

ACTIVITÉ C-MITOTIQUE* DES ISOMÈRES γ ET δ DE
 L'HEXACHLOROCYCLOHEXANE, AVEC DES OBSERVATIONS
 SUR L'INFLUENCE DU MÉSOINOSITOL ET DU
 MÉSOINOSITOPHOSPHATE DE SODIUM

par

SIMONE CARPENTIER ET CLAUDE FROMAGEOT

*Laboratoire de Biologie végétale et Laboratoire de Chimie biologique,
 Faculté des Sciences, Paris (France)*

L'isomère γ de l'hexachlorocyclohexane présente, parmi plusieurs propriétés biologiques intéressantes, celle d'exercer une action c-mitotique très nette. Cette action, mise en évidence sur les racines d'*Allium Cepa* par NYBOM ET KNUTSON³, a été confirmée sur la même plante ou retrouvée sur d'autres Végétaux par POUSSEL⁴, KOSTOFF^{5, 6}, D'AMATO⁷, CHARGAFF, STEWART ET MAGASANIK⁸ et RAO ET KUNDU⁹. D'après les affirmations de CHARGAFF, STEWART ET MAGASANIK⁸, l'action c-mitotique de l'hexachlorocyclohexane γ vis à vis d'*Allium Cepa*, comme d'ailleurs celle de la colchicine, serait inhibée par le mésoinositol; cependant, la photographie qu'ils publient d'une mitose en présence d'hexachlorocyclohexane γ et d'inositol ne montre en aucune façon que l'inositol exerce une protection quelconque de la mitose vis à vis de l'hexachlorocyclohexane γ . Récemment, D'AMATO¹⁰ a publié quelques observations d'après lesquelles le mésoinositol serait susceptible non pas d'empêcher l'action de l'hexachlorocyclohexane γ sur la mitose, mais de la retarder, le mésoinositol agissant alors en modifiant la perméabilité de la membrane cellulaire à l'hexachlorocyclohexane. Mais ces observations ne semblent pas être d'un grand poids, puisque D'AMATO¹⁰ lui-même n'a pas pu les reproduire régulièrement.

Aucune recherche n'avait été faite jusqu'ici sur l'action c-mitotique de l'hexachlorocyclohexane δ qui pourtant présente, lui aussi, et parfois plus que l'isomère γ , des propriétés biologiques intéressantes.

Poursuivant les recherches entreprises par l'un de nous (S.C.) sur l'activité mitotique de certains dérivés cycliques, nous avons repris les observations précédentes et les avons étendues à l'action de l'isomère δ de l'hexachlorocyclohexane. En outre, nous avons recherché si oui ou non le mésoinositol exerce une influence quelconque sur la c-mitose provoquée par les hexachlorocyclohexanes γ et δ , et si le mésoinositophosphate de sodium possède une action à ce même point de vue.

* La c-mitose ou mitose colchicinique correspond à l'arrêt complet du fonctionnement fusorial; l'aspect présenté par cette mitose anormale a été décrit par DUSTIN¹ sous le nom de *stathmocinèse*. Le nom d'*hémocinèse* a été donné aux figures correspondant à un arrêt partiel du fonctionnement fusorial (figures pluripolaires, ponts chromosomiques). Ces termes ont été définis en détail par MANGENOT ET CARPENTIER².

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les expériences sont faites sur de jeunes racines d'*Allium Cepa* provenant soit de bulbes, soit de graines. Dans ce dernier cas, les jeunes plantules sont disposées sur des cartons perforés, eux-mêmes placés sur de petits cristallisoirs contenant les solutions dont on étudie l'action, et dans lesquelles plongent les racines. Le tout est maintenu à 25°.

Les hexachlorocyclohexanes, en solutions alcooliques à 0.1 à 0.5 % sont dilués par l'eau de source aux concentrations convenables.

L'observation des mitoses dans le méristème radiculaire est faite, soit sur des coupes, soit sur des écrasements, après fixation au Flemming ou au Navachine, suivie de coloration au Feulgen.

Les résultats obtenus sont les mêmes, que les racines proviennent de bulbes ou de graines. Le Tableau I donne le détail des actions comparées des hexachlorocyclohexanes γ et δ ; le Tableau II indique l'influence de l'inositophosphate de sodium.

TABLEAU I
HEXACHLOROCYCLOHEXANE γ ET HEXACHLOROCYCLOHEXANE δ

Concentration (M)	Durée du traitement (heures)	Observations
$1 \cdot 10^{-5}$	4	<i>Isomère γ</i> : début d'action c-mitotique; nombreuses figures normales et subnormales, rares c-mitoses. <i>Isomère δ</i> : identique à isomère γ .
$5 \cdot 10^{-5}$	4	<i>Isomère γ</i> : encore quelque tendance à formation de plaques métaphasiques et disposition bipolaire; rares mitoses normales au milieu de quelques hémicinèses et nombreuses stathmocinèses. <i>Isomère δ</i> : identique à isomère γ .
	24	<i>Isomère γ</i> : tuméfaction subterminale; action c-mitotique complète: nombreux noyaux géants à formes compliquées, belles plaques pseudométaphasiques et pseudotéphasiques diploïdes et tétraploïdes à chromosomes allongés, disposés, à la métaphase, en X ou en paires de skis, comme dans la mitose colchicinique classique. <i>Isomère δ</i> : tuméfaction subterminale moins grosse qu'avec l'isomère γ ; action c-mitotique complète: mêmes figures qu'avec l'isomère γ , mais moins de mitoses, donc moins de cas de tétraploidie et moins de noyaux géants.
	48	<i>Isomère δ</i> : apparition de la toxicité: altération des noyaux, tendance à l'homogénéisation.
	72	<i>Isomère δ</i> : la plupart des noyaux très altérés, plus ou moins pycnotiques; suppression des mitoses.
	144	<i>Isomère γ</i> : progrès du cycle mitotique: plaques pseudométaphasiques géantes dont certaines, hexadécaploïdes, donneraient des noyaux à 256 chromosomes; noyaux géants atteignant 75 μ et comportant un grand nombre de nucléoles dont quelques-uns fusionnent.

TABLEAU I (Suite)

Concentration (M)	Durée du traitement (heures)	Observations
$1 \cdot 10^{-4}$	4	<i>Isomère γ</i> : même action que $5 \cdot 10^{-5}$ M <i>Isomère δ</i> : même action que $5 \cdot 10^{-5}$ M
	24	<i>Isomère δ</i> : mitose presque complètement arrêtée; rares stathmocinèses altérées, nombreux noyaux pycnotiques.
	48	<i>Isomère δ</i> : racines mortes.
	72	<i>Isomère γ</i> : la polyploidie n'atteint pas un degré aussi élevé que pour la concentration précédente, car, dès 72 heures, la mitose est presque complètement arrêtée, avec pycnose des noyaux géants.

TABLEAU II

INOSITOPHOSPHATE DE SODIUM, HEXACHLOROCYCLOHEXANE γ ET HEXACHLOROCYCLOHEXANE δ

IP Inositophosphate de sodium seul
IP + H γ Inositophosphate de sodium + hexachlorocyclohexane γ $5 \cdot 10^{-5}$ M
IP + H δ Inositophosphate de sodium + hexachlorocyclohexane δ $5 \cdot 10^{-5}$ M

Concentration de <i>IP</i> (M)	Durée du traitement (heures)	Observations
$1 \cdot 10^{-4}$	4	<i>IP</i> : uniquement des mitoses normales <i>IP + H γ</i> : identique à ce que donne <i>H γ</i> seul <i>IP + H δ</i> : identique à ce que donne <i>H δ</i> seul
	24	<i>IP</i> : la plupart des mitoses normales, quelques unes légèrement désorganisées. <i>IP + H γ</i> : tuméfaction subterminale sur toutes les racines; identique à ce que donne <i>H γ</i> seul. <i>IP + H δ</i> : certaines racines tuméfiées, présentant des stathmocinèses plus ou moins altérées; chez les racines non tuméfiées, arrêt de la mitose et altération plus ou moins profonde des noyaux.
$2.5 \cdot 10^{-4}$	4	<i>IP</i> : rares mitoses normales; nombreuses figures anomalies bi- ou pluripolaires; stathmocinèses à chromosomes raccourcis; altération plus ou moins forte. <i>IP + H γ</i> : figures analogues à celles données par <i>H γ</i> seul mais plus altérées; stathmocinèses sous formes d'amas chromosomiques plus ou moins embrouillés; ponts chromosomiques et agglutinations. <i>IP + H δ</i> : figures analogues à celles données par <i>IP + H γ</i> .
	24	<i>IP</i> : arrêt de la mitose; homogénéisation des noyaux, pycnose, diffusion de la chromatine dans les cellules. <i>IP + H γ</i> : figures analogues à <i>IP</i> . <i>IP + H δ</i> : racines mortes.

TABLEAU II (Suite)

Concentration de IP (M)	Durée du traitement (heures)	Observations
$5 \cdot 10^{-4}$	4	<p><i>IP</i>: pas de mitoses normales; action stathmocinétisante très nette, chromosomes en paquets plus ou moins agglutinés; déjà forte altération.</p> <p><i>IP + Hγ</i>: pas de mitoses normales, très nombreuses stathmocinèses, début d'altération mais beaucoup moins forte que dans le cas de <i>IP</i>.</p> <p><i>IP + Hδ</i>: pas de mitoses normales, très nombreuses stathmocinèses, altération plus forte que dans le cas de <i>IP + Hγ</i> mais moins forte que dans le cas de <i>IP</i>.</p>
	24	<p><i>IP</i>: racines mortes.</p> <p><i>IP + Hγ</i>: racines mortes.</p> <p><i>IP + Hδ</i>: racines mortes.</p>
$5 \cdot 10^{-3}$	4	<p><i>IP</i>: racines translucides; arrêt presque complet de la mitose, homogénéisation du noyau.</p> <p><i>IP + Hγ</i>: racines translucides; mitose très ralentie, début d'homogénéisation du noyau.</p> <p><i>IP + Hδ</i>: identique à <i>IP + H</i>.</p>
	24	<p><i>IP</i>: racines mortes.</p> <p><i>IP + Hγ</i>: racines mortes.</p> <p><i>IP + Hδ</i>: racines mortes.</p>

L'ensemble de nos observations conduit aux conclusions suivantes:

L'hexachlorocyclohexane γ , à la concentration optimum de $5 \cdot 10^{-5} M$, présente une action mitotique analogue à celle de la colchicine, provoquant de nombreuses stathmocinèses, pseudométaphases et pseudotélophases caractéristiques de la c-mitose. Comme celle de la colchicine, l'action de l'hexachlorocyclohexane γ est itérative: il arrive de trouver, après 3 jours de traitement, des plaques pseudo-anaphasiques (Fig. 2) et pseudo-métaphasiques géantes allant jusqu'à l'hexadécaploidie et donnant par conséquent des noyaux à 256 chromosomes. On rencontre, dans les méristèmes traités, des noyaux géants atteignant 75μ de longueur (Fig. 3). De plus, comme l'ont déjà signalé NYBOM ET KNUTSON³ et D'AMATO⁷, l'hexachlorocyclohexane γ est pratiquement dépourvu de toxicité.

L'hexachlorocyclohexane δ , à la même concentration de $5 \cdot 10^{-5} M$ présente tout d'abord une action mitotique semblable à celle de l'isomère γ . Mais il est rare que les racines plongeant dans la solution restent vivantes après 72 heures de traitement; le plus souvent, au bout de 48 heures, apparaissent les premiers signes de toxicité du produit: homogénéisation du noyau, pycnose, etc. Aussi ne peut-on jamais obtenir plus de deux cycles stathmocinétiques. L'isomère δ semble ainsi le seul toxique des quatre

isomères de l'hexachlorocyclohexane étudiés au point de vue qui nous occupe, puisque NYBOM ET KNUTSON³ ont déjà indiqué que les isomères α , β et γ ne l'étaient pas.

Le mésoinositol, seul, en solution $5 \cdot 10^{-3} M$ ou $1 \cdot 10^{-2} M$, n'a aucune action; à ces mêmes concentrations et en présence d'hexachlorocyclohexane γ ou δ $5 \cdot 10^{-5} M$, il n'inhibe nullement l'effet de ces deux corps qui agissent, sans aucun retard, comme s'ils étaient seuls. Employé seul en solution $5 \cdot 10^{-2} M$ ou $25 \cdot 10^{-2} M$, le mésoinositol présente une légère action c-mitotique. Ajouté à ces concentrations à l'hexachlorocyclohexane γ ou δ , il n'en modifie aucunement l'action. Nous ne pouvons donc pas confirmer ici les observations de CHARGAFF, STEWART ET MAGASANIK⁸.

L'inositophosphate de sodium, en solution $5 \cdot 10^{-4} M$, manifeste, après 4 heures de traitement, une action c-mitotique très nette, accompagnée déjà d'une forte altération des cellules; le seuil de l'activité c-mitotique est ici au-dessus du seuil de toxicité, de telle sorte que la racine est rapidement tuée et qu'on ne trouve jamais de deuxième cycle cinétique.

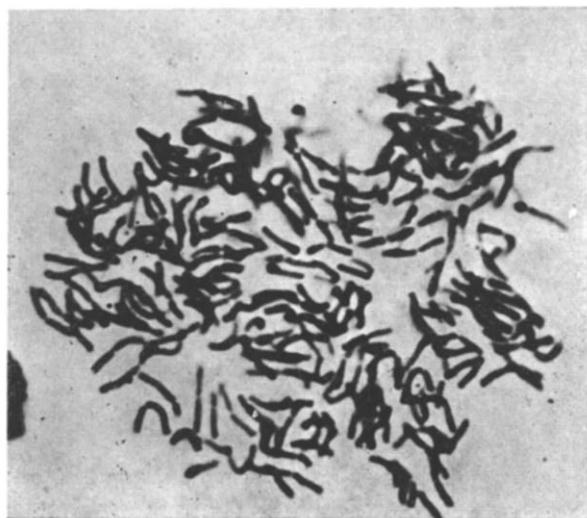


Fig. 1. Mitoses normales et noyaux normaux ($\times 1000$)

Même grossissement ($\times 1000$) que la Fig. 1

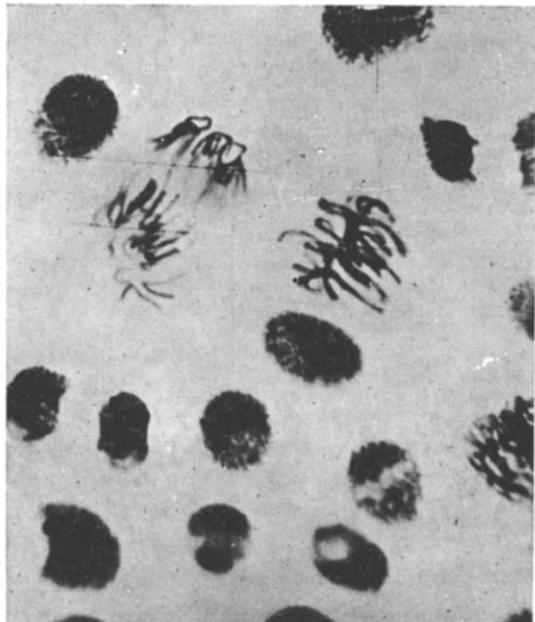


Fig. 2. Plaque pseudo-anaphasique octoploïde (128 chromosomes) due à l'action de l'hexachlorocyclohexane γ .

L'inositophosphate de sodium, à la même concentration, n'inhibe aucunement l'action des hexachlorocyclohexanes; ceux-ci, par contre, freinent l'action毒ique de l'inositophosphate: les figures obtenues au bout de 4 heures de traitement par les mélanges: inositophosphate + hexachlorocyclohexane γ et inositophosphate + hexachlorocyclohexane δ , sont nettement moins altérées que dans le cas de l'inositophosphate seul; après 24 heures, la toxicité de ce dernier l'emporte et, dans les deux cas, les racines sont mortes. En solution $1 \cdot 10^{-4} M$, l'inositophosphate n'exerce plus aucune action.



Fig. 3. Noyau géant résultant de l'action de l'hexachlorocyclohexane γ . Même grossissement ($\times 1000$) que la Fig. 1.

RÉSUMÉ

1. Des observations faites sur de jeunes racines d'*Allium Cepa* ont confirmé que l'hexachlorocyclohexane γ n'est pas toxique pour les cellules étudiées et possède une forte action c-mitotique. Ces observations ont montré en outre que:

2. L'hexachlorocyclohexane δ présente une activité c-mitotique analogue à celle de l'isomère γ , mais est toxique.

3. Contrairement à ce qu'ont pensé CHARGAFF, STEWART ET MAGASANIK, le mésoinositol n'exerce aucune action protectrice de la mitose vis à vis des hexachlorocyclohexanes.

4. L'inositophosphate de sodium, très toxique, possède une activité c-mitotique très nette; il n'exerce aucune influence sur celle des hexachlorocyclohexanes; par contre, ces derniers s'opposent légèrement à la toxicité de l'inositophosphate.

SUMMARY

1. Observations made on young roots of *Allium Cepa* have confirmed the opinion that γ -hexachlorocyclohexane is not toxic for the cells studied and that it possesses a strong c-mitotic action. These observations have also shown that:

2. δ -hexachlorocyclohexane has an analogous c-mitotic action as the γ isomer, but is toxic.

3. Contrary to the idea brought forward by CHARGAFF, STEWART, AND MAGASANIK, mesoinositol has no protective ability for mitosis against hexachlorocyclohexanes.

4. Sodium inositophosphate, very toxic, has a marked c-mitotic activity; it has no influence on that of the hexachlorocyclohexanes; on the contrary, the latter slightly counteract the toxicity of inositophosphate.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Beobachtungen an jungen Wurzeln von *Allium cepa* haben bestätigt, dass γ -Hexachlorocyclohexan für die untersuchten Zellen nicht giftig ist und eine starke c-mitotische Wirkung besitzt. Diese Beobachtungen haben weiter gezeigt:

2. Das δ -Hexachlorocyclohexan besitzt eine dem γ -Isomeren analoge c-mitotische Wirkung, ist aber giftig.

3. Im Gegensatz zu den Ansichten von CHARGAFF, STEWART UND MAGASANIK übt das Mesoinositol keine schützende Wirkung auf die Mitose gegenüber den Hexachlorocyclohexanen aus.

4. Das sehr giftige Natriuminositophosphat besitzt eine ausgesprochene c-mitotische Wirkung; es beeinflusst die Wirkung der Hexachlorocyclohexane nicht, dagegen wirken diese der Giftigkeit des Inositophosphates schwach entgegen.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 A.-P. DUSTIN, *Compt. rend. assoc. anat.* Bâle, (1938).
- 2 G. MANGENOT ET S. CARPENTIER, *Compt. rend. soc. biol.*, 138 (1944) 105.
- 3 N. NYBOM ET B. KNUTSON, *Hereditas*, 33 (1947) 220.
- 4 H. POUSEL, *Gallica Biol. Acta*, 1 (1948) 11.
- 5 D. KOSTOFF, *Nature*, 162 (1948) 845.
- 6 D. KOSTOFF, *Science*, 109 (1949) 467.
- 7 F. D'AMATO, *Caryologia*, 1 (1949) 209.
- 8 E. CHARGAFF, R. N. STEWART ET B. MAGASANIK, *Science*, 108 (1948) 556.
- 9 N. S. RAO ET B. KUNDU, *Science and Culture*, 14 (1949) 484.
- 10 F. D'AMATO, *Caryologia*, 1 (1949) 223.

Reçu le 2 novembre 1949