

So. 376

1967

2

50.376

1967

2

UNIVERSITE DE LILLE

T H E S E

Présentée à la Faculté des Sciences
de LILLE en vue de l'obtention du
titre de Docteur en Biologie
Animale

par

J.C. ESTEVE



ANALYSE DES FACTEURS DU GROUPEMENT
EN ANNEAU CHEZ PARAMECIUM CAUDATUM

Soutenue devant la Commission d'Examen le 3 FEVRIER 1967

Jury d'examen :

M. M. DURCHON PRESIDENT

M. E. VIVIER
M. F. SCHALLER EXAMINATEURS

S O M M A I R E

- INTRODUCTION	page	1
- MATERIEL&TECHNIQUES		1
- RESULTATS		3
I. Observations d'ordre physiologique		3
A. Rapports avec l'alimentation		5
1°) Influence de la nature de l'aliment		5
a) autres microorganismes		5
b) particules inertes		5
c) liquides seuls		5
d) bactéries mortes		6
2°) Influence de la concentration en particules nutritives.		6
3°) Influence des conditions de l'apport nutritif.		7
4°) Influence de la position des particules nutritives.		7
a) tubes en position normale		7
b) tubes retournés		8
B. Influence des modifications du milieu		8
1°) Influence des déchets		8
2°) Influence du pH		9
a) relevé des pH		9
b) utilisation de liquides à pH connu		10
3°) Action de la température		10
C. Rapport avec la respiration		10
1°) Influence de la surface		11
a) surface libre		11
b) surface isolée de l'atmosphère		11
2°) Influence de la nature atmosphérique		11
a) témoin		12

b) atmosphère d'oxygène	12
c) atmosphère de gaz carbonique	12
3°) Relevé de pressions partielles	13
4°) Modifications du métabolisme respiratoire	13
a) excitants	13
b) inhibiteurs	14
D. Considérations sur la forme du groupement	14
1°) Déplacement des paramécies	14
2°) Anneau en place	15
E. Place de la formation annulaire dans la croissance d'une culture	15
II. Observations d'ordre cytologique	16
A. Vacuoles digestives	16
B. Polysaccharides	17
C. Macronucleus	17
1°) Stade de l'anneau	17
2°) Stade "à jeun"	17
DISCUSSION	18
I. Le problème de la géotaxie	18
II. L'allure annulaire du groupement et la thigmotaxie	19
III. Déplacement de la majorité des Ciliés	20
A. Phase de descente	20
B. Phase de stationnement au fond du récipient	21
C. Phase de remontée	22
IV. Relations possibles de l'anneau avec une période de multiplication	26
A. Place de l'anneau dans la croissance d'une culture	26
B. Observation d'un cycle nucléolaire	26
CONCLUSION	29
BIBLIOGRAPHIE	
Légendes des planches	

INTRODUCTION -

De nombreux auteurs ont remarqué l'apparition, dans les cultures de paramécies, d'un regroupement de forme annulaire se situant à peu de distance de la surface du liquide. Les explications données au sujet de cette agglomération sont variables et plus ou moins satisfaisantes, la plus couramment employée est celle d'une géotaxie négative déterminant les Protozoaires à gagner les régions hautes de leur milieu.

Cependant, quelques auteurs interprètent ce phénomène sous l'angle d'un géotropisme élargi, le terme n'étant nullement pris au sens strict. Ainsi MODRE (1903), DEMBOWSKI (1929) se servent de ce mot pour décrire le mouvement des paramécies sans que cela implique une intervention effective de la pesanteur. DEMBOWSKI (1929) tout en étudiant la géotaxie, fait la distinction entre le regroupement qui nous préoccupe et l'agglomération temporaire qu'il observe et qu'il estime être une réponse à l'attraction terrestre.

VIVIER (1960) considère cette formation comme la résultante d'un certain nombre de facteurs. Cet auteur, de même que les deux précédents, note une relation avec l'apport alimentaire, le groupement en anneau étant en effet fréquemment consécutif à l'addition de milieu nutritif.

VIVIER (1960), de même que DEMBOWSKI (1929) remarque l'influence apparente de la surface du milieu de culture sur l'agglomération des protozoaires.

Au cours de notre étude nous nous sommes attachés à définir les facteurs prépondérants dans l'apparition du phénomène, ainsi que ses relations possibles avec le métabolisme du Cilié en général.

MATERIEL ET TECHNIQUES -

Cultures :

Les Protozoaires utilisés sont du type Paramecium caudatum d'une souche régionale dite Hot (VIVIER, SCHREVEL-DEBERSEE, OGER, 1961) conservée en culture pure au laboratoire. Nous avons

également fait quelques observations sur d'autres Ciliés tels, Paramecium bursaria, Tetrahymena pyriformis, Spirostomum ambiguum

Les techniques de culture sont celles préconisées par VIVIER (1960) avec utilisation du milieu de blé pour les cultures stock et le milieu de laitue pour les cultures servant aux expérimentations. Ces milieux sont conservés, après stérilisation à l'autoclave, dans des tubes à essais standard, mais, dans certains cas, des flacons d'Erlenmeyer furent utilisés.

Les Ciliés sont nourris régulièrement avec une suspension bactérienne de Klebsiella aerogenes réalisée sur milieu de blé. Dans le cadre de notre étude, nous avons été amené à les alimenter avec d'autres substances, notamment une levure, Saccharomyces cerivisiae et une autre bactérie, Serratia marcescens.

Matériel d'expériences :

Pour les expérimentations, des tubes de faible diamètre ont été préparés à partir de baguette de verre (diamètre interne, 4mm) du type utilisé pour la fabrication des pipettes Pasteur. Cette baguette devenant aisément malléable par chauffage, se prête bien aux modifications de forme pouvant être nécessaires aux expériences.

Le déplacement des paramécies a été étudié à l'aide de micro-aquariums constitués par un anneau de plastique collé sur une lame de verre.

Pour collecter les Ciliés, nous avons été parfois amené à utiliser l'électromigration. Dans un système électrolytique constitué par leur propre milieu, les protozoaires se dirigent vers la cathode où il est possible de les recueillir en grand nombre.

Les relevés de pH et de pressions partielles gazeuses sont effectués à l'aide d'un pH mètre-gaz monitor RADIOMETER, comportant une électrode à pO_2 de type Clark et une électrode à pCO_2 de type Severinghaus.

Techniques cytologiques :

Les animaux étaient fixés de préférence au liquide de Helly pour les inclusions devant être faites à la paraffine. La technique de NISSENBAUM (1953) nous a paru idéale pour les frottis permettant d'avoir les Ciliés in toto.

Divers colorants furent utilisés, en rapport avec l'élément à mettre en évidence : Bleu de Unna - tannin orange pour le noyau, APS, APS-Dimédon, APS- après traitement à l'amylase pour les polysaccharides neutres ; APS - Bleu Alcian, Bleu de toluidine pour les polysaccharides acides.

RESULTATS -

L'apparition de la formation en anneau semble de prime abord plus ou moins liée à des modifications intervenues dans le milieu de culture à la suite de l'apport alimentaire. Ces variations peuvent influencer la physiologie des protozoaires. Nos expériences ont donc pour but, d'obtenir un regroupement en anneau en reproduisant ces changements et d'en déceler les plus importants.

D'autre part, il faut envisager des modifications possibles au niveau structural de la cellule. C'est pourquoi des observations cytologiques ont été faites, notamment en ce qui concerne les vacuoles digestives.

I. Observations d'ordre physiologique

Les remarques faites à propos de l'alimentation et de la surface, par les précédents auteurs ayant abordé le problème, conduisent à envisager l'influence de ces éléments.

L'étude de certains facteurs peut être rattachée à celle de l'alimentation, par exemple la modification de pH consécutive à l'apport nutritif. Cette analyse sera entreprise ultérieurement.

Nous envisageons ici le comportement de la majorité des Ciliés en notant qu'un certain nombre de protozoaires ne semblent pas réagir de la même façon pour des raisons qui nous sont inconnues.

L'observation des tubes de culture montre que le regroupement lorsqu'il est présent, ne l'est pas obligatoirement près de la surface. Il peut se trouver près du fond ou au milieu des tubes et son allure peut être inclinée par rapport à l'axe du récipient de culture. Ceci suggère un déplacement possible des paramécies entre le haut et le fond du liquide, expliquant ces niveaux variables de la formation en anneau. Nous verrons par la suite qu'il en est bien ainsi.

Considérons maintenant les cultures sur milieu de laitue après un apport nutritif. Initialement les Ciliés sont relativement dispersés dans tout le tube, avec fréquemment une densité un peu plus forte dans le haut. Après l'apport bactérien, les protozoaires descendent et se regroupent au fond du récipient où ils stationnent quelques temps avant de s'élever en une zone annulaire mouvante qui peut perdre toute netteté. Les paramécies finissent par se stabiliser en un anneau assez net situé à quelques millimètres sous la surface du liquide. Le groupement se maintient quelques jours ainsi lorsqu'aucun nouvel apport n'a lieu, puis les Infusoires finissent par se disperser avant de se tasser au fond du tube, (planche I).

Si les protozoaires sont déjà au fond du tube, il y a simplement une remontée des individus, qui commence quelques temps après l'apport.

Si nous avons déjà un anneau de protozoaires, l'addition de milieu nutritif le disloque, les Infusoires ont tendance à descendre mais ce mouvement est temporaire car ils remontent rapidement. Après une vingtaine de minutes, la formation annulaire a sensiblement repris son allure initiale, quelquefois sa netteté est même renforcée.

Le temps nécessaire aux paramécies pour effectuer l'ensemble de leur déplacement varie proportionnellement à la taille des récipients. Il est d'environ une heure pour les petits tubes d'expériences et de plusieurs heures pour les flacons d'Erlenmeyer. La netteté de l'anneau varie aussi avec ces récipients. En erlens, il est fréquent que la formation en anneau soit discontinue ou très sinueuse, ce qui n'est guère le cas dans les tubes.

Des autres Ciliés observés, seuls Paramecium bursaria et Spirostomum ambiguum forment un anneau visible après un apport alimentaire. Celui de P. bursaria est particulièrement net en raison de la coloration verte due aux algues symbiotiques. Chez des Tetrahymena transférés d'un milieu protéose-peptone sur un milieu où l'on utilise l'alimentation bactérienne, nous n'avons pas observé de formation annulaire mais simplement une apparence de mouvement ascensionnel consécutive à l'apport alimentaire.

Un apport nutritif permet donc d'obtenir un déplacement complet des protozoaires, cela nous conduit à envisager l'influence des différentes conditions de l'alimentation.

A. Rapports avec l'alimentation

La nature de l'aliment, sa concentration, la façon dont il est introduit dans le milieu, la position qu'il y prend peuvent être autant de causes agissant sur le regroupement des paramécies.

1) Influence de la nature de l'aliment

Cet aliment est normalement bactérien et par là-même microparticulaire. Deux influences sont à envisager, d'une part la nature bactérienne et d'autre part la forme particulière. Cela sera fait en utilisant une autre bactérie et d'autres particules. Tous ces éléments étant en suspension dans un liquide, il est possible de tester l'influence de celui-ci, seul.

a) autres microorganismes -

Une bactérie Serratia marcescens et une levure Saccharomyces cerevisiae sont utilisées, toutes deux en suspension dans le milieu de laitue ou de blé. Des regroupements en anneau sont obtenus comme avec une alimentation habituelle.

b) particules inertes -

Ce sont des substances à grains de taille variable en suspension dans le milieu de laitue :

particules d'encre de Chine (0,7 μ environ)

particules de carbonate de Calcium (1 à 4 μ)

particules de résine vinylique (11 à 16 μ)

Nous avons observé des formations annulaires nettes sauf avec la résine, les paramécies n'étant alors que de plus en plus nombreuses vers le haut du liquide de culture.

c) liquides seuls -

Leur nature pouvant jouer, nous en avons testé un certain nombre, ceux utilisés dans la préparation des milieux de culture en particulier : eau distillée, milieu de laitue, infusion de blé, milieu protéose-peptone, filtrat sur bougie de porcelaine de milieu bactérien.

Avec les liquides servant ordinairement aux cultures de paramécies (infusions de laitue et de blé), des formations en anneau nettes apparaissent, ce qui laisse subsister un doute quant à l'influence réelle des particules citées précédemment et qui étaient en suspension dans le bouillon de laitue. Avec l'eau distillée et le milieu protéose-peptone, il n'y a pas eu de différence par rapport aux témoins laissés sans apport. En ce qui concerne le filtrat de milieu bactérien, les micro-organismes sont éliminés (ce que nous avons vérifié microscopiquement, et macroscopiquement par test sur gélose) mais les résultats sont variables. Parfois des regroupements en anneau sont presque obtenus, parfois il n'y a pas de différence par rapport aux témoins laissés sans apport.

d) Bactéries mortes -

Il paraissait intéressant de dissocier l'action des bactéries en tant qu'éléments vivants de leur action comme particules physiques. Ceci peut être obtenu en tuant ces organismes. Le milieu bactérien est autoclavé à 120° et additionné à une culture de paramécies.

Les résultats ne sont guère concluants et ressemblent à ceux obtenus avec le filtrat de milieu bactérien. Tantôt rien n'apparaît, tantôt les protozoaires se regroupent en région haute mais avec un manque de netteté et un temps de déplacement très allongé.

Il faut signaler qu'une certaine variabilité dans le temps se fait jour selon l'apport utilisé. Ceux qui semblent réellement nutritifs provoquent un déplacement plus rapide que les autres. La concentration en particules pourrait jouer un rôle non négligeable.

2) Influence de la concentration en particules nutritives

Le milieu alimentaire a été dilué selon différentes proportions afin de mettre en évidence une éventuelle intervention de la concentration en bactéries. Le tableau suivant montre qu'il y a augmentation du temps nécessaire au déplacement en fonction de la dilution.

	milieu normal		dilution 1/10		dilution 1/40	
tube	1	2	3	4	5	6
temps (mn)	50	60	130	130	130	+180

3) Influence des conditions de l'apport nutritif -

Afin de vérifier si le mode de mélange du milieu bactérien avec le liquide de culture pouvait avoir une influence, le milieu nutritif a été introduit de plusieurs façons.

Que l'apport soit réalisé sans précautions particulières ou le plus lentement possible, que les bactéries soient introduites dans les tubes avant les paramécies ou amenées par un tube central, dans tous les cas les protozoaires se dirigent vers le fond du récipient et présentent le comportement décrit précédemment. Cependant lorsque le milieu bactérien est déposé avant les Ciliés, ceux-ci ne vont pas tout à fait au fond du récipient.

Les particules ayant un certain poids et n'étant pas douées de mobilité vont se répartir d'une certaine façon que nous envisageons ensuite.

4) Influence de la position des particules nutritives -

Il s'agit d'une position par rapport à la fois aux paramécies et à la surface du milieu de culture.

a) tubes en position normale -

Pour les substances inertes, encre de Chine, CO_3Ca , résine comme dans le cas de la levure, un simple examen optique suffit pour s'assurer de la polarité de concentration. Ces particules sont en plus grande abondance vers le fond des tubes.

Pour les bactéries nous avons utilisé une méthode de décompte des colonies apparues sur milieu gélosé. Des prélèvements sont faits, à différents niveaux dans le tube, dilués puis passés sur la gélose. Ensuite les colonies apparues sont dénombrées et la densité en microorganismes en est déduite. Cette méthode révèle une concentration croissante avec la profondeur, ce qui semble normal, les Klebsiella n'étant pas mobiles par elles-mêmes.

Dans ce type de position des tubes, les bactéries sont donc à l'opposé de la surface du milieu et les paramécies vont former un groupement annulaire à quelques millimètres de la séparation liquide-air (planche II fig. 1).

b) tubes retournés -

Dans ce cas, les bactéries d'après ce que nous venons de voir, vont se trouver interposées entre les paramécies et la surface du liquide. Alors les Ciliés ne viennent pas se mettre près de l'air, ils se regroupent au niveau du mélange de leur milieu avec le milieu bactérien puis s'éloignent des bactéries, remontant vers ce qui est en fait le fond du tube. Ils ne forment pas un anneau durable à cet endroit et finissent par se disperser. Les individus après quelques temps meurent. (planche II fig. 2),

Si les tubes d'expériences sont retournés avant la période de mortalité, les Protozoaires vont venir former un anneau caractéristique près de la surface.

Nous venons de voir que l'alimentation a une influence mais tous les milieux alimentaires utilisés possèdent une certaine acidité et sont susceptibles de faire varier le pH de la culture. D'autre part les bactéries comme les paramécies produisent des déchets dont l'action est à envisager. Tous ces éléments tendent à modifier les conditions dans lesquelles les protozoaires sont placés et peuvent les conduire à modifier leur comportement.

B. Influence des modifications du milieu -

Le pH, la quantité de déchets et aussi la température sont des éléments dont nous devons tenir compte.

1°) Influence des déchets -

Nous avons supposé qu'une grande partie de ces substances rejetées à la fois par les paramécies et les bactéries devaient être mêlées aux débris qui s'accumulent au fond des tubes de culture.

Pour tester leur action possible, ces débris ont été recueillis afin de constituer des cultures contenant des déchets en abondance. Ces prélèvements emportent en même temps de nombreuses

paramécies, ainsi furent réalisés des tubes ayant à la fois en grande quantité Ciliés et déchets. Dans ces tubes, les protozoaires se plaçaient comme dans les cultures normales, c'est-à-dire en majorité dans la moitié supérieure du liquide. Il fallait un apport bactérien comme de coutume pour obtenir le groupement en anneau net.

2°) Influence du pH -

Ayant noté l'acidité des milieux employés, nous avons voulu connaître les variations consécutives à un apport nutritif, puis en usant de liquides à pH connus nous avons tenté d'influencer le comportement des Infusoires par ce seul élément.

a) relevé des pH -

A l'aide d'un pH-mètre, nous avons pu relever les pH des milieux utilisés et ceux du milieu de culture à différents niveaux et ce, au moment de l'apport alimentaire.

milieu de blé pH : 4,5 - 4,6

milieu de laitue : 4,4 - 4,5

milieu bactérien d'un jour : 5,2 - 5,3

milieu bactérien de deux jours : 4,8 - 4,9

milieu de culture âgé n'ayant plus de ciliés
visibles : 8 - 8,1

milieu de culture en expansion : 7,2

Nous avons groupé les relevés consécutifs à un apport alimentaire dans le tableau suivant :

	avant alimentation		milieu bactérien ajouté	Après alimentation			
				valeur minimale relevée		valeur maximale relevée	
	haut	fond		haut	fond	haut	fond
tube a	6,9		5,25	6,2		6,6	
erlen 1		7,33	5,2-5,3	7,14	6,7	7,23	7,11
erlen 2	7,35	7,31	5,3	7,12	7,05	7,16	7,12
erlen 3	7,56	7,51	5,9	7,32	6,85	7,52	7,30

Les valeurs minimales relevées correspondent à la fraction de seconde qui suit le moment de l'apport nutritif. Ces valeurs ne se maintiennent absolument pas et sont suivies très rapidement de pH voisins de la neutralité.

Si nous considérons les marges comprises entre les valeurs minimales et maximales relevées, il est possible de se demander si les paramécies peuvent réagir à de si faibles écarts situés dans une gamme de pH aussi proche de la neutralité.

b) utilisation de liquides à pH connu -

Des solutions tampons et de l'eau acétifiée ayant des pH voisins de ceux des milieux ont été additionnées à du milieu de culture contenant des paramécies. Il n'y a pas eu de modifications de comportement par rapport aux témoins.

3°) Action de la température -

Les cultures sont ordinairement en étuve à 24°C. Nous avons étudié l'influence de la température en comparant des tubes à 4°C ou 35°C avec des témoins laissés à 24°C.

Un apport nutritif est fait dans tous les tubes. Les témoins présentent un regroupement en anneau sensiblement après une heure. A 4°C, il y a fort ralentissement sinon inhibition totale, mais les paramécies ont des mouvements très lents. Remis à température normale, les Ciliés vont former un anneau près de la surface. A 35°C il se passe l'inverse, les mouvements sont plus rapides et le regroupement se fait plus vite et à un niveau un peu supérieur à ce qu'il est dans les témoins.

Si déchets et pH ne semblent guère influencer les paramécies, nous avons vu que la température pouvait les inciter à se regrouper plus rapidement près de la surface. Nous allons considérer cet élément et l'action possible des gaz atmosphériques.

C. Rapports avec la respiration -

Nous avons précédemment remarqué l'intérêt présenté pour la surface par les Infusoires. Il était nécessaire, de savoir si cet intérêt n'était pas en relation avec l'air et les gaz qui le composent, et d'étudier l'affinité des paramécies pour l'oxygène et le gaz carbonique en particulier.

1°) Influence de la surface -

Cette surface peut varier en fonction de la position des tubes. Elle peut aussi être isolée de l'atmosphère.

a) surface libre -

Nous avons varié la position des tubes afin que cette surface soit en position normale supérieure ou latérale ou inférieure. Le comportement des paramécies est observé.

Dans la plupart des essais, le regroupement se formait à son niveau habituel près de la surface (planche II - 1, 5).

Lorsque cette surface se retrouvait en position inférieure, l'agglomération des protozoaires n'était pas toujours obtenue en raison de faits exposés précédemment, à savoir que la position des bactéries intervient (planche II - 2). Si les bactéries sont maintenues éloignées de la surface par un étranglement du tube, alors les paramécies peuvent se grouper près de l'air (planche II-3).

Le tube étant couché et ouvert aux deux bouts, les Infusoires nourris vont finalement former deux anneaux, un pour chaque surface libre (planche II - 6).

Dans le cas de retournement des tubes, il est possible de créer une ampoule à air à la partie inférieure devenue supérieure. Alors les Ciliés délaissant la surface principale vont se regrouper près de cette ampoule. (planche II - 4).

b) surface isolée de l'atmosphère -

Cet isolement est réalisé à l'aide d'une couche d'huile de paraffine. Lorsque l'atmosphère est ainsi séparée des paramécies celles-ci se placent le plus près possible de l'air, c'est-à-dire contre l'huile (planche III - 1). Nous avons même observé une déformation latérale de la couche d'huile, les Ciliés s'étant par leurs mouvements, ménagé une sorte d'anneau de milieu où ils s'étaient massés.

2°) Influence de la nature atmosphérique -

Les paramécies étant apparemment attirées par l'air, nous avons modifié l'atmosphère au dessus des cultures afin de connaître l'action de différents gaz. De ceux les plus susceptibles

d'intervenir nous avons retenu l'oxygène et le gaz carbonique. Nous comparons la réaction à ces gaz avec celle fournie par des témoins à atmosphère normale d'air.

a) témoin -

Le comportement des paramécies correspond à ce que nous avons décrit précédemment. Les protozoaires descendent au fond du flacon et s'y massent. Après quelques temps de stationnement, ils remontent lentement par l'intermédiaire d'un groupement de type annulaire fréquemment incomplet, c'est-à-dire formant une demi-circonférence sur la paroi du récipient. L'agglomération se place finalement à quelques millimètres de la surface du liquide de culture (planche III - 2 - a).

b) atmosphère d'oxygène -

L'oxygène d'une bouteille est amené au dessus du milieu de culture après un apport nutritif et les paramécies sont observées. En raison de l'appareillage utilisé, il ne nous a pas été possible de connaître la pression gazeuse créée pendant notre expérimentation.

La différence par rapport au témoin se manifeste au moment de la remontée. Le regroupement a lieu le plus souvent mais reste sensiblement à 25 mm environ de la surface (planche III - 2b). Cette position n'est nullement rigoureuse, et d'ailleurs l'agglomération est très sinueuse aussi bien dans les témoins que dans les récipients d'expériences.

c) atmosphère de gaz carbonique -

Les conditions expérimentales sont les mêmes que ci-dessus, mais la nature du gaz et les résultats sont différents. Ici, les paramécies, après un temps de latence assez court, se mettent à gagner la surface. Elles répondent rapidement à un chimiotactisme déjà connu. Les individus sont si tassés qu'ils finissent par retomber passivement vers le fond du récipient, avant de remonter de nouveau vers la surface (planche III - 2c). Une formation en anneau n'est visible à aucun moment et c'est sous toute la surface que les protozoaires sont rassemblés. Si les

erlens sont laissés ainsi, une action toxique du CO_2 se manifeste de telle façon que tous les Ciliés sont tués.

Connaissant l'influence de ces gaz nous avons essayé d'en suivre les variations sous forme de pressions partielles à l'intérieur du milieu de culture lui-même.

3°) Relevés de pressions partielles -

Par le biais d'une électrode de type Clark, nous avons pu suivre les variations de pression partielle d'oxygène au fond des récipients et au voisinage de la surface, là où les paramécies viennent se regrouper. Corrélativement nous avons noté la position du regroupement de Ciliés après l'apport bactérien. Ces variations, consignées dans un graphique (graph. 1), nous montrent que si la pression partielle d'oxygène au fond du liquide de culture tombe rapidement vers le zéro, au niveau terminal de l'anneau elle décroît beaucoup plus lentement. Les paramécies remontent vers la surface au fur-et-à-mesure que l'oxygène est éliminé. Le mouvement des protozoaires semble d'ailleurs s'amorcer lorsque le gaz considéré vient à manquer dans le fond du récipient de culture.

En ce qui concerne le gaz carbonique, l'appareil nous a indiqué que la valeur de pression partielle devait être très faible puisque située en deçà du seuil de sensibilité de l'électrode employée. Nous ne pouvons donc pas savoir s'il y a variation et réaction de la part des Infusoires.

Le métabolisme respiratoire est donc concerné ; nous avons tenté de l'influencer par des substances connues pour leur action sur cette partie des mécanismes assurant la vie cellulaire.

4°) Modifications du métabolisme respiratoire -

Il est possible d'agir, soit par excitation, soit par inhibition. Les protozoaires doivent réagir en conséquence.

a) excitants -

Divers corps en solutions dans l'eau distillée ont été utilisés, notamment l'azide de sodium, l'acide succinique, le lactose, le 2-4 dinitrophénol. L'azide et le dinitrophénol ne sont considérés comme excitants qu'à faible concentration (1.10^{-3}M).

Les résultats les plus intéressants ont été obtenus avec le dinitrophénol parce que sa toxicité était faible contrairement à celle de l'azide de sodium ou l'acide succinique. Quant au lactose il n'avait qu'une action peu marquée et variable.

En présence de dinitrophénol, les paramécies vont se placer immédiatement sous la surface de leur milieu de culture, dans la région la plus proche de l'air atmosphérique. Elles semblent parfois être comme accrochées à la surface (planche III - 3).

b) inhibiteurs -

Le cyanure de potassium (solution 0,01 M) et le thio-uracil (0,01%) retardent ou inhibent l'apparition du regroupement de forme annulaire. Mais le cyanure a une action toxique évidente et violente car beaucoup d'individus meurent dans les quelques minutes qui suivent le mélange. Lorsque la dissolution dans le milieu de culture conduit à la présence de KCN sous forme de traces, la toxicité ayant été réduite on peut ne constater qu'une action inhibitrice sur l'apparition de l'anneau.

Le sulfide de sodium, en principe inhibiteur manifeste à la concentration employée (0,01 M) une tendance excitatrice et au-dessus c'est surtout sa toxicité qui est bien marquée.

Dans toutes les expériences précédentes, les protozoaires se groupaient d'une manière particulière désignée par le terme d'anneau. Nous avons envisagé les raisons de cette forme prise par l'agglomération en observant des Ciliés isolés.

D. Considérations sur la forme du regroupement -

Cette allure peut résulter du mode de déplacement des paramécies comme d'une attirance en partie due aux parois.

1°) Déplacement des paramécies -

Les récipients de culture employés ayant une section circulaire, nous avons observé des paramécies isolées, placées dans les microaquariums décrits à la partie technique et ayant eux-aussi une allure circulaire. Dans une enceinte de ce type les déplacements du type corde sont bien plus nombreux que ceux

du type diamètre. La fréquence de position du protozoaire est donc plus grande au voisinage de la paroi (graphique 2).

Dans une goutte de milieu de culture déposée sur une lame porte-objet et prenant une forme sub-circulaire, les protozoaires se déplacent aussi dans la région périphérique sans que l'on puisse parler d'attraction exercée par la paroi du récipient ;

En micro-aquarium de forme étoilée, la fréquence de position est plus forte dans les branches de l'étoile que dans la partie centrale.

2°) Anneau en place -

Pendant les premiers temps de la formation en anneau, les individus se déplacent, puis ils ont tendance à se fixer sur des éléments étrangers collés à la paroi des tubes et dont la nature est essentiellement bactérienne. A ce moment les paramécies forment des amas pratiquement immobiles. C'est sous cette forme que le regroupement se maintient plusieurs jours.

La formation en anneau apparaissant dans les cultures aussi bien lors de leur constitution que par la suite, nous avons envisagé les variations de population dans une culture afin de situer le groupement par rapport à la densité en individus.

E. Place de la formation annulaire dans la croissance d'une culture -

Des cultures sur bouillon de laitue sont réalisées de la manière suivante : dans le milieu neuf, on ajoute un certain nombre de Ciliés prélevés dans une culture existante ainsi qu'un petit volume de milieu bactérien. Ensuite on ne fera pas d'apport nutritif. Le nombre d'individus par millilitre est déterminé régulièrement par comptage.

L'apparition de l'anneau est notée à la fois en fonction du temps et de la densité de population. La courbe de croissance obtenue a l'allure en cloche caractéristique et l'on voit que le regroupement se situe, non pas au moment du maximum de population mais au contraire le précède nettement (graphique 3).

Il faut noter également que le milieu de culture est très trouble au moment de l'apparition de l'agglomération et cela doit correspondre à un développement bactérien très prononcé.

Les paramécies, nous l'avons vu, sont influencées par un certain nombre de facteurs, alimentation, oxygène. Ceux-ci sont peut-être responsables de modifications cytologiques que nous pouvons essayer de déceler.

II. Observations d'ordre cytologique

La relation avec l'apport alimentaire conduit à observer les vacuoles digestives où se feront les transformations du matériel ingéré. Certaines substances, facilement assimilables comme les polysaccharides sont très utilisées par les organismes en général où ils constituent parfois des réserves, il y a peut-être lieu de les mettre en évidence. Enfin, l'apparition de l'anneau dans une période précédant une forte multiplication semble conduire à la nécessité d'observer le noyau.

A. Vacuoles digestives -

Le regroupement étant le plus souvent consécutif à l'apport alimentaire, il semble normal d'examiner l'apparition de ces inclusions. Les nouvelles vacuoles peuvent être mises en évidence, soit in vivo, en mélangeant de l'encre de Chine au milieu nutritif ou en les alimentant avec des particules à forte réfringence comme les levures, soit après fixation en colorant les bactéries.

A l'utilisation, nous avons trouvé que les techniques in vivo étaient plus pratiques pour déceler les vacuoles.

Avant l'apport nutritif, les Ciliés contiennent peu de vacuoles (planche IV - a, c), mais lorsqu'ils sont groupés en anneau depuis quelques temps (b, d), le nombre de ces inclusions a fortement augmenté. Le cas d'addition de levure est particulièrement frappant, les paramécies paraissent comme envahies par ces microorganismes.

Ces nouvelles vacuoles commencent à être formées

pendant la période de stationnement au fond du milieu de culture qui a lieu après l'apport alimentaire. Ensuite, les paramécies continuent à en former pendant la durée de l'anneau à son niveau supérieur.

B. Polysaccharides -

Ces corps étant très utilisés dans les métabolismes générateurs d'énergie vitale, il nous a semblé intéressant de chercher à les mettre en évidence. Mais, quoique toutes les colorations portant sur les polysaccharides neutres donnent des réactions positives, une différence n'a pu être établie entre les animaux fraîchement nourris, en anneau, et ceux qui devaient être sensiblement à jeûn.

La seule variation observable ne porte que sur les bactéries contenues dans les vacuoles et ne constitue qu'un moyen supplémentaire de mettre en évidence ces inclusions. La coloration y est au départ très intense puis décroît avec l'âge de la vacuole.

C. Macronucleus -

Nous avons observé, sur les coupes réalisées, certaines variations au niveau du macronoyau. Des granules, interprétables comme des nucléoles par leur réaction Feulgen-négative, semblent être disposés différemment selon que les animaux sont alimentés de puis peu et par conséquent en anneau ou dispersés dans le milieu si plus ou moins à jeûn car non nourris depuis plusieurs jours.

1°) Stade de l'anneau -

Les macronuclei de la majorité des paramécies présentent des granules nombreux et dispersés dans toute l'étendue du noyau. Ces éléments peuvent être assez proches les uns des autres et peuvent former de petits groupes (planche V - a).

2°) Stade "à jeûn" -

La coloration révèle de gros granules en petit nombre résultant de l'accrolement sinon de la fusion d'éléments plus petits. Des particules de faible taille peuvent être présentes (planche V - b).

DISCUSSION -

Dans le cadre de cette discussion, il nous a semblé nécessaire d'envisager tout d'abord quelques problèmes de taxies longtemps invoquées comme déterminantes dans l'apparition du regroupement des paramécies.

I. Le problème de la géotaxie

De nombreux auteurs (in WICHTERMAN 1953) estiment que l'ascension des paramécies est essentiellement due au géotropisme négatif de ces protozoaires. Il faudrait savoir si ces auteurs entendaient par "géotaxie" une réponse réelle au phénomène de la pesanteur ou si comme MOORE (1903) et DEMBOWSKI (1929), ils utilisaient ce terme comme un moyen commode pour décrire le déplacement des Ciliés.

Pour notre part, nous estimons que la géotaxie n'intervient aucunement dans l'apparition du groupement en anneau. En effet, la simple observation de tubes de culture mène déjà à une confusion car les paramécies peuvent être vues, tantôt au fond des tubes, manifestant ainsi une géotaxie positive et tantôt à des niveaux variables montrant alors une réaction plus ou moins négative.

Un protozoaire isolé dans un petit tube va et vient dans tous les sens, sans manifester de préférence particulière pour le haut ou le fond du récipient. Enfin, comment invoquer une réponse négative à la pesanteur, lorsque l'agglomération se produit dans les tubes couchés ou retournés.

La géotaxie, si elle existe chez la Paramécie, et les taxies en général ne pourraient d'ailleurs être réellement étudiées, comme l'a montré DEMBOWSKI (1929), qu'en conditions aseptiques totales, afin d'empêcher les protozoaires de répondre à d'autres facteurs.

II. L'allure annulaire du groupement et la thigmotaxie

Certaines de nos observations montrent que la fréquence de position des paramécies est plus grande au voisinage des parois du récipient que dans la région centrale, ce qui donne au groupement son aspect annulaire. Précédemment on invoquait la thigmotaxie ou attirance pour les parois afin d'expliquer cette apparence. Mais des éléments particuliers placés au milieu d'un micro-aquarium circulaire ne modifient pas le déplacement périphérique des protozoaires, pas plus d'ailleurs que l'absence totale de paroi. Dans ce dernier cas, l'attirance thigmotropique aurait dû jouer en faveur de la lame porte-objet, il n'en a rien été.

GREBECKI (1956) au vu de ses résultats, parle d'une régulation des mouvements de Paramecium caudatum. Le protozoaire parfait, non soumis à des influences externes aurait un chemin prédéterminé dans une enceinte circulaire, une ligne brisée dont les angles de réflexion par rapport à la verticale des points de contact seraient toujours de 70°. Cette constance de l'angle de réflexion résulterait d'un pouvoir de régulation de ses mouvements dont serait dotée la paramécie. En fonction de ce type de déplacement l'auteur explique l'allure annulaire du groupement. Nous estimons que c'est prêter beaucoup d'intentions à un unicellulaire, et qu'une explication plus simple, en partie formulée par cet auteur, serait bien suffisante.

Si nous considérons le déplacement normal d'une paramécie, il est fait sous forme d'une spirale tournant autour d'un axe linéaire (in WICHTERMAN 1953, SEARS & ELVEBACK 1964). Le récipient étant de section circulaire et certaines conditions limitant la hauteur de liquide utilisable par l'Infusoire, celui-ci se retrouve dans une sorte de plan circulaire. Son déplacement ne peut donc plus se faire que sous la forme d'une ligne brisée s'inscrivant dans le cercle, l'angle de réflexion dépendant de l'angle d'incidence. Ceci serait valable pour un solide non vivant, mais un animalcule réagit à des influences nombreuses et diverses.

Son caractère "vivant" est à la base des fluctuations de déplacement observées, en particulier les passages au milieu du liquide ou les brusques revirements de chemin que nous avons observés.

En ce qui concerne le maintien de l'anneau, nous avons vu qu'il apparaissait des sortes de flocons de nature bactérienne où les microorganismes sont comme enveloppés dans une gangue et où les paramécies puisent largement pour s'alimenter, se déplaçant d'ailleurs fort peu à ce moment. Cette agglomération des bactéries pourrait bien être la conséquence de phénomènes décrits par CURDS (1962), où l'auteur démontre la sécrétion d'une substance glucidique par les Infusoires, conduisant à la flocculation des particules en suspension dans le milieu.

Nous envisagerons ensuite les problèmes liés au déplacement global des paramécies, suite quasi normale d'un apport alimentaire.

III. Déplacement de la majorité des Ciliés

Nous avons toujours parlé de la majorité, car il reste néanmoins un nombre assez important de protozoaires ne semblant pas disposés à répondre au phénomène de regroupement en anneau. Nous considérons les trois phases du déplacement des Ciliés en envisageant les explications possibles.

A. Phase de descente -

Après l'apport alimentaire, les paramécies ont tendance à se diriger vers le fond et à s'y tasser, mais les raisons de leur descente restent encore assez obscures.

S'agit-il d'un entraînement mécanique dû aux remous provoqués par l'addition de milieu nutritif ? Mais dans certains cas, où l'alimentation est faite par une cheminée centrale, les perturbations viennent du fond et pourtant les Ciliés s'y dirigent. Certes de toutes façons, il y a création de courants de convection mais il est difficile de savoir de quelle manière les paramécies y répondent.

Il est d'autre part malaisé d'envisager une agitation mécanique responsable, lorsque les protozoaires se rendent au fond d'un tube où l'on n'a rien ajouté, ainsi qu'il est possible de l'observer.

Serait-ce une attirance chimique due à la présence des bactéries apportées, mais le mouvement a lieu également en cas d'apport de milieu abactérien stérile.

Doit-on incriminer une variation de pH, les animaux étant attirés par une certaine acidité (in WICHTERMAN 1953) et les milieux additionnés étant un peu acides. Mais alors, l'attraction devrait se faire vers le haut, ce qui n'est pas le cas. Et nous avons vu que les variations de pH étaient très faibles, et toutes les valeurs enregistrées voisines de la neutralité. Or compte tenu de la gamme de pH supportée par les paramécies, il est peu probable qu'elles réagissent à de si faibles écarts.

Il faut d'ailleurs remarquer que cette phase de descente a lieu dans les tubes témoins lorsque le milieu à paramécies est transféré de la culture stock au récipient utilisé, par l'intermédiaire d'une pipette Pasteur. La simple agitation du liquide, avec les conséquences cachées qu'elle suppose pourrait être à la base du phénomène de descente.

Certains auteurs (REILLY 1964) font appel à une attraction particulière, et plus précisément des éléments ayant un fort pouvoir d'adsorption. Certes il y a toujours des particules présentes dans le milieu, ne seraient-ce que des bactéries, mais leur influence est difficile à mettre en évidence.

B. Phase de stationnement au fond du récipient -

Compte tenu du temps nécessaire au déplacement total des paramécies, cette période est assez courte comme l'était d'ailleurs la précédente. Dans cette phase, les Ciliés se déplacent faiblement parmi les amas de déchets bactériens et autres qui subsistent ou se sont formés au fond du récipient.

La présence de particules alimentaires est à peu près certaine et l'apparition de nouvelles vacuoles à ce moment dans

les Ciliés est à l'appui des théories énoncées (in WICHTERMAN 1953, REILLY 1964), à savoir que la présence de particules stimule la formation des vacuoles alimentaires. On comprend alors pourquoi la présence de cellules de levure conduit à voir des paramécies semblant comme gavées de ces micro-organismes.

Sous l'influence d'un facteur nouveau, les Ciliés abandonnent le fond du récipient pour un second déplacement qui les conduira à quelques millimètres de la surface du milieu de culture.

C. Phase de remontée -

C'est elle qui dure le plus longtemps et dont nous pouvons maintenant donner une explication réellement satisfaisante.

L'analyse des travaux antérieurs (MOORE 1903, DEMBOWSKI 1929, VIVIER 1960) sur Paramecium, ainsi que nos propres recherches nous ont permis de montrer l'importance de la surface du milieu de culture. Nous avons vu en effet que la position du tube d'expérience importait peu, la réponse étant toujours la même pourvu que les conditions adéquates fussent remplies, c'est-à-dire qu'aucun obstacle n'interdise aux Ciliés d'aller se regrouper près de la surface du milieu de culture.

La surface, cela pouvait signifier l'atmosphère et ses différents gaz. L'azote, neutre, ne nous a pas paru susceptible d'agir mais nous avons testé gaz carbonique et oxygène. Nous avons éliminé le facteur CO₂ en montrant que son action était immédiate, le chimiotactisme ainsi manifesté interdisant toute apparition d'un groupement en anneau. L'action narcotique et toxique signalée par GITTLESON & SEARS (1964) permet d'expliquer les descentes passives que nous avons observées et la période de mortalité consécutive à une action prolongée du dioxyde de carbone.

L'importance de l'oxygène, suggérée par DEMBOWSKI (1929) et par VIVIER (1960) chez les paramécies avait été auparavant mise en évidence par FOX (1921) dans un travail sur Bodo sultacus

présentant un certain nombre de similitudes avec le nôtre. Ce flagellé, placé sous une lamelle de verre se déplace en fonction de ce que FOX estime être un optimum en oxygène dissous. Ces protozoaires forment des groupements nettement comparables à celui étudié présentement, mais non consécutifs à un apport alimentaire.

Nos expériences ont montré que l'on pouvait bloquer la remontée des Ciliés en augmentant le taux d'oxygène dans l'atmosphère située au-dessus du milieu de culture. D'autre part, en utilisant une électrode à pO_2 , nous avons pu estimer la valeur de la pression partielle gazeuse dans le liquide à différents niveaux et différents moments. Après l'apport alimentaire elle décroît très rapidement au fond du récipient pour atteindre le zéro, mais sa diminution est nettement plus lente dans la région supérieure, là où se fixera le groupement des protozoaires. Corrélativement, les paramécies se déplacent vers le haut de leur milieu de culture.

A quoi pouvait-on attribuer cette baisse subite du taux d'oxygène dissous ? Il semble possible de l'expliquer en fonction de deux phénomènes. D'une part les bactéries apportées ou mises en présence de milieu nutritif vont consommer l'oxygène présent dans la culture, d'autre part les paramécies, pour les phénomènes consécutifs à la digestion, vont avoir des besoins en oxygène accrus. Par la première hypothèse nous pouvons comprendre l'action inductrice d'anneau des milieux de laitue et de blé, éminemment propices à un développement bactérien rapide, et l'absence de réaction à l'addition d'eau distillée qui n'est pas particulièrement riche en matières utilisables par les microorganismes végétaux. Quelques variations furent bien observées avec des milieux semblant favorables, comme le milieu bactérien autoclavé ou filtré, mais elles ne sont peut-être que des fluctuations sans grande importance et dépendantes de conditions d'expériences.

S'il y a consommation d'oxygène par des microorganismes sans possibilité de mouvement et ayant tendance à se déposer dans le fond des récipients, nous comprenons donc aisément la chute rapide du taux d'oxygène dissous à cet endroit. Nous pouvons entre-

voir de quelle nature peut être l'obstacle créé lors du retournement des tubes, lorsque les paramécies ne pouvant aller se grouper près de la surface du liquide finissent par périr, faute d'un élément qui leur est indispensable (KITCHING 1939).

Nous pensons que l'action de la température intervient surtout à ce niveau. Une augmentation de chaleur, en accélérant les processus métaboliques aussi bien dans les bactéries que dans les paramécies entraîne dans ces organismes une augmentation des besoins en oxygène. Cela se traduit par une baisse rapide du taux d'oxygène dissous, ce qui détermine les paramécies à gagner plus rapidement une région plus riche en cet élément, en l'occurrence le haut du liquide.

La concentration en bactéries du milieu ajouté jouera de la même façon sur cette teneur en O_2 .

Si à la suite de FOX (1921), nous considérons la réponse des protozoaires comme étant faite en fonction d'un optimum en oxygène dissous, ce que nos expériences semblent montrer, il est possible de modifier les conditions d'optimum, soit en utilisant un excitant respiratoire comme le dinitrophénol (HAMBURGER & ZEUTHEN 1957), soit en réduisant la dissolution d' O_2 dans le milieu par l'obstacle d'une couche d'huile. Dans les deux cas, les paramécies vont se placer dans le milieu de culture, à un niveau qui sans être celui d'un optimum est au moins celui d'un maximum en gaz dissous. Leur motivation est telle que les Ciliés arrivent à s'insinuer entre l'huile et la paroi du récipient pour aller le plus haut possible.

L'inhibition du regroupement annulaire par des traces de cyanure tend aussi à montrer l'affinité envisagée pour l'oxygène puisque nous savons que ce poison bloque la chaîne des oxydations cellulaires au niveau de l'utilisation de l'oxygène moléculaire. Mais les résultats obtenus avec des substances toxiques sont peut-être sujets à caution tant il est délicat de se servir de ces corps. D'autre part, leur action peut n'être qu'indirecte, en intervenant sur la consommation en oxygène des bactéries.

L'idée d'un optimum permettrait d'expliquer un des points précédents restés obscurs, à savoir les motifs de la descente des paramécies. FOX (1921) décrivait un regroupement initial des Flagellés Bodo ressemblant à ce tassement des Ciliés au fond de leurs récipients de culture. Dans les deux cas, les protozoaires s'éloignent du point de contact entre le milieu et l'atmosphère. Il est possible de supposer que l'agitation de leur milieu, résultant d'un apport ou d'un transfert d'un tube à un autre, en augmentant la concentration en oxygène dissous tend à faire varier cet optimum auquel ils répondent, d'où leur désir d'échapper à une trop forte valeur en s'éloignant de la source en O₂.

On comprend aussi pourquoi l'anneau se reforme très rapidement lorsque l'apport alimentaire est fait dans un tube où les paramécies sont déjà regroupées près de la surface. Certes les perturbations de l'addition de milieu nutritif disloquent l'agglomération, mais le peu d'oxygène introduit à ce moment est insuffisant pour que les protozoaires se permettent de descendre en une région du liquide où l'oxygène dissous est sensiblement absent. Ils se regroupent donc très vite là où se trouve, ce qui correspond à leurs besoins.

En résumé, nous pouvons dire que la motivation essentielle de la phase de remontée est la baisse de concentration en oxygène dissous consécutive à l'apport nutritif.

En ce qui concerne les anneaux formés par d'autres Ciliés comme Paramecium bursaria et Spirostomum ambiguum; ils réagissent probablement aux mêmes influences que Paramecium caudatum, c'est - à-dire à des besoins en oxygène précis qu'on aurait cependant pu croire moindres chez P. Bursaria dotée de chlorelles symbiotiques. Le cas de Tetrahymena pyriformis est différent puisque nous n'avons pas observé d'anneau, mais lorsqu'on secoue leurs tubes il apparaît alors énormément d'individus sans doute précédemment massés contre la surface. D'après les résultats connus concernant la respiration ils sont les plus avides d'oxygène (CUNNINGHAM & KIRK, 1942 Paramecium ; ORMSBEE, 1942 Tetrahymena) et cela explique sans doute leur position.

IV. Relations possibles de l'anneau avec une période de multiplication

A. Place de l'anneau dans la croissance d'une culture

Dans une culture livrée à elle-même, nous avons vu la formation en anneau apparaître au moment du maximum de développement bactérien, lorsque l'oxygène dissous dans le milieu est presque réduit à zéro, et bien avant l'obtention d'un maximum de population en paramécies.

La culture se développant, nous y voyons le liquide s'éclaircir et les décomptes d'individus par millilitre, donner des valeurs croissantes jusqu'à un maximum. Ensuite s'il n'y a pas alimentation le nombre de protozoaires diminue et la culture se détériore.

Nous avons peu de preuves mais nous pouvons penser que les paramécies repiquées se nourrissent abondamment, utilisent les produits de dégradation des aliments dans les synthèses puis se divisent. Cela conduit au nombre maximum de Ciliés enregistré et à l'éclaircissement progressif du milieu au fur-et-à-mesure que les bactéries sont consommées.

B. Observation d'un cycle nucléolaire.

Le macronoyau des paramécies, trois à quatre heures après l'apport alimentaire, contient de petits nucléoles en grand nombre, dispersés dans toute l'étendue du noyau. Au contraire, dans les individus privés de nourriture depuis plusieurs jours les macronucléi présentent de gros nucléoles ou des amas de nucléoles en petit nombre. Quelques petits nucléoles peuvent encore subsister. Cela correspond en partie aux observations de VIVIER (1960b.). Nous retrouvons en effet dans les deux cas une période à petits nucléoles plusieurs heures après l'alimentation et une période à gros éléments. Celle-ci se place cependant différemment puisque nous la situons avant l'alimentation alors qu'elle apparaissait trois heures après dans le cas des paramécies de VIVIER (1960 b.). Nous n'avons pas observé l'aspect intermédiaire mais il est logique de

penser qu'il serait semblable à celui décrit par cet auteur, c'est-à-dire présence à la fois de petits nucléoles et d'éléments plus gros. Au sujet de la différence remarquée notons que les conditions d'expériences ne sont pas identiques et la souche de Paramecium utilisée est différente. L'auteur cité nourrissait journellement les Ciliés puis, à partir d'un certain moment, laissait le jeûne s'installer. Notre manière de procéder est inverse, des animaux allant vers un état de jeûne sont à nouveau alimentés. Une étude tenant compte des conditions d'expériences et portant sur de nombreuses souches permettrait peut-être de rendre cohérentes ces diverses observations.

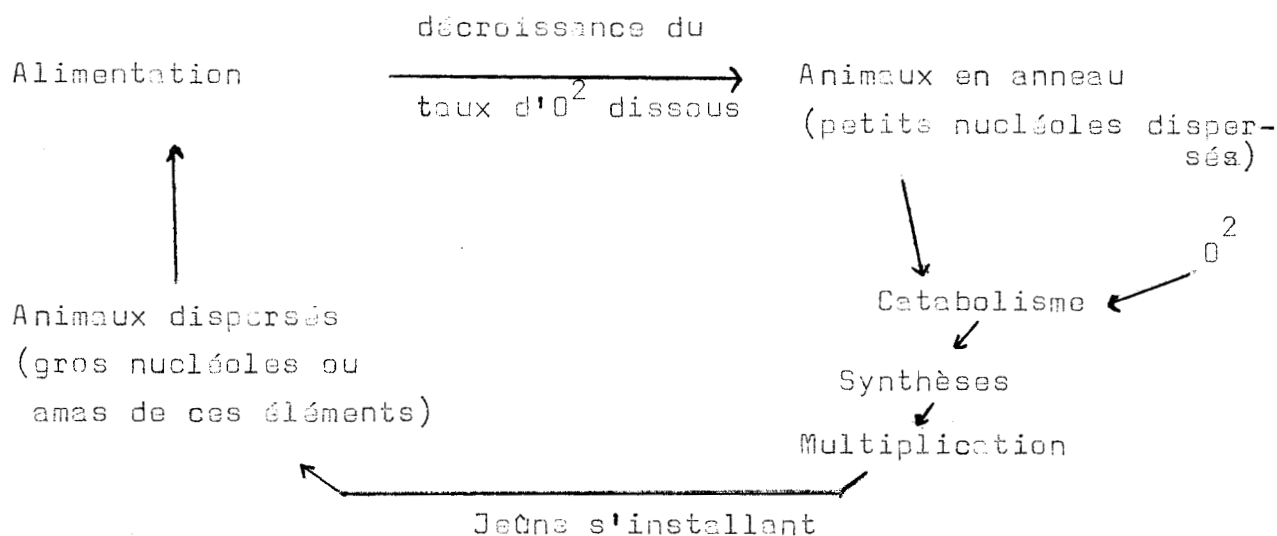
Un cycle nucléolaire du même type est décrit par CAMERON & col. (1965) en relation avec l'âge de la culture chez Tetrahymena pyriformis. Cependant ces Ciliés étant entretenus sur un milieu nutritif synthétique, nous pouvons établir une correspondance avec l'alimentation. Les individus de la phase de croissance logarithmique sont ceux bien nourris, car le milieu est encore riche. Leur macronucléus contient de petits nucléoles dispersés. Les individus d'une culture âgée sont moins bien alimentés car le milieu a tendance à s'épuiser, leur macronucléus contient des nucléoles en amas, il y a condensation et réduction du nombre d'éléments nucléolaires. Les Tetrahymena de CAMERON ont, semble-t-il, des points communs avec nos paramécies.

Biochimiquement, CAMERON & col. (1965) établissent l'existence d'un accroissement du taux d'ARN pendant la période dite des nucléoles dispersés. Or toute division cellulaire est précédée d'une telle phase de synthèse elle-même initiatrice d'une période de synthèse protéique. Ne pourrait-on considérer les paramécies à petits nucléoles comme étant dans une période de pré-division. Cela serait d'autant plus plausible que les individus de ce type sont en anneau, lequel se situe, nous l'avons vu précédemment, avant le maximum de Ciliés dans une population.

Nous voyons ainsi qu'il existe de fortes présomptions pour une relation nécessaire entre la formation en anneau et la

période de multiplication qui suit. La période du regroupement rendue nécessaire par les besoins en oxygène pourrait aussi être celle où se ferait ces synthèses dont nous parlons et ensuite les animaux s'étant divisés il y aurait dispersion et disparition de l'agglomération.

Nous venons d'envisager les motifs du regroupement en anneau et de voir à quels phénomènes il pouvait être lié. Le côté reproductible de cette agglomération conduit à regrouper tous les éléments obtenus en un cycle, où certaines parties demeurent cependant hypothétiques.



CONCLUSION -

Dans cette étude portant sur les mécanismes d'apposition d'un groupement en anneau dans les cultures de paramécies, nous avons pu mettre en évidence quelques points essentiels. Ainsi, cette formation est en relation avec le métabolisme de ces protozoaires et en particulier avec la respiration. Ceci est clairement démontré par l'importance manifeste de l'oxygène dans ce phénomène. Nous avons vu que la teneur en gaz dissous dans le milieu diminuant après un apport nutritif, les paramécies réagissaient en allant se placer près de la surface du liquide de culture. La comparaison avec leur comportement face à un excitant respiratoire renforce cette idée.

D'autre part nous avons envisagé une relation possible entre l'anneau et une phase de multiplication des individus, en fonction de la comparaison des cycles nucléolaires de Paramecium caudatum (souche Hot 6) et de Tetrahymena pyriformis.

La formation en anneau, incorporable dans un cycle concernant l'existence des cultures de protozoaires, est probablement la résultante de deux facteurs qui déterminent à la fois son aspect et sa position dans le récipient de culture. D'une part, le déplacement des paramécies selon un axe linéaire devenu obligatoirement brisé, en raison de limitations dans la hauteur du liquide utilisable, conduit à la forme annulaire, d'autre part le niveau d'une concentration optimum en oxygène dissous détermine l'emplacement de l'agglomération.

B I B L I O G R A P H I E

oOo

CAMERON I.L. - GUILÉ Jr. E.E. -

Nucleolar and biochemical changes during unbalanced growth of *Tetrahymena pyriformis*.

J. Cell. Biol. 1965 - 26 (3) - 845-855

CUNNINGHAM B.L. & KIRK P.L. -

The oxygen consumption of single cells of *P. caudatum* as measured by a capillary respirometer.

J. Cellular Comp. Physiol. 1942 - 20 - 119 - 134

CURDS C.R. -

The flocculation of suspended matter by *P. caudatum*.

J. General Microbiol. 1964 - 33 - 3 - 357-363

DEMBOWSKI J. -

Die Vertikalbewegungen von *P. caudatum* II. Einfluss einiger Aussenfaktoren.

Arch. Protistenk. 1929, 68, 216-261

FOX H.M. -

An investigation into the cause of the spontaneous aggregations of flagellates and into the reaction of flagellates to dissolved oxygen.

J. Gen. Physiol. 1921, 3, 483

GITTLESON S.M. & SEARS D.F. -

Effects of CO₂ on *Paramecium multimicronucleatum*.

J. Protozool. 1964, 11, 2, 191-199

GREBECKI A. -

Manche Regelmässigkeiten in dem Raumverhalten von *Paramecium caudatum*.

Acta Biol. Exp. 1956, 1, 17, 61-69

HAMBURGER K. & ZEUTHEN E. -

Synchronous divisions in *Tetrahymena pyriformis* as studied in an inorganic medium.

The effect of 2-4 dinitrophenol.

Exptl. Cell Res. 1957, 13, 443-453

KITCHING J.A. -

The effects of a lack of oxygen and of low oxygen tension on *Paramecium*.

Biol. Bull. 1939, 77, 339-353

MOORE A. -

Some facts concerning the geotropic gathering of *Paramecium*.

Am. J. Physiol. 1903, 9, 239-244

NISSENBAUM G. -

A combined method for the rapid fixation and adhesion of ciliates and flagellates.

Science 1953, 118, 31-32

ORMSBEE R.A.-

The normal growth and respiration of *Tetrahymena geleii*.

Biol. Bull. 1942, 72 (L XXXII), 423

REILLY S.M. -

Importance of adsorbents in the nutrition of *P. caudatum*.

J. Protozool. 1964, 11, 1, 109-113

SEARS D.F. & ELVEBACK L. -

A quantitative study of the movement of *P. caudatum* and *P. multimicronucleatum*.

Tulane Univer. Publ. in Zool. 1961, 8, 127-139

VIVIER E. -

a) Contribution à l'étude de la conjugaison chez
Paramecium caudatum.

Ann. Sci. Nat. 1960, 12 (2), 387-506

b) Cycle nucléolaire en rapport avec l'alimentation
chez Paramecium caudatum.

Compt. rend. Acad. Sci. 1960, 250, 205-207

VIVIER E. - SCHREVEL-DEBERSEE G. - OGER C. -

Observations sur les variétés et types sexuels de
Paramecium caudatum. Hérité et changement de type
sexuel.

Arch. Zool. Exp. Gen. 1964, 104, 1, 49-67

WICHTERMAN R. -

The biology of Paramecium.

The Blakiston Company Inc. N.Y. Toronto, 527 pages

LEGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I.-

Photographies de tubes montrant le déplacement des paramécies (flèches) d'une région haute au fond (1 et 2) puis la remontée jusqu'à l'anneau final (3, 4, 5, 6), (grandeur naturelle).

PLANCHE II. -

Les points représentent les paramécies, le grisé les bactéries.

1. Anneau formé dans un tube en position normale.

2. Cas de retournement des tubes : les protozoaires ne forment pas d'anneau à cause de la présence de bactéries entre eux et la surface.

3. Anneau obtenu lorsque les bactéries sont maintenues éloignées de la surface par un étranglement du tube.

4. Anneau obtenu près d'une ampoule à air située à l'opposé de la surface principale.

5. Tube horizontal : un regroupement se forme près de la surface.

6. Tube horizontal à deux ouvertures : deux anneaux sont observés.

PLANCHE III. -

1. Isolement de l'atmosphère par une couche d'huile.(H)
Les Ciliés (P) se placent au point de concentration maximum en oxygène, c'est-à-dire le plus haut possible, entre l'huile et la paroi de verre.

Gross. 13 x

2. Comparaison entre l'action de divers gaz. Les points figurent les paramécies.

a. témoin avec atmosphère normale d'air. Un groupement annulaire se produit au niveau habituel, quelques mm sous la surface du liquide.

b. en présence d'oxygène, l'agglomération a lieu mais à un niveau nettement inférieur.

c. en présence de gaz carbonique, attraction vers la surface immédiate mais pas de groupement en anneau. Des groupes entiers de Ciliés ont l'aspect de coulades allant vers le fond.

3. Action d'un excitant respiratoire, le 2-4 dinitro-phénol. Les protozoaires vont se placer au lieu de concentration maximum en oxygène, contre la surface du liquide. Les Ciliés en arc au centre de la photo sont visibles à cause de la déformation subie par la surface lorsque le tube est couché pour pouvoir être photographié sous une binoculaire.

Gross. 13 x

PLANCHE IV. -

Apparition des vacuoles digestives.

a et b, en présence d'encre de Chine avant (a) et après la formation de l'anneau (b).

Gross. 500 x

c et d, en présence de levure. Avant (c) les individus possèdent encore quelques vacuoles peu nettes. Après l'apport nutritif, les animaux semblent comme envahis de cellules de levure (d).

Gross. 450 x

PLANCHE V. -

Variations nucléolaires dans des Ciliés ayant été alimentés (a) ou non (b).

a. Macronucleus à petits nucléoles dispersés chez des Ciliés regroupés en anneau.

b. Macronucleus à gros éléments nucléolaires chez des paramécies supposées à jeun.

Gross. 1000 x

GRAPHIQUE I. -

a) Variations de la pression partielle d'oxygène en fonction du temps dans une culture après un apport bactérien.
carrés : au fond du récipient
ronds noirs : au niveau supérieur du liquide là où se fixera l'anneau.

b) Remontée des paramécies : on remarque une certaine relation entre le moment du départ des paramécies et l'approche du zéro pour la pO_2 au fond de la culture.

GRAPHIQUE II. -

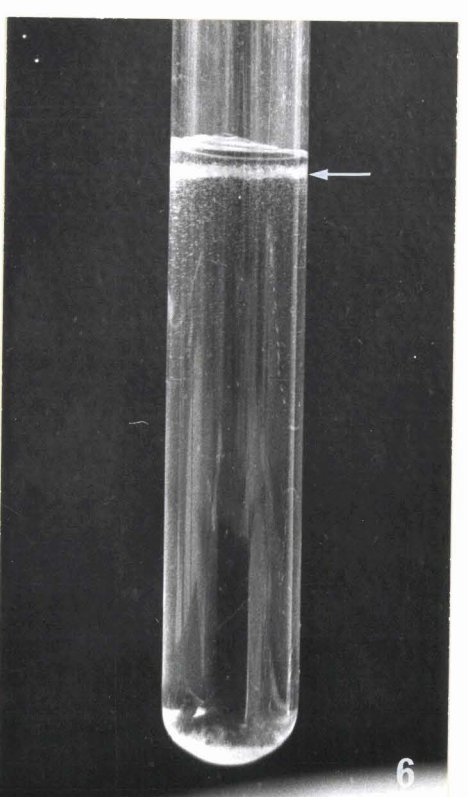
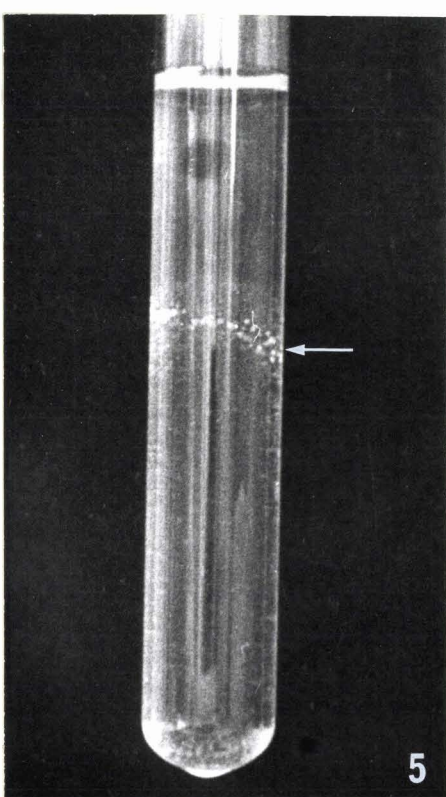
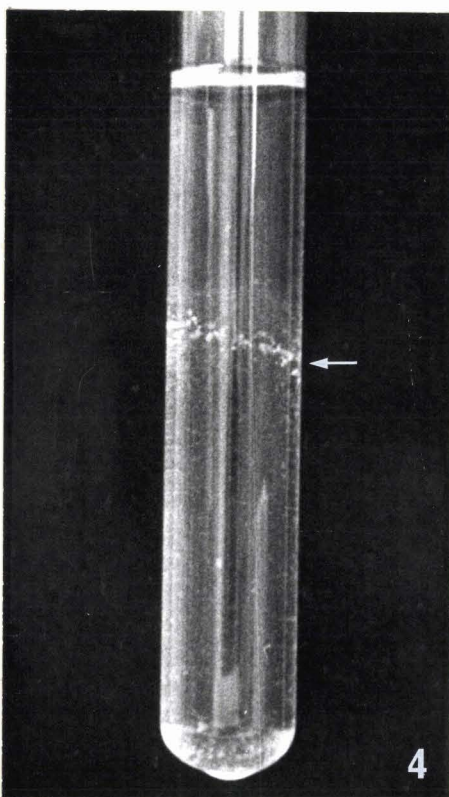
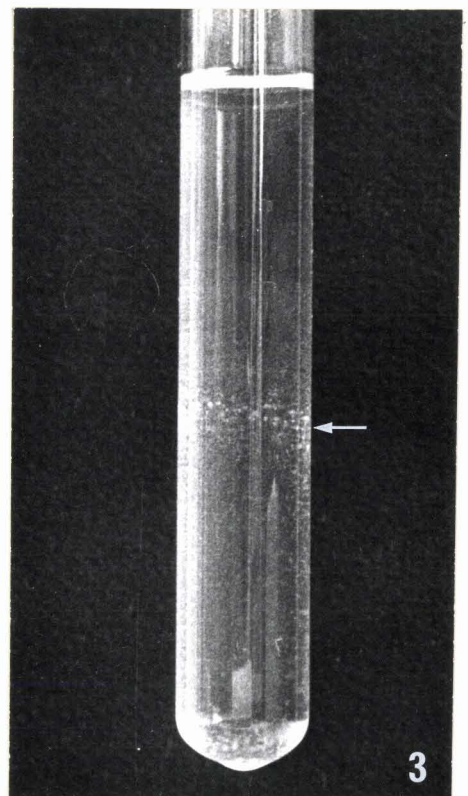
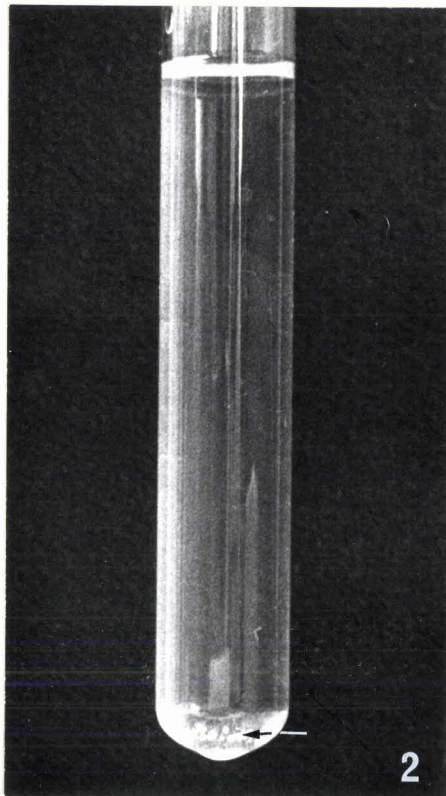
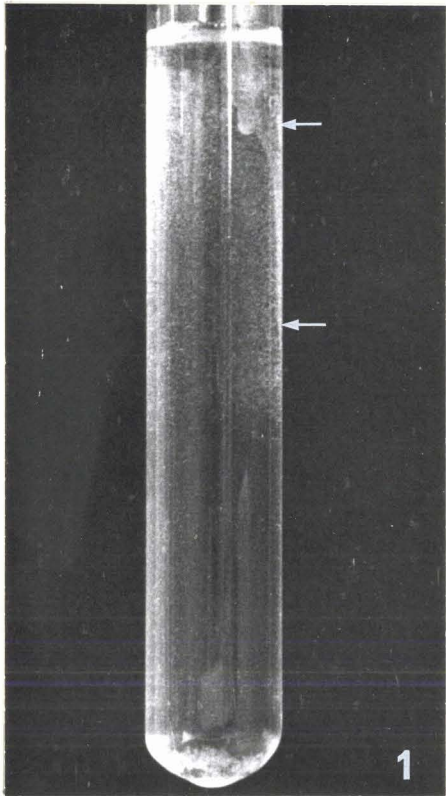
Paramécie isolée dans une enceinte circulaire :
Le nombre de déplacements de type corde et de type diamètre pendant un temps donné est figuré sur le graphique. L'observation sur les individus 1,2,3, porte sur 15 mn, celle des individus 4 et 5 sur 30 mn.

Dans une enceinte circulaire, les trajets de type corde (pointillés) sont beaucoup plus abondants que ceux du type diamètre (trait plein). Cela conduit à une fréquence de position plus forte pour la périphérie ce qui peut expliquer l'apparence annulaire du regroupement.

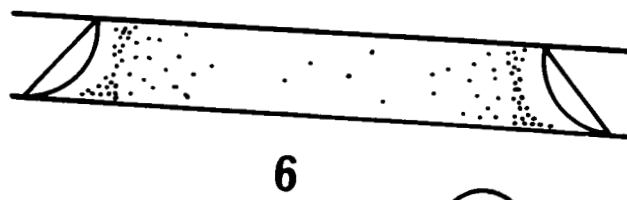
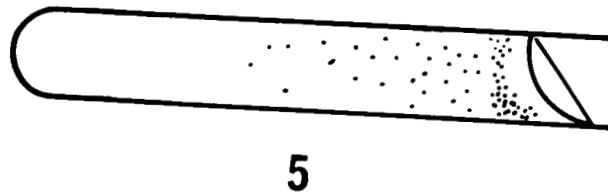
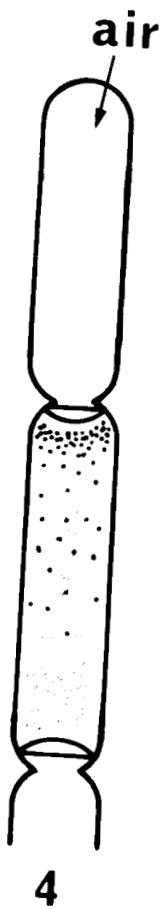
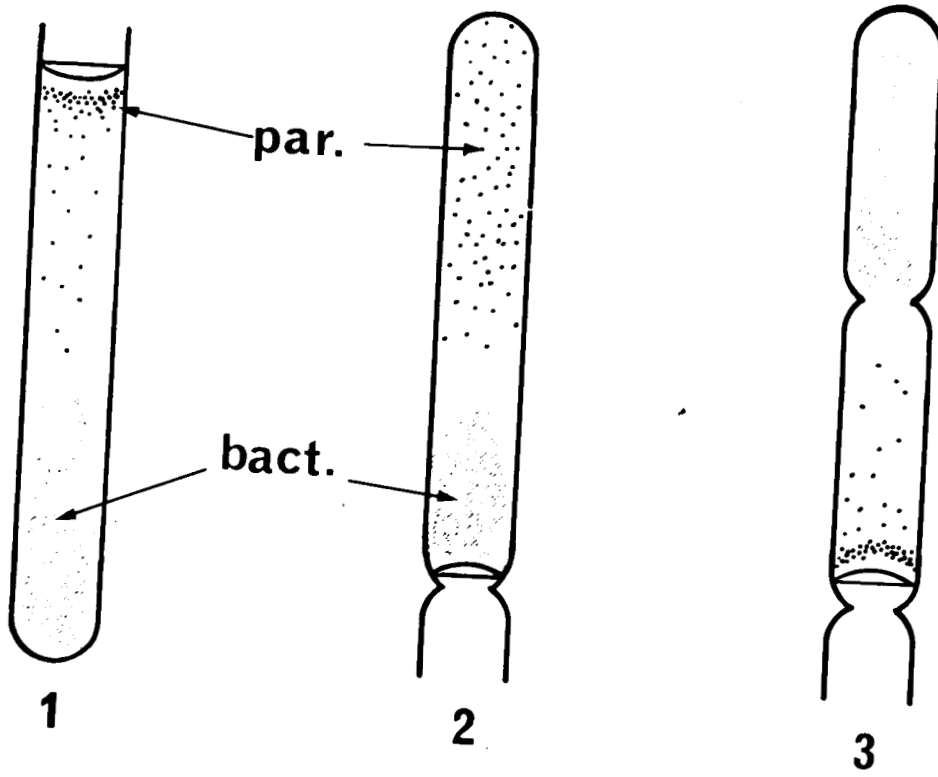
GRAPHIQUE III. -

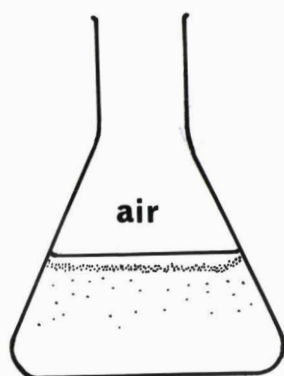
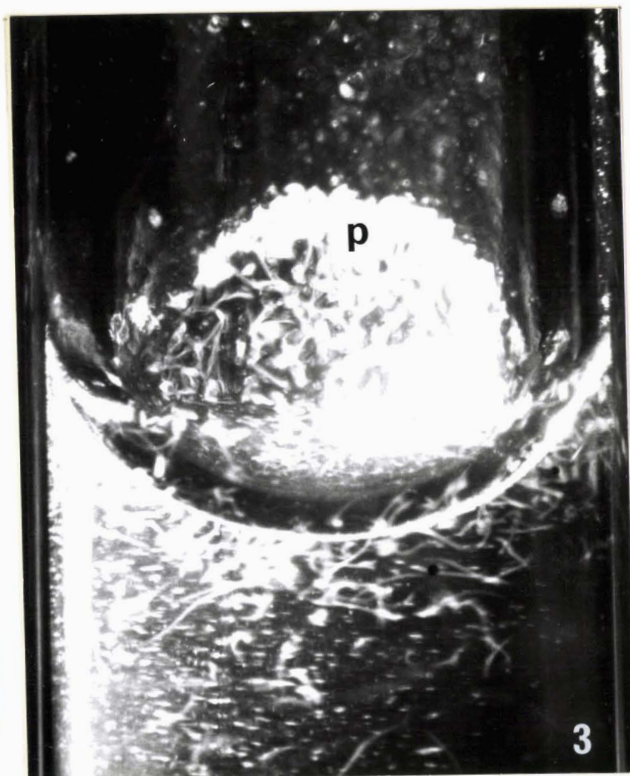
Place de l'anneau dans la croissance d'une culture de paramécies. Les dénombrements d'individus par ml faits par comptage sont indiqués par les points et les intervalles de confiance qui leur sont associés. La population subit donc un accroissement jusqu'à un maximum qui sera suivi d'une rapide descente. Le regroupement -(marqué an.) se situe avant le maximum de population et dure 3 à 4 jours.



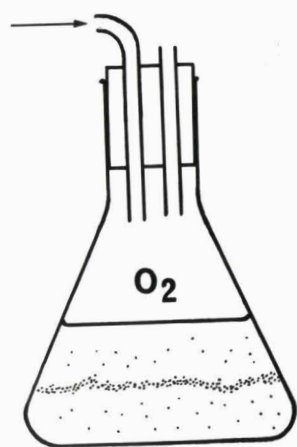


BUS
LILLE



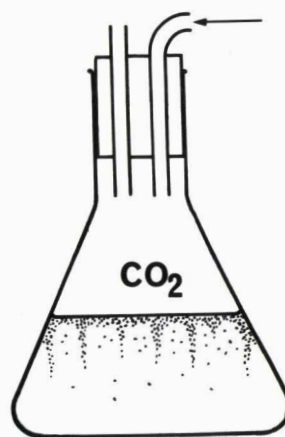


a.



b.

fig.2



c.

