

Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse
Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft
Band: 71 (1961)

Artikel: Action antimitotique de l'acide borique dans le méristème racinaire de graines de *Lactuca sativa* en germination
Autor: Matter, J. / Turian, G.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-50195>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 15.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Action antimitotique de l'acide borique dans le méristème racinaire de graines de *Lactuca sativa* en germination

Par J. Matter et G. Turian

Institut de botanique générale, Université de Genève

Manuscrit reçu le 11 septembre 1961

Si le nombre des travaux consacrés aux conséquences d'une carence en bore chez les Plantes supérieures est considérable (Stiles, 1946; Skok, 1958), il n'en est pas de même de ceux ayant trait aux effets de toxicité de ce métalloïde (Eaton, 1944; Scott, 1960). La connaissance de ces derniers pourrait pourtant contribuer à éclairer le point d'impact physiologique, encore inconnu, du bore dans la cellule végétale. C'est ce que nous avons déjà proposé lors d'une précédente étude démontrant le blocage du nucléole dans les cellules en voie de division du méristème racinaire d'*Allium cepa* en présence de doses subtoxiques d'acide borique (DuBois, Turian et Gonet, 1958). Ce blocage, interprété à la lumière du principe d'action diphasique de nombreux agents toxiques (Ollivier, 1948), nous avait suggéré que le nucléole pourrait bien être le centre physiologiquement boro-sensible de la cellule.

Il était dès lors intéressant d'étendre cette première étude à un autre matériel végétal, l'apex racinaire de la graine de laitue en germination, bien connu et aisément contrôlable en laboratoire (Haber et coll., 1960). Comme objectif supplémentaire, nous avons cherché à graduer les effets cytopathologiques en fonction des doses subtoxiques croissantes d'acide borique.

Matériel et techniques

Les graines sélectionnées de *Lactuca sativa* L., variété Merveille de New York¹, ont été mises à germer, par lots de 12, sur doubles couches de papier-filtre disposées dans des boîtes de Pétri ordinaires. Les papiers ont été préalablement imbibés avec 5 ml de solution de H₃BO₃ (puriss. Merck) à diverses concentrations (M/25-M/150) en tampon phosphates M/100 de pH 6,8. Trois boîtes de Pétri ont été prévues pour chaque concentration

¹ Mises obligeamment à notre disposition par M. F. Gagnebin que nous tenons à remercier ici.

d'acide borique et de même pour la série des graines témoins sur tampon phosphates seul. L'incubation en vue de la germination a été réalisée, en semi-obscurité, à 25°C.

Les graines témoins poussant leurs racines plus rapidement (longueur 5 mm dès 48 h), nous avons décalé leur mise en incubation de telle manière à pouvoir prélever leurs apex radiculaires en même temps que ceux des graines boriquées, à croissance ralentie (par exemple, décalage de 2 j. par rapport aux graines sur H_3BO_3 M/50 mettant 96 h pour croître de 5 mm.)

Les apex des racines ont été sectionnés au rasoir et recueillis directement dans le fixateur alcool-acide acétique (3 : 1 selon Carnoy A) fraîchement préparé. Pour favoriser la pénétration du fixateur, nous avons pratiqué des incisions longitudinales dans ces apex fixés pendant 15-20 minutes avant d'être transférés dans une solution concentrée de carmin acétique répartie dans des verres de montres pour faciliter un léger chauffage du colorant. Finalement, les apex ont été écrasés individuellement, dans une goutte du colorant acéto-carmin, entre lame et lamelle pressés de manière uniforme à l'aide d'un bloc de papier buvard (méthode des «squashes») et les préparations ainsi obtenues soumises à un bref chauffage pour intensifier la coloration nucléaire.

Des essais de détection cytochimique du bore, présumément concentré dans les zones nucléaires, nucléoles en particulier, ont été réalisés mais sans succès avec divers réactifs microchimiques du bore: quinalizarine (avec nécessaire, mais trop forte réduction de la concentration de l'acide sulfurique), jaune de curcumin (mais coloration trop diffuse). Avec plus de réussite, nous avons pu adapter à l'échelle cellulaire le principe chimique du renforcement de l'acidité de l'acide borique par le mannitol (voir W enger et coll., 1946), en présence d'indicateurs colorés de pH, choisis pour leur zone de virage en pH fortement acide, le rouge de méthyle et le bleu de bromophénol. Pour cette méthode originale, nous avons écrasé, sur lames, les apex boriqués ou les témoins, sans fixation préalable, dans une solution de mannitol à 10% dans l'eau additionnée d'indicateur à 1% et avons examiné sous le microscope la localisation cytologique des zones de virage au rouge ou au jaune des indicateurs en présence de l'acidocomplexe mannitolborique.

Enfin et à l'appui de notre hypothèse (Turian, 1955) d'une interférence de l'acide borique avec le métabolisme de l'acide ribonucléique, nous avons procédé à un premier contrôle de la complexion borique de ribonucléosides. Celle-ci devant théoriquement changer le signe de la charge des molécules nucléosidiques, nous avons procédé à l'électrophorèse comparée (modèle Elphor 110 V), sur bandes de papier en tampon glycine-NaOH de pH 5,0, des ribonucléosides adénosine et uridine (Hoffmann-La Roche), libres (témoins) ou préalablement dissous dans une solution aqueuse M/10 d'acide borique. Après une nuit de migration, les

bandes ont été séchées et le sens et la distance parcourus par les molécules simples ou complexées révélés par examen sous la lampe UV (Hanovia) ou révélation avec le réactif de Bial (chauffage nécessaire).

Résultats

1. Observations morphologiques

Aux concentrations d'acide borique utilisées (M/25–M/150), la germination des graines de laitue a été nettement retardée et le pourcentage des graines germées a diminué en fonction de l'augmentation de la concentration du toxique: témoins, 68 %; M/100, 50 %; M/50, 24 %; M/25, 10 %.

A toutes ces concentrations d'acide borique, des effets morphologiques se sont manifestés sous forme d'une torsion plus ou moins accentuée des racines émises. Avec H_3BO_3 M/50, le contraste est particulièrement frappant entre le témoin à forte élongation de 72 h et les racines intoxiquées de même âge (figure 1). La spiralisation serrée de ces dernières et leur épaissement évoquent une perturbation induite par l'acide borique dans le métabolisme et/ou la distribution régulière des auxines. Une semblable morphose a été signalée par Bergal (1953) chez les racines de *Triticum vulgare* traitées avec des doses élevées d'acide borique. Notons aussi qu'aux fortes concentrations (M/25 surtout) les apex radiculaires ont présenté un certain jaunissement (flavines ?).

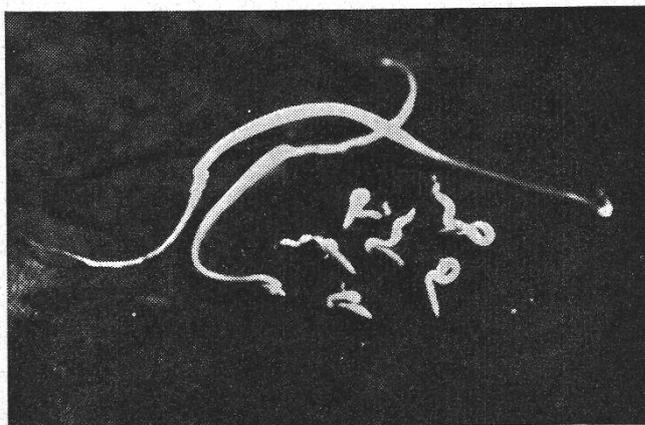


Figure 1

Morphose spiralée des racines de graines de laitue germées 72 h en présence de H_3BO_3 M/50.
A gauche, racines de deux graines témoins

2. Observations cytologiques

Concentration M/25 (0,248 g %)

L'intoxication est très accentuée et se traduit par une très forte action mitostatique. Seuls quelques rares noyaux présentent encore des mitoses

abortives stoppées en fin de prophase. La majorité des noyaux sont bloqués en interphase ou en préprophase et présentent de gros nucléoles vacuolisés et dilatés (figure 2). Les racines restent très courtes et trapues, certaines deviennent flaccides si elles sont maintenues plusieurs jours sur cette concentration (action létale).

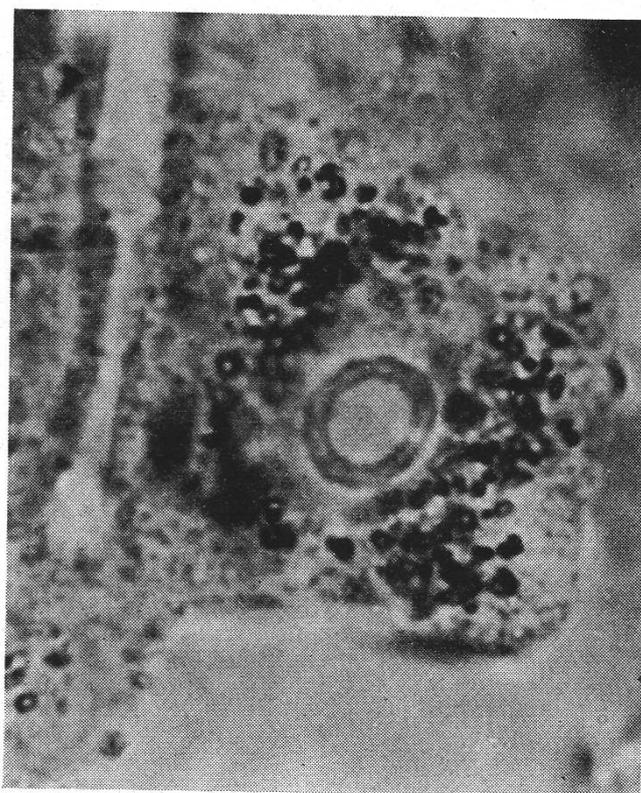


Figure 2

Cellule d'apex radriculaire de graine de laitue germée en présence de H_3BO_3 M/25. Forme annulaire du nucléole géant à vacuole centrale.
(Carmin acétique, env. 1500 ×)

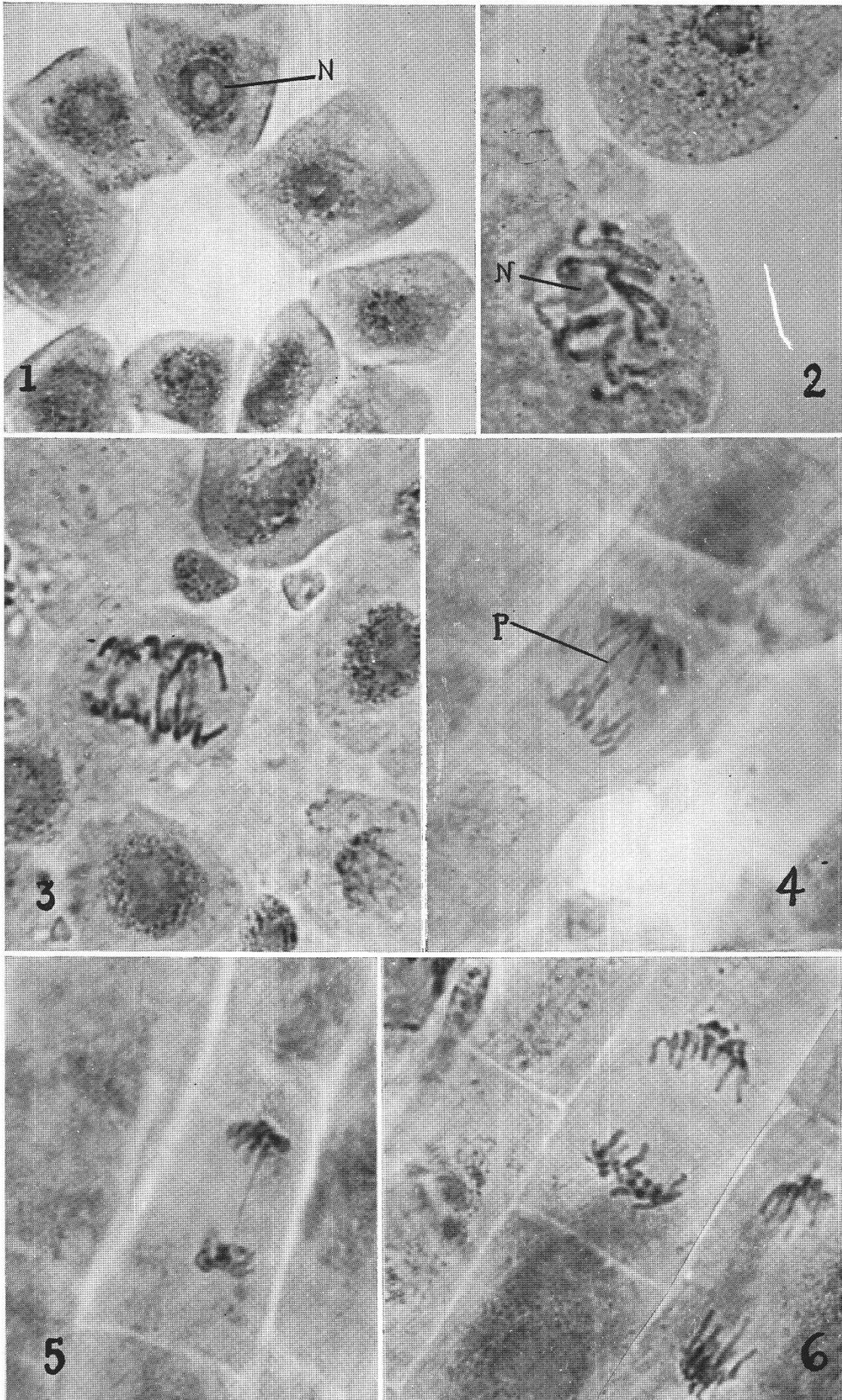
Concentration M/50 (0,124 g %)

Les racines s'allongent davantage mais avec forte torsion. L'action mitostatique est encore très accusée, se traduisant par le blocage prophasique prédominant des mitoses engagées. Les nucléoles présentent souvent leur forme de dilatation en anneau (planche 1, 1). Ils paraissent bloqués dans

Planche 1

Divers stades mitotiques de cellules méristématiques d'apex radiculaires de graines de *Lactuca sativa* germées en présence d'acide borique: 1. M/50, inhibition préprophasique-prophasique, nucléole (N) dilaté annulaire; 2. M/50, inhibition prophasique, stade avancé à chromosomes contractés et nucléole (N) persistant; 3. M/50, métaphase d'aspect stathmocinétique; 4. M/50, anaphase à pont chromosomique (p) et chromosomes retardés; 5. M/100 anaphase avancée à pont chromosomique; 6. M/100, ana-télophases à fin de migration chromosomique ralentie. Colorations au carmin acétique. Gross. 1030 ×

Planche



Leere Seite
Blank page
Page vide

leur nécessaire processus de dissolution en fin de prophase et, de ce fait, persistent même dans des images de prophases avancées (planche 1, 2).

Quelques rares métaphases et anaphases ont été observées: métaphases généralement typiques, exceptionnellement d'aspect stathmocinétique (planche 1, 3); anaphases avec des ponts chromosomiques (planche 1, 4) provenant d'agglutinations («chromosome stickiness»).

Concentration M/75 (0,083 g %)

Inhibition encore accusée, avec nette mitostasie caractérisée par la prédominance des images de blocage prophasique avec persistance nucléolaire (idem à planche 1, 2). Une coloration vitale au bleu de toluidine ($5 \cdot 10^{-4}$) a permis de retrouver l'auréole achromatique périnucléolaire décrite dans les noyaux d'*Allium cepa* bloqués à l'acide borique (DuBois, Turian et Gonet, 1957).

Nous n'avons rien noté de particulier dans les plaques métaphasiques encore rares; par contre, nous avons retrouvé la majorité des anaphases visibles avec des ponts chromosomiques caractéristiques.

Concentration M/100 (0,062 g %)

Mitodépression, c.-à-d. simple diminution du nombre des entrées en mitose par rapport aux méristèmes témoins, parallèlement à un effet mitostatique encore très marqué. Parmi les mitoses ayant pu surmonter le blocage prophasique, les anaphases se signalent encore par des ponts chromosomiques (planche 1, 5) mais dans un plus faible pourcentage qu'en présence de concentrations d'acide borique plus élevées. Les ana-télophases manifestent aussi la tendance persistante au retard de migration chromosomique (planche 1, 6).

Concentration M/150 (0,041 g %)

L'action antimitotique exercée par l'acide borique n'est plus qu'essentiellement de type mitodépresseur, avec légère action mitostatique se marquant encore par une proportion plus élevée de prophases que d'autres stades plus avancés.

L'essai d'application d'un réactif cytochimique de l'acide borique, composé des mélanges mannitol-rouge de méthyle ou mannitol-bleu de bromophénol, nous a permis d'observer la plus grande acidité nucléaire des noyaux boriqués, indication d'une concentration intra-nucléaire du bore: virage de l'indicateur, au rouge (rouge de méthyle, dès pH 4,5) ou au jaune (bleu de bromophénol, dès pH 4,0), plus prononcé dans les noyaux

boriqués que dans les témoins non traités. Bien que les colorations résultantes aient été assez diffuses, il nous a pourtant été possible de noter un rougissement ou un jaunissement plus accentués au niveau des gros nucléoles dilatés des cellules boriquées. Cette observation tendrait à confirmer l'affinité particulière du nucléole pour l'acide borique.

Enfin, nous avons pu confirmer la complexion borique des ribonucléosides à l'aide de l'électrophorèse sur papier (voir techniques). Ainsi, dans le cas de l'adénosine, nous avons pu observer l'inversion de sa charge électrique et par conséquent de sa direction de migration électrophorétique, selon que ce ribonucléoside était libre (= cation, sens -) ou engagé dans un complexe borique (= anion, sens +). Cette observation aura son importance pour notre discussion du mécanisme d'action mitostatique de l'acide borique.

Discussion

L'action antimitotique de l'acide borique est essentiellement de type mitostatique (terminologie de Deysson, 1951, 1956) aux concentrations déterminant, avec un fort ralentissement de la croissance, la morphose spiralée des racines de *Lactuca sativa*. En conformité avec les résultats précédents obtenus avec la racine d'*Allium cepa* (DuBois, Turian et Gonet, 1957), cette action mitostatique de l'acide borique s'est manifestée par la prépondérance d'images d'inhibition prophasique (environ 90 % des mitoses en présence de H_3BO_3 M/75), aux côtés de figures nucléaires bloquées en préprophase ou simplement maintenues en interphase (effet mitodépresseur au sens de Deysson). Dans ces figures d'inhibition, le gros nucléole dilaté ne présente pas de signes de dissolution et persiste dans des images de prophases avancées présentant leurs éléments chromosomiques déjà nettement contractés (planche 1, 2). Nous avons même observé quelques cas de persistance du nucléole dans les rares figures métanaphasiques ayant pu surmonter l'inhibition prophasique par M/50 d'acide borique. Dans cet ordre d'observation, mentionnons que les sels de cobalt ont provoqué le même effet de non-destruction prémétaphasique du nucléole et sa persistance pendant toute la mitose dans des cellules de cultures de tissu (Heath, 1954).

Comme antimitotique prophasique, l'acide borique vient se ranger aux côtés de composés chimiquement aussi dissemblables que l'antipyrine (Deysson, 1949), l'hydrazide isonicotinique (Deysson et Rollen, 1953), la protoanémonine (Erickson, 1948) et les lactones en général (Biesele, 1958), l'antibiotique actidione (Hadder et Wilson, 1958) et la ribonucléase (Firket, Chèvremont-Comhaire et Chèvremont, 1955). La similarité d'effet de l'acide borique et de la ribonucléase se manifeste en outre par l'auréole périnucléolaire achromatique (non basophile) pro-

voquée par le traitement des cellules méristématiques de racines d'oignon par la ribonucléase (Brachet, 1954) ou par l'acide borique (DuBois, Turian et Gonet, 1957) et que l'on a retrouvée par coloration au bleu de toluidine des apex boriqués de *Lactuca*. Cette auréole protéine-négative trahirait une interférence avec la protéosynthèse par suite de l'inhibition du métabolisme de l'acide ribonucléique (Brachet, 1954). Cette interprétation, valable pour l'effet ribonucléasique, viendrait à l'appui de notre hypothèse de travail (Turian, 1955, 1959; DuBois, Turian et Gonet, 1957): l'acide borique, en se fixant simultanément sur les groupes ortho-dihydroxyles libres de deux ribonucléosides voisins pour les complexer par des ponts tétraboriques (selon modèles de Zittle, 1951, pour les sucres et la riboflavine) et cela lors du «turn-over» normal de l'acide ribonucléique, maintiendrait ce composé essentiel sous une forme statique, incompatible avec l'activité anabolique de la cellule. Cette interaction aurait plus particulièrement lieu au niveau du nucléole où l'acide ribonucléique intranucléaire est concentré et métaboliquement actif. En ce sens, l'acide borique se comporterait en inhibiteur différentiel de l'acide ribonucléique (considéré sous sa forme dynamique de «turn-over» pour dégager de leur liaison phosphorée les ortho-dihydroxyles récepteurs des ribonucléosides), l'acide désoxyribonucléique étant théoriquement insensible à l'acide borique (absence de groupe ortho-dihydroxylé sur les désoxyribonucléosides libres). Les effets d'inhibition prophasique de la ribonucléase et de l'acide borique auraient donc une base commune: l'inhibition du métabolisme de l'acide ribonucléique – métabolisme indispensable au déroulement normal de la mitose – par effet de digestion enzymatique (ribonucléase) ou par effet de complexion de ses unités ribonucléosidiques (acide borique).

A la lumière des considérations précédentes, on peut dès lors penser que le blocage de la dissolution du nucléole par l'acide borique est l'image cytologique du blocage par l'acide borique du constituant chimique essentiel de cet organite, l'acide ribonucléique. Et, sachant que la dissolution du nucléole est un événement cytologique indispensable à la transition normale du stade prophasique aux stades mitotiques terminaux, on peut aussi admettre que le blocage borique de la dissolution nucléolaire est pour quelque chose dans l'accumulation des noyaux prophasiques constituant l'image cytologique caractéristique de l'intoxication borique des apex méristématiques radiculaires.

En présence de concentrations plus modérées d'acide borique (M/100), un certain nombre de mitoses peuvent surmonter l'inhibition prophasique et compléter leur cycle. Les métaphases observées étaient généralement normales avec cependant quelques cas de tendance à la stathmocinèse (M/50). Les anaphases se sont révélées plus intéressantes avec une forte proportion (ad 50 %) d'images de ponts chromosomiques provenant d'ag-

glutination («stickiness») ainsi que quelques exemples de chromosomes retardés sur le fuseau («laggard chromosomes»). Selon Biesele (1958), il est probable que l'effet primaire d'induction de la «stickiness» par les nombreux agents connus (acridines, purines, streptomycine, sels de cadmium, de beryllium, agents alcoylants tels que gaz de moutarde, etc.) se porte essentiellement sur les acides nucléiques. De plus, la ribonucléase exerce aussi un net effet d'agglutination chromosomique (Kaufmann and Das, 1954), avec dissociation des nucléoprotéines. Il semble bien que, là aussi, l'effet borique dépende de sa possibilité d'interférence avec l'acide ribonucléique. On sait que ce dernier, en provenance nucléolaire participe à l'élaboration du fuseau mitotique (Brachet, 1957). L'interaction boro-ribonucléique constituerait ainsi le commun dénominateur causal des effets d'inhibition prophasique avec blocage nucléolaire et de formation de ponts chromosomiques par agglutination à l'anaphase.

Enfin, du point de vue cytophysiologique, il n'est par contre pas exclu que des traces de bore ne soient indispensables au fonctionnement normal de la mitose, en relation avec la régulation du métabolisme ribonucléique au niveau du nucléole et lors de l'élaboration fusoriale (selon le principe d'action diphasique des toxiques, voir introduction). La microphoto publiée par Whittington (1957) montrant une anaphase à chromosomes retardés comme caractéristique cytologique de la carence en bore dans la racine de haricot est suggestive à cet égard.

Nous remercions M. le Prof. F. Chodat de son hospitalité (J.M.) et le Fonds national de la Recherche scientifique de son subside pour l'équipement électrophorétique (G.T.).

Résumé

L'action antimitotique de l'acide borique dans l'apex radicaire de *Lactuca sativa* est doublement caractérisée: aux plus fortes concentrations (M/25-M/75), par l'accumulation de figures prophasiques à nucléole dilaté et persistant, aux concentrations plus modérées (M/50-M/100), par le pourcentage élevé d'anaphases à ponts chromosomiques provenant d'agglutination.

La détection cytochimique de l'acide borique (réactif mannitol - indicateur de pH acide) au niveau du nucléole surtout et la démonstration électrophorétique de la complexion borique des ribonucléosides (inversion de la charge électrique) confirment la possibilité d'une interaction acide borique-acide ribonucléique comme base chimique commune de la double action cytopathologique du bore.

Bibliographie

- Bergal G. 1953. Contribution à l'étude des effets du bore organique sur le développement des végétaux. Thèse Fac. Pharmacie, Université de Toulouse.
- Biesele J. J. 1958. Mitotic poisons and the cancer problem. Elsevier Publ. Co.
- Brachet J. 1954. Effects of ribonuclease on the metabolism of living root-tip cells. *Nature* **174**, 876.
- 1957. *Biochemical Cytology*. Acad. Press Inc.
- Deysson G. 1949. Action mitodépressive de l'antipyrine. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris* **228**, 1047.
- 1951. Sur les actions mitodépressive, mitostatique et mitoclasique. *Bull. Soc. Bot. France* **98**, 258.
- 1956. Les facteurs de la mito-inhibition végétale. *Exposés actuels de Biologie cellulaire (Biocytologia)*, **6**, 241.
- et Rollen A. 1953. Action de l'hydrazide isonicotinique (Isoniazide) sur la division des cellules végétales. *Ann. Pharmac. franç.* **11**, 268.
- DuBois A., Turian G. et Gonet A. 1957. Recherches sur l'action mitostatique de l'acide borique dans le méristème racinaire de *Allium cepa* L. *Caryologia* **10**, 102.
- Eaton F. M. 1944. Deficiency, toxicity, and accumulation of boron in plants. *Jour. Agr. Res.* **69**, 237.
- Erickson R. O. 1948. *Science* **108**, 533, cité dans Biesele J. J. 1958. Mitotic poisons and the cancer problem, 37.
- Firket H., Chèvremont-Comhaire S. et Chèvremont M. 1955 *Nature* **176**, 1075, cité dans Biesele J. J. 1958. Mitotic poisons and the cancer problem, p. 21.
- Kaufmann B. P. and Das N. K. 1954. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* **40**, 1052, cité dans Biesele J. J. 1958. Mitotic poisons and the cancer problem, p. 70.
- Haber A. H. and Luippold H. J. 1960. Separation of mechanisms initiating cell division and cell expansion in lettuce seed germination. *Plant Physiol.* **35**, 168.
- and White J. D. 1960. Action of maleic hydrazide on dormancy, cell division, and cell expansion in lettuce seed germination. *Plant Physiol.* **35**, 495.
- Hadder J. C. and Wilson G. B. 1958. Cytological assay of C-mitotic and prophase poison actions. *Chromosoma* **9**, 91.
- Heath J. C. 1954. The effect of cobalt on mitosis in tissue culture. *Exper. Cell Research* **6**, 311.
- Ollivier H. R. 1948. Etude cytotoxicologique de l'influence de divers agents physiques et chimiques sur les plantules de blé. *Rev. Canad. Biol.* **7**, 35.
- Scott E. G. 1960. Effect of supra-optimal boron levels on respiration and carbohydrate metabolism of *Helianthus annuus*. *Plant Physiol.* **35**, 653.
- Skok J. 1958. The role of boron in the plant cell. *Trace elements*. Acad. Press Inc.
- Stiles W. 1946. *Trace elements in plants and animals*. Cambridge Univ. Press.
- Turian G. 1955. Le corps paranucléaire des gamètes géants d'*Allomyces javanicus* traité à l'acide borique. *Protoplasma* **47**, 135.
- 1959. Mitose végétative et action polyploïdisante de l'acide borique chez *Allomyces macrogynus*. *Rev. Cytol. Biol. vég.* **21**, 63.
- Wenger P., Duckert R. et Rusconi Y. 1946. *Traité de chimie analytique qualitative minérale*. Georg et Cie, Genève.
- Whittington W. J. 1957. The role of boron in plant growth. I. The effect on general growth, seed production and cytological behaviour. *J. Exp. Bot* **8**, 353.
- Zittle C. A. 1951. Reaction of borate with substances of biological interest. *Adv. in Enzymol.* **12**, 493.