

# Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich

unter Mitwirkung von

A. U. DÄNIKER, P. FINSLER, H. FISCHER, A. FREY-WYSSLING, H. GUTERSOHN, P. KARRER, B. MILT,  
P. NIGGLI, P. SCHERRER, H. R. SCHINZ, FR. STÜSSI und M. WALDMEIER

herausgegeben von

HANS STEINER, ZÜRICH 7

Druck und Verlag: Gebr. Fretz AG., Zürich

Nachdruck auch auszugsweise nur mit Quellenangabe gestattet

Jahrgang 95

HEFT 2

30. Juni 1950

## Abhandlungen

### Vues nouvelles sur le cancer végétal

Par

R. J. GAUTHERET (Paris)

(Avec 8 figures dans le texte)

Le problème du cancer végétal se rattache à la question générale des processus tumoraux. Je commencerai donc cet exposé en rappelant les caractères les plus essentiels de ces processus.

Imaginons une cellule qui, après avoir travaillé pendant des mois ou des années en harmonie avec des myriades d'autres cellules, devienne subitement capable de se multiplier d'une manière anarchique. Elle va donner naissance à une masse tissulaire plus ou moins organisée que l'on appelle une tumeur. Il se pourra qu'ultérieurement les éléments de cette tumeur se soumettent de nouveau aux mécanismes inconnus qui, dans l'organisme normal, règlent les processus de multiplication cellulaire. Alors la prolifération s'arrêtera et le néoplasme évoluera vers un type bénin.

Mais d'autres fois, la multiplication des cellules échappera définitivement à tout contrôle. Les tissus néoplasiques envahiront progressivement l'organisme et celui-ci sera tué par sa propre chair. A ces redoutables processus tumoraux, on donne le nom de cancers.

Malgré leur infinie variété toutes les formes de cancers présentent en commun les deux caractères qui viennent d'être soulignés: faculté de prolifération illimitée au sein de l'organisme et permanence de leurs propriétés tumorales.

#### *Caractères généraux du cancer animal*

Il y aura bientôt cinquante ans, les cliniciens, qui observaient le cancer humain, ont soupçonné qu'il devait résulter d'une maladie de la cellule elle-même. Cette maladie ne paraît pas se transmettre de cellule à cellule, et sa propagation d'organe à organe s'opère au moyen de métastases, c'est-à-dire grâce à des cellules qui se détachent du foyer primitif et sont transportées par le

flot sanguin ou la lymphe en des points plus ou moins éloignés, où elles produisent de nouvelles tumeurs. Ce mode de propagation prouve que la cellule cancéreuse est une individualité douée de propriétés spéciales.

### *Propriétés de la cellule cancéreuse*

Pour essayer de connaître la nature de cette spécificité, les chercheurs se sont tout d'abord tournés vers la cytologie: celle-ci leur a permis de découvrir à l'intérieur des éléments tumoraux diverses structures aberrantes, notamment des mitoses anormales pourvues de fuseaux multipolaires. Mais un examen attentif des tissus tumoraux montra que seules les régions profondes, soumises à des conditions asphyxiques présentaient des particularités cytologiques, tandis que les cellules périphériques n'offraient aucun caractère spécial. Ces observations préliminaires furent complétées par l'examen comparé de cultures de tissus normaux et tumoraux et dans ce cas encore, on ne put déceler aucune différence significative entre la structure des cellules cancéreuses et celle des éléments normaux correspondants. A la suite de ces résultats négatifs, les recherches s'orientèrent vers la physiologie et l'on s'efforça de comparer notamment les besoins nutritifs des éléments normaux et cancéreux, au moyen de la méthode classique des cultures *in vitro*. On s'aperçut ainsi que les éléments cancéreux ont des besoins nutritifs plus faibles que les cellules normales. Ils sont par exemple capables de se multiplier sans extrait embryonnaire même lorsque les cellules normales correspondantes exigent cette substance. Mais cette particularité n'a pas vraiment éclairci le problème de la nutrition des éléments cancéreux, car l'extrait embryonnaire est fort complexe; on ne peut donc savoir exactement quelles sont les substances définies dont les cellules normales ont besoin et dont les cellules tumorales peuvent se passer. Toutefois les résultats fragmentaires fournis par ces études ont cependant permis de supposer que la transformation tumorale consisterait dans une exaltation du pouvoir de synthèse des cellules, exaltation qui leur permettrait de proliférer sans limite aux dépens des substances nutritives présentes dans l'organisme.

D'autres études physiologiques relatives au catabolisme prouvent que les tissus néoplasiques jouissent d'une aptitude marquée à produire des fermentations. Les cancérologues ont soupçonné que cette propriété devait être très importante, mais jusqu'ici ils n'ont pu ni l'expliquer, ni comprendre sa signification.

### *Les causes du cancer*

Après avoir ainsi considéré brièvement les propriétés essentielles des cellules tumorales, examinons quelles peuvent être les causes du cancer. Jadis on a cru que les cellules cancéreuses représentaient de simples éléments embryonnaires ayant échappé aux processus de différenciation qui se produisent au cours du développement de l'organisme. Mais lorsqu'il fut démontré que les cellules cancéreuses possèdent des propriétés spécifiques, il devint nécessaire

d'abandonner cette conception. On s'efforça alors d'expliquer la transformation tumorale en imaginant des troubles de l'équilibre physico-chimique du milieu cellulaire, troubles pour la plupart absolument hypothétiques. Mais grâce aux efforts acharnés de dizaines de chercheurs, le problème de l'origine du cancer quitta finalement le domaine de la rêverie pour aborder celui de la connaissance positive.

On sait, à présent, que trois groupes de facteurs concourent à la transformation tumorale; certains sont infectieux, d'autres ont une nature physico-chimique, d'autres enfin sont d'ordre génétique.

L'existence d'agents infectieux susceptibles de provoquer la cancérisation des cellules a été révélée par des recherches mémorables effectuées sur certaines leucémies et sur les sarcomes aviaires. Des phénomènes de cancérisation par voie physico-chimique ont pu être obtenus soit au moyen de carbures d'hydrogène spéciaux et d'autres substances, soit sous l'action des rayons X et des rayons ultraviolets. Quant à l'influence des facteurs génétiques sur la formation des tumeurs cancéreuses, elle a pu être décelée grâce à l'isolement de lignées pures sensibles au cancer, ou au contraire complètement résistantes à ce type de maladie.

Certains de ces facteurs agissent à coup sûr; d'autres au contraire produisent des résultats variables suivant leur intensité et leur durée d'action. L'un des exemples les plus intéressants est celui des carbures cancérigènes qui déterminent tout d'abord des tumeurs à croissance limitée susceptibles de se transformer en cancers si l'on pratique des applications répétées. Cette transformation a même pu être obtenue sur des cultures de tissus par Earle; mais dans ce cas certains témoins ont aussi manifesté la transformation cancéreuse, si bien qu'on est arrivé à douter de la spécificité des carbures cancérigènes.

Les idées diverses suscitées par la découverte de la multiplicité des causes du cancer ne se sont pas affrontées, car les chercheurs ont constaté que très fréquemment, la transformation tumorale exige le concours simultané de plusieurs facteurs. C'est ainsi que certains lapins qui produisent des tumeurs bénignes sous l'influence du goudron ou sous l'action d'un virus spécifique contractent au contraire des néoplasmes cancéreux, si ces deux agents sont mis en œuvre simultanément. Le cas désormais classique des tumeurs mammaires de la souris offre un aspect encore plus remarquable de conditionnement multiple. Pour que ce type de cancer apparaisse, il faut en effet que l'animal appartienne à une race déterminée, qu'il ait été allaité durant son jeune âge par une mère dont le lait renfermait un virus spécifique et qu'enfin ses tissus contiennent une dose convenable d'hormone œstrogène.

Ainsi, les facteurs de la transformation tumorale commencent à être connus. Mais malheureusement leur connaissance n'a fourni, jusqu'à ce jour, aucun moyen de combattre le cancer, car, comme nous l'avons dit, le phénomène tumoral persiste après la disparition des facteurs qui l'ont déclenché, et jusqu'à présent rien ne permet d'espérer qu'il soit possible de le faire rétrograder.

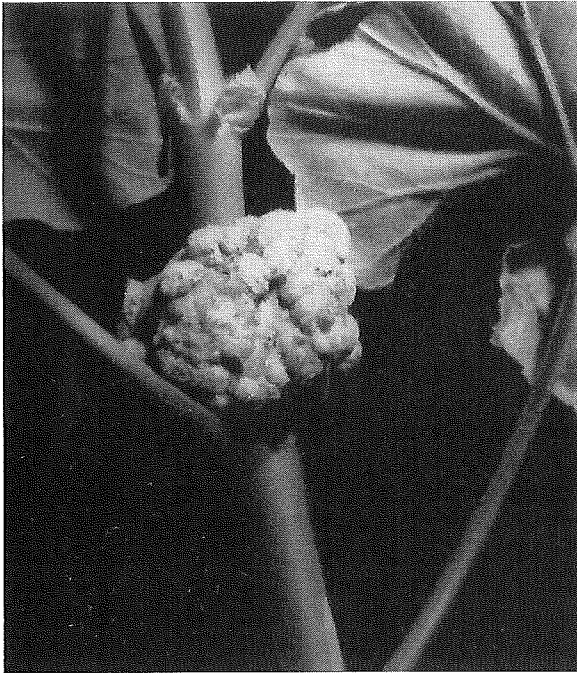


Fig. 1 *Crown-Gall* développé sur une tige de *Pelargonium*.

Cette tumeur exubérante est produite par une bactérie: le *Phytomonas tumefaciens*.

### *Le problème du Crown-Gall*

Au cours de l'histoire de la Biologie, les chercheurs se sont plus d'une fois tournés vers le règne végétal pour lui demander la solution de problèmes particulièrement difficiles posés par l'étude des animaux. Rappelons par exemple que l'examen de la cellule végétale dont la structure est relativement facile à observer et qui se prête admirablement à l'expérimentation a permis d'éclaircir certaines questions délicates rencontrées en cytologie animale. Une attitude semblable fut adoptée à l'égard du problème du cancer. Dès 1907, le phytopathologiste E. Smith pensa que l'étude des processus tumoraux chez les plantes fournirait peut-être des données susceptibles d'être exploitées par les cancérologues. Ses recherches portèrent principalement sur le Crown-Gall, tumeur particulièrement exubérante qui se développe fréquemment au collet de certaines plantes. Il isola de ses tissus une bactérie en forme de bâtonnet, le *Phytomonas tumefaciens*, qui, inoculée à des plantes saines, produisait de nouvelles tumeurs (fig. 1); une interprétation logique de cette découverte aurait dû faire rejeter toute possibilité de comparer le Crown-Gall aux cancers animaux puisque ceux-ci n'ont certainement pas une origine bactérienne. E. Smith n'accepta pourtant pas de se plier à cette indication, mais au contraire il tenta d'établir un parallélisme entre les tumeurs provoquées

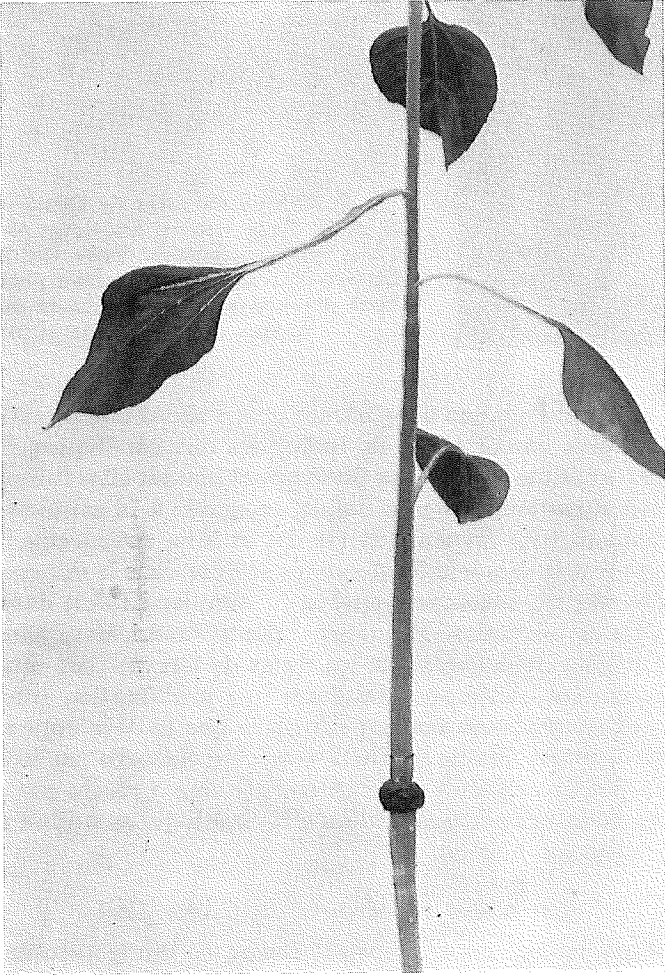


Fig. 2 Production de métastases par le Crown-Gall.

Cette photographie représente un pied de Soleil auquel on inocula le *Phytomonas tumefaciens*. Une tumeur se développa dans la région contaminée (en bas) puis, par la suite, des tumeurs secondaires apparurent sur une feuille très éloignée du foyer primitif (en haut et à gauche). Ces tumeurs secondaires étaient dépourvues de bactéries (d'après Ph. R. White).

par le *Phytomonas* et les tumeurs malignes des animaux. Sa tentative n'échoua d'ailleurs pas complètement, mais elle révéla des particularités fort curieuses, notamment la production, par les plantes atteintes de Crown-Gall, de métastases analogues à celles observées dans le cas des cancers animaux (fig. 2). Ces métastases ne renferment en général pas de cellules bactériennes et pour expliquer leur apparition on fut obligé d'attribuer au *Phytomonas* la faculté d'induire à distance des phénomènes de prolifération tissulaire. Pour expliquer

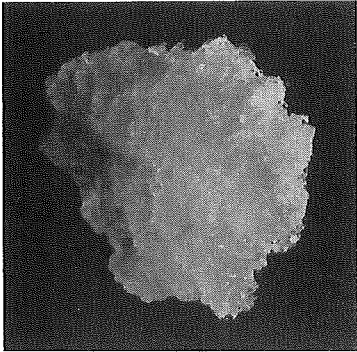


Fig. 3 *Culture de tissus de Crown-Gall de Soleil.* Il s'agit d'une culture aseptique réalisée à partir d'une tumeur secondaire dépourvue de *Phytomonas*. La colonie représentée sur cette photographie provient d'une souche ayant subi de nombreux repiquages (d'après White et Braun).

cette induction, les chercheurs imaginèrent tout d'abord une sécrétion de toxine par la bactérie, puis une émission de radiations mitogénétiques. Ces interprétations ne résistèrent pas à l'épreuve du temps et bientôt elles furent remplacées par une théorie apparemment plus solide, imaginée à la suite des recherches de deux microbiologistes français: Berthelot et Mlle Amoureux. En 1938, ces auteurs avaient constaté que le *Phytomonas* sécrète dans le milieu où on le cultive de l'hétéro-auxine, substance capable de stimuler à faible dose la multiplication des cellules végétales. Peu après, deux Américains, Link et Eggers établirent au moyen de dosages que les tissus de Crown-Gall renferment une quantité d'auxine suffisante pour produire une prolifération très intense. En rapprochant ces résultats, on pouvait admettre que le développement tumoral résulterait d'une action directe de l'hétéro-auxine élaborée par le *Phytomonas*.

Le problème du Crown-Gall semblait complètement résolu par cette théorie et l'on renonça donc aux anciennes idées d'E. Smith qui assimilait cette tumeur à une sorte de cancer végétal.

#### *La nature cancéreuse du Crown-Gall*

Toutefois deux biologistes américains, Braun et White refusèrent de souscrire à l'opinion générale. Ils se demandèrent en particulier si le développement des tumeurs secondaires qui sont dépourvues de bactéries ne résulterait pas d'une activité spéciale de leurs cellules plutôt que d'une action indirecte du *Phytomonas*.

Pour essayer de déceler cette activité propre, il convenait de soustraire les tumeurs secondaires à toute influence du *Phytomonas* contenu dans les foyers primitifs. Afin de parvenir à ce résultat, Braun et White isolèrent alors des fragments de tumeurs secondaires et tentèrent de les cultiver dans un milieu relativement simple constitué par des sels minéraux, un sucre et des traces de deux autres substances organiques: glyco-colle et vitamine B1.

Leur tentative réussit pleinement et ils isolèrent de cette manière une souche de tissus qui se développe actuellement depuis six années (fig. 3).

Malgré l'absence de bactéries, ces tissus conservaient en culture leur caractère tumoral, car en les greffant sur des plantes saines on obtenait la pro-

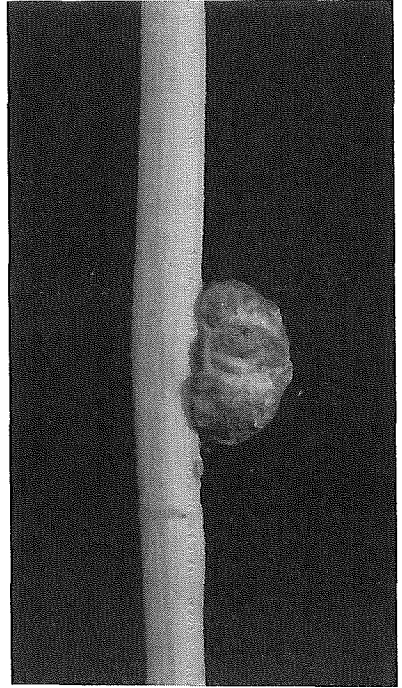


Fig. 4 Tumeur obtenue en greffant une culture aseptique de tissus de Crown-Gall sur un pied de Soleil (d'après White et Braun).

duction de tumeurs identiques à celles produites par l'inoculation du *Phytoplasma tumefaciens* (fig. 4).

Ces résultats apportaient la preuve que la Bactérie du Crown-Gall ne fait que déclencher la transformation tumorale et que celle-ci persiste ensuite en son absence. Les cellules de Crown-Gall présentent donc les deux propriétés fondamentales qui permettent de définir les éléments cancéreux: faculté de prolifération illimitée et persistance du caractère tumoral. A la suite des travaux de White et Braun on pouvait considérer de nouveau le Crown-Gall comme une sorte de cancer. Mais d'autres questions se posaient encore.

#### *La spécificité des cellules de Crown-Gall*

Il convenait notamment d'établir une comparaison entre les propriétés générales des cellules de Crown-Gall et celles des éléments normaux correspondants. Braun et White avaient essayé d'entreprendre cette comparaison, mais sans succès, car ils n'étaient pas parvenus à cultiver des tissus normaux. Or, au moment où ces chercheurs publièrent leurs résultats, j'avais obtenu depuis longtemps la culture de divers tissus normaux grâce à l'utilisation de milieux renfermant une hétéro-auxine, substance dont White et Braun ne s'étaient pas servis au cours de leurs tentatives. Je possédais donc le moyen de comparer les besoins nutritifs des tissus normaux et de Crown-Gall. Cette

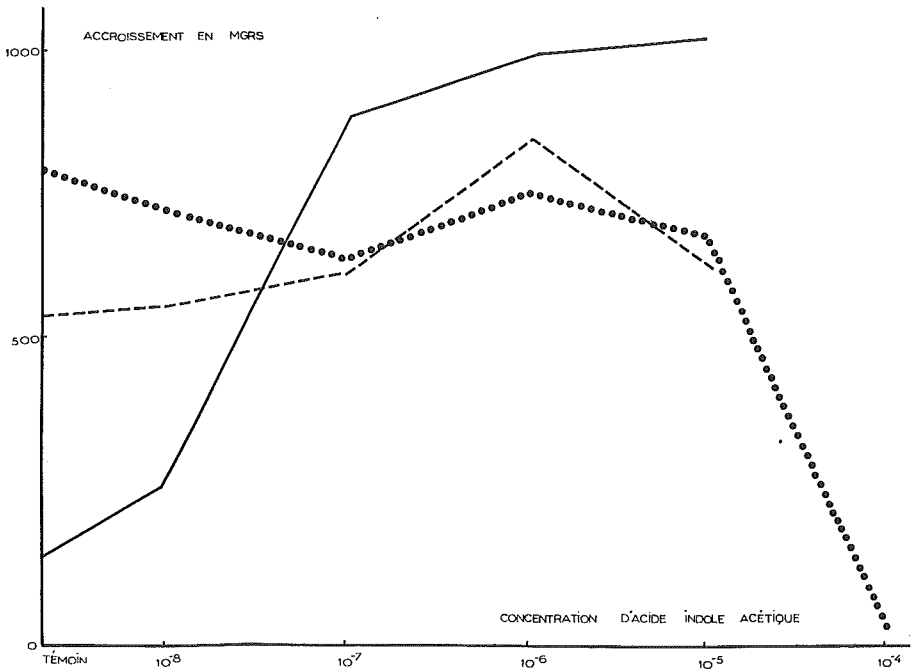


Fig. 5 Action de l'acide indole-acétique sur les trois types de tissus de Scorsonère.

On constate que les tissus de Crown-Gall (courbe en pointillé) et les tissus modifiés à la suite d'un traitement prolongé par de l'hétéro-auxine (courbe en tirets) prolifèrent activement en l'absence d'acide indole-acétique et sont en outre peu sensibles à l'action excitofomatrice de cette substance. Au contraire, les tissus de la souche normale (courbe en trait plein) ne prolifèrent que d'une manière insignifiante sans hétéro-auxine mais leur développement est fortement stimulé par cette substance.

comparaison a pu être faite pour deux espèces: le Topinambour et la Scorsonère (fig. 5). Elle a montré, conformément aux prévisions, que les tissus de Crown-Gall peuvent se passer d'hétéro-auxine tandis que les tissus normaux correspondants sont incapables de proliférer d'une manière durable en l'absence d'une substance de ce type. J'ai en outre constaté que l'hétéro-auxine qui exalte puissamment la prolifération des tissus normaux n'exerce en revanche aucune action stimulante sur les tissus tumoraux (fig. 5). Cette différence de comportement pouvait être expliquée soit en supposant que les tissus de Crown-Gall élaborent eux-mêmes les auxines dont ils ont besoin pour leur prolifération, soit en admettant qu'ils peuvent réellement se développer en l'absence de substance de division. Cette incertitude a pu être levée par ma collaboratrice, Mlle Kulescha, grâce à des dosages d'auxines dans les cultures de tissus. Ces dosages ont en effet établi que les cultures de tissus normaux, ainsi d'ailleurs que les parenchymes des plantes entières, élaborent une quantité insignifiante d'auxine qui, évaluée en acide indole-acétique, correspond à une concentration de l'ordre de 0,1 à  $0,3 \cdot 10^{-8}$ , tandis que les colonies



tumorales en contiennent une dose de l'ordre de  $5.10^{-8}$  qui suffit à stimuler activement la multiplication des cellules.

*La nature de la transformation tumorale provoquée par le Phytomonas*

Ces résultats révélèrent pour la première fois que la transformation tumorale consiste dans le fait que les cellules intensifient leur pouvoir de synthétiser des auxines, qui sont des facteurs essentiels de la prolifération. Grâce à cette intensification, elles peuvent s'affranchir de la limitation qu'exerce la faible teneur en auxine contenue dans les parenchymes de la plante sur la division des cellules normales et deviennent donc capables de se multiplier sans frein.

Ainsi les phytopathologistes ont été plus heureux que les chercheurs travaillant sur le cancer animal car ils sont parvenus à préciser la nature de la spécificité des cellules tumorales.

La comparaison des cultures de tissus normaux et tumoraux n'a pas seulement révélé des différences d'ordre physiologique, mais elle a permis de mettre également en évidence des particularités d'ordre morphologique.

C'est ainsi que les colonies de tissus de Crown-Gall ont un aspect translucide et sont fréquemment friables tandis que les cultures normales sont opaques et compactes. Cet aspect translucide résulte du fait que les méats sont infiltrés de liquide au lieu de renfermer des gaz comme c'est le cas normalement.

L'examen de coupes histologiques a révélé en outre que les colonies tumorales sont fréquemment dépourvues des formations libéroligneuses que l'on observe constamment dans les cultures normales. Mais cette particularité n'est pas vraiment générale, car les cultures de tissus de Crown-Gall de certaines espèces, par exemple de Scorsonère, sont pourvues d'abondantes formations libéroligneuses.

*Mécanisme de la transformation tumorale: Rôle des agents infectieux et des facteurs chimiques dans le développement des cancers végétaux; la théorie auxinique du Crown-Gall*

Les recherches qui viennent d'être évoquées n'avaient pas épuisé le problème du Crown-Gall. Notamment elles n'avaient fourni aucun renseignement sur le mécanisme de la transformation tumorale; pour résoudre cette question il fallait analyser le mode d'action du *Phytomonas* et s'efforcer d'obtenir par d'autres moyens des phénomènes analogues à ceux qu'il provoque.

Etant donné que cette bactérie élabore de l'hétéro-auxine qui est un puissant facteur de division, on pouvait penser que cette substance représenterait peut-être l'agent de la transformation tumorale. Plusieurs tentatives furent effectuées en vue de vérifier cette hypothèse. La plupart échouèrent car les néoplasmes obtenus au moyen d'hétéro-auxine (fig. 6) étaient dépourvus de toute malignité; leur croissance s'arrêtait dès que l'on suspendait l'action de la substance de division, et de plus, on ne pouvait obtenir de nouvelles tumeurs en les greffant sur des tissus normaux. Mais ces échecs provenaient de ce que l'on avait fait agir les hétéro-auxines d'une manière trop ménagée.



Fig. 6 Fragment de racine de Carotte ayant été cultivé dans un milieu additionné d'acide indole-acétique à la concentration de  $10^{-7}$ .

Il a produit une volumineuse protubérance parenchymateuse sous l'action de la substance de division. Cette protubérance n'a pas de caractère cancéreux car ses tissus ne fournissent pas de tumeur si on les greffe sur un fragment de racine normale.

Il s'agit donc d'une tumeur bénigne.

En effet, en prolongeant durant plusieurs années l'action de ces substances j'ai obtenu la formation de véritables tumeurs malignes, dont les tissus possédaient, comme ceux de Crown-Gall, la faculté de se développer en l'absence d'hétéro-auxine et d'être insensibles à l'action excito-formatrice des substances de ce type (fig. 5). En greffant les tissus ainsi modifiés sur des fragments de plantes normales, mon collaborateur, M. Camus, a constaté qu'ils se développaient pour donner des tumeurs analogues à celles obtenues en greffant des tissus de Crown-Gall mais cependant moins volumineuses (fig. 7). Des dosages ont en outre établi que ces tissus élaborent une quantité d'auxine de l'ordre de  $3 \cdot 10^{-8}$ , c'est-à-dire à peine inférieure à celle présente dans les cultures de tissus de Crown-Gall. Ils présentent enfin un aspect translucide analogue à celui des cultures de tissus de Crown-Gall.

Ainsi, l'action prolongée d'une hétéro-auxine peut provoquer chez les plantes la formation de néoplasmes analogues à ceux produits par le *Phytomonas* et qui possèdent par conséquent des caractères cancéreux.

Etant donné que le *Phytomonas tumefaciens* élabore de l'acide indole-acétique, il est évidemment tentant d'admettre que la transformation tumorale provoquée par la bactérie résulterait d'une action directe de l'auxine qu'elle sécrète. Cette «théorie auxinique» du Crown-Gall a pu paraître vraisemblable il y a quelques années, mais à présent, on est obligé d'y renoncer pour de nombreuses raisons que nous allons passer en revue.

#### *Critique de la théorie auxinique du Crown-Gall*

Je vous rappellerai tout d'abord qu'il n'y a aucun rapport entre les circonstances dans lesquelles se manifestent la transformation tumorale d'origine bactérienne et celle obtenue par voie chimique.

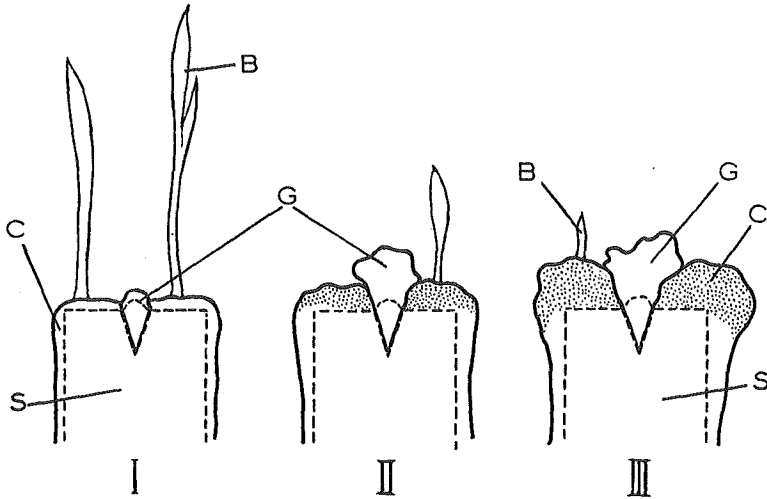


Fig. 7 Schéma résumant l'action morphogène exercée par des tissus greffés sur des fragments de racines de Scorsonère.

Le tracé continu représente le contour des fragments après deux mois de culture *in vitro*; le tracé en pointillé indique leur aspect lors de l'ensemencement.

1° — Le greffon est constitué par un fragment de tissu normal; on constate qu'il n'a pratiquement pas proliféré; le fragment de racine a produit un cal insignifiant et des bourgeons exubérants.

2° — Le greffon est constitué par un fragment de colonie ayant subi le phénomène d'accoutumance à l'hétéro-auxine (tumeur auxinique). Il a proliféré d'une manière très sensible. On remarque en outre qu'il a provoqué la formation de protubérances par le sujet et qu'il a inhibé la croissance des bourgeons. Les régions en pointillé indiquent les zones du cal qui présentent l'aspect translucide qui caractérise les tissus tumoraux.

3° — Le greffon est constitué par un fragment de souche de tissus de Crown-Gall. Il a proliféré de façon exubérante. Le cal produit par le sujet a atteint une épaisseur encore plus considérable que lorsque le greffon était un fragment de souche accoutumée. Remarquer enfin que l'inhibition des bourgeons est très accentuée.

G = greffon; B = bourgeon néoformé; C = cal; S = fragment de racine (Sujet).

La première s'opère à coup sûr et d'une manière instantanée, car, ainsi que Braun l'a établi, il suffit pour l'obtenir que les cellules bactériennes séjournent une dizaine d'heures au contact des tissus. Au contraire la cancérisation produite par les hétéro-auxines est exceptionnelle. Pour être sûr de l'obtenir il faut réaliser plusieurs centaines de cultures de tissus; une ou deux seulement formeront des cellules malignes capables de donner des tumeurs par greffage, tandis que les autres aboutiront seulement à des tumeurs bénignes incapables de proliférer par greffage. En outre cette transformation tumorale produite par les auxines n'apparaît qu'à la suite d'un traitement très prolongé, ce qui contraste singulièrement avec le caractère instantané de l'action bactérienne.

La formation de tissus tumoraux sous l'influence des auxines présente d'ailleurs des caractères curieux. Elle débute par l'apparition dans une colonie

normale d'un mamelon translucide s'accroissant plus rapidement que les tissus environnants. Le repiquage séparé de ce mamelon fournit des colonies entièrement translucides qui présentent les propriétés tumorales définies tout à l'heure.

Ce mode de formation des tumeurs auxiniques rappelle un peu les mutations sectorielles que l'on observe dans les colonies de levures.

J'évoquerai maintenant des expériences d'une toute autre nature, dues à Braun et Laskaris et qui obligent également à renoncer à considérer les auxines comme les facteurs directs du Crown-Gall. Ces auteurs ont constaté que certaines races de *Phytomonas tumefaciens* sont incapables de fournir des tumeurs. Ces bactéries non virulentes n'élaborent pas d'auxine, mais elles deviennent capables de produire des tumeurs exubérantes si on les associe à une dose convenable d'acide indole-acétique. On pourrait penser à première vue que cette expérience établit que l'auxine élaborée normalement par le *Phytomonas* est le seul facteur de sa virulence. Mais il n'en est rien, car si on le fait agir isolément, l'acide indole-acétique ne produit que des tumeurs insignifiantes. La transformation tumorale exige donc, dans le cas présent, le concours des cellules bactériennes et de l'acide indole-acétique.

Récemment, Braun a confirmé cette dualité des facteurs du Crown-Gall au moyen d'autres expériences très démonstratives.

Ces expériences consistent à inoculer des cellules de *Phytomonas* à une série de plantes sensibles que l'on répartissait ensuite en plusieurs lots soumis à diverses températures. Braun a constaté de cette manière que la transformation tumorale ne peut être obtenue qu'au dessous de 29°, bien que des températures plus élevées ne semblent nuisibles ni à la bactérie ni à la plante inoculée. En outre le maintien à basse température n'est nécessaire que durant les premières heures suivant l'inoculation. La durée obligatoire de ce séjour dépend d'ailleurs de la température. Jusqu'à 26°, elle n'est que de dix heures; à 27°, elle atteint seize heures et doit être portée à quarante heures si les plantes sont conservées à 28°; lorsque cette période d'incubation est terminée on peut élever la température au dessus de 30°, sans gêner pour cela le développement tumoral. Enfin il est essentiel que l'application de cette basse température ait lieu aussitôt après l'inoculation. Si l'inoculation est par exemple pratiquée à 35°, et que quelques heures plus tard on refroidisse ces plantes jusque vers 25°, aucun développement tumoral ne se produit. Ces résultats très curieux ne peuvent s'expliquer qu'en admettant que le phénomène tumoral comporte deux phases:

1° Une phase d'induction qui s'opère immédiatement après l'inoculation, sous l'influence conjuguée de la bactérie et de facteurs thermolabiles présents dans la blessure produite par l'inoculation.

2° Une phase de croissance, qui est indépendante des facteurs d'induction et qui peut même s'opérer en l'absence de bactéries comme l'ont établi les expériences de White et de Braun que j'ai évoquées tout à l'heure.

On ne peut donc pas continuer à admettre que la transformation tumorale soit produite simplement par l'auxine que sécrète le *Phytomonas*.

Je vous parlerai enfin de résultats fournis par certaines expériences et qui conduisent eux aussi à renoncer à la théorie auxinique du Crown-Gall.

### *Transmission des propriétés tumorales par la greffe*

Ces expériences qui furent réalisées pour la première fois par de Ropp consistent à greffer des cultures de tissus de Crown-Gall dépourvues de cellules bactériennes sur des fragments de tissus sains. On constate alors que le tissu tumoral stimule le développement du sujet et qu'il induit à une distance plus ou moins grande de la région greffée la formation de protubérances parenchymateuses. Les tissus de ces protubérances peuvent être cultivés à leur tour et fournissent des colonies ayant les mêmes caractères morphologiques et physiologiques que celles obtenues à partir du Crown-Gall. Des observations histologiques montrent qu'aucun transport de cellules ne peut s'opérer dans cette expérience et de Ropp en conclut, avec raison, que les cellules tumorales renferment un facteur diffusible susceptible d'engendrer la transformation tumorale. Ce mode de transmission des phénomènes tumoraux est très différent de celui que l'on connaît chez les animaux. Vous savez en effet, que dans l'organisme animal, le caractère cancéreux ne se propage pas de cellule en cellule mais seulement par métastase, c'est-à-dire grâce à la migration d'éléments tumoraux.

Les expériences réalisées par de Ropp m'ont paru présenter un intérêt considérable. Pour cette raison, j'ai entrepris de les répéter avec l'aide de mon collaborateur M. Camus, et nous nous sommes efforcés de les étendre au cas des tumeurs auxiniques produites sous l'action prolongée des hétéro-auxines.

Dans une première série d'expériences nous avons greffé des cultures de tissus normaux de Scorsonère sur des fragments de racines. Les greffons ne se sont pas accrus et n'ont exercé aucune influence sur le développement des sujets car ceux-ci ont produit des cals insignifiants et des bourgeons exubérants analogues à ceux (fig. 7) formés par des tissus non greffés. Ces cals n'ont pu être repiqués avec succès dans un milieu dépourvu d'hétéro-auxine, ce qui était conforme aux prévisions.

Une seconde série d'expériences consista à greffer des cultures de tissus de Crown-Gall sur des fragments de racines normales. Dans ce cas les greffons se sont développés pour donner de très volumineuses tumeurs. En outre, les tissus de Crown-Gall ont exercé une double action sur les tissus sains en inhibant le développement des bourgeons et en stimulant au contraire celui des cals. Ces cals présentaient un aspect translucide tout à fait semblable à celui des tissus de Crown-Gall et nous avons pu les repiquer indéfiniment dans un milieu dépourvu d'hétéro-auxine, ce qui démontrait leur caractère tumoral. Ces phénomènes d'induction tumorale exercés par les tissus de Crown-Gall se manifestaient même lorsque le greffon et le sujet ne se soudaient pas c'est-à-dire par simple contact; ils s'opéraient donc manifestement par un mécanisme humoral. Enfin le greffage des tumeurs auxiniques a fourni des résultats intermédiaires (fig. 7); les greffons se sont en effet développés

pour donner des tumeurs moins volumineuses que celles obtenues avec les tissus de Crown-Gall et ils ont exercé sur les sujets une action analogue mais cependant moins prononcée. Quant à leur caractère tumoral il s'est transmis au moins partiellement aux tissus sains, car les protubérances produites par les fragments de racines ont pu être repiquées pendant près de deux ans dans un milieu dépourvu d'hétéro-auxine.

L'ensemble des résultats fournis par ces cas de greffe prouve que les tissus tumoraux, quelle que soit leur origine, élaborent un facteur diffusible capable de provoquer à distance l'induction tumorale. Ce facteur est peut-être le même que celui qui intervient dans l'induction tumorale obtenue sous l'action du *Phytomonas*. Mais ici encore ce facteur ne peut être une auxine puisque les substances de ce type ne déterminent la transformation tumorale qu'à la longue. Ainsi l'exaltation de la synthèse d'auxine que l'on constate lors de la transformation tumorale ne peut expliquer à elle seule les phénomènes d'induction que les tissus tumoraux sont capables d'exercer.

On voit donc que malgré l'analyse minutieuse à laquelle les chercheurs se sont livrés, la transformation tumorale n'a pas livré son secret principal. En effet la théorie auxinique s'est écroulée et l'on n'entrevoit encore aucune explication susceptible de s'imposer.

#### *Hypothèses diverses relatives aux causes du Crown-Gall*

Il est donc nécessaire de rechercher s'il peut exister d'autres hypothèses capables de conduire à une compréhension suffisante des faits.

L'une d'elles consiste à imaginer que le *Phytomonas* sécrèterait, en plus de l'acide indole-acétique que l'on connaît, une autre auxine capable de provoquer une transformation tumorale très rapidement et à coup sûr; l'exploitation de cette hypothèse devra faire entreprendre dans l'avenir des études biochimiques.

On peut aussi supposer que la bactérie serait accompagnée par un virus qui persisterait après son élimination des tissus et représenterait le véritable facteur du Crown-Gall.

Cette hypothèse paraît audacieuse; mais on ne doit pas la rejeter a priori car elle n'est incompatible avec aucun des faits qui viennent d'être passés en revue, et d'autre part elle a le mérite de suggérer toute une série d'expériences originales.

Il reste enfin à rechercher quelle peut être la nature de la transformation tumorale.

#### *La nature de la transformation tumorale*

Après avoir essayé de discerner les facteurs véritables des cancers végétaux il me reste pour finir à rechercher quelle peut être la nature de la transformation tumorale.

Ce problème ne se pose pas si l'on admet la théorie virologique, car dans ce cas il est possible d'imaginer qu'il ne se fait pas de transformation spéciale des cellules; le phénomène tumoral résulterait simplement d'une élaboration

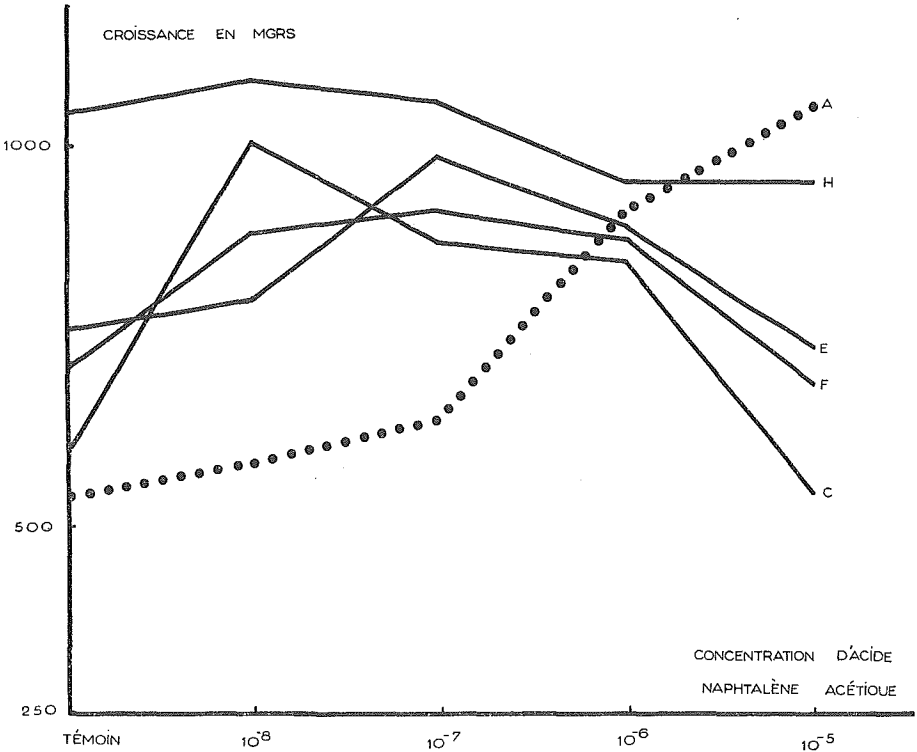


Fig. 8 Action de l'acide naphthalène acétique sur la croissance de diverses souches de tissus de Carotte.

La courbe en pointillé indique les réactions de tissus normaux (souche A) n'ayant jamais subi l'action préalable d'une hétéro-auxine. On remarque qu'en l'absence d'acide naphthalène-acétique la croissance est relativement faible et que cette substance exalte la prolifération. L'optimum est atteint pour une concentration de l'ordre de 10<sup>-5</sup>; au delà de cette dose l'hétéro-auxine deviendrait toxique.

Les courbes en traits pleins correspondent à diverses souches (C, E, F, H) issues de la précédente (souche A) mais ayant subi l'action plus ou moins prolongée de milieux contenant de l'acide indole-acétique.

En l'absence d'hétéro-auxine, ces diverses souches prolifèrent plus intensément que la souche normale. Certaines souches (E, F, C) ont manifesté un phénomène de sensibilisation qui se traduit par un croisement de leur sensibilité à l'égard de l'hétéro-auxine.

Une autre souche (H) a, au contraire, perdu toute sensibilité vis-à-vis de l'action stimulante de l'acide indole-acétique et est donc en quelque sorte accoutumée à cette substance. En étudiant l'évolution d'une souche unique, cultivée pendant plusieurs années sur un milieu contenant de l'hétéro-auxine, on constate qu'elle manifeste successivement le phénomène de sensibilisation puis celui d'accoutumance. Le comportement des souches ayant atteint ce stade ultime de leur transformation est semblable à celui des tissus de Crown-Gall.

de facteurs de division par le virus, ou bien celui-ci obligerait les cellules contaminées à intensifier leur synthèse d'auxine. Mais si l'on rejette l'hypothèse virologique il faut imaginer un autre mécanisme pour expliquer la transformation tumorale.

On peut alors invoquer la possibilité d'une mutation provoquée soit par la bactérie soit par l'acide indole-acétique. Cette conception n'est pas à l'abri de toute critique; le caractère inéluctable de la cancérisation bactérienne s'accorde en effet difficilement avec la notion de mutation car ce phénomène est toujours sporadique. Par contre la notion de mutation paraît plus facilement applicable au cas de la cancérisation chimique qui comme nous l'avons dit s'opère exceptionnellement et de façon irrégulière. Mais nos observations les plus récentes ont établi qu'il existe des degrés très nombreux dans l'intensité de la transformation tumorale provoquée par les hétéro-auxines et cette particularité est difficilement compatible avec l'idée d'une mutation puisque celle-ci est un phénomène de tout ou rien.

Ces degrés d'intensité de la transformation tumorale se manifestent par la forme de la courbe obtenue en étudiant la croissance des tissus sous l'action de doses diverses d'hétéro-auxine. Je vous ai dit, tout à l'heure, que les tissus normaux sont caractérisés par une courbe en cloche, ce qui signifie que leur prolifération est intensifiée par les hétéro-auxines (fig. 8).

Les tissus de Crown-Gall sont par contre insensibles à l'action excito-formatrice des hétéro-auxines et la courbe qui les caractérise possède un palier auquel fait suite une partie descendante due à l'action toxique qu'exercent les fortes doses. Les tissus de tumeurs auxiniques présentent parfois une courbe analogue mais souvent la transformation tumorale est incomplète et l'on constate que les tissus conservent une certaine sensibilité aux hétéro-auxines. Cette sensibilité varie d'une tumeur à l'autre et, selon les souches, on peut obtenir des courbes diverses représentant toute une série d'intermédiaires entre le comportement des tissus normaux et celui de tissus ayant subi une transformation tumorale complète.

Cette extrême variabilité des processus tumoraux obtenus par voie chimique semble difficilement conciliable avec la notion de mutation.

Il se peut donc qu'en définitive, la cancérisation des cellules végétales ne soit pas un phénomène génétique mais qu'elle s'apparente par exemple aux processus d'adaptations enzymatiques si fréquents chez les micro-organismes.

### *Conclusion*

En résumé les recherches dont les résultats viennent d'être exposés n'ont pas éclairci le problème du Crown-Gall. Mais elles ont clairement mis en évidence son extrême complexité. Leur principal intérêt fut d'établir que la cellule végétale peut manifester des phénomènes tumoraux vraiment comparables à ceux qui caractérisent le cancer animal et de susciter des hypothèses susceptibles d'être exploitées par les chercheurs qui se penchent sur cette angoissante question.

---