphérie du noyau, on ne voit que quelques unes des bandes chromatiques mentionnées. Dans le second cas, le noyau montre plusieurs nucléoles vivement colorés et un riche réseau très peu coloré, mais les bandes chromatiques sont plus rares. Le nombre plus petit de ces bandes dans ce dernier cas est selon nous la preuve que les portions chromosomiques sont englobés dans les nucléoles. De la sorte, après que les noyaux se soient reconstitués, on en trouve avec 1, 2, 3 ou plusieurs nucléoles. Le plus souvent le noyau contient 1 ou 3 nucléoles et plus rarement un autre nombre. Pendant ce temps le réseau devient de plus en plus fin, les filaments sont plus minces et les mailles plus étroites et plus nombreuses. En dehors des nucléoles on trouve aussi sur le réseau encore des granules chromatiques non absorbés.

Nous ne pouvons pas traiter la question, si la substance du substratum est composée de la masse achromatique (linine) comme l'affirment Farmer, Digby, Reed et autres, pendant que la chromatine est contenue dans les nucléoles; ou bien si le réseau se compose de ces deux substances (Grégoire, de Litardière); ou bien enfin si c'est — comme Sharp l'admet — toujours une seule et même substance qui montre, dans les différentes phases, le degré différent de la chromaticité. L'objet que nous avons étudié, ne nous a donné rien de bien positif pour traiter cette question avec succès. Cependant, cette question discutable est aujourd'hui d'une grande importance, et mérite d'être étudiée de plus près. Mais le fait est certain que les nucléoles se forment aux dépens de la substance chromosomique. La formation des nucléoles entraîne en une grande mesure la déchromatinisation du réseau nucléaire.

Il faut signaler encore un fait, constaté par de Smet, et qu'on peut très bien et clairement observer dans le *Gossypium herbaceum*, à savoir la symétrie nucléolaire. Dans toute l'évolution télophasique la formation des nucléoles dans les deux noyaux-

filles marche parallèlement. Si l'espace restreint de cette note nous permettrait, nous aurions pu dans nos figures ajouter à presque chaque noyau télophasique de notre série son correspondant, qui lui est très semblable ou tout à fait égal. Une telle symétrie montre Fig. 11 et 12. Dans la Fig. 11 les deux noyaux-filles très rapprochés et un peu disloqués montrent la structure presque égale. Dans chacun de ces deux noyaux on trouve deux masses nucléolaires, une masse chromosomique pas encore déchromatinisée et deux granules chromatiques de chaque côté.

### B. Le noyau interphasique et quiescent.

Dans l'interphase on voit le nucléole dans la position centrale du noyau avec les filaments rayonnants et anastomosés. Sur ces filaments, surtout vers la périphérie, se trouvent les particules chromatiques de forme plus ou moins irrégulière. La plupart d'entre eux semblent être attachés à la membrane nucléaire.

Le plus souvent les nucléoles dans ce stade portent une ou plusieurs protubérances, qui quelquefois semblent détachées du nucléole et anastomosées avec lui par un trait mince. Les protubérances semblables nous trouvons aussi pendant la prophase. De pareilles protubérances sont constatées et décrites par plusieurs auteurs, qui leur ont attribué une signification différente.

Dans les noyaux quiescents on trouve toujours un réseau très peu coloré et un nombre variable de petits grumeaux chromatiques. Même dans la zone périnucléolaire, qui semble homogène, on peut, en observant attentivement, déceler la continuation du réseau, qui se trouve en dehors de la zone périnucléolaire (Fig. 9, 10). D'ailleurs, le noyau garde sa structure, même au stade de repos.

### C. Le noyau prophasique (Planche VI).

Au commencement de la prophase le nucléole se trouve d'ordinaire au centre du noyau. Beaucoup de filaments rayonnent autour de lui (Fig. 13). D'ordinaire ces filaments vont jusqu'à la membrane nucléaire. Le long de la membrane nucléaire sont fixés plusieurs granules chromatiques. La substance nucléolaire paraît sortir des nucléoles et se répandre sur les filaments du réseau nucléaire. Dans l'évolution ultérieure de la prophase la substance nucléolaire envahit de plus en plus les filaments qui deviennent plus chromatinisés (Fig. 14, 15, 16). Le nu-

cléole pendant ce temps a la forme ellipsoïde plus ou moins étirée. Cependant, le cas est fréquent où ce dernier montre une forme amiboïde. Tischler et Lundegårdh sont également d'avis que la forme amiboïde du nucléole pendant la prophase se montre fréquemment dans les plantes, et que la forme arrondie n'est que la conséquence d'une fixation défectueuse. Le fait que la forme amiboïde se retrouve régulièrement dans nos préparations, alors que les autres éléments du noyau sont tout à fait normaux et bien nets, démontre que cette forme est bien normale. Notre Fig. 15 et 16 montre les chromosomes dans leur forme typique. Les filaments qui ne sont pas attachés au nucléole sont attachés à la membrane nucléaire. Ces filaments sont anastomosés entre eux, mais les anastomoses sont surtout latérales, les anastomoses terminales étant exclus par ce seul fait que la plupart des filaments qui vont bientôt devenir des chromosomes sont attachés par un bout au nucléole et par l'autre à la membrane nucléaire. Donc, dans le *Gossypium herbaceum* la formation d'un spirème continu qui embrasserait tous les chromosomes n'est pas possible, comme le croit De n h a m pour *Gossypium barbadense* var. *maritima*.

Avec l'avancement de la prophase les filaments qui ont pris déjà la forme des chromosomes s'allongent en se recourbant (Fig. 17, 18). Les anastomoses entre le nucléole et les chromosomes deviennent plus rares et disparaissent peu à peu totalement en laissant dans la cavité nucléaire vers la fin de la prophase les chromosomes seuls avec le reste du nucléole. En même temps les chromosomes se condensent et ils sont tous chromatiques. Le nucléole diminue de volume et devient plus pâle. Cette diminution va progressivement jusqu'à la disparition du nucléole vers la fin de la prophase. Mais assez souvent il ne disparaît pas totalement. On rencontre aussi des restes des nucléoles même dans la métaphase parmi les chromosomes ou sur le fuseau. Ces restes des nucléoles ne sont plus utilisés par les chromosomes et ils vont disparaître dans le cytoplasme.

Quand les chromosomes ont atteint leur maximum de l'allongement (Fig. 18), c'est la marche inverse qu'ils vont commencer. Ils se raccourcissent (Fig. 19) pour atteindre leur forme définitive (Fig. 20). C'est pendant ce raccourcissement que la substance chromosomique se condense.

Les chromosomes formés ont presque tous la même grandeur; leur taille n'est pas grande. On peut donc ranger le *Gos-*

*sygium herbaceum* parmi les plantes à petits chromosomes; ils ne sont cependant pas à considérer comme très petits. La plupart d'entre eux sont recourbés. C'est pourquoi il est difficile d'établir le nombre diploïde exact de chromosomes. Dans le cas, où on constate une courbure médiane, on ne peut pas décider, s'il s'agit d'un seul chromosome à deux courbures ou de deux chromosomes qui se sont rapprochés et touchés par leurs bouts. Ce dernier cas serait plus probable. Le nombre de chromosomes est assez élevé. Nous pourrions dire sans crainte de commettre une faute, que le nombre de chromosomes se trouve entre 52 et 56.

Les chromosomes se forment donc aux dépens des nucléoles. Häcker était d'avis que les nucléoles représentent une masse excrétée. Pour le *Gossypium herbaceum* nous ne pouvons pas accepter cette interprétation. Il arrive quelquefois que les nucléoles persistent même pendant la métaphase, où les chromosomes sont tout à fait formés et indépendants des nucléoles. Pendant l'anaphase, au moment où les masses nucléolaires sont expulsées dans le cytoplasme, comme s'ils seraient vraiment les produits de l'excrétion nucléaire, elles ne présentent qu'une partie des nucléoles primitifs, le reste étant déjà absorbé par les chromosomes. C'est pourquoi nous ne pouvons pas voir dans les nucléoles une matière excrétée. Restent encore autres hypothèses en ce qui concerne la valeur et le rôle des nucléoles. Selon l'une de ces hypothèses, les nucléoles seraient la matière de réserve et selon l'autre ce serait la chromatine même qui telle quelle passe des chromosomes aux nucléoles à la télophase et des nucléoles aux chromosomes à la prophase suivante. L'hypothèse „de transformation“ admet que la substance nucléolaire et la chromatine représenteraient un système réversible (Kater) d'une seule et même matière. Laquelle de ces hypothèses est vraie, il est difficile de résoudre. Nous faisons ici une analyse morphologique et nous ne savons pas ce qui se passe au sein de cette matière pendant son passage des chromosomes aux nucléoles et vice-versa, si elle change dans sa constitution chimique ou si elle reste sans changement. Néanmoins quand on regarde dans les préparations les rapports mutuels entre les nucléoles et les chromosomes, on est tenté de croire plutôt, que les nucléoles contiennent de la chromatine. Pourtant une objection s'oppose à cette interprétation, à savoir la coloration différente de la chromatine et des nucléoles; cela indi-

querait, qu'il s'agit ici de la différence entre la matière que contiennent les nucléoles et celle de la chromatine. Si la coloration était un phénomène purement chimique, on ne pourrait pas affirmer l'identité de ces deux matières, mais étant donné que la coloration est plutôt un phénomène physique qui pourrait se produire sans changements chimiques de la matière, la difficulté de cette objection par ce fait même est diminué. A ce propos nous pouvons citer les mots de Schürhoff (1918): „Darüber, was das Kernkörperchen während der Mitose darstellt, oder wozu seine Substanz verwendet wird, werden uns chemische Untersuchungen keine Auskunft geben. Ebenso wie uns z.B. die chemische Formel der Starkekörner keinen unmittelbaren Aufschluß über die jeweilige Verwendung des in ihnen niedergelegten Reservematerials gibt. Das färberische Verhalten ist ebensowenig ausschlaggebend; denn es stellt eine Abart der mikrochemischen Untersuchung dar . . . . Insofern ist also das färberische Verhalten nur ein Hilfsmittel der morphologischen Untersuchung. Diese ist imstande, uns die besten Untersuchungsergebnisse zu liefern“.

### Resumé.

Il s'en suit de nos observations que:

1. Dans la télophase, les nucléoles se forment aux dépens des chromosomes.
2. Dans le cas où plusieurs nucléoles se forment, la déchromatinisation des chromosomes est bien plus grande.
3. La symétrie nucléolaire est bien prononcée.
4. Le noyau dans l'interphase et au repos ne perd pas sa structure et reste en liaison avec le nucléole même à travers la zone périnucléolaire.
5. Le nucléole, dans la prophase, montre la plupart du temps la forme amiboïde.
6. Il ne se forme pas un spirème continu, et les chromosomes se forment chacun séparément.



## LISTE DES OUVRAGES CITÉS :

1924. *Denham, Humphrey John*: The Cytology of the Cotton Plant. I. Microspore Formation in Sea Island Cotton. — Ann. of Bot., Vol. XXXVIII.
1910. *Digby, L.*: The somatic, premeiotic and meiotic nuclear divisions of *Galtonia candicans*. — Ann. of Bot., Vol. XXIV.
1909. *Digby, L.*: Observations on „Chromatin Bodies“ and their Relation to the Nucleolus in *Galtonia candicans*. — Ann. of Bot., Vol. XXIII.
1907. *Farmer, J. B.*: On the structural constituents of the nucleus and their relation to the organisation of the individual. — Proc. Roy. Soc. London, Series B, LXXIX.
1906. *Grégoire, V.*: La structure de l'élément chromosomique au repos et en division dans les cellules végétales (*Racines d'Allium*). — La Cellule, XXIII.
1921. *de Litardière, René*: Recherches sur l'élément chromosomique dans la caryocinèse somatique des Filicinées. — La Cellule, t. XXXI.
1912. *Lundegårdh, H.*: Chromosomen, Nukleolen u. d. Veränderungen im Protoplasma b. d. Karyokinese. — Beitr. z. Biol. d. Pflanz., Bd. XI.
1913. *Lundegårdh, H.*: Das Karyotin im Ruhekern und sein Verhalten b. d. Bildung u. Auflösung d. Chromosomen. — Arch. f. Zellforsch., Bd. IX.
1922. *Martens, Pierre*: Le Cycle du Chromosome somatique dans les phanerogames. I. *Paris quadrifolia*. — La Cellule, t. XXXII.
1914. *Reed, T.*: The nature of the double spireme in *Allium Cepa*. — Ann. of Bot., Vol. XXVIII.
1918. *Schürhoff, P. N.*: Die Beziehungen des Kernkörperchens zu den Chromosomen und Spindelfasern. — Flora N. F. Bd. X.
1914. *de Smet, F.*: Chromosomes, prochromosomes et nucléole dans quelques Dicotylées. — La Cellule, t. XXIX.
- 1921/22. *Tischler, G.*: Allgemeine Pflanzenkaryologie. — Linsb. Handb. d. Pflanzenanat.

## EXPLICATION DES PLANCHES.

Les dessins ont été faits avec l'objectif apochromatique 2 mm., 1.30, Zeiss et l'oculaire 20x Zeiss.

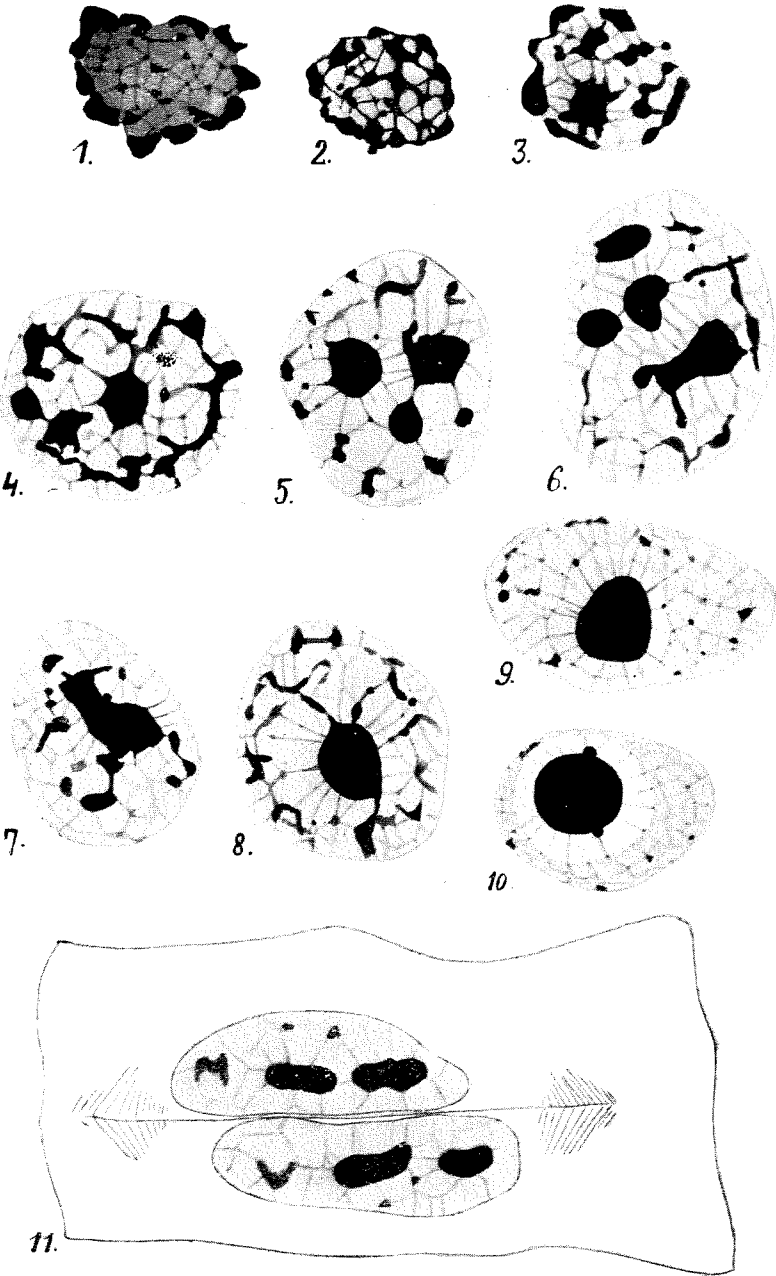
Fig. 1-8. Stades successifs de la télophase. On voit que les nucléoles se forment aux dépens de la substance chromosomique. Dans les stades plus jeunes, ils sont plus nombreux, et plus tard, leur nombre, par suite de la fusion, se réduit à 1-3 seulement.

Fig. 9. 10. Noyau au repos.

Eig. 11, 12. Symétrie nucléolaire.

Fig. 13-18. Stades de la prophase. Formation graduelle des chromosomes au dépens de la substance nucléolaire. Forme amiboïde des nucléoles.

R. Vuković et Lj. Glišić: Evolution chromosomique etc.





R. Vuković et Lj. Glišić: Evolution chromosomique etc.

