

50376
1963
42

50376
1963
42

FACULTE DES SCIENCES DE LILLE

COLLEGE SCIENTIFIQUE UNIVERSITAIRE

d'AMIENS

DIPLOME d'ETUDES SUPERIEURES (Sciences biologiques)

VARIETES & TYPES SEXUELS

DE PARAMECIUM CAUDATUM

DU NORD DE LA FRANCE

- Région PICARDE -

Claude OGER

Présenté le Février 1963 devant la
Commission d'examen.

Jury d'examen { M.DURCHON, Président
 { M.LEBEGUE
 } M.VIVIER Examineurs.

---ooOoo---

	<u>PAGES</u>
<u>GENERALITES :</u>	2
Introduction - Historique	2
Terminologie	3
Techniques	4
- Récolte - cartes	4
- Techniques de culture (les mileux)matériel-verrerie	4 & 5
(mise en culture	
- Techniques Cytologiques	6
<u>I - MISE EN EVIDENCE DES TYPES SEXUELS</u>	7
I. Souche Hot.	7
2. Souche SP.	9
3. Souche Corb.	10
4. Souche Ca	11
5. Souche Lg.	14
6. Souche Quer.	15
7. Souche LD.	15
<u>II - RESULTATS & COMPARAISON</u>	17
A. Région de la SOMME	17
B. Comparaison	17
I. Syngen Hot	18
2. Syngen Gr	19
3. Syngen Lg	19
C. Comparaison avec les variétés de Clermont-Ferrand	20
Conclusions	21
<u>III - ETUDE COMPLEMENTAIRE CONCERNANT LES VARIETES TROUVEES</u>	23
A. Problèmes, Principes et Techniques	23 & 24
B. LE SELFING	25
I. La conjugaison intracellulaire dans les variétés étudiées	25 à 27
2. Données d'ordre statistique	28
a) Syngen Hot. Mating types A & B.	28 & 29
b) Syngen Ca . Mating types A & B.	30
c) Apport de la Statistique	31
-Renseignements fournis par les graphiques	32 & 33
-Tests - statistiques	
3. Calcul de la vitesse de division et courbes de croissance relative	34 & 35
CONCLUSION sur l'étude du Selfing- Discussion	36
C. LES SOUCHES NON CONJUGANTES	37
I. Répartition	37
2. Biométrie	37 & 38
3. Calcul des vitesses de division - Croissance relative	39 & 40
<u>CONCLUSION</u>	41
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	42

INTRODUCTION : HISTORIQUE - BUT des RECHERCHES.

L'eau prélevée dans une mare, un étang, un ruisseau ... révèle souvent à l'examen microscopique une importante population de protistes : amœbiens, diatomées, flagellés, ciliés, qui, conservés à la température du laboratoire ne tardent pas à se multiplier. Quand le nombre de ciliés devient important il n'est pas rare d'observer des couples d'individus nageant solidement accolés : c'est la conjugaison.

Signalé dès la fin du XVII^{ème} siècle, ce phénomène n'a été compris de façon complète qu'en 1889 par MAUPAS. Auparavant BALBIANI (1858) et BUTSCHLI entre autres avaient précisé qu'il s'agissait d'un processus sexuel, sans en dégager toutefois les caractères fondamentaux. MAUPAS, après avoir décrit et interprété de façon remarquable les différentes phases du phénomène, s'était attaché à en préciser le déterminisme. De son étude il ressort que trois conditions doivent être remplies pour que la conjugaison se produise : Le jeûne préalable, la maturité caryogamique et la fécondation croisée.

Par une technique appropriée, respectant la condition de fécondation croisée énoncée par MAUPAS, SONNEBORN (1937) sur Paramecium aurelia et JENNINGS (1938) sur P. bursaria vont être amenés, séparément, à la notion de mating-types. Des clones (cultures pures issues par multiplication végétative d'une paramécie prélevée dans la nature en un endroit donné) sont croisés deux à deux de toutes les manières possibles ; certains mélanges ne donnent lieu à aucun phénomène sexuel, d'autres au contraire sont toujours suivis de conjugaison, dans ce dernier cas les clones réactionnels sont dits de types sexuels complémentaires (mating types des auteurs Américains). Une même espèce de ciliés peut présenter diverses variétés comprenant chacune deux mating-types : la sexualité est alors de type binaire (Paramecium caudatum, P. aurelia), elle est multiple chez Paramecium bursaria et P. multimicronucleatum pour lesquelles une variété comporte plusieurs mating-types. Mélangés entre eux les clones d'un même type ne conjuguent pas, des couples apparaissent par contre quand on mélange des cultures pures de types sexuels complémentaires : c'est la conjugaison interclonale que l'on oppose à la conjugaison intra clonale ou selfing correspondant à l'apparition de couples dans un même clone sans mélange préalable.

La méthode de SONNEBORN appliquée à bon nombre d'espèces va permettre de généraliser, chez les ciliés la notion de mating types. Les recherches intéressent surtout les Etats-Unis d'Amérique où GILMAN à partir de 1937 entreprend une étude systématique de Paramecium caudatum dont il compare les variétés à des souches venues d'Europe et d'Asie (CHEN, HIWATASHI). A l'heure actuelle une vingtaine de variétés ont été déterminées. En France Monsieur VIVIER (1956) met en évidence, dans la région de Clermont-Ferrand, quatre variétés dont deux se révèlent identiques à des variétés américaines. Plus récemment (1962) les recherches entreprises par Monsieur VIVIER et Madame SCHREVEL-DEBERSEE dans la région lilloise permettaient d'isoler trois variétés dont deux correspondent à des variétés de la région de Clermont-Ferrand.

Le travail que nous avons entrepris, pour compléter l'étude commencée dans le Nord de la France consistait à rechercher les variétés sexuelles de *Paramecium caudatum* dans la région picarde et à les comparer aux variétés connues depuis les travaux antérieurs (GILMAN, VIVIER, SCHREVEL-DEBERSEE). Sur ce même matériel il nous a paru utile de procéder à des études complémentaires : analyses d'ordre biométrique, calcul de vitesse de division ... pour essayer de rendre compte de particularités propres à certaines cultures (Selfing - Cas des souches non conjugantes).

TERMINOLOGIE

SOUCHE

Population de paramecies provenant d'un ensemble d'individus prélevés dans la nature en un lieu donné (étang, lac, ruisseau ...) La souche est désignée, dans ce compte-rendu, par les premières lettres de la localité d'origine. (Exemple : La Hotoie, souche Hot.)

CLONE

Population issue d'un seul individu, d'une souche donnée, par multiplication végétative (scissiparité). Les lettres de la souche et un numéro d'ordre désignent un clone (Exemple : souche Hot, clone Hot₁).

VARIÉTÉ = Syngen.

Ensemble des individus susceptibles de conjuguer quand ils sont mélangés entre eux dans les conditions appropriées. Dans ce travail la variété est désignée par l'initiale de la souche qui a servi de référence.

TYPE SEXUEL : mating-type.

Ensemble des individus appartenant à certains clones d'une variété qui mélangés, dans les conditions favorables, avec les individus des autres clones donnent lieu à une réaction de conjugaison positive. Dans chaque variété existent deux mating types A. et B.

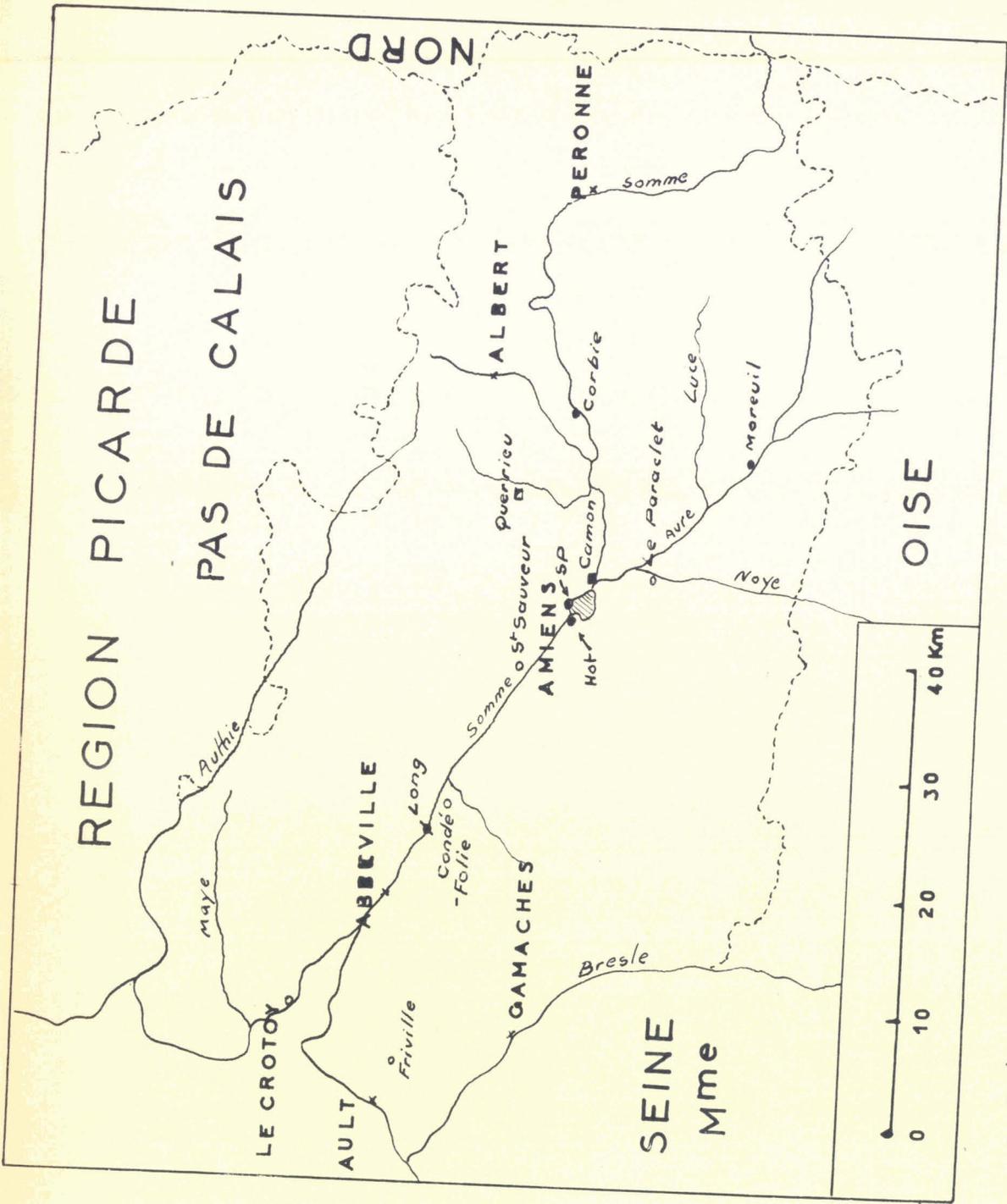
CONJUGAISON

Manifestation sexuelle chez les ciliés, consistant en un accollement de deux individus avec échange de noyaux puis séparation.

On distingue :

- La conjugaison interclonale :

réalisée par croisement d'individus appartenant à des clones différents de la même variété.



o Pièces d'eau visitées
 x VILLES Prises comme repères

Types sexuels & variétés

- Hot ●
- Ca ■
- Lg ✕
- Quer □



- La conjugaison intracellulaire :

C'est le selfing des auteurs américains, elle correspond à l'apparition de couples dans un même clone, sans mélange préalable.

HEMIXIE

Modifications du noyau qui se distinguent des remaniements nucléaires inhérents à la conjugaison. Ces changements s'effectuent selon trois modalités principales :

- extrusion d'un nombre faible de balles de chromatine.
- Division du Macronoyau en deux ou trois gros fragments indépendants.
- Désorganisation complète du Macronoyau par fragmentation

TECHNIQUES.

RECOLTE

Dans divers étangs ou pièces d'eau plus ou moins recouverts de feuilles mortes et autres débris végétaux des prélèvements sont effectués, sur les bords à l'aide de bocaux dont le contenu sera examiné au laboratoire, à la loupe binoculaire afin d'y déceler la présence éventuelle des ciliés qui nous intéressent.

Les différents prélèvements, effectués dans la région de la Somme, ont été reportés sur la carte ci-contre ; la prospection a été entreprise dans des secteurs très divers mais toutes les nappes d'eau ne contiennent pas, tant s'en faut, de Paramécies ou bien suivant leur provenance celles-ci sont plus ou moins réfractaires à la mise en culture.

Les individus appartenant aux diverses souches indiquées ci-dessous ont été mis en culture avec succès. Une souche a été recueillie dans la région parisienne.

SP	Etang de St.Pierre	AMIENS
Hot	Etang du Parc de la Petite Hotoie	AMIENS
Ca	Etangs de la région de Camon	(Somme)
Lg	Etangs de Long	(Somme)
Corb	Etangs de Corbie	(Somme)
Quer	Etangs de Querrieu	(Somme)
LD	Lac Daumesnil	PARIS.

TECHNIQUES DE CULTURE

La culture consiste à isoler un individu sauvage dans l'eau du prélèvement et à le placer dans des conditions favorables à une bonne multiplication végétative. Un matériel spécial et des milieux appropriés sont nécessaires.

- Les Milieux -

Milieu de terre : il apporte les éléments minéraux

Eau de Terre	une partie
Liquide de Benecke	une partie
Eau distillée	quatre parties.

Pour préparer l'eau de terre on fait bouillir pendant deux heures, deux poignées de terre recueillie de préférence près d'une pièce d'eau habitée par des ciliés, dans deux litres d'eau distillée. Décantations et filtrations répétées permettent d'obtenir un liquide jaune clair qui est stérilisé 20 minutes à 120° C.

Milieu de blé :

Il est préparé soit en tube à essais (1 grain de blé pour 10 cc d'eau distillée) soit dans une fiole d'Erlenmeyer (une petite poignée de grains pour 250 cc d'eau distillée environ). Après stérilisation à 120° C. pendant 10 minutes cette infusion refroidie estensemencée avec des Bactéries et pourra servir de nourriture aux paramécies.

La bactérie

La souche de Klebsiella aerogenes, préconisée par l'école américaine, qui a été utilisée, provenait de l'Institut PASTEUR de LILLE. Les Bactéries sont cultivées sur milieu gélosé (préparé à partir de produits Difco) et repiquées tous les trois jours en même temps que l'on procède à l'ensemencement de l'infusion de blé. 24 heures après l'ensemencement on vérifie le pH du milieu qui doit être de l'ordre de 6 à 7. Une addition de bicarbonate de calcium suffit généralement à ramener le pH entre ces limites. Le filtrat obtenu à partir du milieu de blé ainsi traité permet de nourrir les paramécies durant trois jours.

- Matériel - verrerie -

La verrerie en pyrex, réservée à l'étude des seules paramécies est stérilisée avant tout emploi, lavée à l'eau courante et rincée à l'eau distillée après toute utilisation. Les différentes pipettes en verre, effilées et rodées, destinées soit aux prélèvements de milieu, soit à la capture des ciliés sont plongées dans l'eau distillée bouillante après chaque usage afin d'éviter que dans des clones ne soient introduites des Paramécies d'autres variétés, ce qui fausserait les résultats. Cette dernière précaution prend une importance toute particulière au moment des mélanges ; ceux-ci sont effectués dans des plaques à concavités, en verre pyrex dites plaques de Déribéré qui permettent l'observation, à la loupe binoculaire des mélanges tests et des mélanges témoins.

- La mise en culture -

Après avoir été lavées trois fois dans une salière, à l'eau stérile, afin d'éliminer les divers organismes accompagnant les ciliés, les paramécies sauvages capturées dans l'eau du prélèvement sont placées dans les plaques de Déribéré, une par concavité, sur milieu de terre additionné de suspension bactérienne (0,3 cc pour 10 cc d'infusion de blé).

Les plaques à concavités, placées en chambre humide dans des boîtes de Pétri sont portées à l'étuve à 24° et examinées chaque jour à la loupe binoculaire. Dès qu'une concavité compte une cinquantaine d'individus ceux-ci sont transplantés dans un tube à essais contenant 1 cc d'eau de terre, et nourris journellement de suspension bactérienne, le tube est alors fermé par un bouchon de coton ; la quantité de nourriture étant augmentée chaque jour jusqu'à obtention d'une population suffisante pour que des essais de conjugaison puissent être tentés.

TECHNIQUES CYTOLOGIQUES

L'emploi du vert de méthyle acétique a été fréquent parce que cette technique aisée permet un contrôle portant sur plusieurs centaines d'individus. Lorsqu'un examen plus minutieux des Noyaux s'est avéré nécessaire les cellules après avoir été fixées au Bouin ordinaire ont été colorées soit sur coupes à la gélose paraffine, soit in toto à l'hématoxyline de HEIDENHAIN ou au Feulgen. La technique au Bleu polychrome-Tannin orange de UNNA a permis une étude des constituants nucléaires.

I - MISE EN EVIDENCE DES TYPES SEXUELS.

1- Souche Hot.

Etang de la petite Hotoie AMIENS.

A partir de l'eau du prélèvement, 27 Paramécies sont isolées et mises en culture dans des plaques à concavités ; quand la population d'une concavité devient suffisante, les individus sont transplantés dans des tubes et chaque clone ainsi réalisé reçoit un numéro correspondant à son ordre de mise en culture. Pendant un mois la quantité de suspension bactérienne apportée chaque jour est augmentée jusqu'à ce qu'il apparaisse, dans le liquide de culture, sous le menisque, un anneau blanchâtre de paramécies. La formation et surtout la persistance, au moins 24 heures après l'apport alimentaire, de cet anneau constituent un critère de maturité physiologique des cellules, qui s'il n'est pas absolu, fournit néanmoins une indication intéressante. Si des paramécies qui conjugent forment toujours un anneau dans leur culture la présence de celui-ci n'est pas une condition suffisante pour qu'un clone soit réactif. Dès que l'anneau apparaît on peut envisager les mélanges.

Dans le tableau I ne figurent que les clones qui étaient florissants, ceux-là seuls ont été retenus pour les tests. Dans une variété comprenant n individus on doit théoriquement réaliser

$$\frac{n}{2} (n-1) \text{ mélanges}$$

$\frac{n}{2}$ puisque le tableau est symétrique par rapport à la diagonale tracée de l'angle gauche en haut à l'angle droit en bas.

En fait le nombre de mélanges effectués est bien supérieur à cette valeur théorique car des croisements qui s'avèreraient réactionnels ne sont pas suivis immédiatement, ni à chaque fois de conjugaison ; de plus certains mélanges doivent être répétés plusieurs fois avant que l'on obtienne un résultat valable.

A l'aide d'une pipette on effectue un prélèvement dans la région de l'anneau de paramécies, les individus sont placés dans une concavité de la plaque de Déribéré, quelques gouttes d'un autre clone y sont ensuite ajoutées. Par plaque neuf mélanges sont ainsi réalisés. L'examen s'effectue à la loupe binoculaire immédiatement après le mélange, puis à intervalles réguliers par la suite ; entre temps les plaques sont portées, en atmosphère humide dans des boîtes de Petri, à l'étuve à 24°.

Dans certaines concavités des amas de paramécies se forment, souvent immédiatement après le mélange : c'est la réaction d'agglomération, les paramécies naissent par paquets, accollées entre elles, se détachant de l'une pour s'accrocher à une autre ... au bout de quelque temps des couples s'isolent : c'est la conjugaison.

Dans d'autres cavités aucun phénomène de ce type ne se produit et les animaux des deux clones mélangés nagent sans jamais entrer en contact. Les réactions positives sont indiquées par le signe + dans le tableau I le signe - caractérise la non réaction.

Tableau I : m.t. de Hot.

	1	2	3	4	5	6	9	12
1		-	-	-	-	-	-	-
2	-		-	-	-	-	-	-
3	-	-		-	+	+	-	-
4	-	-	-		+	+	-	-
5	-	-	+	+		-	+	-
6	-	-	+	+	-		+	-
9	-	-	-	-	+	+		-
12	-	-	-	-	-	-	-	



L'examen du tableau I montre que les clones 3, 4, 9 d'une part, mélangés aux clones 5 et 6 d'autre part conjuguent : ils appartiennent donc à des types sexuels opposés ou complémentaires

Nous avons convenu de désigner par le type sexuel A les clones 5 et 6 où le Selfing a été décelé et par type B les clones 3, 4, 9 complémentaires.

Trois clones n'ont jamais conjugué, pas plus avec les mating-types définis précédemment qu'entre eux. Cela tient peut-être au fait que leur culture a été très difficile (ceci étant valable surtout pour les clones 2 et 12) les conditions physiologiques optimales de conjugaison ne se trouvant pas remplies du même coup. Mais le clone Hot₁ présente toutes les caractéristiques d'une culture "saine" il fera d'ailleurs l'objet d'une étude particulière, car il constitue de toute vraisemblance une race non conjugante dont la présence au sein d'une souche réactionnelle pose quelques problèmes.

Il est à noter que le clone Hot₉ n'a conjugué que longtemps après que les mating types aient été déterminés, ce qui justifie l'extrême prudence que l'on doit avoir vis à vis de clones qui ne réagissent pas au point de vue sexuel. On s'étonnera peut-être que les clones 9 et 5 n'aient pas réagi alors qu'ils sont précisément de types sexuels complémentaires. Ceci est en rapport avec ce qu'il a été dit plus haut, la conjugaison n'est apparue avec le clone 9 que tardivement alors que nous n'avions conservé que Hot₄ et Hot₆ comme mating types de référence de la variété Hot.

2- Souche SP.

Etang de Saint.Pierre AMIENS

Quinze clones ont été réalisés à partir d'individus capturés dans le prélèvement effectué dans cette pièce d'eau ; douze furent étudiés au point de vue sexuel.

Certains mélanges avaient déjà donné des réactions positives quand on a comparé cette souche à la variété Hot. définie précédemment ce qui a permis un contrôle lors du test de réactivité. En effet connaissant les deux mating-types A. et B. d'une variété (Hot. par exemple) et les mating-types X_A et X_B d'une autre variété que l'on veut comparer à la première, si les croisements Hot_A - Hot_B et X_A - X_B sont positifs avant le test, on sait que l'on se trouve dans les conditions optimales de conjugaison.

TABLEAU II - Croisement Hot - SP.

SP Hot	6	7	10	11	13	14	16
A.	-	+	-	-	+	-	-
B.			+	-	+		-

Contrôles SP₁₃ x SP₇ ----> +

SP₁₀ x SP₇ ----> +

Hot A x Hot B --> +

Il ressort de l'étude de ce tableau que les clones SP₁₀, SP₁₃ d'une part, SP₇ d'autre part qui conjuguent respectivement avec Hot_B et Hot_A appartiennent à la même variété

SP₁₀ et SP₁₃ étant de type A.

SP₇ étant de type B.

Parce qu'elle s'était révélée de même syngen que la variété Hot la souche SP n'a pas été étudiée davantage en ce qui concerne les types sexuels.

Le Selfing a été observé très nettement dans le clone SP_{I3} et dans le clone SP_{I0} avec moins de précision chez SP₇. Un fait curieux est à signaler, en rapport avec le selfing quant à son interprétation : le clone SP_{I3} conjugue à la fois avec le type B. (ce qui justifie le type sexuel qui lui a été conféré) et avec le type complémentaire A, mais malgré de très nombreux mélanges réalisés durant un an cette réaction ne s'est pas reproduite; elle sera reprise et commentée dans un chapitre consacré au selfing.

3- Souche Corb.

Etangs de Corbie dans la Somme.

Des 16 clones réalisés à partir d'individus prélevés dans l'eau de ces étangs 10 pourront être testés avec la variété Hot. Les différents croisements effectués sont résumés dans le tableau ci-dessous/

TABLEAU III - Test Corb. - Hot.

Hot \ Corb	I	3	4	6	7	8	9	I0	II	I2
A	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-
B	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+

Contrôle Hot_A x Hot_B ---> +

Pour être complet, il nous faut signaler que les clones Corb_{I0} & II ont dû être repiqués de nombreuses fois avant qu'une culture suffisamment florissante soit établie qui permette la conjugaison ; celle-ci n'a été réalisable que quelques six mois après que les autres mélanges aient donné lieu à des réactions positives.

Les clones Corb_{1,3,9,I0,I2} qui conjuguent avec Hot_B, et les clones 4,6,7,8,II qui conjuguent avec Hot_A appartiennent donc, eux aussi, à la variété Hot, le résultat des essais indique que sont de type A. les clones 1,3,9,I0, I2 puisqu'ils ont donné lieu à une réaction positive avec Hot_B et que sont de type B les clones 4,6,7,8,II qui ont réagi avec Hot_A.

A titre de contrôle deux mélanges ont été effectués entre les clones Corb₃ et 9 d'une part et Corb₆ d'autre part, appartenant comme l'examen du tableau III l'indique pour Corb₃ et 9 au type sexuel A, pour Corb₆ au type B; ces mélanges devaient être suivis normalement de conjugaison. Les résultats sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

TABLEAU III Bis - Contrôles dans la variété Corb.

CorB.	9	3	6
9	-	-	+
3	-	-	+
6	+	+	-

Les résultats du contrôle vérifient les conclusions tirées des expériences précédentes qui avaient permis de déterminer les mating types de la souche Corb.

Notons enfin que dans les clones Corb le selfing n'a jamais été observé et que toutes les cultures utilisées ont réagi soit avec un mating type, soit avec l'autre, il n'y a donc pas de race non conjugante dans cette souche.

4- Souche Ca

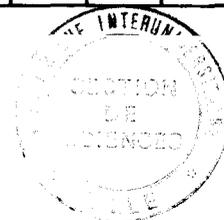
Etangs de Camon (Somme)

Les cultures réalisées à partir d'individus sauvages de la souche Ca, bien que d'élevage relativement aisé ne donneront lieu à des réactions sexuelles que sept mois après leur isolement.

Les croisements entre clones de la souche G. et les mating-types de Hot donnant lieu à des phénomènes particuliers (agglomération non suivie de conjugaison) la recherche des types sexuels de la présente souche a été entreprise, les résultats figurent dans le tableau IV.

	3	4	5	6	7	10	13	14
3		-	-	-	+	-	+	-
4	-		-	-	+	-	+	-
5	-	-		-	+	-	+	-
6	-	-	-		+	-	+	-
7	+	+	+	+	-	+	-	+
10	-	-	-	-	+		+	-
13	+	+	+	+	-	+	-	+
14	-	-	-	-	+	-	+	

TABLEAU IV
(mise en évidence des mating types dans la variété Ca).



La précédente expérimentation fait apparaître que la souche Ca comporte deux mating types :

le premier représenté par les clones 3,4,5,6,10,14,

le second par les clones 7,13 puisque ces deux groupes mélangés entre eux réagissent positivement.

L'examen des tubes de culture à la loupe binoculaire permet de mettre en évidence du selfing dans les seuls clones Ca7 et Ca13 que nous désignerons, conventionnellement, comme étant de type A par analogie avec le syn-gen Hot chez qui le clone Hot6 (m.t.A) avait l'exclusivité de la conjugaison intraclonale. Pour la même raison les clones Ca 3,4,5,6,10 et 14 sont désignés comme appartenant au type sexuel B.

La connaissance de ces divers résultats nous permettait dès lors d'envisager, de façon plus rigoureuse, la comparaison entre la souche Ca et la variété Hot définie au début de cette étude. Dans le tableau ci-dessous sont reportés les différents croisements qui ont été effectués. Le symbole agg signifie agglomération, c'est la première phase du phénomène sexuel.

- Réactions immédiatement après les mélanges -

Test Ca-Hot

Ca	3	4	5	6	7	10	13	14
Hot								
B	agg	-	-	agg	-	agg	-	-
A			-	-	agg	-		-

contrôle

HotA x HotB → +
Ca

Ca	3	4	5	6	10	14
7	+	+	+	+	+	+
13				+		+

- Le croisement test semblait donner au départ les mêmes résultats que lors du croisement de deux variétés identiques mais une heure après le mélange les accollements ne persistent plus que dans le croisement Ca7 x HotA.
- 17^h plus tard il n'y a plus aucun couple alors que les mélanges témoins Hot et Ca sont riches de conjugants. L'examen au vert de méthyle acétique d'individus prélevés dans le mélange HotA x Ca7 donne les résultats suivants

5- Souche Lg

Etangs de Long (Somme)

Les neuf clones les plus florissants conservés pour la mise en évidence des types sexuels sont d'abord comparés aux variétés Hot et Ca précédemment déterminées sans résultats, sauf en ce qui concerne Lg₁ et Lg₉ mais à raison de deux fois pour le premier, une fois pour le second, ces tests ne sont pas probants, c'est ce qui apparait à l'examen du tableau suivant :

Test Hot - Lg.

Hot	Lg	1	9	2
A		-	-	-
B		+	+	-

contrôle

Hot_A x Hot_B ---> +

Lg₁ x Lg₂ ---> +

Lg₉ x Lg₂ ---> +

Puisque les réactions de contrôle sont positives le clone Lg₂ devrait conjuguer, normalement, avec Hot_A, or il n'en est rien, malgré les nombreux essais effectués. Les réactions positives entre Lg₁, Lg₉ et Hot_B ne se sont produites qu'exceptionnellement et enfin un Selfing intense a été régulièrement observé dans les tubes Lg₁ et Lg₉ et en particulier au moment des mélanges dont les résultats sont rapportés plus haut. Ces considérations nous ont incité à entreprendre la recherche des types sexuels dans la souche Lg. Les résultats de ces croisements sont indiqués dans le tableau V.

TABLEAU V - mise en évidence des mating types de la souche Lg.

Deux groupes de clones sont décelables Lg 1, 4, 9, 10 qui conjuguent avec les clones 2, 3, 7, 8 mais qui croisés entre eux ne donnent lieu à aucune manifestation sexuelle.

Les signes +? indiquent des croisements qui doivent théoriquement être positifs d'après la connaissance des mating types de cette souche mais qui n'ont pas encore été obtenus.

L'examen du tableau révèle enfin que le clone Lg₁ n'a jamais conjugué. S'agit-il là aussi d'une race non conjugante ? Nous avons vu précédemment combien il faut être prudent à ce sujet, le clone Lg₁ n'a pas été étudié suffisamment longtemps pour que nous puissions prendre une décision à son sujet.

TABLEAU V : mise en évidence des mating types dans la souche Lg.

	1	2	3	4	7	8	9	10	11
1		+	+	-	+	+	-	-	-
2	+	-	-	+	-	-	+	+	-
3	+	-		+	-	-	+	+	-
4	-	+	+		+	+	-	-	-
7	+	-	-	+		-	+	+	-
8	+	-	-	+	-		+	+	-
9	-	+	+	-	+	+		-	-
10	-	+	+	-	+	+	-		-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	

6- Souche Quer.

Etangs de Querrieu (Somme)

Bien que d'élevage facile les clones réalisés à partir d'individus sauvages provenant de cette station n'ont jamais manifesté de réaction sexuelle (conjugaison interclonale ou selfing) malgré les nombreux essais et les observations répétées dont ils ont été l'objet.

Faut-il voir dans ces individus des cellules ayant perdu la faculté de conjuguer ? Leur vitalité porte peu à le croire, il s'agirait peut-être d'une nouvelle variété dont nous n'avons récolté qu'un seul des mating-types, dans ce cas suivant la convention adoptée puisque le selfing n'a jamais été observé les clones seraient tous de type B.

7- Souche LD.

Cette souche provenant du Lac Daumesnil à Paris a nécessité une alimentation notablement supérieure à la quantité de nourriture nécessaire pour que les clones des autres variétés se développent et conjuguent.

Malgré la persistance des anneaux de paramécies près de la surface du milieu de culture, aucune réaction sexuelle n'a pu être enregistrée aussi bien entre les clones LD et les mating types déjà étudiés, que dans les mélanges des clones LD entre eux.

Notons que les examens cytologiques ont confirmé qu'il s'agissait bien de P.caudatum. Peut-être sommes-nous, là aussi, devant une nouvelle variété dont un seul mating-type a été isolé ? -

II - RESULTATS et COMPARAISON avec les SYNGENS CONNUS

A- Résultats pour la région de la Somme/

Les différentes variétés mises en évidence dans la présente étude ont été rassemblées dans le tableau VI (la souche LD provenant de la région parisienne n'y a pas été représentée).

TABLEAU VI-(Variétés mises en évidence dans la région picarde).

	SYNG	Hot		Ca		Lg		Quer	
		m.t.	A	B	A	B	A	B	A
Hot	A	-	+						
	B	+	-	+	?				
Ca	A			-	+				
	B			+	-				
Lg	A					-	+		
	B					+	-		
Quer	A								
	B								-



B- COMPARAISON avec les variétés trouvées dans la région de LILLE/

Afin de vérifier la réactivité des clones mis en présence on effectue dans une même plaque à concavités les tests intervariétaux et les croisements témoins entre mating-types d'un même syngen et c'est seulement quand ces derniers mélanges sont positifs que l'on peut tirer des conclusions concernant les essais entre variétés. Aussi les réactions de contrôle ont-elles été figurées à côté des tableaux correspondant aux Tests, nous avons cru utile de signaler la présence éventuelle de selfing dans les clones comparés.

1- Syngen Hot.

Syngen Hot comparé aux variétés de SCHREVEL-DEBERSEE

Hot - OF

	OF		
Hot		V	VI
A		-	+
B		+	-

Contrôle

Hot_A x Hot_B ---> +

OF_V x OF_{VI} ---> +

Selfing - OF_V + OF_{VI} -

Hot_A + Hot_B -

Hot - Gr

	Gr		
Hot		IV	III
A		-	-
B		-	-

Contrôle

Hot_A x Hot_B ---> +

Gr_{III}xGr_{IV} ---> +

Selfing

néant

Hot - Dt

	Dt		
Hot		I	II
A		-	-
B		-	-

Contrôle

Hot_A x Hot_B ---> +

Dt_I x Dt_{II} ---> +

Selfing

néant

Les tableaux précédents montrent qu'il y a conjugaison entre les mating-types des syngens Hot et OF, il s'agit donc de variétés identiques. OF_{VI} qui conjugue avec Hot_A est par suite de type B en conservant les conventions adoptées dans ce compte-rendu ; OF_V qui conjugue avec Hot_B est de type A.

La non réactivité du syngen Hot avec les variétés Gr et Dt vérifie les résultats obtenus précédemment lors de la mise en évidence de ces différents syngens dans le Nord de la France.

./.

2- Syngen Gr

Comparaison avec les variétés de SCHREVEL-DEBERSEE

Ca_m - OF

Ca \ OF	V	VI
A	-	-
B	-	-

Contrôle
 OF_V x OF_{VI} ----> +
 Ca_A x Ca_B ----> +

Selfing
 OF_V - OF_{VI} -
 Ca_A + Ca_B +

Ca_m - Dt

Ca \ Dt	I	II
A	-	-
B	-	-

Contrôle
 Dt_I x Dt_{II} ----> +
 Ca_A x Ca_B ----> +

Selfing
 Ca_A + Ca_B -
 Dt_I - Dt_{II} -

Le résultat du croisement Ca x Gr n'a pas été figuré, ce test n'ayant pu jusqu'ici être réalisé dans les conditions optimales, mais tout porte à croire qu'il est négatif.

Le travail effectué sur cette variété permet de conclure que Ca est différent de OF de Dt, et vraisemblablement de Gr. La non réaction avec le syngen OF est en accord avec le résultat du test Ca - Hot puisque nous avons montré que OF et Hot appartenaient à la même variété.

3- Syngen Lg.

La comparaison des mating types de cette variété avec celles de SCHREVEL-DEBERSEE n'a donné jusqu'ici des résultats significatifs qu'en ce qui concerne le croisement avec le syngen Dt.

Lg \ Dt	I	II
A	-	-
B	-	-

Contrôle
 Lg_A x Lg_B ----> +
 Dt_I x Dt_{II} ----> +

Selfing
 Dt_I - Dt_{II} +
 Lg_A + Lg_B -

Lors des tests avec les deux autres variétés du Nord de la France les témoins n'ont pas donné lieu, en même temps, à des réactions positives. Les recherches se poursuivent à l'heure actuelle, elles doivent nous permettre dans un avenir plus ou moins proche de trancher cette question.

C.- Comparaison avec les Variétés trouvées par Monsieur VIVIER/

/DANS LA REGION de CLERMONT-FERRAND/

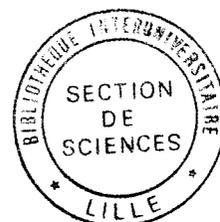
Pour la même raison que dans le cas du syngen Lg les observations ne sont pas assez rigoureuses pour que nous donnions ici nos résultats. Des connaissances acquises relatées précédemment dans ce chapitre, on peut conclure que l'une des variétés, Hot, est de toute vraisemblance différente des variétés II et III définies par Monsieur VIVIER, puisque la variété Hot s'est révélée identique au syngen OF découvert par SCHREVEL-DEBERSEE, qui diffère comme les recherches l'ont montré, des variétés découvertes dans la région de CLERMONT-FERRAND.

CONCLUSIONS

A l'heure actuelle, les variétés mises en évidence dans la région picardes ne correspondent à celles du Nord que dans un cas (Hot \equiv OF), Ca en diffère très certainement et peut-être Lg **or** les variétés Dt et Gr définies par SCHREVEL-DEBERSEE correspondent respectivement aux variétés III et II de Monsieur VIVIER, ce qui nous amène à construire le tableau suivant :

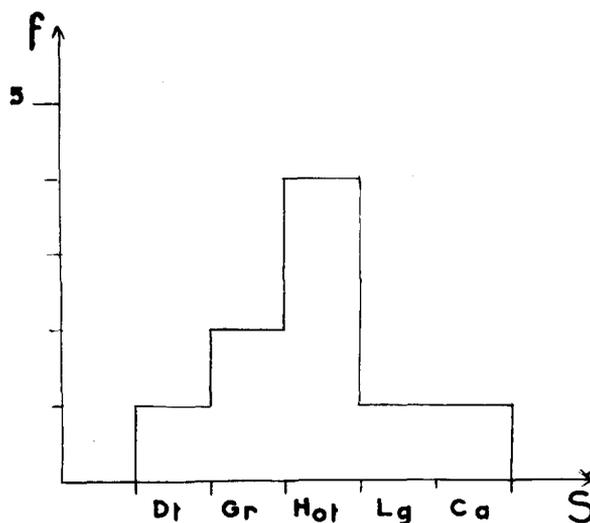
TABLEAU de CORRESPONDANCE des différentes variétés déterminées en FRANCE
et en AMERIQUE à l'heure actuelle.

U.S.A.	CLERMONT FERRAND	NORD	Région PICARDE
	III F E	Dt II I	
8 XV XM	II C D	Gr III IV	
		OF V VI	A Hot B
			A Ca B
			A Lg B



Le nombre de variétés ne semble pas illimité puisque des correspondances peuvent être établies entre des souches provenant de régions aussi éloignées que le Nord et le Massif Central ou que la France et l'Amérique.

Associant nos résultats à ceux de SCHREVEL-DEBERSEE nous pouvons représenter les variétés et leur fréquence, dans la région du Nord de la France en groupant les variétés sur l'axe des abscisses (S) alors que leurs fréquences respectives sont figurées en ordonnée (F)



Il apparaît que le syngen Hot (\equiv OF) est le plus répandu, ensuite vient le syngen Gr (2 cas signalés dans le Nord) les autres souches n'ayant été signalées qu'une fois, chacune, jusqu'ici.

Ces résultats en ce qui concerne la région du Nord, pour quelque fragmentaires qu'ils soient encore, à l'heure actuelle, n'en montrent pas moins l'intérêt d'une étude des mating-types, en fonction du milieu; sans doute une recherche d'ordre écologique plus poussée permettrait-elle de jeter quelques lumières sur les modalités de la répartition des syngens dans une région, leurs interférences (dominances relatives, fluctuations) etc ... Dès 1955 Monsieur VIVIER signalait que des mares voisines pouvaient renfermer des syngens différents alors que dans des étangs éloignés on peut rencontrer la même variété. L'étude de la Carte (page 4) montre que les variétés Hot et Ca ont été découvertes à quelques kilomètres l'une de l'autre alors que ces stations sont en communication avec la Somme, au moins en période de hautes eaux, Corbet Hot variétés homologues se retrouvent par contre à plusieurs kilomètres de distance. Il y aura lieu dans les recherches futures de tenir compte du réseau hydrographique et des communications que les différentes pièces d'eau peuvent présenter à certaines périodes de l'année.

III- ETUDES COMPLEMENTAIRES CONCERNANT LES VARIETES TROUVEES

A. PROBLEMES Principes et Techniques

Dans certains clones, conventionnellement désignés par le Type sexuel A. il apparaît après une période plus ou moins longue de croissance de la conjugaison intraclonale (Selfing) alors que les cultures de type B des mêmes variétés en présentent peu ou pas du tout. Des observations du même ordre avaient amené JENNINGS (1910) et WOODRUFF (1912-21) chez P. aurelia, HOPKINS et BALL (1925) chez P. Caudatum à distinguer des races conjugantes et des races non conjugantes. Contrairement aux conclusions de ZWEIBAUM (1912) de CHATTON et Madame CHATTON (1925-31) Monsieur VIVIER (1955) montrait que la conjugaison intraclonale n'était en aucun cas déterminée par les facteurs physicochimiques du milieu, elle est inhérente à une variété (type sexuel A dans cet exposé). Au premier examen il est impossible de distinguer des cultures où se produira le Selfing, des clones inactifs à ce sujet, aussi pour tenter de faire apparaître une éventuelle différence entre clones de type A. et clones de type B, qui aurait pu rendre compte des divergences physiologiques entre mating types "à selfing" et mating types "non à selfing" nous avons entrepris des recherches d'ordre biométrique, complétées d'un calcul de vitesse de division. La même technique a été utilisée dans l'étude des races non conjugantes que nous avons signalées lors de la mise en évidence des types sexuels dans les différentes souches.

Principes.

Dans la recherche de caractères mesurables chez la paramecie, nous avons comme Monsieur VIVIER (Travaux inédits) choisi la taille de l'individu parce qu'elle est, d'une mesure aisée ; comme 97,3% des ciliés étudiés montrent à l'examen microscopique un macronoyau allongé alors que 2,7% seulement en présentent un globuleux, les dimensions de la cellule et du Mn, selon leur grand axe, ont été relevées en vue du calcul du rapport Longueur du Noyau L_N sur longueur de la paramecie, rapport L_N/L_P qui permet une estimation du rapport nucleo-plasmique N/P où N représente le volume du Noyau et P le volume de la cellule : c'est-à-dire du protoplasme.

Il est en général admis que le M_n constitue le soma des ciliés alors que le m_n figure le germe responsable de l'hérédité. Comment la mesure d'un noyau trophique (M_n) peut-elle donner une indication concernant un type sexuel (Phénotype) dont l'hérédité est conditionnée par le M_n ? Si l'hérédité est sans conteste l'apanage du m_n , les expériences de régénération macronucléaire entreprises par SONNEBORN sur P. aurelia ont montré que le phénotype est en fait contrôlé par le M_n , ce qui rend compte du choix de ce matériel pour une étude biométrique.

Pour ce qui est des vitesses de division, elles prennent une importance plus grande depuis la publication d'HIWATASHI 1960, dans laquelle le chercheur japonais montre que l'apparition du Selfing est due pendant la reproduction végétative, à un changement de mating type, qui est influencé par le taux de division. Les recherches de NOBILI (1961) sur un mutant non conjugant de P. aurelia mettent aussi en lumière l'importance du rythme de division, c'est pourquoi parallèlement aux recherches statistiques une étude de la vitesse de division a été entreprise pour les mating-types A et B de 3 variétés et pour les clones non conjuguants signalés dans celles-ci.

Technique.

Les paramecies sont mesurées au microscope entre lame et lamelle, après coloration au vert de méthyle acétique. On prélève dans chaque clone 250 individus.

Le nombre de divisions lu, pour chaque cellule dans le micromètre oculaire fournit le X des "données abrégées" à partir desquelles on construit un histogramme avant de calculer les différents paramètres caractéristiques de la distribution des grandeurs intéressantes. Divers tests statistiques sont ensuite appliqués à ces résultats.

Pour obtenir les valeurs définitives des paramètres il suffit de multiplier les "données abrégées" par l'équivalent en μ d'une division du micromètre oculaire déterminé, pour chaque objectif du microscope, s'il s'agit de paramètres représentant des unités du premier degré (moyenne, écart-type) ou par le carré de cet équivalent en μ d'une division s'il s'agit de paramètres du deuxième degré (somme des carrés, variance).

La technique employée dans la détermination de la vitesse de division consiste à placer des paramecies dans une concavité d'une plaque de Deriboré placée en chambre humide dans une boîte de Petri laissée à 24° un certain temps x au bout duquel on compte le nombre d'individus nés des paramecies pré-existantes par multiplication végétative. La vitesse de division se calcule d'après la formule suivante :

$$\boxed{N = b \cdot 2^{ax}} \quad (1) \quad \text{où } N = \text{nombre total de paramecies après le décompte}$$

$x = \text{temps: nombre de jours depuis le début de l'expérience}$
 $b = \text{nombre d'individus au départ}$
 $a = \text{vitesse de division}$

Le coefficient a est extrait comme suit :

$$a = \frac{\text{Log } N - \text{Log } b}{x \cdot \text{Log } 2} \quad (2)$$

Dans le cas particulier où

$$\begin{aligned} b &= 1 \\ x &= 10 \end{aligned} \quad a = \frac{\log N}{3} \quad (3)$$

Mais les résultats obtenus en appliquant la formule (3) étant beaucoup trop disparates, nous avons dû prendre un temps inférieur à dix jours pour que les résultats soient homogènes pour un même clone. Le décompte a été pratiqué deux jours après la mise en culture.

B. LE SELFING

1- La conjugaison intraclonale dans les variétés étudiées.

a) Répartition.

Le tableau ci-dessous résume la répartition du selfing dans les clones et son intensité relative ; cette dernière est estimée d'après le nombre de couples par tube, chaque jour.

Souches n.types	Hot		SP		Corb		Ca		Lg	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Selfing	+++	(1 Cas)	++++	+	-	-	++++		+++	(1 clone) ++

Les signes indiquent :
 ++++ Selfing très fréquent, important
 +++ " très fréquent, peu intense
 ++ " fréquent
 + " observé

Il apparait que la conjugaison intraclonale touche presque exclusivement l'un des deux types sexuels complémentaires d'une même variété ce qui nous a conduit à désigner comme étant de type A. les clones présentant du Selfing, comme étant de type B, ceux où la conjugaison intraclonale n'était jamais ou rarement mise en évidence. Ces observations sont en accord avec les conclusions de SCHREVEL-DEBERSEE sur les paramécies du Nord de la France et de Monsieur VIVIER (1960) à partir de cultures réalisées par multiplication végétative d'une seule paramécie SAUVAGE mais il faut rappeler que Monsieur VIVIER notait des exceptions dans des clones établis au laboratoire à partir d'exconjugants hétérotypiques.

b) Délai d'apparition.

Alors que la conjugaison inter-clonale est possible après une période de maturité caryogamique de trois semaines à un mois en moyenne, il semblait utile de préciser l'apparition du selfing dans le temps.

Le tableau suivant indique la place de la conjugaison intraclonale au cours du développement, pour les souches Hot et SP (Le signe + correspond à la présence de couples dans un même tube).

Temps en Jours		I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	35
Hot	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

↑ mise en culture conjugaison ↑

		I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	35
SP	I0	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+		
	A I3	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	I4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	7	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2,4,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6,11,15,16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

↑ mise en culture conjugaison

Afin de vérifier si ce délai d'apparition ne subissait pas de fluctuations propres à chaque clone, nous avons préparé 6 clones numérotés de I à VI à partir de SP13, ils ont été placés dans des conditions différentes (alimentation normale, alimentation réduite, froid).

		Jours	I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Alimentation normale	SP13 I	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+
	II	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	III	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	IV	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
Al. réduite	ALIM. réd. V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Froid +2°/+ 4°	VI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SP9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

↑ mise en culture

Dans les quatre premiers tubes, le délai d'apparition est remarquablement constant, ce qui amène à écarter toute cause aléatoire susceptible de provoquer le selfing dans une culture ; il semble au contraire que l'apparition de la conjugaison intraclonale corresponde à un état physiologique du clone.

De l'examen des tableaux précédents il ressort que le selfing se produit après un délai variable pour des clones différents mais qui semble assez fixe à l'intérieur d'une même culture ; ce qui est à noter, surtout, c'est que la conjugaison intraclonale se manifeste alors que la conjugaison interclonale n'a pas lieu encore, la période de maturité caryogamique n'étant pas atteinte. Est-ce à dire, dans l'hypothèse du changement de type sexuel, responsable du Selfing qu'il correspondrait au nouveau mating type apparu un délai de maturation caryogamique inférieur à celui qui assure normalement l'état de réactivité chez le type sexuel initial ? Il faut signaler toutefois que le selfing peut se manifester tardivement, seulement après plusieurs repiquages, mais dans ce cas la conjugaison intraclonale précède aussi la conjugaison interclonale (cas de la variété OF type V.)

Mais le selfing n'est pas observable chaque jour dans les tubes, il existe des périodes, durant lesquelles la conjugaison est plus ou moins intense, séparées par des laps de temps variables d'inactivité. Si l'intensité de la conjugaison intraclonale semble le plus souvent correspondre à la norme de 5 - 10% de couples par tube, nous avons pu observer dans certains clones (SP_{I3} en particulier) de véritables crises de Selfing auxquelles le terme d'épidémie donné par Monsieur VIVIER correspond pleinement.

c) Clones "à selfing" et conjugaison interclonale.

Un exemple net nous est donné par le croisement test Hot - OF.

	OF	
Hot	V	VI
A		+
B	+	

Le travail de SCHREVEL-DEBERSEE ne fait pas mention du Selfing dans la variété OF, mais il est apparu plus tard, nous avons pu l'observer après repiquage sur grain de blé.

Il y a conjugaison entre un clone "à selfing" et un clone "non à selfing" dans une variété identique Hot. Ce qui est en accord avec l'observation que le selfing apparaît essentiellement dans un mating type d'une variété.

Test Hot-SP.

Nous avons signalé précédemment que le croisement de ces deux souches avait donné lieu à une réaction surprenante résumée dans le tableau ci-dessous.

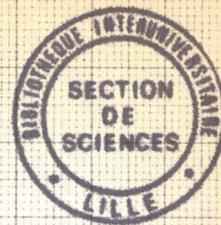
	SP
Hot	I3
A	+
B	+

Rappelons tout d'abord que si la conjugaison était indéniable entre SP_B et Hot_B, elle n'est apparue, par contre, qu'une seule fois entre Hot_A et SP_{I3} et ce malgré les nombreux essais qui ont été tentés ultérieurement.

Il était intéressant de vérifier la nature des couples et ceci s'avérait d'autant plus nécessaire que SP_{I3} et Hot_A sont des mating types à selfing très net, et la prétendue conjugaison interclonale qui nous intrigue aurait tout aussi bien pu être une conjugaison intraclonale : un Selfing massif de l'un des clones survenu lors du mélange.

Le test au rouge neutre (voir technique page I3) s'étant avéré impossible, la réaction d'agglomération ne se produisant pas immédiatement après le mélange, nous avons cherché si l'arrivée du filtrat d'une culture pouvait provoquer une augmentation du selfing dans l'autre. Ces essais sont rapportés dans le tableau suivant :

	F (SP I3)	F (A)	F (B)
A	-		
SP.I3		-	-

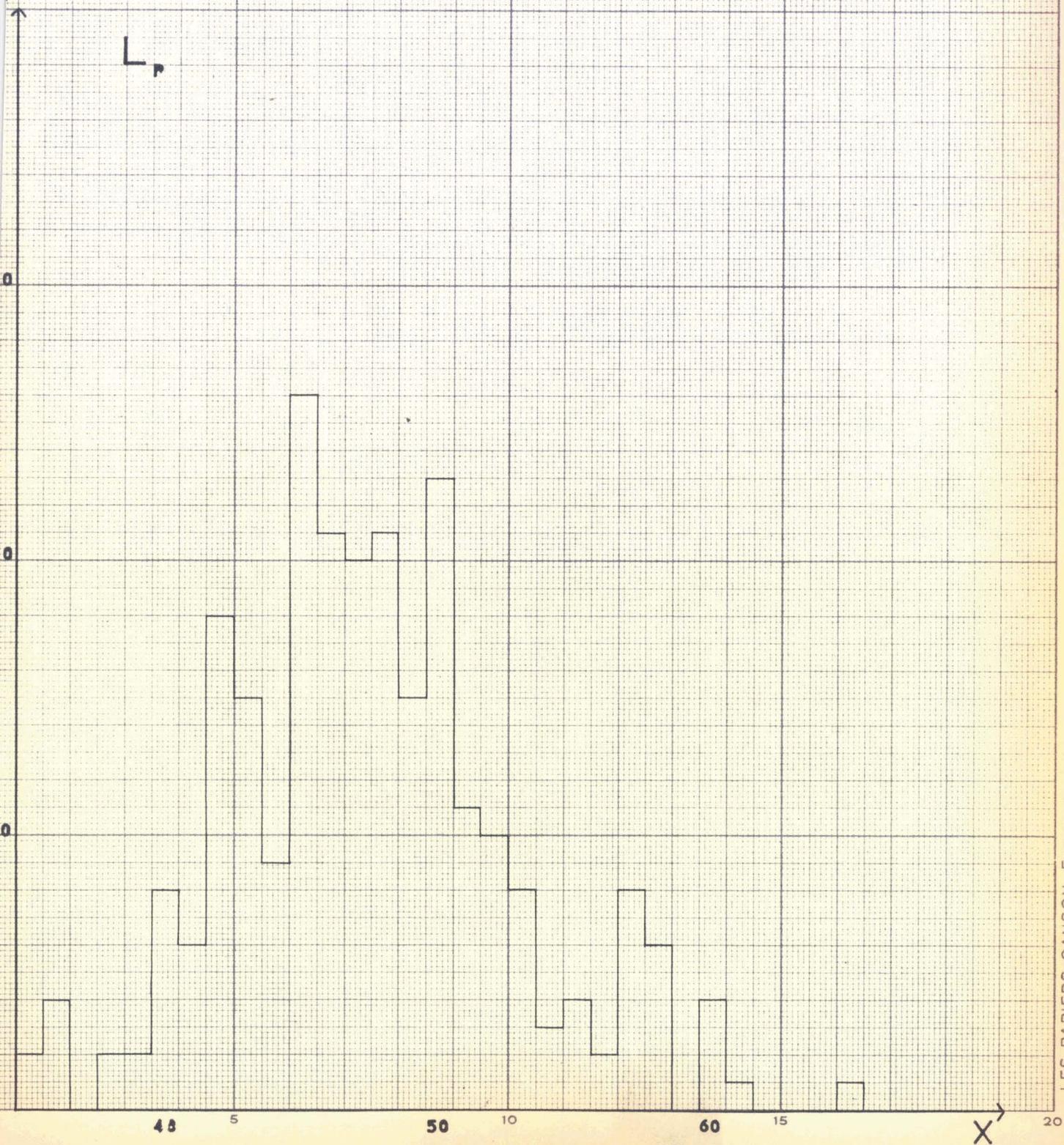


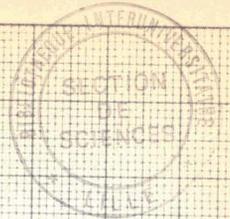
SYNGEN Hof

91

MATING TYPE A

L_p

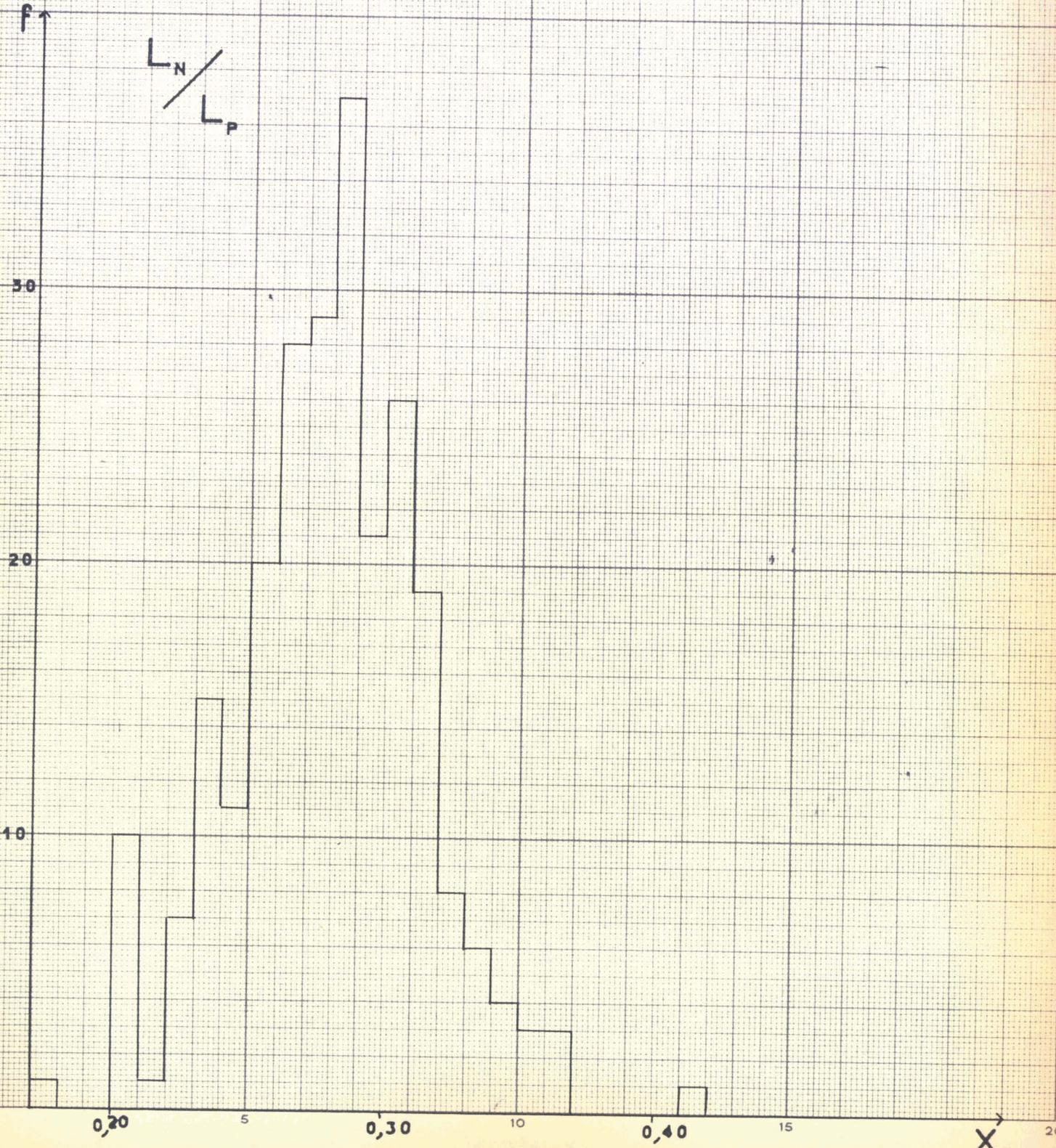
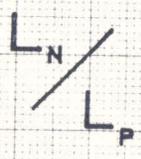




SYNGEN Hot

MATING TYPE A

92



Représentation graphique

$$\left\{ \begin{array}{l} g_1 = \text{Longueur des Cellules } L_p \\ g_2 = \text{Rapport LN/LP} \\ g_3 = \text{Longueur des macro-noyaux LN} \end{array} \right.$$

Mating type B.

Calcul des paramètres

Longueur de la paraneicie

données abrégées : moyenne 47,056
 variance $S^2 = 123,5591$
 Ecart type $S = \sqrt{S^2} = 11,115$

Valeurs réelles

$m = 47,056 \cdot 4,08 \# 191,98 \mu$
 $S^2 = 123,5591 \cdot (4,08)^2 \# 2.056,814$
 $n = 250$

Rapport LN/LP

Données abrégées moyenne = 0,25944
 variance $s^2 = 0,00720$
 Ecart type $S = \sqrt{s^2} = 0,08485$

Valeurs réelles

$m = 0,25944 \cdot 4,08 \# 1,0585$
 $S^2 = 0,00720 \cdot (4,08)^2 \# 0,120$
 $n = 250$

Représentation graphique

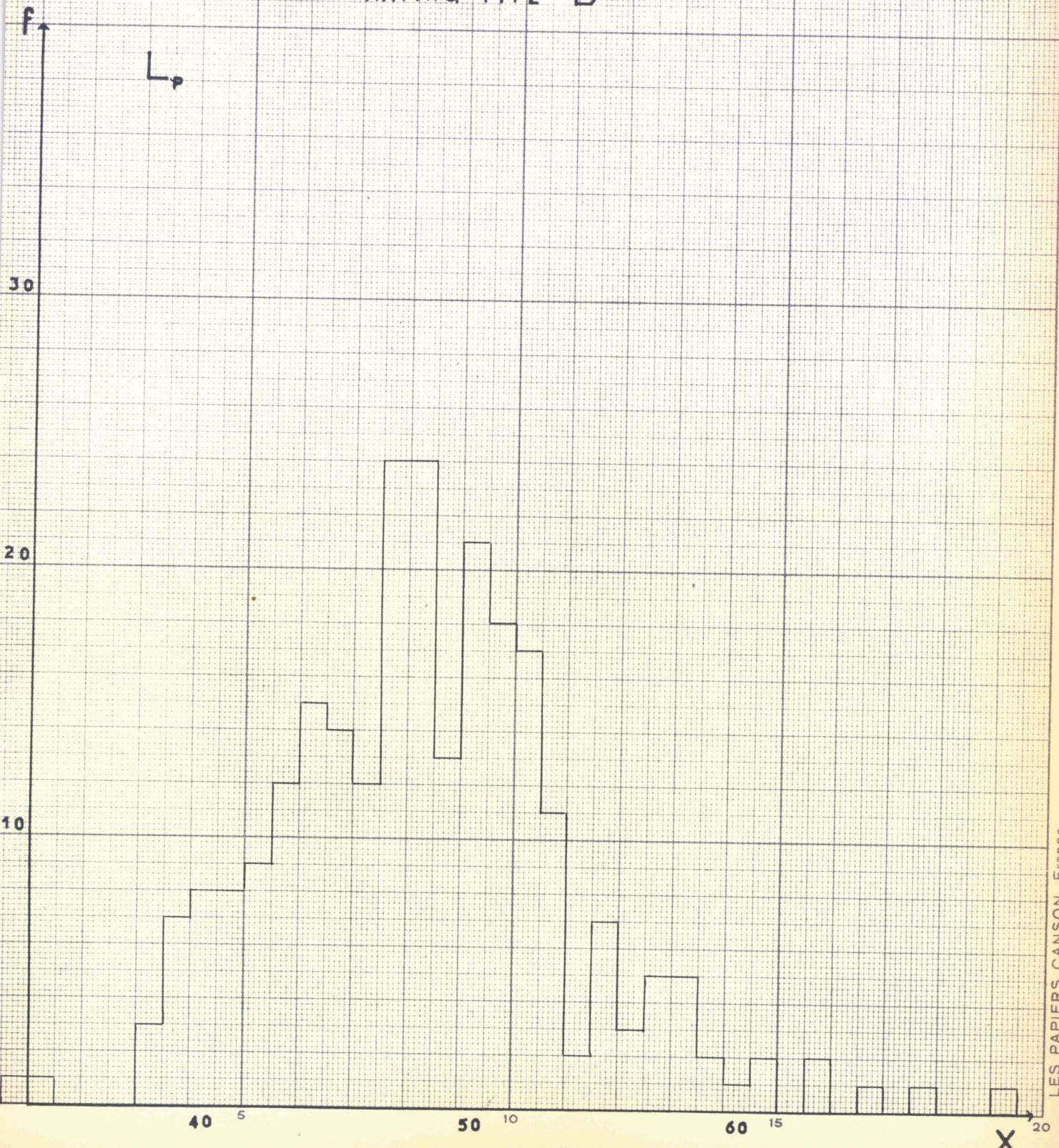
g_3 - Longueur des Macro-noyaux (LN)
 g_4 - Longueur des Cellules (L_p)
 g_5 - Rapport LN/LP



SYNGEN Hot

94

MATING TYPE B



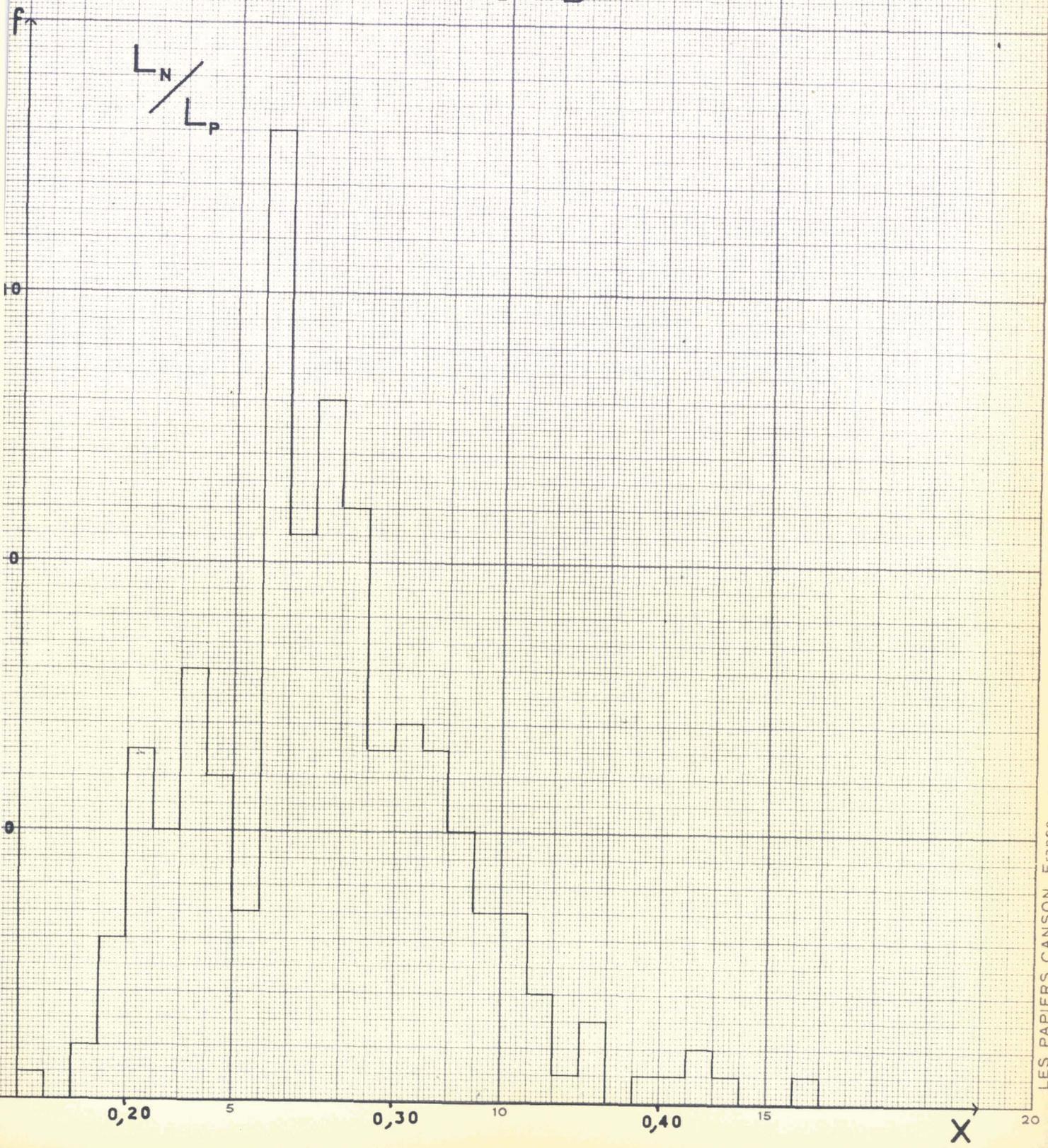


95

SYNGEN Hot

MATING TYPE B

L_N / L_P



b. Syngeen CaMating type A.

Calcul des paramètres

Longueur de la paramecie

Données abrégées moyenne = 44, 04
 variance S2 = 311, 19
 écart type S = $\sqrt{S2} = 17, 64$

Valeurs réelles

M = 179, 683 μ
 S2 = 5130, 193
 n = 250

Rapport LN/Lp.

Données abrégées moyenne = 0,27836
 variance S2 = 0,00187
 Ecart type S = $\sqrt{S2} = 0,04324$

Valeurs réelles

n = 0,27836 . 4,08 # 1,136
 S2 = 0,00187 . (4,08)² # 0,0311
 n = 250

Représentation graphique g6 - Longueur des Cellules Lp
 g7 - Rapport LN/Lp

Mating type B.

Calcul des paramètres

Longueur de la paramecie

Données abrégées : moyenne 43,900
 variance S2 = 19,4719
 Ecart type S. = $\sqrt{S2} = 4,4126$

Valeurs réelles

n = 43,9 . 4,08 # 179,112 μ
 S2 = 19,4719 . (4,08)² # 324,137
 n = 250

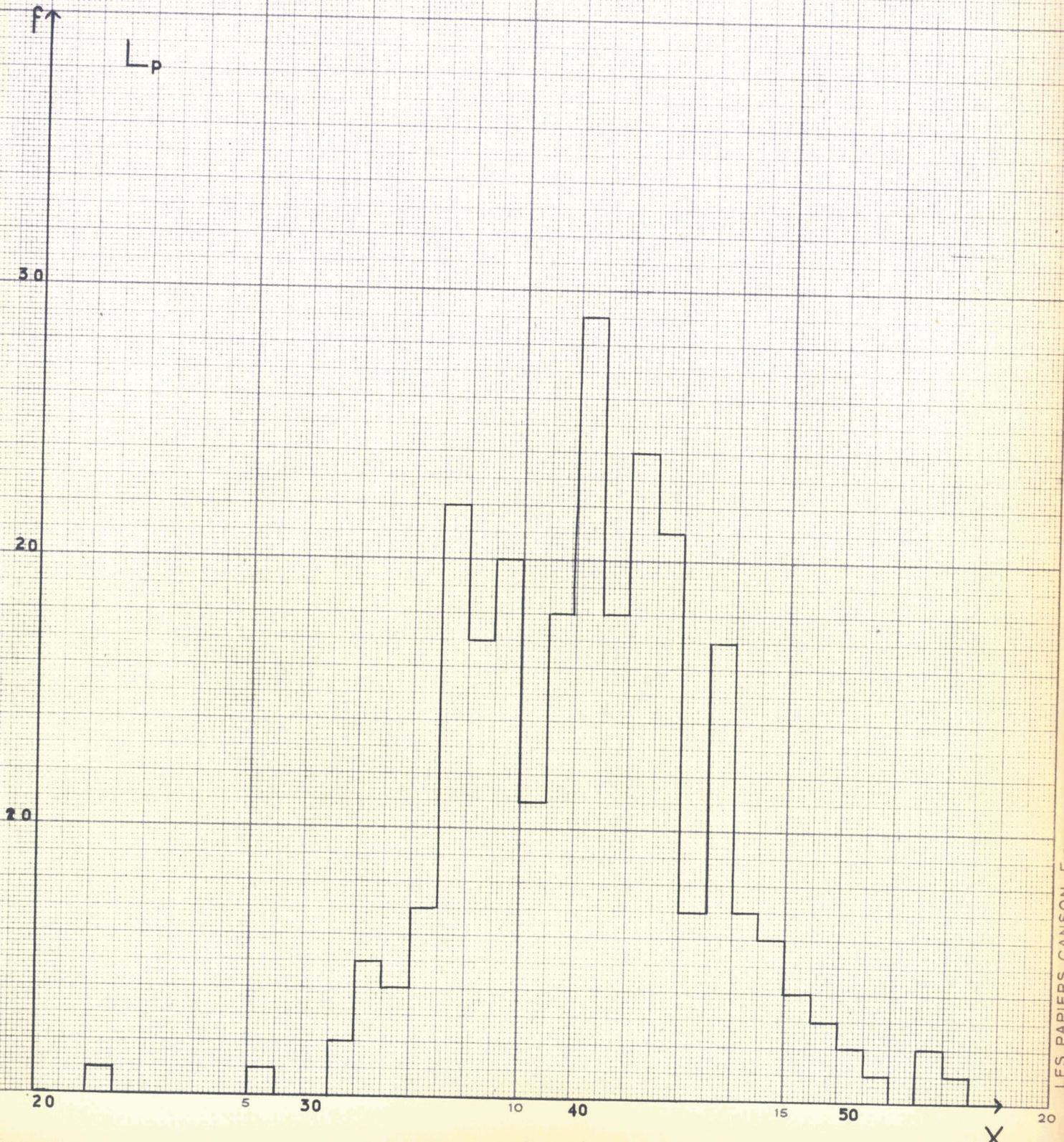


SYNGEN Ca

96

MATING TYPE A

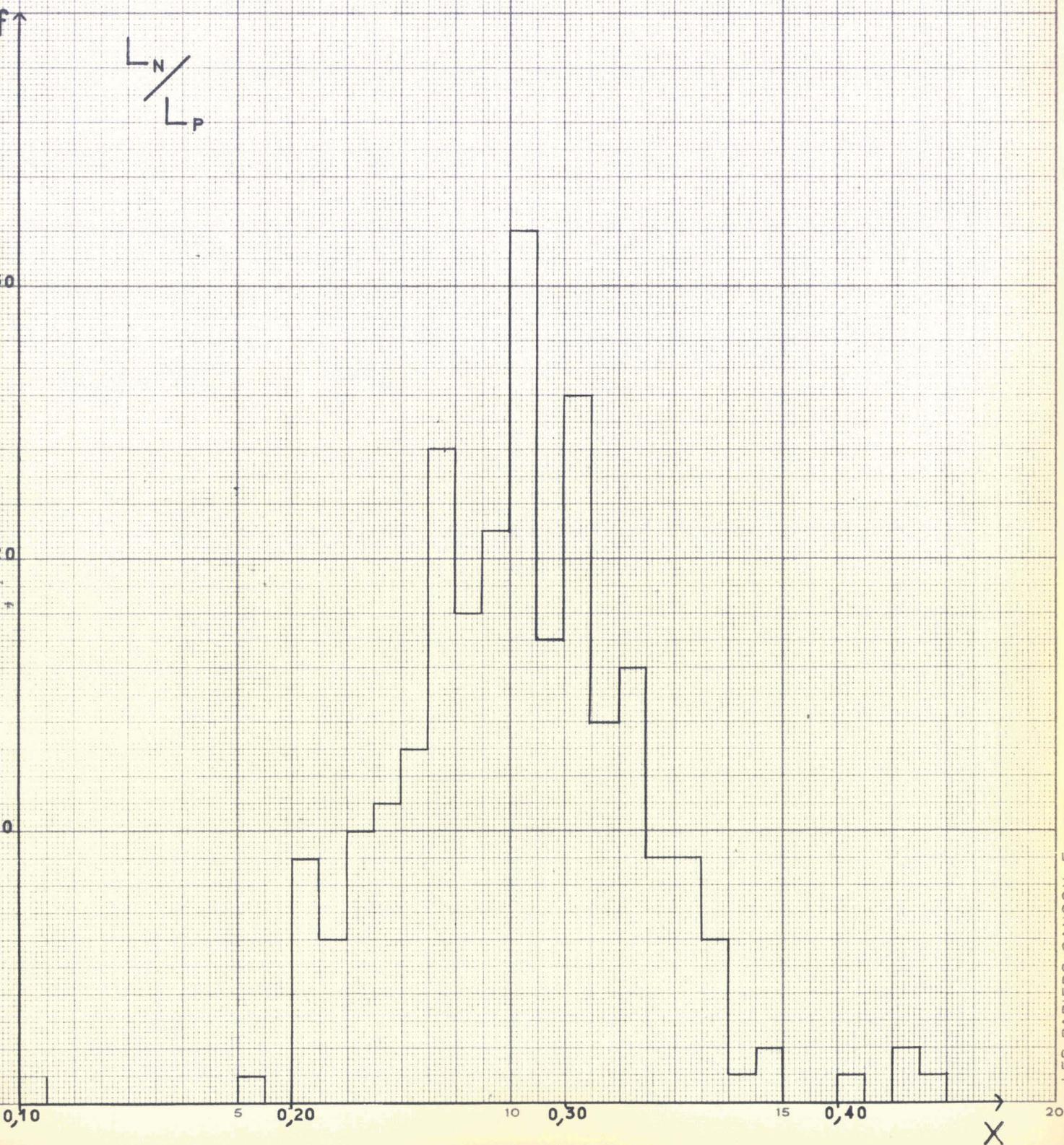
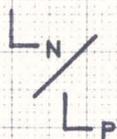
L_p



SYNGEN Ca

97

MATING TYPE A



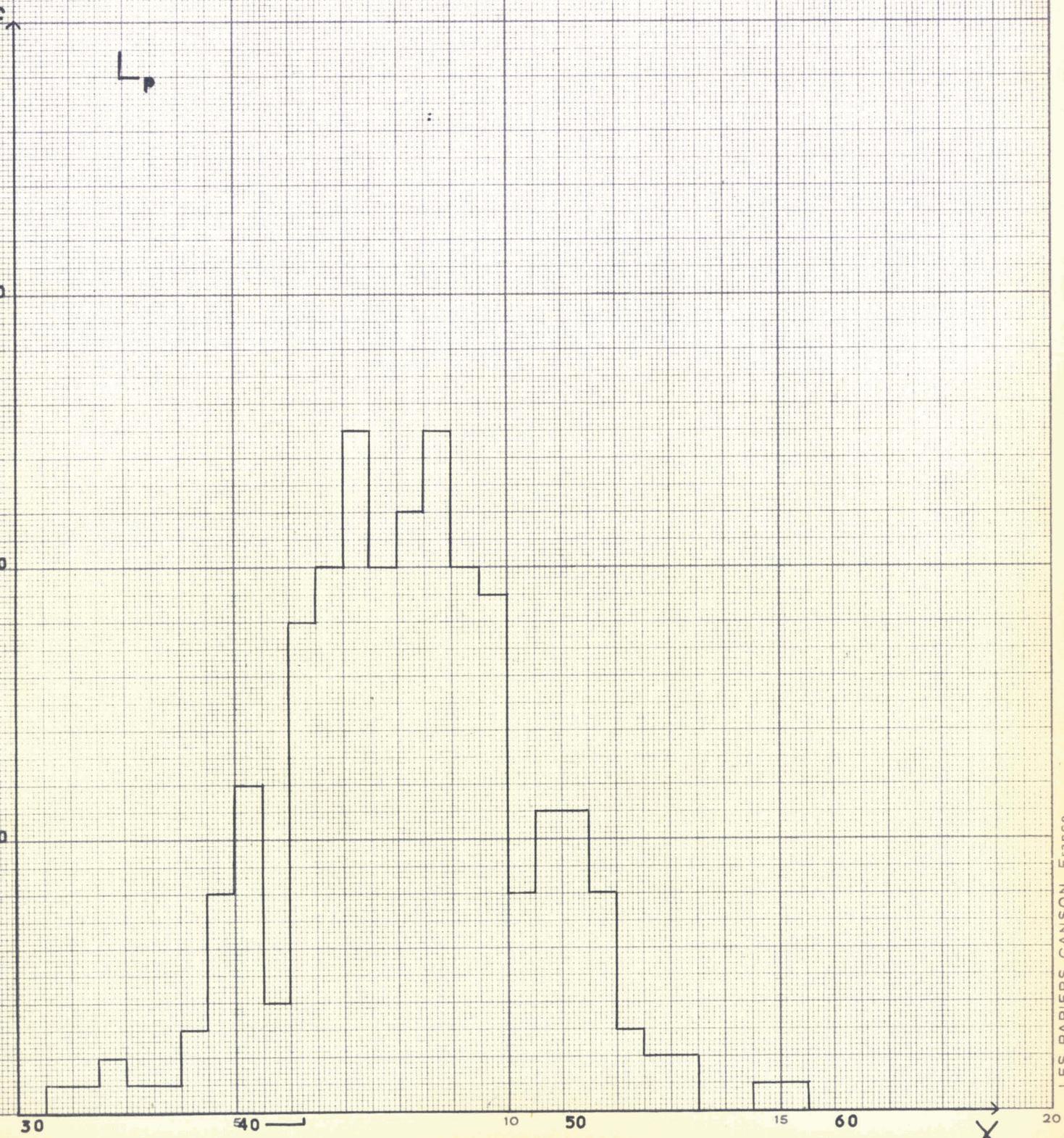


SYNGEN Ca

98

MATING TYPE B

L_p

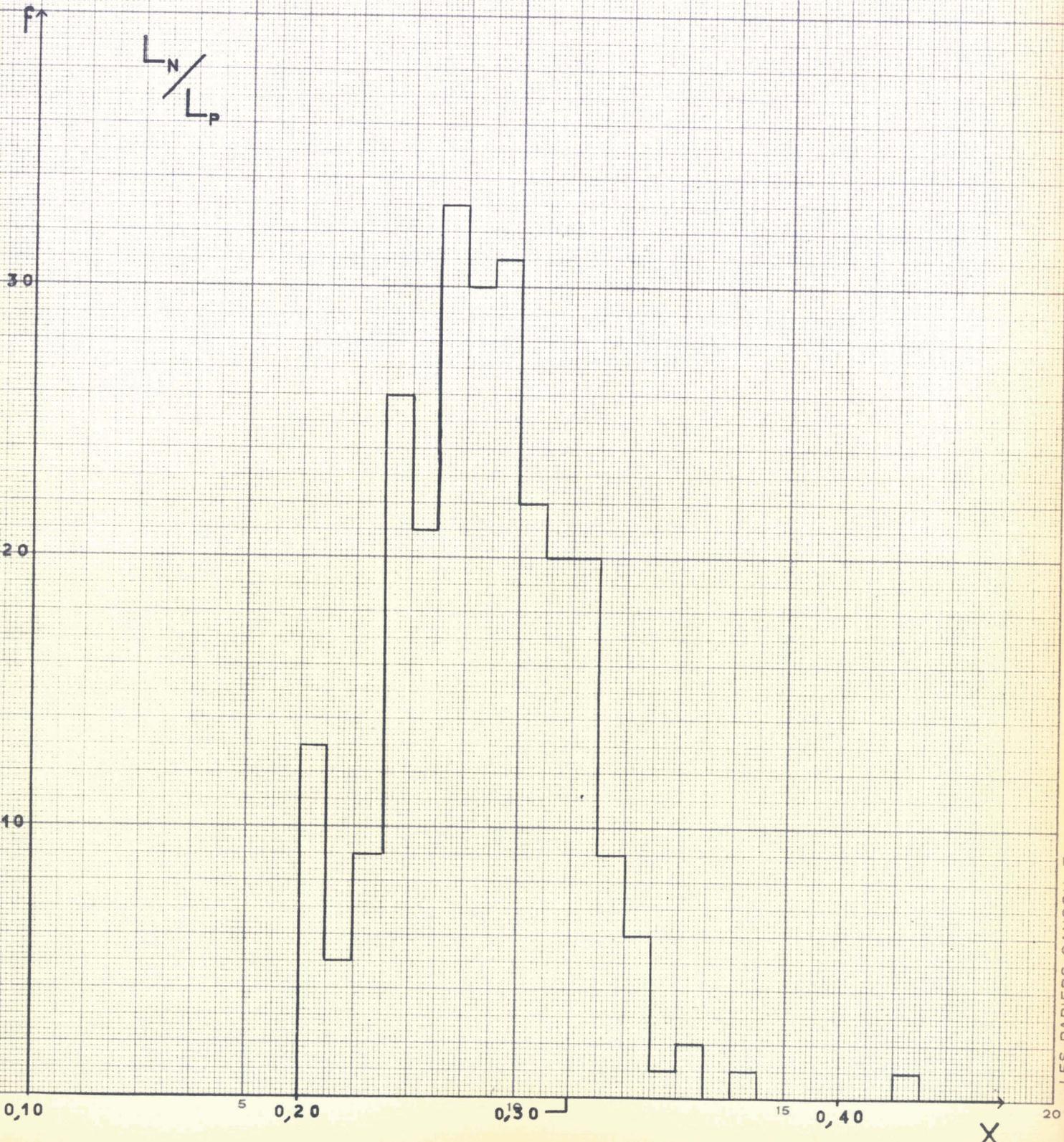


SYNGEN Ca

99

MATING TYPE B

L_N / L_P



Rapport LN/Lp

Données abrégées	moyenne	=	0,26212
	Variance S ²	=	0,001044
	Ecart type S = $\sqrt{S^2}$	=	0,03231

Valeurs réelles

n	=	0,26212 . 4,08	≠	1,069
S ²	=	0,001044 . (4,08) ²	≠	0,017
n	=	250		

Représentation graphique g8 - Longueur des Cellules Lp
g9 - Rapport LN/Lp.

C. Apport de la Statistique

- Renseignements fournis par les graphiques.

Longueur de la paramecie.

Sur les graphiques g IO- g II les courbes de distribution des deux mating-types sont figurées sur le même quadrillage. En ce qui concerne le syn- gen Hot(g.IO) la confrontation des histogrammes des deux types sexuels complémentaires n'apporte guère de renseignements, en gros les courbes se superposent aucune différence n'est décelable à première vue. L'examen des histogrammes comparés de la variété Ca(g II) fournit davantage de renseignements, les courbes sont sensiblement décalées l'une par rapport à l'autre et la courbe Ca A est digne d'intérêt parce qu'en négligeant les fluctuations de faible importance on peut la considérer comme une courbe bimodale, or c'est précisément la représentation du type sexuel "à selfing" ; doit-on voir dans cette population hétérogène l'image de la dualité de population du mating type Ca ?

Un tel histogramme donne à coup sûr une indication précieuse mais qui n'est pas assez rigoureuse pour nous permettre d'affirmer catégoriquement que la courbe bimodale correspond bien à une population "double". Il faudrait isoler un certain nombre d'individus du clone CaA, les cultiver puis effectuer des mesures comme on l'a fait sur le clone CaA lui-même et voir si on obtient deux groupes de moyennes pour Lp qui correspondent aux deux sommets de la courbe (g II), mais si cette technique est valable au point de vue théorique, pour le statisticien, elle perd toute signification ici, car en isolant des individus de type A nous verrons les cultures ainsi réalisées présenter du selfing, à leur tour, et les moyennes des mesures n'auraient aucune signification. Une telle représentation constitue sans doute une information intéressante au départ mais elle ne saurait être suffisante et il est indispensable de la compléter, la meilleure preuve peut être: l'histogramme Hot B LN/Lp(g.5) montre lui aussi deux sommets, moins nettement peut-être, mais l'hétérogénéité de la distribution apparaît cette fois dans le type sexuel B, qui ne fait pas de selfing, une grande prudence s'impose donc dans ce domaine.

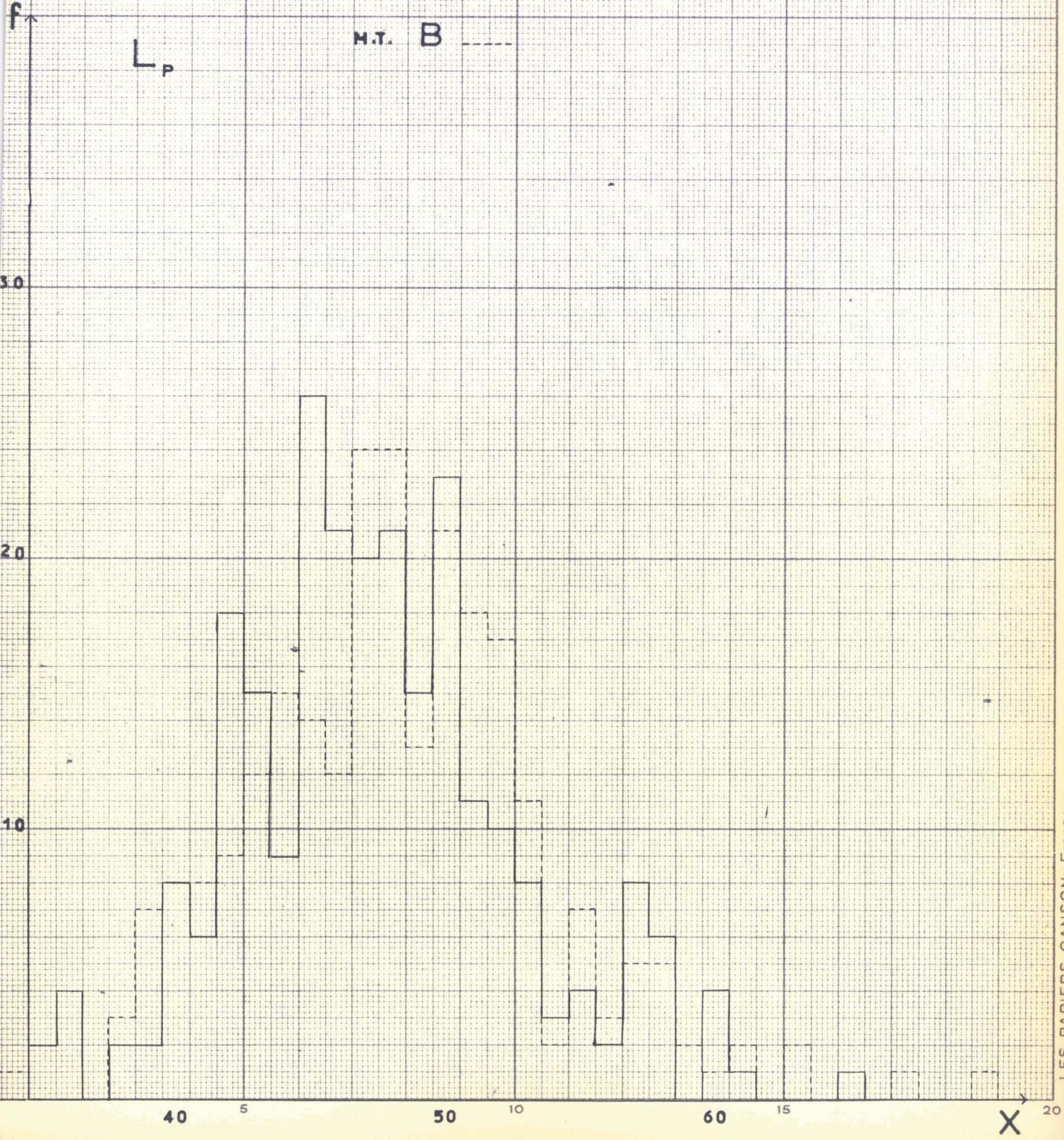
SYNGEN Hof

910

M.T. A ———

M.T. B - - - -

L_p

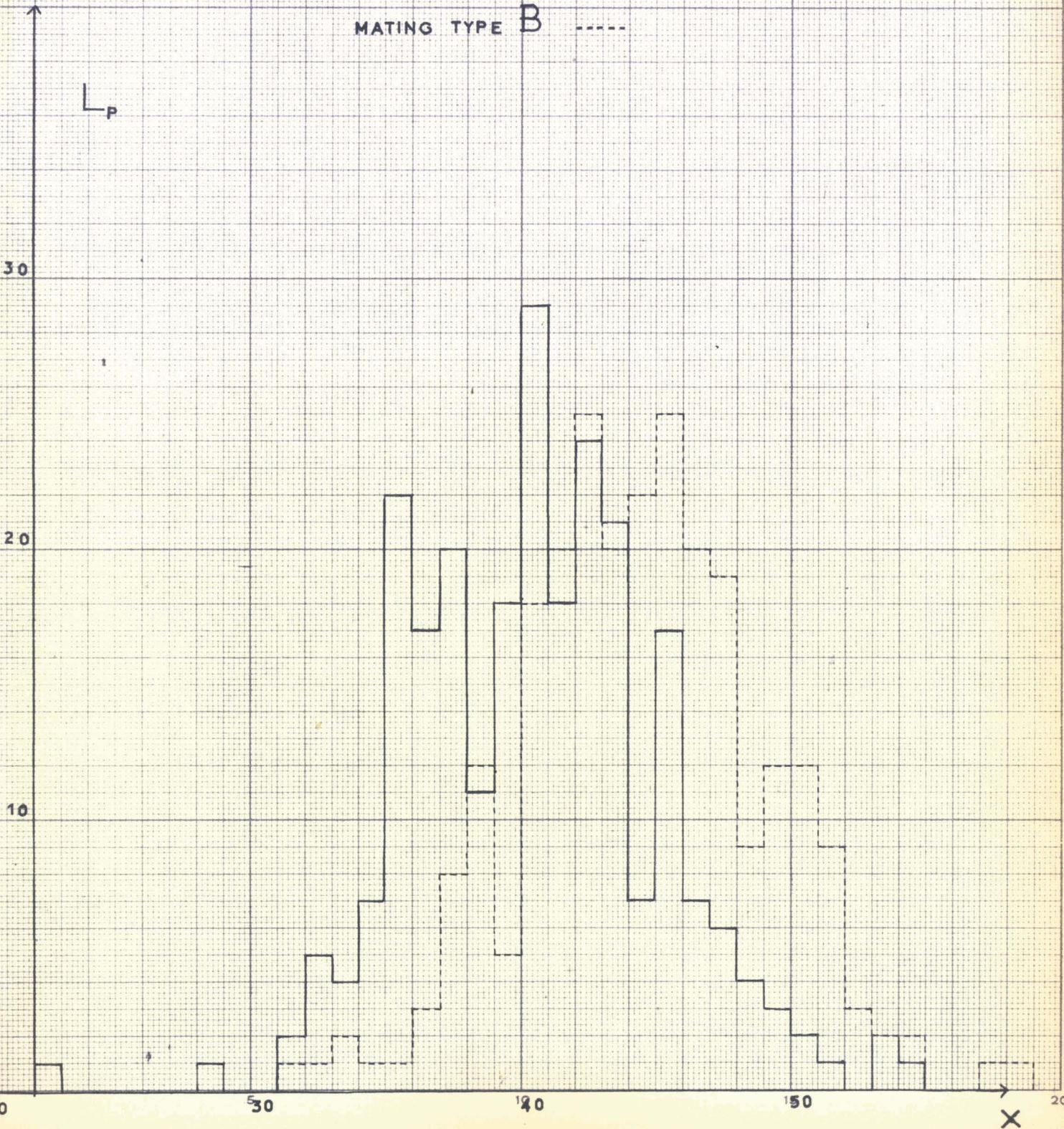


SYNGEN Ca

911

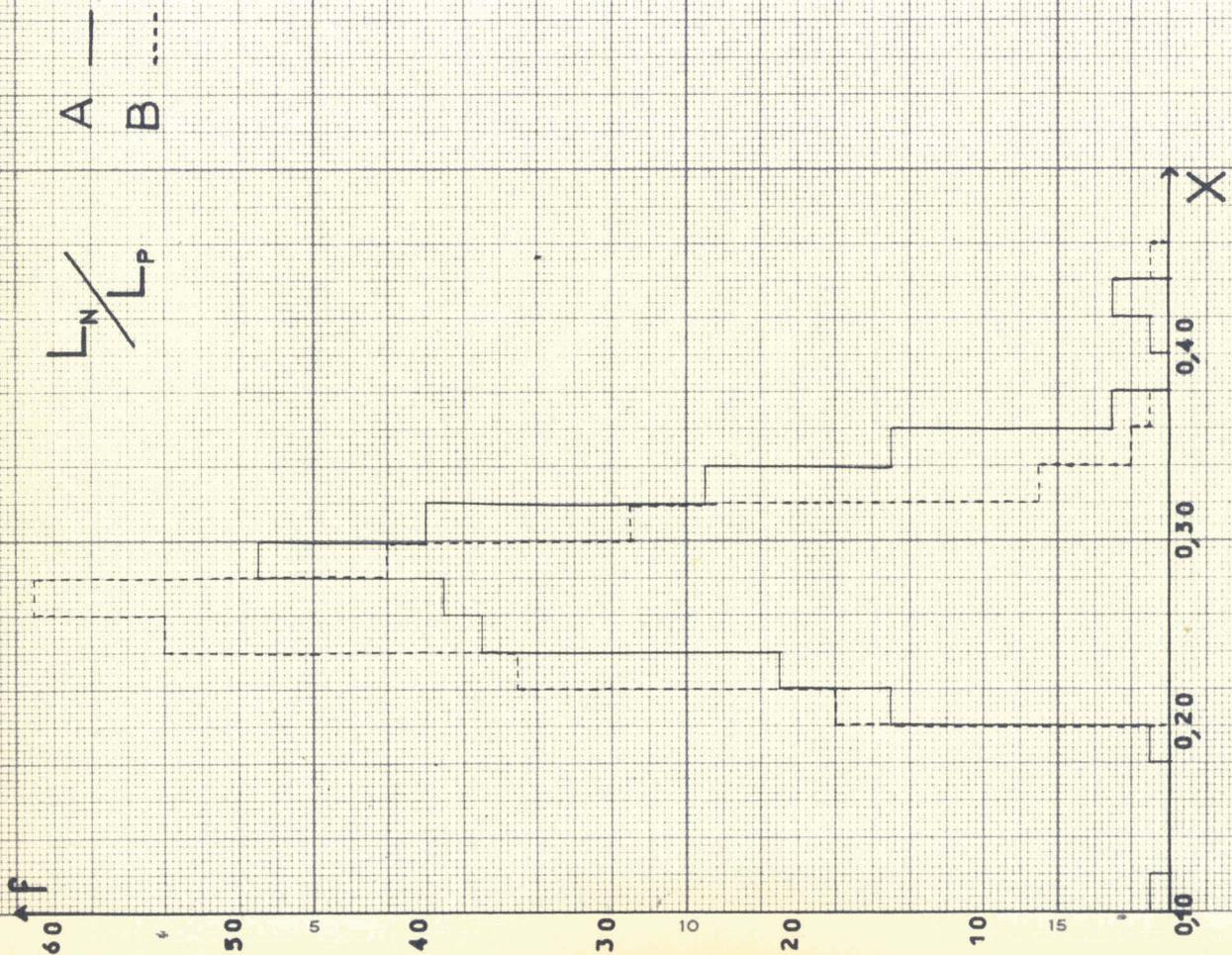
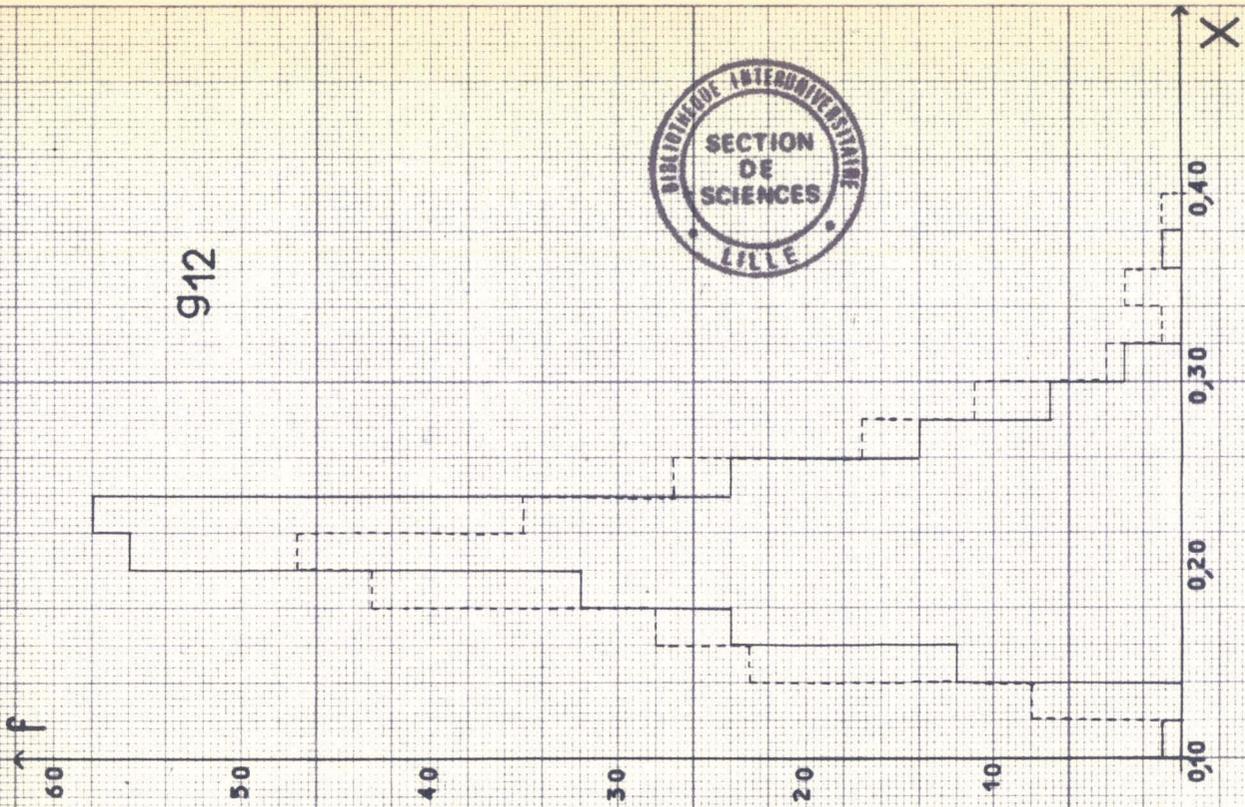
MATING TYPE A ———
MATING TYPE B - - - - -

L_p





912



L_N / L_P
A —
B - - -

Le graphique (g.I2) qui rassemble les distributions comparées des rapports LN/LP montre que pour les deux syngens les mating-types "à selfing" sont caractérisés par une valeur plus élevée de ce rapport

- Tests statistiques -

La technique statistique permet-elle de faire apparaître entre les mating types une différence qui permettrait une meilleure compréhension des divergences physiologiques ? La méthode employée est celle de l'hypothèse nulle, on suppose que les valeurs trouvées pour A et B appartiennent à la même population ; considérons les moyennes : si l'hypothèse formulée au départ s'avère exacte le test t de différence des moyennes doit être voisin de zéro sinon c'est que les valeurs trouvées appartiennent, selon toute vraisemblance, à des populations différentes. Mais le test t ne peut être appliqué que si certaines conditions sont remplies, en particulier et surtout il faut que les variances des deux populations de valeurs envisagées soient du même ordre.

Longueur des paramecies.

Hot	A	S2 = 51,6088
	B	S2 = 123,5591
Ca	A	S2 = 5180,193
	B	S2 = 19,4719

Les valeurs de la variance sont beaucoup trop différentes pour que le test t puisse être appliqué dans une variété aussi bien que dans l'autre.

Rapport LN/Lp.

Ca	A	S2 = 0,00187
	B	S2 = 0,00104
Hot	A	S2 = 0,00250
	B	S2 = 0,00720

Les différences entre variance sont suffisamment faibles pour que le test t puisse être appliqué

Rapport LN/Lp.

Test t entre Hot A. et Hot B.

Dans l'hypothèse nulle les différences

$$a = m_A - m_B$$

(où m_A et m_B sont respectivement les diverses valeurs trouvées pour LN/Lp dans chaque mating type) se distribuent selon une courbe gaussienne dont la variance peut être estimée comme suit :

$$S^2_d \neq \frac{S^2_A}{n_A} + \frac{S^2_B}{n_B} \quad \begin{array}{l} S^2_A = \text{variance de la population A.} \\ S^2_B = \text{variance de B.} \\ n = \text{nombre d'individus.} \end{array}$$

$$S_d \neq \frac{S^2_A}{n_A} + \frac{S^2_B}{n_B}$$

La formule devient dans le cas présent :

$$S_d \neq \sqrt{\frac{0,0025}{250} + \frac{0,0072}{250}} = \frac{\sqrt{0,0097}}{\sqrt{250}}$$

$$= \frac{0,09849}{15,81} \neq 0,00623$$

$$t = \frac{(m_A - m_B)}{S_d} = \frac{(0,25944 - 0,27480)}{0,00623} = 2,46$$

donc t est supérieur à 2 qui correspond au coefficient de sécurité de 95%.

La différence observée entre les mating types de la variété Hot est statistiquement significative.

- Test t entre Ca A et Ca B.

la même méthode nous amène à écrire

$$S_d \neq \sqrt{\frac{S^2_A}{n_A} + \frac{S^2_B}{n_B}}$$

$$\neq \sqrt{\frac{0,00187}{250} + \frac{0,001044}{250}}$$

$$\neq \frac{\sqrt{0,002914}}{15,81} = 0,00341$$

test t

$$t = \frac{(0,27836 - 0,26212)}{S_d} = \frac{0,01624}{0,00341} = 4,8$$

donc t > 2,6 coefficient de sécurité de 99%.

La différence observée est hautement significative et elle ne peut s'expliquer par des fluctuations aléatoires de nA et de nB.

3. CALCUL de la vitesse de division et COURBES de croissance relative.

Le tableau suivant rassemble les différents résultats obtenus dans les contrôles de vitesse de division.

Variétés mating types	Hot		Ca		Lg	
	A	B	A	B	A	B
Nbre d'individus après 2 Jours N.	3,143	3,56250	4,375	4,269	3,864	8,038
v.de division	0,83	0,92	1,06	1,05	0,97	1,50

La précédente confrontation met en évidence une différence de vitesse de division entre les mating types d'une même variété.

Dans deux cas (Hot et Lg) c'est le type sexuel B, celui qui ne fait pratiquement pas de selfing qui présente la vitesse de division la plus élevée ; dans le syngen Ca c'est l'inverse.

Mis à part le syngen Ca, les autres variétés se caractérisent par le fait que c'est le mating type "à Selfing" qui se divise le moins rapidement. Ces observations concordent avec les conclusions d'HIWATASHI en ce qui concerne le Selfing : cet auteur signale qu'un taux de division peu élevé favorise le changement de type sexuel, qui serait à l'origine de l'apparition de la conjugaison intraclonale, un pourcentage de division élevé favorisant par contre la stabilité du type sexuel. Le tableau des valeurs obtenues montre que dans deux cas sur trois cette hypothèse est confirmée. Le rythme de division peu élevé dans les clones de type sexuel A y favoriserait l'apparition de types sexuels nouveaux susceptibles d'expliquer la conjugaison intraclonale.

Mais comment concilier cette observation avec le fait que le jeûne, qui diminue la vitesse de division, ne fait pas apparaître et même empêche le selfing ? Une alimentation réduite, il faut le remarquer, rend impossible la conjugaison interclonale, sans doute parce qu'elle entraîne chez le cilié un amoindrissement physiologique dont la diminution de la vitesse de division n'est qu'un aspect. Quelque soit l'apport journalier de nourriture les clones de type A se divisent plus lentement que ceux du type sexuel complémentaire et la valeur de la vitesse de division n'est pas là le résultat d'un affaiblissement d'ordre physiologique. On conçoit, par là même, que le jeûne ne puisse entraîner l'apparition du Selfing puisqu'il ne permet pas un état de maturité chez les individus soumis à un tel régime.

b - croissance relative.

La régularité de la distribution des mesures du noyau trophique (cf antea graphique G3) nous a amenés à comparer les croissances relatives de la cellule au macronoyau entre les mating-types de chaque variété, en nous inspirant des recherches de TEISSIER sur la croissance. Cet auteur a établi que la croissance d'un organe par rapport au reste du corps se traduit par l'équation suivante :

$$y = b \cdot X^{\alpha}$$

Or, α peut être fractionnaire, d'où l'intérêt de modifier cette formule grâce aux logarithmes ; on peut écrire :

$$\log y = \log b + \alpha \log x$$

L'emploi des logarithmes permet de mettre en évidence une relation linéaire entre $\log y$ et $\log x$.

Dans la pratique on utilise un papier à doubles coordonnées logarithmiques sur lequel on porte directement le point correspondant aux valeurs associées x et y . Les points se répartissent suivant une droite qui fait un angle α avec l'axe des abscisses.

Les conclusions principales que l'on peut tirer de l'emploi de la méthode précédemment évoquée sont les suivantes :

- Si $\alpha > 1$ I C'est que l'organe étudié croît plus vite que l'organisme. Il y a disharmonie de croissance. On parle d'allométrie majorante.
- Si $\alpha < 1$ I C'est l'inverse et l'on parle alors d'allométrie minorante.
- Si $\alpha = 1$ I la croissance de l'organe est proportionnelle à la croissance du corps. Il y a Isométrie.

Il est possible de comparer la croissance relative de différents organes par rapport au même terme de référence en reportant sur un graphique les droites correspondant aux mesures des organes étudiés. C'est l'organe dont la droite a le plus grand angle α qui croît le plus vite par rapport à la grandeur de référence.

Pour une valeur de LN indiquée en abscisse on fait correspondre une valeur de Lp qui est la moyenne des valeurs Lp associées dans la distribution des mesures à la valeur précise LN. (Exemple : Pour LN = X on trouve Lp = Y₁, Y₂, Y₃ ... Y₄)

On porte sur le graphique en abscisse LN = X
 en ordonnée $\frac{Y_1 + Y_2 + Y_3 + \dots + Y_4}{n}$

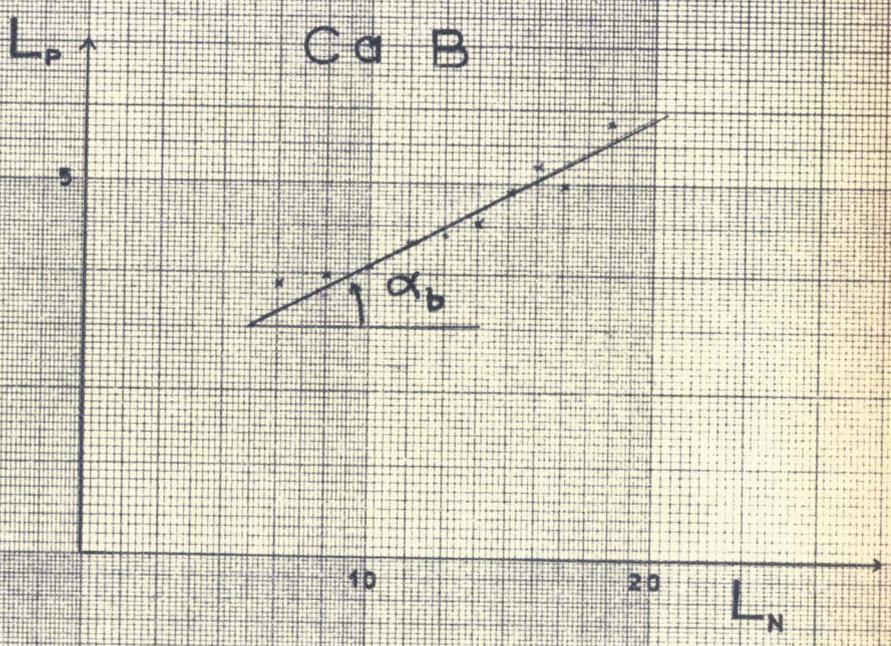
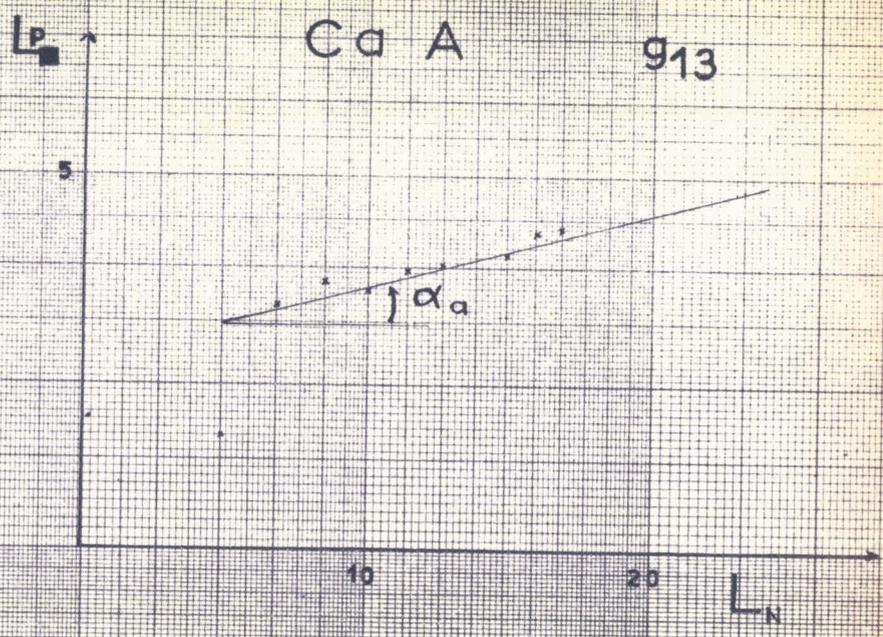
La courbe tracée à partir des points obtenus donne une représentation linéaire de la croissance de la cellule par rapport à son macronoyau;

Les droites ainsi obtenues sont reportées sur papier calque et peuvent ainsi être comparées. Il ressort de l'examen de ces courbes que les angles des droites correspondant aux types sexuels A et B respectivement α_a et α_b sont inférieurs à 1. Les courbes sont minorantes, ce qui signifie en d'autres termes que l'organisme étudié Lp croît moins vite que l'élément de référence LN et ce dans les deux variétés étudiées.

Dans le syngen Hot. les cellules du mating type A ont une croissance relative par rapport au Macronoyau, supérieure à celle du type complémentaire B. On voit sur le graphique que

$$\alpha_a > \alpha_b$$

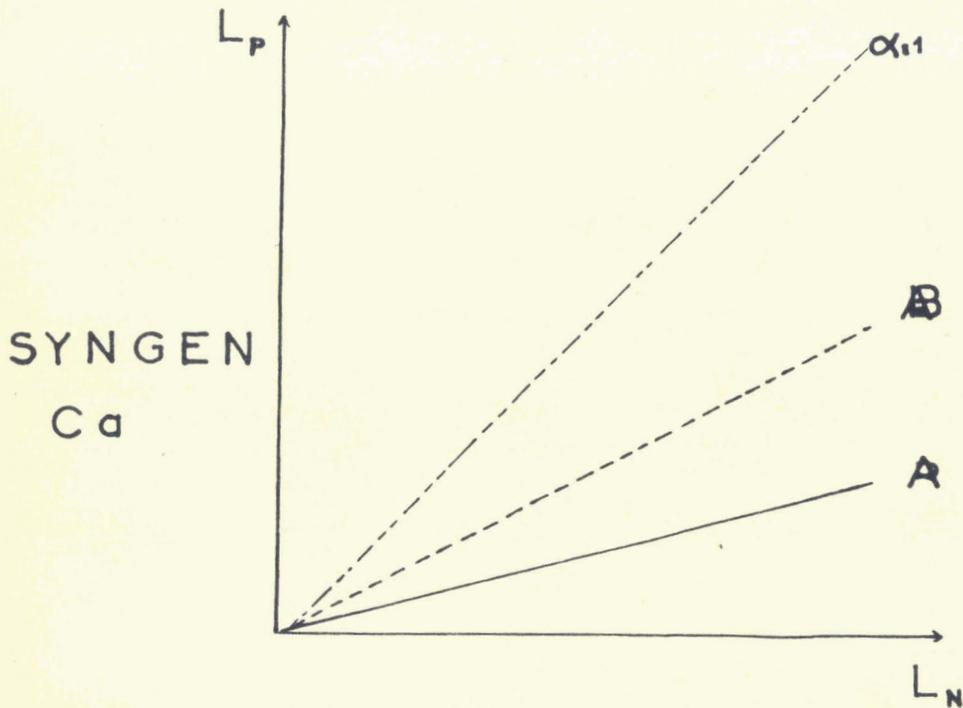
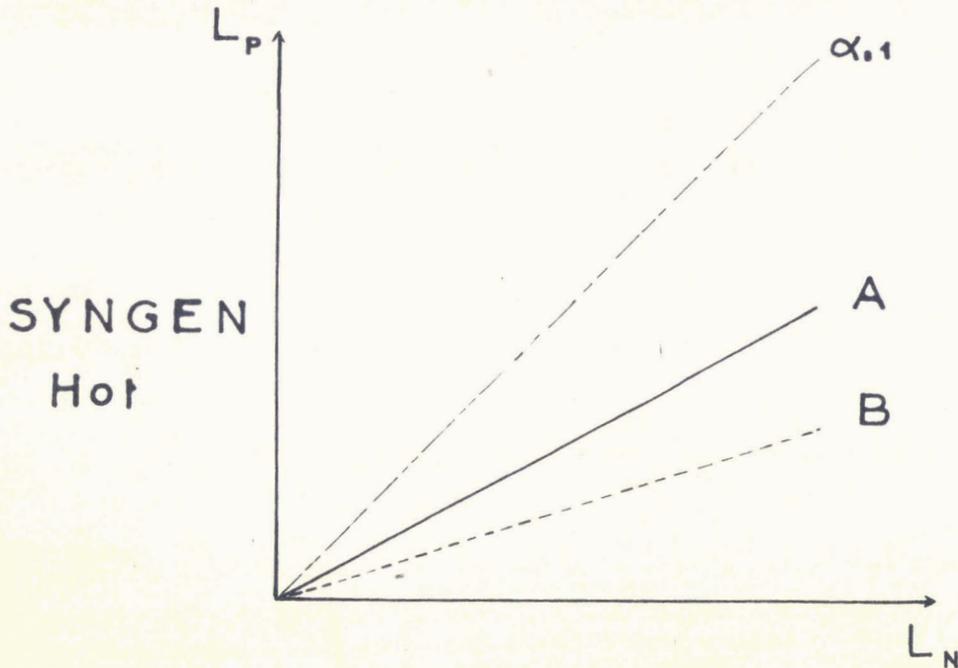
./.



COURBES de CROISSANCE

CROISSANCE RELATIVE

915



Dans le syngen Ca les choses sont inverses

$$\alpha_b > \alpha_a$$

Nous allons voir dans la discussion suivante, les conclusions qui peuvent être tirées de résultats à première vue disparates.

CONCLUSIONS SUR L'ETUDE DU SELFING - DISCUSSION.

Les observations portant sur cinq souches de paramecies (cultures réalisées par multiplication végétative d'un individu sauvage) ont montré que le selfing se manifeste, en majeure partie, dans un des mating-types d'une variété ce qui est en accord avec les conclusions de Monsieur VIVIER et de SCHNEVEL-DEBERSEE. L'apparition du selfing dans un des types sexuels semble correspondre à la différence de vitesse de division observée entre les mating types, nos conclusions s'accordant en ce point avec celles d'HIWATASHI. Les résultats d'ordre statistique avaient déjà fait apparaître des différences entre types sexuels complémentaires qui se sont inscrites également dans les courbes de croissance relative. Le tableau suivant rassemble les différentes données de cette étude.

	Lp		LN/LP		V.de division		C	
	m	s	m	s	N/2J	a		
Hot	A	47.240	7.1839	0.2748	0.05	-	0.83	+
	B	47.056	11.115	0.25944	0.08485	+	0.92	-
Lg.	A					-	0.97	
	B					+	1.50	
Ga	A	44.04	17.64	0.27836	0.04324	+	1.06	-
	B	43.900	4.4126	0.26212	0.03231	-	1.04	+

m = moyenne s = écart type a = Vitesse de Division

N/2J = paramecies dénombrées en deux jours

Le signe + indique une valeur supérieure) d'un para-
- correspond à une valeur inférieure (mètre

Si des divergences se font jour entre variétés, on remarquera que celles-ci ne paraissent pas être anarchiques ; à une vitesse de division forte dans un type sexuel correspond une croissance relative inférieure par rapport au mating type opposé où à une vitesse de division basse correspond une croissance plus intense.

Or ce ne sont pas les mêmes individus qui ont permis d'aboutir aux résultats des vitesses de division et des courbes de croissance, ceci est difficilement réalisable du point de vue technique. Ces individus provenaient des mêmes clones simplement, ce qui donne plus de poids à nos conclusions.

C. LES SOUCHES NON CONJUGANTES

I. Répartition

Monsieur VIVIER signale des clones non conjuguants dès 1955, il en apparait également dans le travail de SCHREVEL-DEBERSEE, nous en avons rencontrés (Hot I, 2, I2 - Lg II) mais en quantité moindre, cela tient peut-être au fait que travaillant sur un nombre plus réduit de cultures par souche nous avions moins de chance de rencontrer de telles populations, mais il est plus facile de maintenir en état de réactivité un nombre assez restreint de clones ce qui offre moins de risque de laisser passer une éventuelle période de réactivité sexuelle. On ne peut parler de races non conjugantes qu'après une étude assez longue, l'exemple des clones Corb₁₀ et Corb₁₁ qui n'ont conjugué avec la variété Hot que six mois après les autres le prouve.

Les clones Hot₂ et I₂ difficiles à mettre en culture n'ont pu être étudiés, seul le clone Hot₁ a fait l'objet de recherches. Une étude nucléaire préalable avait confirmé qu'il s'agissait dans tous les cas de P. caudatum.

2. Biométrie

Calcul des paramètres

LN/Lp	données abrégées	moenne =	0,25616
		variance S ² =	0,00054
		Ecart type S= $\sqrt{S^2}$ =	0,02324
	valeurs réelles	M =	0,25616 . 4,08 = 1,045
		S ² =	0,00054 . (4,08) ² = 0,090
		n =	250

Représentation graphique.

Les valeurs obtenues se répartissent en un polygone de fréquence qui peut s'inscrire dans une courbe gaussienne.

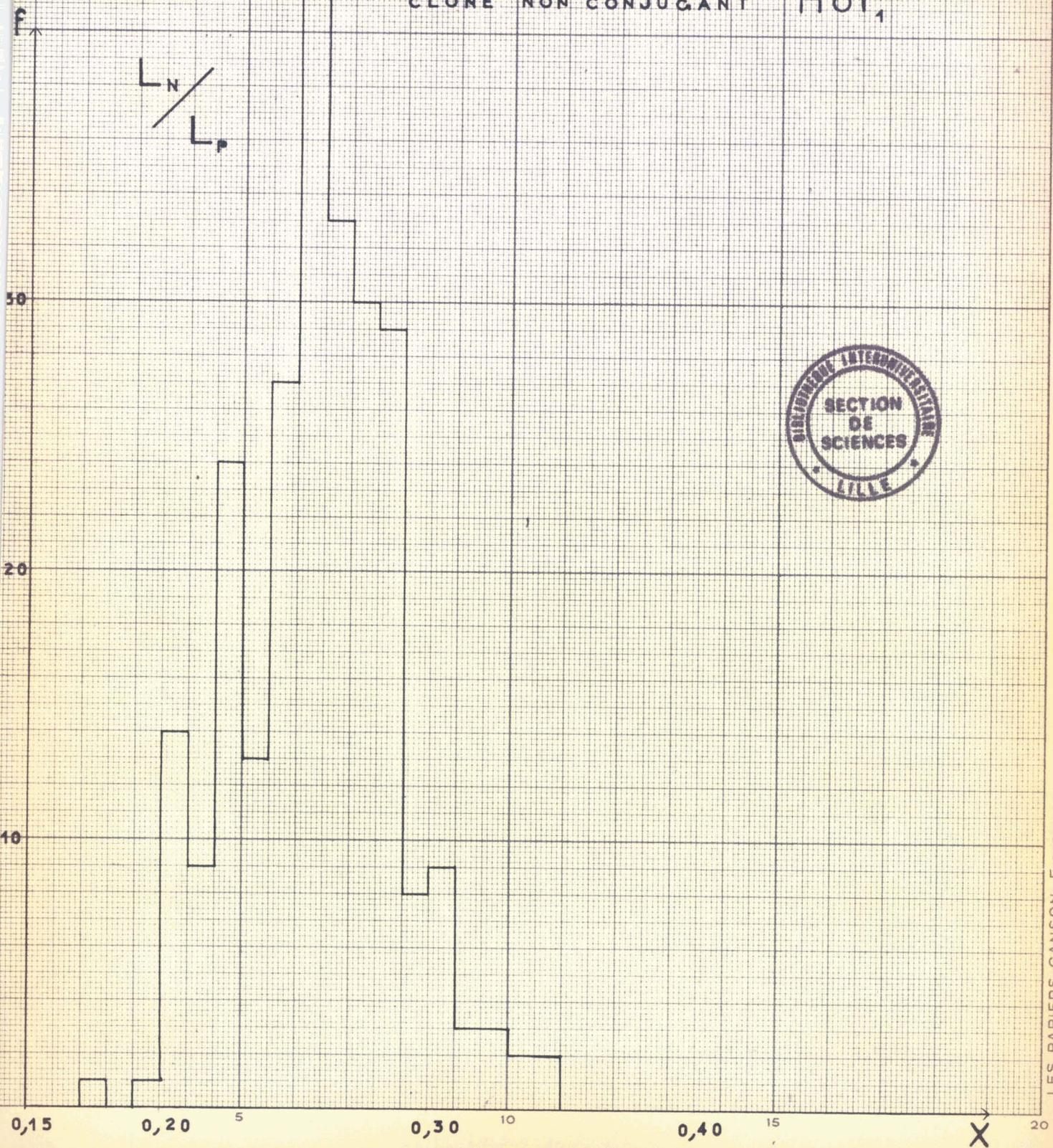
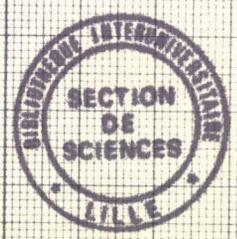
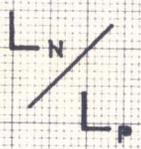
Test statistique

Il apparaissait particulièrement utile de comparer les distributions des mesures concernant Hot, à celles des deux types sexuels complémentaires définis dans cette variété Hot.

916

SYNGEN Hot

CLONE NON CONJUGANT Hot;



Test t de comparaison des moyennes

Comme dans les tests concernant le selfing il s'agit de vérifier si l'hypothèse de différence nulle entre les moyennes (celles de mating types A et B d'une part, Hot_I d'autre part) peut être maintenue.

$$\text{Hot}_I - \text{Hot}_A$$

$$S_d \neq \sqrt{\frac{0.0025}{250} + \frac{0.00054}{250}} = \sqrt{\frac{0.00304}{15,81}} = 0,0035$$

$$t = \frac{[\overline{m\text{Hot}_A} - \overline{m\text{Hot}_I}]}{S_d} = \frac{0,01864}{0,0035} = 5,33$$

$$t > 2,6 \text{ (coefficient de sécurité de 95\%)}$$

la différence observée entre les deux clones est hautement significative au point de vue statistique.

$$\text{Hot}_I - \text{Hot}_B$$

$$S_d \neq \sqrt{\frac{0,0072}{250} + \frac{0.00054}{250}} \neq 0,0056$$

$$t = \frac{[\overline{m\text{Hot}_B} - \overline{m\text{Hot}_I}]}{S_d} = \frac{0,25944 - 0,25614}{0,0056} = 0,586$$

$$t < 2$$

Il ne semble pas y avoir de différence significative au point de vue statistique entre ces deux clones, l'hypothèse de différence nulle doit être rejetée.

Le clone Hot_I se rapprocherait donc du type sexuel A.

Courbes comparées, de croissance relative Hot_1
et mating type A et B du Syngen Hot.

3. Calcul des vitesses de division - Croissance relative

	A.	B.	Hot_1
N/ individus en 2 J.	3,143	3,5625	3,647
a.	0,83	0,92	0,93

La vitesse de division de Hot_1 le ferait rapprocher de Hot_D ce qui paraît en contradiction avec l'observation précédente. Par contre cette vitesse relativement plus forte que dans le clone A. est peut-être en accord avec la non apparition de selfing dans ce clone.

La courbe de croissance relative de la cellule par rapport à son Mn, figurée sur le graphique de comparaison des croissances ci-dessus amène à penser, comme dans l'examen des moyennes, que Hot, se rapproche du mating type A.

CONCLUSION - DISCUSSION

L'étude précédente montre que la race non conjugante peut être rapprochée d'un des mating types de la variété à laquelle elle appartient, elle s'en distingue toutefois par sa vitesse de division. Le rapport LN/LP ne diffère pas sensiblement de l'un ou l'autre rapport caractérisant les mating types A et B. On sait (DIPPEL 1955) que chez les paramecies vieilles le rapport N/P tend à augmenter (hypertrophie du Mn) en même temps que le rythme de division baisse. Ce n'est pas le cas ici : le rapport LN/LP n'a pas augmenté et les cellules se divisent plus vite, les conditions sont donc toutes différentes de celles qui concernent le clone mutant d4-34 étudié par MOBILI (1961) chez *Paramecium aurelia*, contrairement aux observations de cet auteur sur le matériel étudié la division paraît normale dans le cas du clone Hot₁, et le rapport N/p n'est nullement perturbé. Nous avons observé quelques rares cas de division donnant naissance à une paramecie quelque peu modifiée, est-ce là le signe d'une dégénérescence ? -

Afin de rechercher dans le milieu de culture de Hot₁ la présence d'un éventuel facteur inhibant la conjugaison nous avons ajouté au mélange HotA - Hot₃ un filtrat du clone Hot₁, normal puis chauffé 10 minutes à 40° C. et refroidi, sans perturber en aucune façon la conjugaison.

Il semble que les précédents résultats obtenus permettent de rattacher le clone non réactif au mating-type A, mais le rythme de division élevé de cette culture amène à penser qu'un changement est survenu qui a fait perdre certains caractères propres au type sexuel A, en particulier le Selfing. Nous n'avons en aucun cas retrouvé les phénomènes d'Hemixie fréquents signalés dans des souches non conjugantes de la région de Clermont-Ferrand, mais la découverte d'individus anormaux dans nos clones non réactifs coïncide avec les observations de Monsieur VIVIER sur le matériel précédemment cité.

CONCLUSION

Au cours du présent travail, trois variétés sexuellement séparées de *Paramecium caudatum* ont été mises en évidence et peut-être deux types sexuels appartenant, l'un et l'autre, à des syngens différents. La correspondance que nous avons pu établir entre les variétés décrites dans cet exposé et celles définies par Monsieur VIVIER et SCHREVEL-DEBERSEE dans la région de Clermont-Ferrand et le Nord de la France, confirme l'existence d'un nombre limité de variétés dans l'espèce de cilié qui a fait l'objet de cette recherche ; il semble, d'autre part, que la répartition des variétés ne soit pas uniforme et que des dominances entrent en ligne de compte.

Certaines populations obtenues, par scissiparité, à partir d'individus sauvages n'ont jamais donné lieu à des phénomènes sexuels ; après avoir écarté, dans ces clones non conjugants, l'influence d'un éventuel facteur inhibiteur biologique, extrinsèque, nous avons pu montrer que ces cultures peuvent être rapprochées de l'un des mating types de la variété à laquelle elles appartiennent. Cette anomalie est-elle de nature pathologique ? correspond-elle à une transformation héréditaire (mutation) ? Nous n'avons pas décelé, chez ces paramecies, d'anomalies nucléaires, et si la présence d'individus anormaux dans la descendance s'accorde avec les observations de Monsieur VIVIER ; les analyses biométriques nous amènent à conclure qu'il ne s'agit sans doute pas de clones en voie de "vieillissement" : le rapport LN/Lp restant voisin de ce qu'il est chez les mating-types correspondants, réactifs, et le rythme de division élevé n'étant certainement pas la marque d'une déficience.

De l'étude du selfing, il ressort que celui-ci semble affecter de préférence l'un des mating-types d'une souche, et ce après un délai qui paraît fixe pour un même clone ; ces faits sont en accord avec les observations de Monsieur VIVIER et de son élève. La mise en évidence des types sexuels ne met en lumière qu'un aspect de la dualité fondamentale qui caractérise une variété. Nous avons pu montrer que le type sexuel "à selfing" se distingue du type complémentaire "non à Selfing" en général, par la taille des cellules, leur rapport LN/Lp (image du rapport nucléoplasmique), par le rythme de division et la courbe de croissance. Ces résultats correspondent de toute évidence à des divergences d'ordre physiologique entre mating-types. L'effet narcotique des sels de Nickel sur les paramecies (de PUYTORAC sur la variété 2 de Monsieur VIVIER) justifie cette conception : l'effet narcotique est différent, suivant que l'on s'adresse à un type sexuel ou à l'autre. Enfin le rythme de division relativement bas dans les clones "à Selfing" permet d'expliquer, en accord avec la théorie d'HIWATASHI la possibilité d'apparition, à l'intérieur d'une même culture, d'un type sexuel complémentaire nouveau, responsable de la conjugaison intraclonale, le rythme élevé, observé dans les cultures de type opposé "non à selfing" stabilisant, au contraire, le type sexuel.

BIBLIOGRAPHIE :

- BUTSCHLI (O.) - 1876 . Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle die Zelltheilung und die. Conjugation der Infusorien (Abh.Senck. Nat. Ges., FRANKFURT 10, p.I-250)
- CHATTON (E.) & CHATTON (M.) - 1929 a. Les conditions de la conjugaison de *Glaucoma Scintillans* en Cultures Lébobactériennes. Action directe et spécifique de certains agents zygotiques (C.R.A.S., PARIS 188, p.1315- 1317) - 1929 . b. L'état de jeûne, condition nécessaire mais non suffisante de la conjugaison expérimentale de *Glaucoma scintillans* (C.R.A.S., 189, p.59-62).
- CHEN (Y.T.) - 1944. Mating types in *Paramecium caudatum* (Amer.Nat.78, p.334-340).
- P.de PUYTORAC, C.ANDRIVON, F.SERRE. - 1962. Sur l'action cytonarcotique des sels de Ni chez *P.caudatum* (Jof.Protoz.,9 ; suppl.)
- DIPPEL - 1955. Some cytological aspects of aging in variety 4 of *P.Aurelia* J.of.Proz.,2(suppl.)
- GILMAN (L.C.) - 1939. Mating types in *P.caudatum* (Amer.Nat.73 p.445-450). 1941. Mating types in diverses races of *P.Caudatum* (Biol. Bull., 80, p.384-402). - 1950 The position of Japanese varieties of *P.Caudatum* with respect to American varieties (Biol.Bull.,99(2), p.348-349). - 1954. Occurrence and distribution of mating types varieties in *P.Caudatum* (J.of.Protoz., 1 (Suppl.) - 1956. Distribution of the varieties in *P.caudatum* (J.of. Protoz. 1 (suppl.) 3 (suppl.) 1958. European varieties of *P.caudatum* (J.of.Protoz., 5 (Suppl.)
- HIWATASHI (K.) - 1949 a. Studies of the conjugation of *P.caudatum* I. Mating types and groups in the races obtained in Japan (Sc.Rep.Tōhoku Univ., 18, p.137-140). - 1960 Analyses of the change of Mating type during vegetative reproduction in *P.caudatum* - (Japan. J.of)genetics,35(8),213-221).
- JENNINGS (H.S.). - 1938. Sex reactions types and their interrelations in *P.bursaria* (Proc.Nat., Acad.SC. Wash., 24, p.112-120). - 1939 a. Genetics of *P.bursaria* I. Mating types and groups, their interrelation and distribution ; 1939. c. *P.bursaria*, Mating types and groups (Ibid., 73, p.414-431).
- MAUPAS (E.). - 1889. Le rajeunissement karyogamique chez les Ciliés (Arch.Zool. exp.,7,p.149-517).
- NOBILI (R.) - Variazioni volumetriche del macronucleo e loro effetti nella riproduzione vegetativa in *P.Aurelia*.
- SONNEBORN (T.M.) - 1937. Sex, sex inheritance and sex determination in *P. aurelia* (Proc.Nat.Acad.Sc.Wash., 23, p.378-395. - 1938. Mating types in *P. aurelia*: diverse conditions for mating in different stocks, occurrence, number and interrelations of the type (Proc.Am.Phil.Soc.Philad.,79,p.411-434). 1953. Distribution of the varieties of *P.Aurelia* (Micr.Geh.Bull.)7,p.22).
- TEISSIER G. - 1948 - La relation d'allométrie. Sa signification statistique et biologique (Biometrics, 4. p.14-53).

VIVIER(E.) - 1955. Contribution à l'étude de la conjugaison chez P.Caudatum (Bull.Soc.Zool.Fr.,80, p.163-170).

1960. Contribution à l'étude de la conjugaison chez P.Caudatum (Ann.Sc.Nat.Zod.I2è série).

DALL (G.H.) 1925 Studies on Paramecium : II The behavior of a conjugating race of P. Caudatum (Univ. Cal. Pub. Zool, 26 p. 385-433).

WOODRUFF (L.L.) - 1914. So-Called Conjugating and non conjugating races of Paramecium (J exp. Zool., 16, p.237-240).

ZWEIBAUM (J.) - 1912. La conjugaison et la différenciation sexuelle chez les Infusoires. Les conditions nécessaires et suffisantes pour la conjugaison de P.Caudatum. (Arch. für Protistenk., 26, p.875-393).

SCHREVEL-DEBERSÉE - Variétés & Types sexuels de P. caudatum du Nord de la France (D.E.S LILLE - 14 juin 1962)

LISON - 1958 - Statistique appliquée à la biologie expérimentale.
Gauthiers-Villars.



