

50376  
1971  
32-1

50376  
1971  
32-1

FACULTE DES SCIENCES DE LILLE

---

THESE DE TROISIEME CYCLE

*mention Biologie animale*

---

EVELYNE O B R Y

---

"INTRODUCTION A L'ETUDE EXPERIMENTALE DES  
FACTEURS DE MULTIPLICATION DE QUELQUES CILIES"

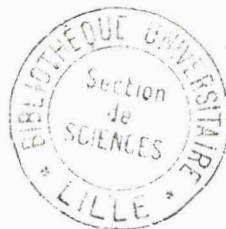
---

soutenue le mars 1971 devant la Commission d'examen

Président : M. M. DURCHON

Examineurs : M. E. VIVIER

Mme C. VENDRELY



UNIVERSITE DE PICARDIE

## SOMMAIRE

INTRODUCTION	p. 1
MATERIEL ET TECHNIQUES	5
I - MATERIEL	5
II - TECHNIQUES	5
II <sub>1</sub> - Préparation des milieux de culture	6
II <sub>1-1</sub> - Milieu de laitue	6
II <sub>1-2</sub> - Milieu de blé	6
II <sub>1-3</sub> - Milieu de Carter	6
II <sub>2</sub> - Préparation de la suspension bactérienne	7
III - CONDITIONS EXPERIMENTALES	7
III <sub>1</sub> - Types de cultures	7
III <sub>2</sub> - Principe de l'expérimentation	8
PRINCIPES BIOMETRIQUES	9
I - ECHANTILLONNAGE	9
II - DESCRIPTION DES SERIES DE DONNEES OBSERVEES	10
III - COMPARAISON DE DEUX SERIES DE DONNEES OBSERVEES	10
IV - PLANS EXPERIMENTAUX	11
V - ETUDE DE LA LIAISON ENTRE DEUX CARACTERES	
QUANTITATIFS	14
VI - COMPTAGES BACTERIENS	15
BACTERIES	16
I - PRINCIPE	16
II - ANALYSE DES RESULTATS	17
III - EXEMPLE SUR LE PREMIER COMPTAGE BACTERIEN	18
III <sub>1</sub> - Résultats	18
III <sub>2</sub> - Vérification statistique	18
IV - VARIABILITE DANS LE TEMPS DU NOMBRE DE BACTERIES	19

V - VARIABILITE DU NOMBRE DE BACTERIES ENTRE LES DIFFERENTES EXPERIENCES	21
RESULTATS DES EXPERIENCES RELATIVES A <i>P. caudatum</i> .	
ETUDE DES TEMPS DE GENERATION	22
I - EFFET DU VOLUME ET DU RANG DE GENERATION	22
I <sub>1</sub> - Etude des volumes 0,1cc-0,3cc-0,5cc.	22
I <sub>2</sub> - Etude des volumes 0,1cc-0,3cc-0,5cc-1cc 3cc-5cc.	24
II - EFFET DE LA DENSITE BACTERIENNE ET DU VOLUME	26
II <sub>1</sub> - Effet des dilutions 1/10-1/5-2/5, sur les volumes 0,1cc et 0,3cc.	26
II <sub>2</sub> - Effet des dilutions 1/625-1/125-1/25-1/5-1, sur les volumes 0,1cc et 0,5cc.	27
II <sub>2-1</sub> - 1° expérience	27
II <sub>2-2</sub> - 2° expérience	28
III - EFFET DU pH	29
IV - EFFET DU MILIEU ET DU N° DE LA GENERATION	30
CONCLUSION SUR L'ETUDE DES FACTEURS	32
V - EFFET GROUPE	33
V <sub>1</sub> - Etude de l'effet groupe selon les conditions 1P/loge-2P/loge-2,4,8P/loge.	33
V <sub>2</sub> - Etude de l'effet groupe selon les conditions 1P/loge-2P/loge et une nourriture propor- tionnelle au nombre d'individus	34
CONCLUSION SUR L'ETUDE DE L'EFFET GROUPE	35
RESULTATS SUR <i>P. bursaria</i>	36
APPLICATION : CLONAGE DE <i>S. minus</i>	38
DISCUSSION	41
CONCLUSION GENERALE	52
BIBLIOGRAPHIE	I

## INTRODUCTION

L'étude de la vitesse de division de groupes de protozoaires se multipliant par reproduction asexuée a été très peu envisagée et si de nombreux facteurs ont pu être invoqués pour tenter d'expliquer les variations obtenues entre différentes expériences, il apparaît que peu d'auteurs se sont attachés à l'étude du rôle des facteurs intervenant sur la vitesse de division d'un individu isolé.

C'est ainsi que WOODRUFF (1911) sur *Paramecium caudatum* et *Paramecium aurelia* et GREENLEAF (1926) sur *P. caudatum*, *P. aurelia*, *Pleurotricha lanceolata* et *Stylonychia pustulata* montrent que la division est d'autant plus rapide que le volume de milieu est plus grand. Par contre les observations de YOCUM (1927-1928) sur *Oxytricha sp.* sont différentes : la division est plus rapide dans les petits volumes. ROBERTSON (1921-1924) observe sur *Enchelys farcimen* une division plus rapide, pour un même volume avec 2 individus qu'avec un seul.

Enfin GRIMWALD (1928) sur *Colpidium colpoda* ne met pas en évidence de très grandes différences en fonction du volume ou du nombre d'individus.

C'est pourquoi avant d'entreprendre l'effet des facteurs qui agissent sur un "groupe" d'individus, nous avons tout d'abord étudié les facteurs influençant la vitesse de division d'un individu isolé, extrait d'une population. Ces facteurs sont nombreux, il peuvent agir avec plus ou moins d'intensité et parfois dans des sens opposés. De ce fait, il nous a paru indispensable d'étudier ce problème en utilisant

des conditions expérimentales extrêmement rigoureuses, et d'interpréter les résultats avec les méthodes statistiques appropriées.

De façon schématique, l'ensemble des facteurs intervenant sur la vitesse de division d'un individu isolé peut être divisé en trois groupes :

- les facteurs externes : température, luminosité,  $P_{O_2}$ ,  $P_{CO_2}$  ... qui influencent directement ou indirectement la vitesse de division de la paramécie.
- les facteurs dûs au milieu : milieu de culture, volume de liquide, densité bactérienne, pH ....
- les facteurs intrinsèques propres à l'animal : caractères génétiques ....

Nous pouvons également considérer ces facteurs suivant qu'ils sont aléatoires ou contrôlables.

Dans cette dernière catégorie rentrent tous les éléments connus et sur lesquels on peut intervenir. Ce seront aussi bien des facteurs externes, des facteurs dûs au milieu ou des facteurs intrinsèques.

Dans les facteurs aléatoires sont inclus, alors, tous les aspects sur lesquels il nous est impossible d'agir, en particulier, ce qui est propre à l'individu.

En dernière analyse, il apparaît évident que si tous les caractères pouvaient être contrôlés, deux individus placés dans des conditions identiques auraient alors la même vitesse de division. L'expérience montre qu'il n'est cependant pas possible d'obtenir un tel résultat, et qu'il est indispensable alors de faire intervenir la variabilité propre à chaque

G.	CARTER.			LAITUE.			BLE.		
	r.	d.d.l. (n-2)	C.	r.	d.d.l. (n-2)	C.	r.	d.d.l. (n-2)	C.
1°/2°	0,10	8	N.S.	0,14	3	N.S.	0,00	14	N.S.
2°/3°	0,28	13	N.S.	0,94	4	S. > 1%	0,17	23	N.S.
3°/4°	0,00	8	N.S.	0,24	4	N.S.	0,10	19	N.S.
4°/5°	0,10	16	N.S.	0,45	4	N.S.	0,10	18	N.S.
5°/6°	0,14	16	N.S.	0,55	6	N.S.	0,46	24	S.
6°/7°	0,44	22	S.	0,40	7	N.S.	0,00	20	N.S.
7°/8°	0,00	16	N.S.	0,84	8	S. > 1%	0,00	19	N.S.
8°/9°	0,00	19	N.S.	0,00	11	N.S.	0,24	16	N.S.
9°/10°	0,58	21	S. > 1%	0,34	7	N.S.	0,17	20	N.S.
10°/11°	0,40	25	S.	0,33	1	N.S.	0,33	23	N.S.
11°/12°	0,22	25	N.S.				0,17	12	N.S.
12°/13°	0,10	25	N.S.				0,24	18	N.S.
13°/14°	0,00	20	N.S.						
14°/15°	0,14	17	N.S.						

Tableau de la corrélation.

d.d.l. = nombre de degrés de liberté.  
 r. = valeur du coefficient de corrélation;  
 C. = conclusion.  
 G. = générations.  
 N.S. = résultat non significatif.  
 S. = résultat significatif.

Tableau 1.

individu. C'est pourquoi lors d'une expérience, nous pouvons, schématiquement, représenter la vitesse de division d'un individu placé dans des conditions définies par le modèle mathématique :

$$X = \mu + \alpha + \beta + \epsilon$$

où  $X$  représente le résultat d'une observation donnée.  
 $\mu$  la moyenne générale de l'expérience.  
 $\alpha, \beta$  les effets des différents traitements.  
 $\epsilon$  l'erreur expérimentale due aux facteurs aléatoires.

Cependant compte tenu des conditions expérimentales où nous nous plaçons : étudier la vitesse de division de plusieurs générations à partir d'un individu isolé, ce modèle peut également se présenter sous la forme :

$$X = \mu + \alpha + \beta + x + \epsilon$$

où  $x$  représente l'effet de l'individu-père.

L'hypothèse de l'existence d'une liaison entre la vitesse de division de l'individu-souche et des individus-fils peut être étudiée à l'aide du coefficient de corrélation  $r$ . C'est pourquoi nous testerons en premier lieu cette hypothèse (Tableau 1).

Sur 36 calculs, 6 seulement ont une valeur significativement différente de 0, c'est-à-dire que dans 6 cas seulement nous avons pu noter une liaison entre la vitesse de division de l'individu-père et des individus-fils. Par conséquent nous considérerons, pour l'ensemble des expériences, cette corrélation comme négligeable et nous retiendrons le premier modèle mathématique proposé. Nous discuterons de sa validité après l'étude des différents facteurs dont nous envisagerons la signification au cours de la discussion.

Nous avons ainsi étudié un certain nombre de ces facteurs qui peuvent influencer la vitesse de division d'un individu isolé; ce sont :

- le volume de milieu.
- le rang de la génération.
- la densité bactérienne.
- le pH.
- la nature du milieu.
- l'effet groupe.

A partir des résultats obtenus nous avons recherché les conditions nécessaires au clonage d'un Cilié Spirotriche du genre *Spirostomum* dont on sait qu'il est particulièrement difficile d'obtenir des lignées génétiquement déterminées.



## MATERIEL ET TECHNIQUES

### I - MATERIEL

Les expériences que nous avons réalisées ont été effectuées sur 3 espèces de Protozoaires Ciliés:

- *Paramecium caudatum* (Ciliés Holotriches Hyménostomes) que nous avons utilisé dans la majorité de nos expériences. La souche FC1<sub>26</sub> nous a été fournie par le laboratoire de Protistologie de la Faculté des Sciences de Lille. Cette souche provient d'un clone constitué à partir de l'isolement d'un individu ; tous les protozoaires sont, "théoriquement", génétiquement identiques.

- *Paramecium bursaria* (Ciliés Holotriches Hyménostomes). Ces protozoaires ont été récoltés dans un étang de la région d'Amiens. Les individus mis en expérience proviennent d'un clone unique. Ces protozoaires possèdent des Chlorelles symbiontes, nous les avons utilisés pour des expériences de comparaison avec l'espèce précédente.

- *Spirostomum minus* (Ciliés Spirotriches Hétérotriches) originaires d'une mare près d'Amiens. Ces ciliés ont de grandes exigences ; il est particulièrement difficile d'obtenir des clones à partir d'un seul individu.

Ces trois souches sont ordinairement entretenues au laboratoire sur un milieu de laitue.

### II - TECHNIQUES

Les conditions expérimentales dans lesquelles nous nous plaçons devant être parfaitement contrôlées, nous redonnerons ici la préparation des différents milieux de culture tels que nous les avons utilisés.

## II<sub>1</sub> - Préparation des milieux de culture

### II<sub>1-1</sub> - Milieu de laitue

Ce milieu est employé pour la réalisation de nombreuses expériences et pour entretenir les souches par repiquages végétatifs réguliers.

Ce milieu est constitué d'une décoction de laitue séchée, stérilisée puisensemencée en bactéries.

On porte à l'ébullition pendant 5 mn, 1,5g de milieu "dried lettuce" (Difco U.S.A.), 1 000 cc d'eau distillée et un léger excès de CaCO<sub>3</sub>, puis on filtre ; le liquide obtenu est réparti dans des tubes à essais et stérilisé à l'autoclave 20 mn à 120°C. Il est utilisable 24 heures après la stérilisation et son pH est de 5,8 à 6,0.

### II<sub>1-2</sub> - Milieu de blé

On réalise des séries de tubes à essais renfermant un grain de blé, préalablement lavé, et 10 cc d'eau distillée. Ces tubes sont stérilisés 10 mn à 120°C.

Les milieux de blé et de laitue sont neutralisés à l'aide d'une solution de carbonate de sodium à 1%.

### II<sub>1-3</sub> - Milieu de Carter

Cette solution renferme les composants suivants :

KCl	0,5 mM/l	
NaCl	2,0 mM/l	Tampon KOH 0,01 mM/l
MgCl <sub>2</sub>	0,2 mM/l	pour obtenir un pH de 7,0.
CaCl <sub>2</sub>	0,5 mM/l	

La solution-mère est stérilisée 20 mn à 120°C.

## II<sub>2</sub> - Préparation de la suspension bactérienne

La suspension bactérienne servant de nourriture aux différentes espèces de protozoaires est préparée à partir de l'espèce *Klebsiella aerogenes*, souche fournie par l'Institut Pasteur de Lille.

La souche pure est cultivée sur milieu gélosé, préparé à partir de produits Difco : 3 g de bacto-agar, 1 g de bacto-peptone, 0,6 g de bacto-beef extract pour 200 cc d'eau distillée. La solution est portée à ébullition puis répartie dans des tubes à essais (3 à 4 cc par tube) stérilisés 20 mn à 120°C. Ils sont ensuite mis à solidifier sur plan incliné.

Les tubesensemencés sont placés à 24°C et repiqués tous les 3 à 4 jours. Il est possible de ne procéder à des repiquages que tous les mois en conservant les tubes à 4°C.

Au moyen d'une heuze on prélève sur un tube de culture une quantité de bactéries aussi constante que possible avec laquelle on ensemence de petits volumes de milieu de laitue. On laisse incuber pendant 15 à 18 heures à l'étuve à 24°C : la croissance de la culture bactérienne semble alors terminée.

## III - CONDITIONS EXPERIMENTALES

### III<sub>1</sub> - Types de cultures

Suivant le volume de liquide utilisé les protozoaires sont cultivés soit sur plaques à concavités, soit sur salières.

- les plaques en verre Pyrex de DERIBERE, ou plaques pour réaction à la touche, comportent neuf concavités d'une capacité de 0,5 cc environ chacune.

- les salières sont utilisées pour des volumes supérieurs à 0,5cc.

### III<sub>2</sub> - Principe de l'expérimentation

Les paramécies en tubes de culture ou en expérience sont maintenues dans une étuve à  $19^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Les manipulations sont effectuées sous la loupe binoculaire à l'aide d'une courte pipette en verre effilée (pipette PASTEUR).

A partir d'un tube de culture, on prélève au hasard une vingtaine de paramécies qui sont isolées dans une salière renfermant du milieu de culture et une goutte de milieu nutritif. La division commence à s'effectuer environ 12 heures après et les 2 paramécies-filles sont alors isolées et mises en expérience.

La méthode expérimentale consiste à placer une paramécie-fille (ou 2-4-8) dans une concavité d'une plaque de DERIBERE (ou salière) contenant un volume de liquide et de suspension bactérienne donnés.

Juste après la division les paramécies-filles sont replacées dans les mêmes conditions que la paramécie-mère et le temps de génération est noté. Celui-ci varie alors de  $\pm 1/4$  heure compte tenu des impératifs expérimentaux.

Les isolements sont effectués avec le minimum de liquide afin de ne pas modifier les conditions expérimentales. Les plaques de DERIBERE et les salières sont placées dans des boîtes de PETRI en atmosphère saturée.

Pour éviter aux cultures toute contamination, certaines précautions doivent être prises : la verrerie est nettoyée à l'eau courante puis à l'eau distillée sans emploi de détersifs et stérilisée 20 mn à  $120^{\circ}\text{C}$  ; les pipettes sont, entre chaque prise, stérilisées sommairement en les plongeant dans de l'eau distillée bouillante ; les cultures ne sont sorties des boîtes de PETRI que pendant le temps strictement nécessaire aux manipulations.

## PRINCIPES BIOMETRIQUES

Les problèmes posés par notre expérimentation sont variés puisqu'il s'agit aussi bien de caractériser une série de données quantitatives concernant la vitesse de division d'un lot de protozoaires que de chercher à établir l'existence de liaison entre deux facteurs ou même de vérifier des comptages bactériens.

Afin de rendre rigoureuse l'interprétation des expériences, nous sommes amenés à utiliser les méthodes statistiques qui seules peuvent nous permettre de tirer des conclusions valables à partir de nos observations. Nous avons donc fait appel à plusieurs "modèles statistiques" qui ne paraissent peut-être pas toujours, en dernière analyse, les plus fructueux, mais qui, compte tenu des données expérimentales (mortalité élevée ..) paraissent les mieux adaptés.

### I - ECHANTILLONNAGE

Comme dans toute expérimentation, le choix de l'échantillon représente l'étape fondamentale. En effet cet échantillon sur lequel on expérimente doit être absolument représentatif de la "population" des paramécies d'où il est extrait.

C'est ainsi que nous avons dû prélever pour chaque expérience un échantillon "au hasard" parmi une population de paramécies en culture présentant toutes le même caractère génétique (voir III<sub>2</sub> du chapitre précédent).

## II - DESCRIPTION DES SERIES DE DONNEES OBSERVEES

A la fin de chaque expérience il est indispensable de caractériser l'ensemble des valeurs observées.

Pour cela trois paramètres sont nécessaires :

- le nombre d'individus :  $n$

- la moyenne de l'échantillon  $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$

(  $x_i$  = caractère mesuré sur chaque individu ).

- la variance de l'échantillon  $\sigma^2 = \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$

(ou l'écart-type =  $\sqrt{\sigma^2}$ )

Cette variance caractérise la dispersion des mesures autour de la moyenne. Cette donnée est fondamentale : en effet sa valeur dépend de la variabilité de chaque individu entrant dans l'expérience laquelle peut être fonction de nombreux paramètres extérieurs influençant la vitesse de division d'un individu.

## III - COMPARAISON DE DEUX SERIES DE DONNEES OBSERVEES

La comparaison entre deux groupes expérimentaux indépendants entre eux peut être effectuée à condition que les populations d'où sont extraits les échantillons aient même variance et soient distribuées normalement. Dans ce cas on calcule simplement la probabilité liée à l'hypothèse nulle qu'il n'y a pas de différence entre les deux groupes.

Pour cela on évalue l'expression :

$$t = \frac{(\bar{x}_A - \bar{x}_B)}{\sqrt{\sigma_p^2 \left( \frac{1}{n_A} + \frac{1}{n_B} \right)}} \quad \text{où} \quad \sigma_p^2 = \frac{(x_i - \bar{x}_A)^2 + (x_j - \bar{x}_B)^2}{n_A + n_B - 2}$$

et on regarde dans la table  $t$  (de STUDENT - FISHER) la probabilité liée à cette valeur de  $t$  pour un risque consenti et un nombre de

degrés de liberté égal à  $n_A + n_B - 2$

Comme pour les autres tests nous utiliserons le seuil de signification à 5 %.

#### IV - PLANS EXPERIMENTAUX

Bien que la comparaison entre les moyennes de 2 séries expérimentales puisse apporter des renseignements intéressants, lorsque l'on dispose de plus de 2 séries expérimentales, les comparaisons 2 à 2 s'avèrent peu puissantes et il est plus commode de faire alors une analyse "globale" des résultats par l'analyse de variance. Cette méthode basée sur la comparaison des variances implique certaines conditions pour être utilisée valablement :

- 1° les effets des "traitements" et les effets d' "environnement" doivent être additifs.  
(modèle statistique n° 1)
- 2° les erreurs doivent être indépendantes.
- 3° les erreurs doivent être normalement distribuées.
- 4° les erreurs doivent avoir une variance commune.

c'est-à-dire qu'il faut que les variations non contrôlées se produisent strictement au hasard et que tous les groupes expérimentaux aient la même variance vraie.

Ces conditions apparaissent "grossièrement" respectées ici.

A partir de ce modèle de l'analyse de variance, les sources de variation que l'on observe entre plusieurs groupes peuvent se décomposer en :

- variation intergroupe
- variation intragroupe
- variation totale

et l'on obtient un tableau des résultats sous la forme :

Origine	Somme des carrés des écarts (2)	Nbre de d.d.l. (3)	Variance (2)/(3)	F (a)/(b)
Entre-traitements	$\frac{(\sum x_i)^2}{n} - \frac{T_G^2}{N}$	c-1	(a)	
Intracolonne ou résiduelle	$\sum x^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}$	N-c	(b)	
Totale	$\sum x^2 - \frac{T_G^2}{N}$	N-1		

L'analyse s'effectue en comparant la valeur F calculée à une valeur F tabulée pour un risque d'erreur accepté et un nombre de d.d.l. de (c-1) et (N-c). Selon le degré de signification nous utiliserons les abréviations :

T.H.S. = différence très hautement significative au risque de 1°/°°.

S. = différence significative au risque de 1 °/°.

N.S. = différence non significative au risque de 5 °/°.

$\sum x_i$  = somme des temps de génération relatifs à un même traitement.

$T_G$  = total général des mesures.

n = nombre d'individus soumis à un même traitement.

N = nombre total des mesures.

c = nombre de cases.

La variation intergroupe représente alors les différences observées suivant les traitements.

La variation intragroupe représente la variabilité à l'intérieur d'un lot de paramécies soumises à un même traitement.



Ce modèle très général, apporte des renseignements non seulement sur l'effet de traitements sur la vitesse de division, mais également permet d'estimer la variabilité due aux facteurs non contrôlés (terme "résiduelle").

Dans la mesure où le terme "intragroupe" devient plus petit cela signifie alors que la variabilité due aux facteurs non contrôlés devient minimum.

Si ce plan est valable lorsqu'on étudie l'action de traitements qualitatifs il est également valable lorsque les traitements varient quantitativement : nous pouvons alors effectuer une analyse de régression en décomposant le terme "entre-traitements".

en : - régression linéaire  
et - termes non linéaires

d'où la possibilité de conclure que dans la limite des traitements, la réponse varie linéairement ou non.

Sur ce même modèle, on peut également faire agir 2 groupes de traitements. Pour comparer leurs effets on a recours à l'analyse factorielle ; l'emploi de cette méthode dans nos expériences est limité compte tenu du nombre d'individus variable d'une expérience à une autre.

Dans cette analyse trois termes apparaissent :

- le premier caractérise l'effet de chacun des traitements étudiés : terme "entre-traitements"
- le second correspond à l'influence réciproque des facteurs : terme "interaction"
- le troisième groupe tous les facteurs non contrôlés ou aléatoires : terme "résiduelle".

Origine	Somme des carrés des écarts	d.d.l.	variance	F
Entre-trai- tements	(1)	C-1(a)		
Entre-concen- trations	(2)	"conc"-1 (b)		
Entre-rangs	(3)	"rangs"-1 (c)		
Interaction	1 - (2 + 3)	a- (b+c)		
Résiduelle	2 - 3	N - c		
Totale		N - 1		

L'interaction s'obtient par différence entre le terme "entre-traitements" et les termes "entre-concentrations" et "entre-rangs".

#### V - ETUDE DE LA LIAISON ENTRE DEUX CARACTERES QUANTITATIFS

Pour tester l'indépendance entre 2 variables quantitatives il faut calculer le coefficient de corrélation  $r$ .

$$r = \frac{\text{covariance } (x,y)}{\sqrt{\text{variance } x \cdot \text{variance } y}}$$

où  $x$  et  $y$  représentent les 2 variables dont on veut tester l'indépendance. Le degré de signification de la liaison est cherché dans la table  $r$  pour le risque correspondant à un nombre de degrés de liberté égal à  $n - 2$ .

VI - COMPTAGES BACTERIENS

Pour analyser les résultats de comptages bactériens nous avons utilisé une méthode particulière qui sera envisagée dans le chapitre suivant.

## BACTERIES

### I - PRINCIPE

Nous avons dû procéder à des comptages bactériens pour déterminer la quantité de nourriture donnée à chaque paramécie pour chaque expérience, afin de constater si le nombre de bactéries ne variait pas trop en fonction du temps et d'une expérience à l'autre.

Le comptage s'effectue en préparant dix boîtes de PETRI de 8 cm de diamètre renfermant du milieu gélosé solidifié, stérilisé 20 mn à l'autoclave à 120°C etensemencées à des dilutions différentes.

A partir d'une suspension bactérienne les concentrations suivantes sont réalisées :

$4.10^{-4}$ bactéries /mm <sup>3</sup>		$4.10^{-5}$ bactéries/mm <sup>3</sup>
$2.10^{-4}$ "		$2.10^{-5}$ "
$1.10^{-4}$ "	ou	$1.10^{-5}$ "
$0,5.10^{-4}$ "		$0,5.10^{-5}$ "
$0,25.10^{-4}$ "		$0,25.10^{-5}$ "

Ces 2 dilutions sont telles que nous n'avons jamais observé ni confluence ni infini dans aucune boîte.

[ confluence quand 2 colonies se chevauchent  
infini quand le nombre de colonies est  
supérieur à 1 000 environ. ]

Pour chaque concentration 2 boîtes de PETRI sontensemencées par 0,1 cc de suspension bactérienne ; le liquide est réparti uniformément sur le milieu gélosé au moyen d'un étaloir de verre.

Le comptage des colonies est effectué après incubation des dix boîtes pendant 24 heures à 24°C.

## II - ANALYSE DES RESULTATS

Les résultats font l'objet d'un calcul du nombre moyen  $\bar{m}$  de colonies par boîteensemencée avec la dilution la plus forte prise comme unité arbitraire.

L'estimation de  $\bar{m}$  la plus précise est donnée par la formule :

$$\bar{m} = \frac{N_1 + N_2 + N_3 + N_4 + N_5}{n_1 C_1 + n_2 C_2 + n_3 C_3 + n_4 C_4 + n_5 C_5}$$

où  $N_1, N_2, \dots, N_5$  représentent le nombre total de colonies par dilution.

$n_1, n_2, \dots, n_5$  le nombre de boîtes.

$C_1, C_2, \dots, C_5$  le facteur de dilution.

L'erreur relative sur  $\bar{m}$  est égale à :

$$\frac{\sigma \bar{m}}{\bar{m}} = \frac{1}{\sqrt{\bar{m}(n_1 C_1 + n_2 C_2 + n_3 C_3 + n_4 C_4 + n_5 C_5)}} = \frac{1}{\sqrt{N_1 + N_2 + N_3 + N_4 + N_5}}$$

Les limites de l'intervalle de confiance sont données par la relation :

$$\bar{m} \left[ 1 \pm \varepsilon \frac{\sigma \bar{m}}{\bar{m}} \right]$$

au seuil de probabilité  
de 5%  $\varepsilon \neq 2$

Concentrations.	Nbre de Boîtes.	Nbre de Colonies.	Total.	C.
$0,25 \cdot 10^{-4}$ (1)	$n_1 = 2$	63 73	$N_1 = 136$	$C_1 = 1$
$0,50 \cdot 10^{-4}$ (2)	$n_2 = 2$	143 123	$N_2 = 266$	$C_2 = 2$
$1 \cdot 10^{-4}$ (3)	$n_3 = 2$	203 249	$N_3 = 452$	$C_3 = 4$
$2 \cdot 10^{-4}$ (4)	$n_4 = 2$	460 493	$N_4 = 953$	$C_4 = 8$
$4 \cdot 10^{-4}$ (5)	$n_5 = 2$	945 800	$N_5 = 1745$	$C_5 = 16$



Tableau du premier comptage bactérien.

On calcule ensuite le nombre de bactéries contenues dans 1cc de la solution-mère de suspension bactérienne.

Le résultat obtenu fait l'objet d'une vérification statistique basée sur le test du  $\chi^2$  (PEARSON) avec un risque d'erreur de 5%.

### III - EXEMPLE SUR LE PREMIER COMPTAGE BACTERIEN

III<sub>1</sub> - Résultats : Tableau (2).

Le nombre moyen de germes par boîte à la concentration  $0,25 \cdot 10^{-4}$ , pour un volume de 0,1cc est donc de  $m = 57,29$ .

$$\frac{\sigma_{\bar{m}}}{\bar{m}} = 1,67 \cdot 10^{-2}$$

soit  $55,57 \llcorner m \llcorner 59,01$

La solution-mère de suspension bactérienne contient pour 1cc un nombre de bactéries compris entre :

$$55,57 (4 \cdot 10^4) (10) \llcorner m \llcorner 59,01 (4 \cdot 10^4) (10)$$

soit  $22,23 \cdot 10^6 \llcorner m \llcorner 23,60 \cdot 10^6$

III<sub>2</sub> - Vérification statistique :

Le test du  $\chi^2$  nous permet de comparer la distribution observée à la distribution théorique des bactéries si celles-ci étaient réparties au hasard, afin d'étudier la conformité entre les deux distributions.

Nombre de colonies/ boîte	63 73	143 123	203 249	460 493	800 945
Nombres calculés (C)	57,29	114,58	229,16	458,32	916,64
Nombres moyens observés (O)	68	133	226	476,5	872,5

$$\chi^2 = \frac{\sum (O - C)^2}{C}$$

$$\chi^2 = \sum \frac{|68 - 57,3|^2}{57,3} + \dots + \frac{|872,5 - 916,64|^2}{916,64}$$

$$\chi^2 = 7,63$$

Pour un nombre de degrés de liberté égal à 4 et pour un risque d'erreur de 5% la valeur tabulée donne

$$\chi^2 \text{ 5\% à 4 d.d.l.} = 9,48.$$

Nous acceptons donc l'hypothèse : la répartition observée suit bien une loi de Poisson.

#### IV - VARIABILITE DANS LE TEMPS DU NOMBRE DE BACTERIES

Les expériences s'échelonnant entre 4 et 10 jours, pour respecter la rigueur expérimentale que nous nous sommes fixés, il est nécessaire de remplir les deux conditions suivantes :



N° du comptage.	$\bar{x}$	$\frac{S}{\bar{x}}$	Limites de l'intervalle de confiance pour lcc de la solution-mère.
1	57,29	$1,67 \times 10^{-2}$	$22,2 \times 10^6$ et $23,6 \times 10^6$
2	57,85	$1,67 \times 10^{-2}$	$22,4 \times 10^6$ et $23,9 \times 10^6$
3	126,23	$1,6 \times 10^{-2}$	$48,8 \times 10^6$ et $52,1 \times 10^6$
4	13,11	$3,4 \times 10^{-2}$	$48,9 \times 10^6$ et $56 \times 10^6$
5	23,22	$2,6 \times 10^{-2}$	$88 \times 10^7$ et $97,7 \times 10^7$
6	29,84	$2,3 \times 10^{-2}$	$11,4 \times 10^7$ et $12,5 \times 10^7$
7	24,64	$2,5 \times 10^{-2}$	$9,4 \times 10^7$ et $11,4 \times 10^7$
8	20,04	$2,8 \times 10^{-2}$	$75,6 \times 10^7$ et $84,6 \times 10^7$
9	12,33	$3,2 \times 10^{-2}$	$47,7 \times 10^6$ et $50,9 \times 10^6$



Tableau des différents comptages bactériens.

Tableau 3.

- utiliser le même tube de suspension bactérienne pour une même expérience.

- s'assurer que le nombre de bactéries contenu dans la suspension-mère ne varie pas en fonction du temps.

Nous avons étudié la variabilité du nombre de bactéries dans le temps en répartissant sur plusieurs jours des comptages effectués à partir d'un même tube de suspension bactérienne conservé au réfrigérateur à 4°C.

Les résultats ont montré que pour un laps de temps assez court ( 3 jours au maximum) la culture bactérienne n'évolue que très peu en prenant la précaution de maintenir au maximum le tube au froid.

Par contre, pour une durée plus longue, le nombre de bactéries diminuait. Une telle observation a été mise en évidence en ce qui concerne les comptages N° 6 et N° 7 relatifs aux expériences sur l'effet groupe et pour lesquelles nous avons employé le même tube de suspension bactérienne ( Tableau 3).

Comptage n° 6	$11,4 \cdot 10^7$	$\llcorner$ m $\llcorner$	$12,5 \cdot 10^7$
Comptage n° 7	$9,4 \cdot 10^7$	$\llcorner$ m $\llcorner$	$11,4 \cdot 10^7$

Les 2 comptages sont séparés de 7 jours. La diminution étant de l'ordre de 10% pour ces 7 jours, il est évident que ceci peut influencer de façon non négligeable la division de la paramécie.

V - VARIABILITE DU NOMBRE DE BACTERIES ENTRE LES DIFFERENTES EXPERIENCES

Nous avons recherché le nombre de bactéries contenues dans  $1\text{mm}^3$  dans les différentes expériences réalisées sur milieu de laitue et avec une seule paramécie.

Les résultats observés montrent une très grande variabilité d'une expérience à une autre. Cette différence due en partie aux conditions expérimentales ( facteurs de dilution des solutions bactériennes et volumes utilisés), s'avère très importante dans l'analyse des résultats. Nous envisagerons ce problème au cours de la discussion.

R. \ V.	0,1 cc $\bar{m}$ . t.	0,3cc $\bar{m}$ . t.	0,5 cc $\bar{m}$ . t.
1	$\bar{m} = 1\ 359$ mn $\sigma = 235,80$	$\bar{m} = 1\ 495$ mn $\sigma = 220,85$	$\bar{m} = 1\ 539$ mn $\sigma = 246,42$
2	$\bar{m} = 818$ mn $\sigma = 110,36$	$\bar{m} = 858$ mn $\sigma = 111,80$	$\bar{m} = 905$ mn $\sigma = 172,94$
3	$\bar{m} = 958$ mn $\sigma = 99,90$	$\bar{m} = 956$ mn $\sigma = 108,80$	$\bar{m} = 964$ mn $\sigma = 192,49$
4	$\bar{m} = 949$ mn $\sigma = 200,78$	$\bar{m} = 957$ mn $\sigma = 199,46$	$\bar{m} = 1\ 034$ mn $\sigma = 118,72$
5	$\bar{m} = 1\ 080$ mn $\sigma = 161,70$	$\bar{m} = 1\ 027$ mn $\sigma = 157,19$	$\bar{m} = 1\ 076$ mn $\sigma = 118,44$

V. = volume.

R. = Rang de la génération.

$\bar{m}$ .t. = Moyenne des temps de génération.

$\sigma$ . = écart-type.

Tableau 4.

RESULTATS DES EXPERIENCES RELATIVES A

P. caudatum. ETUDE DES TEMPS DE GENERATION.

Les conditions générales suivantes ont été respectées pour les différentes expériences sur les paramécies :

- prélèvement des individus à mettre en expérience, dans le tube-mère, 5 jours après repiquage de ce tube.
- paramécies non lavées et replacées après chaque division dans les mêmes conditions que les paramécies-mères.
- température de  $19^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- comptage bactérien effectué au début et parfois en fin de l'expérience.

Il n'est pas tenu compte des paramécies dont les temps de génération n'ont pu être contrôlés exactement.

I - EFFET DU VOLUME DE LIQUIDE ET DU RANG DE GENERATION

I<sub>1</sub> - Etude des volumes 0,1cc-0,3cc-0,5cc.

conditions :

- 60 paramécies réparties isolément en 3 lots de 20.
- volumes : 0,1cc, 0,3cc, 0,5cc de milieu de laitue.
- nourriture : 0,05cc d'une suspension bactérienne diluée au 1/5 pour chaque paramécie.
- comptage bactérien : pour 1cc de la solution-mère  
 $22,2 \cdot 10^6 \leq m \leq 23,6 \cdot 10^6$
- étude des temps de 5 générations.

résultats, analyse des résultats ( expérience factorielle) :

Tableau (4).

Origine	Somme des carrés des écarts	d.d.l.	variance	F
Entre-traitements	12 011 496	14	857 964	42,87 T.H.S.
Entre-concentrations	114 827	2	57 413	2,87 N.S.
Entre-rangs	11 456 897	4	2 863 974	143,13 T.H.S.
Résiduelle	8 664 582	433	20 010	
Interaction	440 772	8	55 016	2,75 S.
Totale	20 676 772	447	46 255	

Pour un risque d'erreur de 5% les valeurs tabulées de F donnent :

$$F_{433}^2 = 3,00 \text{ (concentration).}$$

$$F_{433}^4 = 2,37 \text{ (rang).}$$

$$F_{433}^8 = 1,94 \text{ (interaction). } F_{433}^8 \text{ à } 1\% = 2,51.$$

conclusion :

Graphiques (1) et (2).

Il apparaît ainsi une différence significative entre rangs (T.H.S.) mais pas entre concentrations (N.S.) et l'interaction rang-concentration est significative à 1% (S.).

D'autre part quel que soit le volume utilisé le temps de la 1<sup>o</sup> génération est toujours beaucoup plus long que les autres mais progressivement la différence 1<sup>o</sup>-2<sup>o</sup>, 1<sup>o</sup>-3<sup>o</sup>, 1<sup>o</sup>-4<sup>o</sup>, ..., générations diminue.

R.	0,1 cc		0,3 cc		0,5 cc		1 cc	
	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.
1	6	$\bar{m}=1538$ mn $\sigma=111,88$	7	$\bar{m}=1758$ mn $\sigma=37,81$	6	$\bar{m}=1655$ mn $\sigma=88,17$	9	$\bar{m}=2621$ mn $\sigma=141,98$
2	12	$\bar{m}=855$ mn $\sigma=101,29$	13	$\bar{m}=1186$ mn $\sigma=125,34$	8	$\bar{m}=1020$ mn $\sigma=100,58$	4	$\bar{m}=1366$ mn $\sigma=34,24$

V. = Volume.

R. = Rang de la génération.

N. = Nombre de paramécies.

$\bar{m}$ . t. = Moyenne des temps de génération.

$\sigma$ . = écart-type.

Tableau 5.

I<sub>2</sub> - Etude des volumes 0,1cc-0,3cc-0,5cc-1cc-3cc-5cc.

Les résultats précédemment obtenus nous ont révélé l'importance de la connaissance du comportement de *P. caudatum* pour des volumes supérieurs afin d'envisager différemment l'effet "concentration".

conditions :

- 72 paramécies réparties isolément en 6 lots de 12.
  - volumes : 0,1cc, 0,3cc, 0,5cc, 1cc, 3cc, 5cc de milieu de laitue.
  - nourriture : 0,05cc d'une suspension bactérienne diluée au 1/5 pour chaque paramécie.
  - comptage bactérien : pour 1cc de la solution-mère
- $$22,4 \cdot 10^6 \leq m \leq 23,9 \cdot 10^6$$
- étude des temps de 2 générations.

résultats, analyse des résultats ( analyses de variance) :

Tableau (5).

Les paramécies placées dans les volumes 3cc et 5cc sont mortes sans subir aucune division, dans les premières 24 heures. Pour le volume 1cc, trois paramécies ne se sont pas divisées, deux sont mortes sans effectuer de seconde division et une troisième s'est divisée avec un temps de génération très long.

- analyse de variance sur la 1<sup>o</sup> génération.

Origine	Somme des carrés des écarts	d.d.l.	variance	F
Entre-traitements	6 108 279	3	2 036 093	115,68
Résiduelle	422 444	24	17 601	T.H.S.
Totale	6 530 723	27	241 878	

$$F_{24}^3 \text{ à } 5\% = 3,01$$

$$F_{24}^3 \text{ à } 1\% = 7,55.$$



- analyse de variance sur la 2° génération.

Origine	Somme des carrés des écarts	d.d.l.	variance	F
Entre-traitements	1 096 577	3	365 525	31,63
Résiduelle	381 378	33	11 556	T.H.S.
Totale	1 477 956	36	41 054	

$$F_{33}^3 \text{ à } 5\% = 2,89$$

$$F_{33}^3 \text{ à } 1\text{‰} = 6,85.$$

conclusion :

Graphique (3).

Ainsi au seuil de probabilité de 1‰ la différence est donc très hautement significative entre les 4 volumes et ceux-ci ont donc des effets différents sur les temps de génération. Ces temps sont en général de plus en plus élevés à mesure que les volumes augmentent. En décomposant le terme "entre-traitements" suivant le modèle proposé (p. 13: analyse de régression), on peut montrer que dans les limites de volume considéré, le temps de génération varie grossièrement de façon linéaire. Cependant la grande différence observée entre les temps de génération de 0,5cc et 1cc semble imposer des limites dans la mesure où la quantité bactérienne est identique quel que soit le volume. Cette insuffisance expliquerait aussi les non-divisions pour les volumes 3cc et 5cc : dans ces 2 volumes le nombre de bactéries/mm<sup>3</sup> était respectivement de 75 et 45.

		V. = 0,1cc						V. = 0,3cc					
		1/10		1/5		2/5		1/10		1/5		2/5	
R.	D <sub>b</sub> .	N.	$\bar{m}$ .t.	N.	$\bar{m}$ .t.	N.	$\bar{m}$ .t.	N.	$\bar{m}$ .t.	N.	$\bar{m}$ .t.	N.	$\bar{m}$ .t.
1		5	$\bar{m}=1356mn$ $\sigma=133,43$	5	$\bar{m}=1555mn$ $\sigma=160,19$	5	$\bar{m}=1424mn$ $\sigma=58,24$	5	$\bar{m}=1451mn$ $\sigma=115,94$	6	$\bar{m}=1352mn$ $\sigma=118,01$	4	$\bar{m}=1534mn$ $\sigma=195,46$
2		10	$\bar{m}=818mn$ $\sigma=50,44$	12	$\bar{m}=810mn$ $\sigma=64,61$	10	$\bar{m}=778mn$ $\sigma=6,32$	9	$\bar{m}=810mn$ $\sigma=60,77$	11	$\bar{m}=809mn$ $\sigma=65,97$	6	$\bar{m}=847mn$ $\sigma=53,08$
3		7	$\bar{m}=798mn$ $\sigma=62,30$	7	$\bar{m}=826mn$ $\sigma=60,71$	11	$\bar{m}=774mn$ $\sigma=65,56$	9	$\bar{m}=872mn$ $\sigma=124,34$	12	$\bar{m}=899mn$ $\sigma=109,37$	6	$\bar{m}=937mn$ $\sigma=42,63$

D<sub>b</sub>. = dilutions bactériennes.

N. = nombre de paramécies.

R. = rang de génération.

V. = volume.

$\bar{m}$ .t. = moyenne des temps de génération.

$\sigma$ . = écart-type.

## II - EFFET DE LA DENSITE BACTERIENNE ET DU VOLUME

Etant donné le problème posé par l'importance de la quantité de nourriture pour des volumes importants nous avons cherché à connaître dans quelles proportions celle-ci influençait la division de la paramécie et pour cela nous avons procédé à trois expériences.

### II<sub>1</sub> - Effet des dilutions 1/10-1/5-2/5, sur les volumes 0,1cc et 0,3cc.

#### conditions :

- 54 paramécies réparties isolément en 6 lots de 9.
- volumes : 3 lots de 0,1cc, 3 lots de 0,3cc de milieu de laitue.
- dilutions bactériennes : 1/10, 1/5, 2/5.
- nourriture : 0,05cc des différentes dilutions pour chaque paramécie.
- comptage bactérien : pour 1cc de la solution-mère  

$$48,8.10^6 \leq m \leq 52,1.10^6$$
- étude des temps de 3 générations.

#### résultats, analyse des résultats :

Tableau (6).

Au vu du graphique les résultats ne montrent aucune différence significative entre les divers traitements. Une seule exception toutefois à noter, qui concerne les 2° et 3° générations pour la concentration 2/5 et pour lesquelles les différences entre les volumes sont plus importantes. Le fait, dans ce cas, de nourrir la paramécie avec un nombre plus important de bactéries ( $10^6$ ) contribue peut-être

à favoriser la division alors que dans les autres cas la nourriture était suffisante pour assurer une division normale.

conclusion :

Graphique (4).

Nous pouvons ainsi peut-être envisager la possibilité de l'existence d'un seuil bactérien nécessaire à la division de la paramécie. En-dessous de ce seuil la paramécie meurt sans se diviser, au voisinage du seuil la division s'effectue mais avec un temps moyen identique quelles que soient les autres conditions, au-dessus du seuil enfin, dans certaines limites, et selon les autres facteurs mis en jeu, la paramécie se trouve dans des conditions lui permettant de réaliser sa division selon un temps variable. Ce problème sera envisagé dans la discussion.

II<sub>2</sub> - Effet des dilutions 1/625-1/125-1/25-1/5-1, sur les volumes 0,1cc et 0,5cc.

II<sub>2-1</sub> - 1<sup>o</sup> expérience.

conditions :

- 90 paramécies réparties isolément en 10 lots de 9.
- volumes: 5 lots de 0,1cc, 5 lots de 0,5cc de milieu de laitue.
- dilutions bactériennes : 1/625, 1/125, 1/25, 1/5, 1.
- nourriture : 0,05cc des différentes dilutions pour chaque paramécie.
- comptage bactérien : pour 1cc de la solution-mère  
 $48,9 \cdot 10^6 \ll m \ll 56,0 \cdot 10^6$
- étude des temps de 3 générations.



D <sub>b</sub> . R.		V. = 0,1cc						V. = 0,5cc							
		1	1/5	1/25	1/125	1/625	1	1/5	1/25	1/125	1/625				
N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.
1	9 m=1171mn σ=2,20	9 m=1399mn σ=112,20	5 m=1486mn σ=158,64	2 m=1452mn σ=3,53	2 Division très longue	8 m=1226mn σ=8,76	2 m=1407mn σ=194,45	a	a	a	a	a	a	1/625	1/625
2	10 m=741mn σ=54,97	9 m=748mn σ=99,71	7 m=757mn σ=124,59	6 m=935mn σ=79,24	a	9 m=739mn σ=51,34	5 m=893mn σ=112,83	a	a	a	a	a	a	a	a
3	11 m=668mn σ=34,44	11 m=689mn σ=49,80	9 m=673mn σ=85,80	4 m=744mn σ=77,39	a	7 m=795mn σ=138,62	6 m=752mn σ=180,54	a	a	a	a	a	a	a	a

a. = tous les individus mis en expérience sont morts avant de se diviser.

D<sub>b</sub>. = dilutions bactériennes.

N. = nombre de paramécies.

R. = rang de génération.

V. = volume.

m.t. = moyenne des temps de génération.

σ. = écart-type.

Tableau 7.

résultats, analyse des résultats :

Tableau (7).

Dans ces conditions nous avons constaté que :

- pour les plus faibles volumes et aux dilutions 1/625 et 1/125, toutes les paramécies meurent ou présentent des temps de génération excessivement longs.

- pour le plus grand volume, seules les paramécies placées dans la solution-mère ont donné des résultats satisfaisants.

conclusion :

Graphique (5).

Les quelques résultats observés nous ont semblé prometteurs, le peu d'observations étant vraisemblablement en rapport avec une insuffisance de nourriture. Aussi nous avons utilisé ce même schéma expérimental pour l'expérience suivante.

II<sub>2-2</sub> - 2° expérience.

conditions :

- les conditions générales sont les mêmes que précédemment. Nous avons seulement préparé un tube de suspension bactérienne renfermant un nombre plus grand de bactéries.

Pour 1cc de la solution-mère, le comptage bactérien a donné les résultats suivants :

$$88.10^7 \llcorner_m \llcorner 97,7.10^7$$

- étude des temps de 2 générations.



		V. = 0,1cc						V. = 0,5cc													
R.	D <sub>b</sub> .	1		1/5		1/25		1/125		1/625		1		1/5		1/25		1/125		1/625	
		N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.	N.	m.t.
1		12	m=970mn σ=116,30	12	m=1000mn σ=121,59	12	m=1037mn σ=70,75	9	m=1036mn σ=67,70	11	m=1166mn σ=99,57	9	m=988mn σ=51,66	11	m=1172mn σ=169,06	6	m=1178mn σ=179,09	6	m=1332mn σ=208,53	5	m=1429mn σ=201,35
2		5	m=892mn σ=90,52	8	m=954mn σ=135,08	9	m=849mn σ=175,27	8	m=779mn σ=161,77	9	m=817mn σ=174,65	10	m=834mn σ=80,16	11	m=823mn σ=150,45	10	m=914mn σ=91,03	4	m=904mn σ=209,77	12	m=906mn σ=155,17

- D<sub>b</sub>. = dilutions bactériennes
- N. = nombre de paramécies.
- R. = rang de génération.
- V. = volume.
- m.t. = moyenne des temps de génération.
- σ. = écart-type.

Tableau 8.

résultats, analyse des résultats :

Tableau (8).

L'ensemble des résultats pour la 1<sup>o</sup> génération montre que :

- pour un même volume, le temps de génération est d'autant plus long que la quantité bactérienne est faible et les différences sont plus caractéristiques pour le volume le plus grand.

- pour la même quantité bactérienne, le temps de génération est plus court pour 0,1cc que pour 0,5cc. Cependant, en ce qui concerne la dilution 1, les variations dans les temps de génération sont plus faibles.

conclusion :

Graphique (6).

Pour cette expérience, la quantité optimum de nourriture pour laquelle la paramécie effectue au mieux sa division est donc pour la dilution la plus faible et pour le plus faible volume.

Pour la 2<sup>o</sup> génération les phénomènes observés ne sont pas aussi significatifs.

III - EFFET DU pHconditions :

- 72 paramécies réparties isolément en 6 lots de 12.
- volume : 0,1cc de milieu de laitue.
- étude de l'effet de 3 pH : pH5, pH6, pH7.





R.	$D_b. = 1/5$				$D_b. = 1/125$															
	N.	$\bar{m}$ .	t.	$\sigma$	N.	$\bar{m}$ .	t.	$\sigma$	N.	$\bar{m}$ .	t.	$\sigma$								
1	2	$\bar{m} = 1307$	mn	$\sigma = 74,24$	4	$\bar{m} = 1266$	mn	$\sigma = 99,19$	7	$\bar{m} = 1268$	mn	$\sigma = 89,43$	1	(1385mn)	1	(1555mn)	2 (temps très long)			
2	4	$\bar{m} = 646$	mn	$\sigma = 57,35$	10	$\bar{m} = 600$	mn	$\sigma = 44,87$	13	$\bar{m} = 623$	mn	$\sigma = 104,93$	2	$\bar{m} = 602$	mn	$\sigma = 3,53$	2	$\bar{m} = 745$	mn	$\sigma = 21,21$
3	8	$\bar{m} = 745$	mn	$\sigma = 73,58$	17	$\bar{m} = 676$	mn	$\sigma = 87,51$	18	$\bar{m} = 875$	mn	$\sigma = 107,64$	4	$\bar{m} = 756$	mn	$\sigma = 54,52$	4	$\bar{m} = 774$	mn	$\sigma = 42,30$
4	10	$\bar{m} = 701$	mn	$\sigma = 45,01$	23	$\bar{m} = 747$	mn	$\sigma = 106,68$	10	$\bar{m} = 807$	mn	$\sigma = 102,06$	1	(980 mn)						

N. = nombre de paramécies.

$\bar{m}$ .t. = moyenne des temps de génération.

R. = rang de la division.

$\sigma$ . = écart type.

1/5, 1/125. = dilutions bactériennes ( $D_b.$ ).

Tableau 9.

- nourriture : 0,05cc d'une suspension bactérienne diluée au 1/5 ( 3 lots) et au 1/125 ( 3 lots), pour chaque paramécie.
- étude des temps de 4 générations.

résultats, analyse des résultats :

Tableau (9).

Pour l'ensemble des lots de nombreuses paramécies sont mortes dans les premières 24 heures sans se diviser et la mortalité la plus forte a été constatée pour la plus faible concentration bactérienne.

Pour la dilution 1/5 les résultats ne nous ont pas permis de mettre en évidence une différence significative entre les 3 pH appliqués pour une même génération.

conclusion :

Graphique (7).

Il semblerait donc que le pH, dans l'écart utilisé n'ait qu'un effet minime sur le temps de génération par rapport aux autres facteurs.

IV - EFFET DU MILIEU ET DU N° DE LA GENERATION

conditions :

- 54 paramécies réparties isolément en 3 lots.
- volume : 0,1cc de différents milieux.
- milieux : milieu de blé, milieu de laitue et milieu de Carter tamponnés au pH 7.
- nourriture : 0,05cc d'une suspension bactérienne diluée au 1/5 pour chaque paramécie.

M. R.	Carter.		Blé.		Laitue.	
	N	$\bar{m}$ . t.	N	$\bar{m}$ . t.	N	$\bar{m}$ . t.
1	17	$\bar{m} = 1966$ mn $\sigma = 77,02$	16	$\bar{m} = 1239$ mn $\sigma = 67,26$	17	$\bar{m} = 1539$ mn $\sigma = 89,62$
2	32	$\bar{m} = 1081$ mn $\sigma = 92,32$	32	$\bar{m} = 831$ mn $\sigma = 48,92$	32	$\bar{m} = 975$ mn $\sigma = 108,09$
3	35	$\bar{m} = 893$ mn $\sigma = 74,37$	33	$\bar{m} = 896$ mn $\sigma = 100,80$	23	$\bar{m} = 923$ mn $\sigma = 126,90$
4	10	$\bar{m} = 812$ mn $\sigma = 39,17$	22	$\bar{m} = 1103$ mn $\sigma = 109,05$	15	$\bar{m} = 942$ mn $\sigma = 77,45$
5	18	$\bar{m} = 839$ mn $\sigma = 40,74$	19	$\bar{m} = 894$ mn $\sigma = 73,48$	8	$\bar{m} = 990$ mn $\sigma = 66,06$
6	16	$\bar{m} = 750$ mn $\sigma = 55,67$	22	$\bar{m} = 930$ mn $\sigma = 63,86$	7	$\bar{m} = 1018$ mn $\sigma = 88,54$
7	25	$\bar{m} = 754$ mn $\sigma = 38,41$	22	$\bar{m} = 789$ mn $\sigma = 54,03$	9	$\bar{m} = 973$ mn $\sigma = 55,96$
8	18	$\bar{m} = 781$ mn $\sigma = 44,50$	21	$\bar{m} = 843$ mn $\sigma = 56,68$	10	$\bar{m} = 1285$ mn $\sigma = 86,44$
9	21	$\bar{m} = 657$ mn $\sigma = 69,50$	18	$\bar{m} = 877$ mn $\sigma = 46,36$	12	$\bar{m} = 1115$ mn $\sigma = 126,44$
10	25	$\bar{m} = 676$ mn $\sigma = 35,33$	21	$\bar{m} = 981$ mn $\sigma = 91,89$	8	$\bar{m} = 1181$ mn $\sigma = 134,73$
11	26	$\bar{m} = 615$ mn $\sigma = 31,01$	23	$\bar{m} = 898$ mn $\sigma = 90,13$		
12	27	$\bar{m} = 678$ mn $\sigma = 57,31$	15	$\bar{m} = 816$ mn $\sigma = 66,40$		
13	26	$\bar{m} = 689$ mn $\sigma = 41,04$		$\bar{m} = 832$ mn $\sigma = 98,96$		
14	19	$\bar{m} = 830$ mn $\sigma = 37,08$				
15	19	$\bar{m} = 753$ mn $\sigma = 64,34$				



M. = Milieux utilisés.  
R. = Rang de la génération.  
 $\bar{m}$ . t. = Moyenne des temps de génération.  
N. = Nombre de paramécies.  
 $\sigma$ . = Ecart-type.

Tableau 10.

- comptage bactérien : pour lcc de la solution-mère :

$$75,6 \cdot 10^7 \leq m \leq 84,6 \cdot 10^7$$

- étude des temps de 13 générations (blé);  
10 générations (laitue); 15 générations (Carter).

résultats, analyse des résultats ( analyses de variance) :

Tableau (10).

Nous avons effectué pour chaque division une analyse de variance entre les résultats observés dans les différents milieux (Tableau 11).

L'analyse de variance des dix premières générations a porté sur la comparaison entre les trois milieux. Seule la différence pour la 3<sup>o</sup> génération n'est pas significative (N.S.).

L'analyse de variance pour les 11<sup>o</sup>, 12<sup>o</sup> et 13<sup>o</sup> générations concerne la comparaison entre les milieux de blé et de Carter et les différences observées sont dans les trois cas très hautement significatives (T.H.S.).

conclusion :

Graphique (8).

Pour l'ensemble de l'expérience c'est dans le milieu de Carter que les temps de génération les plus courts ont généralement été obtenus. Cependant au sujet des 4 premières générations, l'effet "milieu" est différent de celui constaté dans les autres générations.

En effet, d'une part on observe progressivement une diminution des écarts entre les temps de génération correspondant aux trois milieux ce qui nous permet de constater une égalité quasi-totale entre les trois temps

G.	F calculé	F 5% théorique	Conclusion	Classification des milieux Temps Min. → Temps Max.
1°	356,46	3,20	T.H.S.	B - L - C
2°	65,95	3,10	T.H.S.	B - L - C
3°	0,72	3,11	N.S.	B L C
4°	40,00	3,21	T.H.S.	C - L - B
5°	17,07	3,22	T.H.S.	C - B - L
6°	49,35	3,22	T.H.S.	C - B - L
7°	70,11	3,18	T.H.S.	C - B - L
8°	237,48	3,21	T.H.S.	C - B - L
9°	126,55	3,20	T.H.S.	C - B - L
10°	149,88	3,19	T.H.S.	C - B - L
11°	225,86	4,05	T.H.S.	C - B
12°	49,88	4,08	T.H.S.	C - B
13°	43,79	4,07	T.H.S.	C - B



G. = Générations.

B. = Milieu de blé.

L. = Milieu de laitue.

C. = Milieu de Carter.

T.H.S. = Résultat très hautement significatif.

N.S. = Résultat non significatif.

de génération à la troisième division : l'analyse de variance effectuée sur cette génération ne donne pas une valeur de F significative ( $F_{88}^2$  à 5% = 3,11). D'autre part l'effet "néfaste" du milieu de Carter très net en 1° génération s'atténue lui aussi et à partir de la 3° génération ce milieu apparaît être le plus favorable à la division de la paramécie et les temps de génération diminuent progressivement jusqu'à la 11° génération.

L'observation de temps plus longs pour les dernières divisions pourrait être due à une insuffisance de nourriture : nous avons, en effet, pour respecter les mêmes conditions expérimentales utilisé le même tube de suspension bactérienne, or nous savons que le nombre de bactéries diminue en fonction du temps.

En ce qui concerne le milieu de laitue, le phénomène inverse de celui constaté avec le milieu de Carter semble se réaliser : on a parfois observé des temps de génération presque doubles de ceux correspondant au milieu de Carter pour la même division.

#### CONCLUSION SUR L'ETUDE DES FACTEURS

Pour les différents facteurs étudiés on note que :

- pour le volume : les volumes les plus faibles ( jusque 0,1cc) apparaissent les plus favorables à la division.

- pour la densité bactérienne : elle est relative au volume de liquide utilisé et la quantité la



R.	N <sub>p</sub> /l	1P/logé		2P/logé		2.4.8 P/logé	
		N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.
1	12		$\bar{m} = 1035$ mn $\sigma = 67,93$	24	$\bar{m} = 976$ mn $\sigma = 56,79$	24	$\bar{m} = 985$ mn $\sigma = 67,60$
2	13		$\bar{m} = 639$ mn $\sigma = 60,48$	46	$\bar{m} = 627$ mn $\sigma = 64,40$	44	$\bar{m} = 677$ mn $\sigma = 65,78$
3	17		$\bar{m} = 578$ mn $\sigma = 34,60$	79	$\bar{m} = 610$ mn $\sigma = 43,48$	73	$\bar{m} = 594$ mn $\sigma = 77,78$
4	27		$\bar{m} = 636$ mn $\sigma = 37,10$	127	$\bar{m} = 632$ mn $\sigma = 53,57$		



N<sub>p</sub>/l. = Nombre de paramécies par logé.

R. = Rang de la génération.

N. = Nombre de paramécies.

$\bar{m}$ . t. = Moyenne des temps de génération.

$\sigma$ . = écart-type.



- volume : 0,1cc de milieu de laitue.
- nourriture : 0,05cc d'une suspension bactérienne diluée au 1/5 pour chaque loge.
- comptage bactérien : pour 1cc de la solution-mère  

$$11,4 \cdot 10^7 \quad \swarrow \quad m \quad \swarrow \quad 12,5 \cdot 10^7$$
- étude des temps de 4 générations.

résultats, analyse des résultats :

Tableau (12).

On constate que quelle que soit la combinaison, 1 individu seul, 2 individus ou 2 puis 4, 8 individus, les temps de génération se superposent parfaitement.

conclusion :

Graphique (9).

Ainsi lorsque les conditions de culture sont rigoureusement fixées, contrôlées et identiques, dans les 3 cas, nous n'avons pas mis en évidence d'effet groupe sur le temps de génération des individus.

$V_2$  - Etude de l'effet groupe selon les conditions 1P/logé - 2P/logé et une nourriture proportionnelle au nombre d'individus.

conditions :

- 84 paramécies distribuées comme suit :
  - 36 loges contenant 1 paramécie.
  - 24 loges contenant 2 paramécies.
- volume : 0,1cc de milieu de laitue.
- nourriture : 0,05cc d'une suspension bactérienne diluée au 1/5, 2/5, 1/125 ou 2/125.

		Dilutions : 1/5 - 2/5				Dilutions : 1/125 2/125			
R.	N <sub>p</sub> /l.	1P/l. 1/5		2P/l. 2/5		1P/l. 1/125		2P/l. 2/125	
		N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.
1	17		$\bar{m} = 848$ mn $\sigma = 50,37$	24	$\bar{m} = 856$ mn $\sigma = 37,56$	8	$\bar{m} = 1001$ mn $\sigma = 61,10$	24	$\bar{m} = 929$ mn $\sigma = 45,79$
2	18		$\bar{m} = 681$ mn $\sigma = 61,28$	48	$\bar{m} = 676$ mn $\sigma = 57,81$	14	$\bar{m} = 835$ mn $\sigma = 144,28$	48	$\bar{m} = 644$ mn $\sigma = 92,16$
3	15		$\bar{m} = 697$ mn $\sigma = 56,18$	57	$\bar{m} = 681$ mn $\sigma = 66,57$	10	$\bar{m} = 833$ mn $\sigma = 172,58$	64	$\bar{m} = 697$ mn $\sigma = 74,11$
4	15		$\bar{m} = 690$ mn $\sigma = 53,45$	76	$\bar{m} = 714$ mn $\sigma = 81,71$	9	$\bar{m} = 814$ mn $\sigma = 66,51$	100	$\bar{m} = 733$ mn $\sigma = 68,49$

N<sub>p</sub>/l. = Nombre de paramécies par loge.

R. = Rang de la génération.

N. = Nombre de paramécies.

$\bar{m}$ .t. = Moyenne des temps de génération.

$\sigma$ . = Ecart-type.

- comptage bactérien : pour lcc de la solution-mère :

$$9,4 \cdot 10^7 \quad \leq m \quad \leq \quad 11,4 \cdot 10^7$$

- étude des temps de 4 générations.

résultats :

Tableau (13).

analyse des résultats, conclusion :

Graphique (10).

Dans cette expérience où la densité bactérienne est proportionnelle au nombre d'individus, nous avons remarqué que :

- pour les faibles densités ( 1/125), 2 individus par loge ont un temps de génération plus rapide qu'un seul individu.
- pour les densités bactériennes plus élevées ( 1/5), 2 individus ou 1 seul ont des temps de génération à peu près identiques.

CONCLUSION SUR L'ETUDE DE L'EFFET GROUPE POUR DE PETITS EFFECTIFS

Nous pouvons ainsi conclure que l'effet groupe chez la paramécie n'apparaît pas de façon très évidente et que s'il existe, sa manifestation ne semble réelle que dans un cas très particulier ( faibles densités bactériennes).

Dans ces conditions, il faut peut-être encore considérer que cet effet est minime comparativement à l'effet nourriture. Lorsque les autres facteurs contrôlant le temps de génération sont bien dosés, l'effet groupe n'apparaît pas significatif.

R.	Lumière nourriture		Lumière sans nourriture		Obscurité nourriture		Obscurité sans nourriture	
	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.	N.	$\bar{m}$ . t.
1	10	$\bar{m} = 1321$ mn $\sigma = 65,98$	15	$\bar{m} = 1989$ mn $\sigma = 372,70$	15	$\bar{m} = 1641$ mn $\sigma = 328,48$	10	$\bar{m} = 1952$ mn $\sigma = 375,01$
2	7	$\bar{m} = 1116$ mn $\sigma = 257,45$	7	$\bar{m} = 1494$ mn $\sigma = 332,38$	9	$\bar{m} = 1009$ mn $\sigma = 129,48$	7	$\bar{m} = 2119$ mn $\sigma = 174$
3	2	$\bar{m} = 1642$ mn $\sigma = 201,52$			6	$\bar{m} = 1292$ $\sigma = 266,05$		

$\bar{m}$ . t. = moyenne des temps de génération.

N. = nombre de paramécies.

R. = rang de la génération.

$\sigma$ . = écart-type.

Tableau 14.

## RESULTATS SUR *Paramecium bursaria*

Nous avons étudié l'influence de la lumière et de la nourriture sur les temps de génération.

L'espèce *P. bursaria* renferme des chlorelles grâce auxquelles, à la lumière, ces protozoaires peuvent assurer leur croissance et leur division sans requérir un besoin effectif d'apport alimentaire (vie en symbiose).

### conditions :

- 60 paramécies réparties isolément en 4 lots de 15.
- volume : 0,05cc de milieu de laitue.
- nourriture : 0,05cc d'une suspension bactérienne diluée au 1/5 pour la moitié des paramécies et par individu.
- 2 lots dont l'un est nourri sont soumis au rythme nycthéméral (mois de juin).  
2 lots dont l'un est nourri sont placés à l'obscurité.
- comptage bactérien : pour 1cc de la solution-mère  
 $75,6 \cdot 10^7 \leq m \leq 84,6 \cdot 10^7$
- étude des temps de 3 générations.

### résultats, analyse des résultats :

Tableau (14).

Dans l'ensemble, les différentes séries présentent une grande variabilité.

En 1° génération les individus nourris se divisent plus rapidement que les individus non nourris.

Ce résultat est également valable pour la 2° génération.

Les individus non nourris se divisent aussi vite à l'obscurité qu'à la lumière lors de cette 1° génération. Par contre en 2° génération la différence est hautement significative.

Si pour les individus nourris une différence est mise en évidence selon qu'ils sont à la lumière ou à l'obscurité en 1° génération, cette différence n'est plus significative pour les 2° et 3° générations.

conclusion :

Graphique (11).

Comme pour *P. caudatum* le rôle de la nourriture apparaît ici primordial. L'influence de l'obscurité et de la lumière n'apparaît importante qu'à partir de la 2° génération pour les individus non nourris.

APPLICATION : CLONAGE DE *Spirostomum minus*

Le contrôle des différents caractères étudiés chez *P. caudatum* permet d'obtenir aisément le clonage des spirostomes.

A partir d'individus sauvages nous avons effectué des séries de cultures sur plaques de DERIBERE en adoptant des conditions de cultures extrêmes.

Ainsi les spirostomes ont été placés dans les différentes conditions suivantes :

- température : 10°C, 19°C, 24°C avec essais de chocs thermiques.
- volume : 0,05cc, 0,1cc et 0,3cc.
- densité bactérienne : 1 - 1/5 - 1/25 - 1/125.
- comptage bactérien : pour 1cc de la solution-mère :

$$47,7.10^6 < m < 50,9.10^6$$

- pH : 6 - 7 - 8.
- milieux : laitue, Carter.
- dans tous les cas chaque loge ne comprenait qu'un individu au début de chaque expérience et les individus-fils n'étaient pas réisolés après chaque division.

Après expérimentation de ces différents cas, il nous est apparu que les conditions optima du développement de *S. minus* sont réalisées pour :

- température : 19°C.
- volume initial : 0,05cc.
- densité bactérienne : dilution 1/5.
- milieu : milieu de Carter.
- pH : 7.

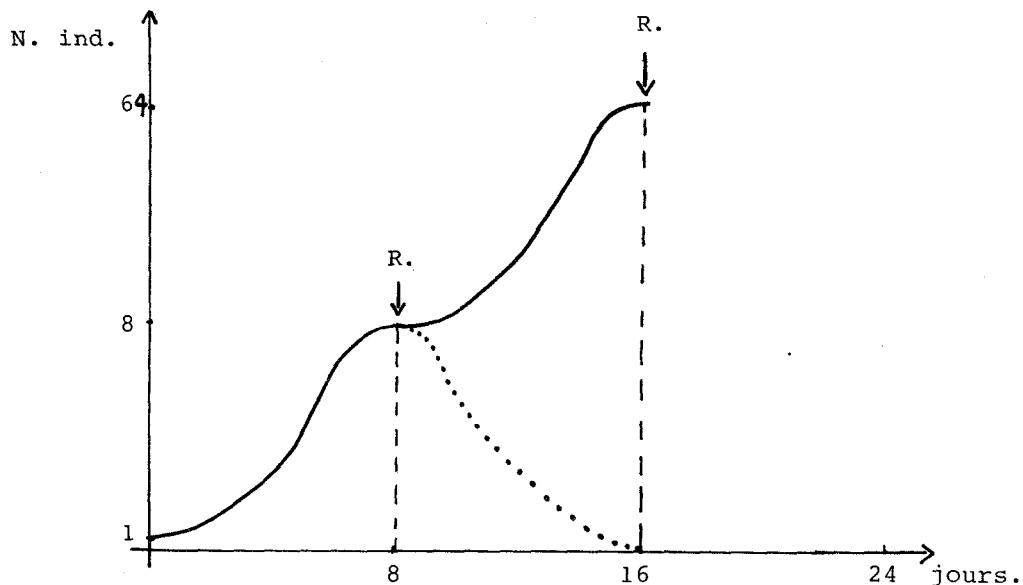
Dans ces conditions tous les individus se divisent une première fois en 2 jours; et en 8 jours, dans chaque loge, nous avons observé 8 individus en moyenne.

- Si les loges ne sont pas repiquées tous les spirostomes meurent sans se rediviser au bout de 8 jours.

- Si les loges sont repiquées dans des conditions identiques aux conditions initiales, les individus se redivisent 2 jours plus tard et la "saturation" apparaît à nouveau une semaine après le repiquage et même moins d'une semaine lorsque les effectifs deviennent élevés.

Le phénomène constaté dans le cas d'un non-repiquage pourrait être dû d'une part à une absence de nourriture dans le milieu et d'autre part à une action toxique des déchets. En effet si le repiquage est effectué dans les délais normaux la courbe de croissance nouvellement obtenue est identique à la courbe du précédent repiquage.

Ainsi nous pouvons schématiquement tracer le graphique de développement suivant :



R. = repiquage.

— = courbe de développement.

..... = courbe de "mort".





R. J. C.		R.														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
0,1cc (1/5)	9	16	18	18	21	36	49	64	67	82	98	125	148	160	293	316
0,1cc (1/25)	9	11	18	20	40	54	56	57	60	75	97	125	133	207	227	
0,05cc (1/5)	9	16	19	25	50	48	51	52	85	105	113	114	111	209	231	
0,05cc (1/25)	9	13	18	27	48	55	58	59	77	101	117	117	117	192	211	

Milieu de Carter.

R. J. C.		R.													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
0,1cc (1/5)	9	9	17	20	35	42	54	55	69	95	175	190	194	336	459
0,1cc (1/25)	9	9	10	12	23	29	34	35	48	56	111	132	132	197	281
0,05cc (1/5)	9	9	17	19	40	46	46	48	67	84	115	118	113	186	247
0,05cc (1/25)	9	10	12	18	27	33	35	33	44	55	98	108	114	182	268

Milieu de Laitue.

Nombre total de spirostomes obtenus à partir des 2 clones initiaux.

C. = conditions expérimentales (volume, dilution bactérienne).

Pour chaque condition nous avons réparti 9 spirostomes isolément.

J. = jours.

R. = Repiquage.

L'augmentation de volume de liquide pour chaque loge est nécessaire à partir de 15 individus. Elle doit se faire progressivement et parallèlement à une augmentation de la nourriture.

Lorsque les clones comptent 15 individus environ les divisions s'effectuent sensiblement au même rythme dans les deux types de milieux, et même un peu plus rapidement dans le milieu de laitue. Cela pourrait s'expliquer par un développement plus favorable des bactéries sur ce milieu. Tableau (15).

Les clones de 30 individus environ sont repiqués dans des tubes renfermant 1cc de milieu et 0,05cc d'une suspension bactérienne diluée au 1/5. Progressivement le volume est porté à 2cc, 3cc, 4cc, 5cc, ... et la quantité bactérienne à 0,1cc de suspensions diluées au 1/5, 1/4 et 1/3.

Dans ces conditions contrôlées, très peu de mortalité a été observée et nous avons pu ainsi obtenir 60 clones de *S. minus* qui se sont bien développés.

## DISCUSSION

L'ensemble des résultats que nous avons exposés permet de tirer un certain nombre de conclusions quant à l'étude des facteurs intervenant sur la vitesse de division d'un individu isolé.

Pour mieux mettre en évidence l'effet de chaque facteur étudié et pour comparer ces effets entre eux nous nous sommes toujours efforcés d'opérer d'une expérience à une autre dans des conditions les plus rigoureuses et les plus similaires possibles ( température, date du prélèvement, ...). Cependant à propos de ces modèles expérimentaux utilisés nous devons faire quelques remarques :

- les conditions de prélèvement des paramécies sont toujours les mêmes mais il est évident que les différents tubes-mère de cultures sont dans des conditions de croissance et de nourriture variables. Ainsi lors de leur mise en expérience les paramécies apportent une quantité de bactéries étrangères qui dépend de la densité bactérienne du milieu où elles se trouvent et du volume de milieu de culture qui sert au transfert de ces ciliés.

- le mode d'action des différents facteurs envisagés varie selon la catégorie à laquelle ils appartiennent :

a) les facteurs externes ( $P_{O_2}$  -  $P_{CO_2}$  ...) agissent essentiellement de façon indirecte en intervenant sur le milieu de culture sauf en ce qui concerne l'effet de la

Légende du tableau bibliographique.

---

- a. = animal.
- g. = goutte.
- t°. = température.
- A. = effet allélocatalytique.
- C. = comptages.
- M. = milieu.
- N. = nourriture.
- T. = effet température.
- V. = volume.
- [b]. = concentration bactérienne.

Auteurs	Espèces	Température	Milieux Volumés	Autres conditions	Nombre animaux
BARKER H.A. TAYLOR C.V. 1931	<u>Colpoda</u> <u>cucullus</u>			N.= Pseudomonas fluorescens	
BEERS C.D. 1933	<u>Didinium</u> <u>nasutum</u>	19°C	Knop 0,01% pH=6,8 V.=0,02 à 0,16cc	N.= Paramecium caudatum a. venant de se diviser non mis en expérience a. lavés C. toutes les 12h	1à8
	<u>Stylonychia</u> <u>pustulata</u>	18à20°C	Knop 0,01% V.=0,02 à 0,12cc	N.= Chlamydomonas a. lavés C. toutes les 24h	1à8
	autres animaux			N.= Espèces bacté- riennes différentes	
CALKINS G.N. 1926	<u>Uroleptus</u> <u>mobilis</u>		lg.	Isolement quotidien pendant 60 jours	1-2- 3 ou 4
CHEJFEC M. 1929	<u>Paramecium</u> <u>caudatum</u>			N.= Bacterium coli	
CUTLER D.W. CRUMP L.N. 1923	<u>Colpidium</u> <u>colpoda</u>		M. synthé- tique 0,5 à <sub>3</sub> 8,5mm <sup>3</sup>	a. non lavés	1à4
1925	<u>Colpidium</u> <u>colpoda</u>		idem	a. lavés	1à4
DARBY H.H. 1930	<u>P. caudatum</u> <u>P. aurelia</u> <u>Stylonychia</u> <u>pustulata</u>				
EIGENBRODT H.J. 1925	<u>Drosophila</u>				8à16
GARROD L.P. 1936	<u>Staphylo-</u> <u>coccus</u> <u>aureus</u>	37°C			



## Résultats

---

. Reproduction dépend de la concentration bactérienne. Vitesse de division réduite si nourriture trop dense ou trop diluée (enkystement).

.. V. A.

---

.  
} Vitesse de division identique dans les différentes conditions.

. Pas de substance allélocatalytique. 2° division non favorisée par la 1°.

. Vitesse de division dépend de l'espèce bactérienne.

. V. A.

---

. Vitesse de division plus grande avec 1 individu.

---

. Vitesse de division dépend du nombre de bactéries; vitesse réduite pour une concentration trop forte. Pas de division pour  $\lt 24000 \text{ B. coli/mm}^3$ .

---

.  
} Peu d'influence du volume et de l'effectif.

.  
} Résultats identiques.

---

. T. V.

. Pas d'effet allélocatalytique. Résultats observés par ROBERTSON sont dûs à un pH défavorable : modification du pH plus rapide avec un nombre initial d'animaux plus important.

---

. Développement plus important pour 8 à 16 individus que pour autres effectifs.

---

. Un grand inoculum se développe plus rapidement.

Auteurs	Espèces	Température	Milieux Volumes	Autres conditions	Nombre c animaux
GREENLEAF W.E. 1926	<u>P. caudatum</u> <u>P. aurelia</u> <u>Pleurotri- cha lanceo- lata</u> <u>Stylonychia</u> <u>pustulata</u>		Infusion foin V.=0,05à 1cc (2-5-20- 40 g.)	N.= Bactéries déve- loppées une nuit flacon ouvert	
GRIMWALD E. 1928	<u>Colpidium</u> <u>colpoda</u>		Infusion foin 0,08 <sub>3</sub> à 90 mm	C.=6-12-24 ou 48h. a. lavés	1-2-3
JAHN T.L. 1929	<u>Euglena</u>				
JOHNSON W.H. 1933	<u>Oxytricha</u> <u>fallax</u>	t° pièce ou 27°C	Infusion foin 1 à 4 g. (1cc=24, 18,16g. selon exp	N.=Pseudomonas fluorescens pH=6,6 à 7,2 a. de taille semblable a. lavés C.= 6 ou 24h.	1 ou 2
1936	<u>P. caudatum</u>	23 à 28°C	0,1 à 0,25cc	N.=Espèces bactériennes et levure Densités bactériennes de x et 5x C.= 48h.	1 et 5
MITCHELL W.H. 1929	<u>P. aurelia</u>	12-27°C  13-25°C	M. mixtes 0,25cc  60 à 80 cc	C.= 2h ou 2fois par jour selon température	1  masse
MYERS E.C. 1927	<u>P. caudatum</u>	21,5 à 27°C	0,5% infu- sion foin 2-4-8-16g (1cc=20g.)	Milieu non changé ou renouvelé C.= 3fois par jour (6-6-12h.) a. lavés	1-2-4-8



## Résultats

- 
- N.  
T.  
V. Division plus rapide dans certaines limites dans les grands volumes;  
Division retardée dans les faibles volumes ( accumulation des produits  
d'excrétion).  
A. 1 animal se divise plus vite que 2 pour un même volume.

- 
- N. Ralentissement de la division si la quantité de nourriture diminue.  
T.  
V. De 12,5 à 90 mm<sup>3</sup> → pas de différence pour 1-2 ou 3 animaux. Retard même.  
A. De 0,08 à 12,5 mm<sup>3</sup> → division plus lente que pour les volumes supérieurs.  
} Choc traumatique dû au lavage.

- 
- N.  
T.  
V. Effet désavantageux des petits volumes.  
A.

- 
- N. Ralentissement de la division en présence de trop de bactéries  
Pour 2 et 10g., 1a. et [b] optimale → pas de différence  
Pour 2 et 10g., 1a. et [b] /10 → vitesse diminuée mais supérieure pour 10g.  
T.  
V. 1 ou 2g., 1 ou 2a., pas de différence en 24h.; vitesse diminuée avec 2a. en 42h.  
A. 5 ou 10g., 1 ou 2a., → vitesse plus élevée pour 2a.  
1 à 40g., 1a. → vitesse plus élevée pour 1 et 2g.  
N. 1 et 5a. dans x et 5x → résultats très variables selon le temps de  
l'expérience.  
T.  
V.  
A.

- 
- N.  
T. Loi de Van't Hoff-Arrhenius vérifiée entre 12 et 25°C.  
V.  
A.  
N.  
T.  
V.  
A. Vitesse de division 20% plus grande que pour 1 animal.

- 
- N.  
T.  
V. 1 paramécie se divise au mieux dans 0,2 à 0,4cc.  
A. La vitesse de division diminue si la population augmente.  
Le maximum d'une population dépend de l'inoculum et du volume.





Auteurs	Espèces	Température	Milieux Volumes	Autres conditions	Nombre animaux
PESKETT G.L. 1925	Levure			Cultures stériles Cellules lavées ou non	
PETERSEN W.A. 1929	<u>P.caudatum</u>	chocs thermiques	Blé 1-2-4-5 20 g. (1cc=24g)	N.= ensemencement de 1/24cc de la culture bactérien ne précédente a. lavés ou non	1-2-4-
ROBERTSON T.B. 1921	<u>Enchelys</u> <u>farcimen</u>		Infusion foin	C.= 24 ou 48h.	1-2
1924	<u>Colpidium</u> sp. <u>Enchelys</u> <u>farcimen</u>		idem pH=7,7 M. synthé tique		
WOODRUFF L.L. 1911	<u>P.caudatum</u> <u>P.aurelia</u>		2-5-20- 40 g.	Milieu changé toutes les 24 ou 48h.	
1913	<u>Stylonychia</u> <u>Pleurotri-</u> <u>cha</u>				
YOCUM H.B. 1928	<u>Oxytricha</u> sp.	16-22- 24°C	0,05% beef extract 1g.=1/100 de cc	C.=24h.	



## Résultats

---

N.  
T.  
V.  
A. Pas d'effet allélocatalytique.

---

N.  
T. Relation  $t^\circ$  — polarité des cellules issues d'une division.  
26-30°C → La cellule antérieure se divise la 1<sup>o</sup>.  
13-17°C → Phénomène inverse  
V. } 1 ou 2a. dans 2 ou 4g. → pas de différence  
A. } 1-2-4-8a. dans 1-2-5g. → division plus rapide dans 5g.  
1-2-4a. dans 20g. → division plus rapide avec 4a.

---

N.  
T.  
V.  
A. Effet allélocatalytique: éa. se divisent plus vite qu'1a. dans le même volume ( 16 fois). Effet visible en présence de produits du métabolisme bactérien.

N.  
T.  
V.  
A. Idem. Agent accélérateur libéré pendant la division.

---

N.  
T.  
V. Plus le volume est important, plus la vitesse de division est rapide.  
A. Plus la population croît, plus la vitesse de division diminue.

N. T. V. A. Résultats identiques.

---

N.  
T.  
V. Vitesse de division 12 à 25% plus grande dans 4g. que dans 10g.  
A.

---

lumière sur *P. bursaria*.

b) les facteurs internes dûs au milieu ( pH , volume de liquide, densité bactérienne,...) interviennent surtout sur l'état physiologique de l'animal et de ce fait leur action est directe sur les temps de génération. Selon les conditions expérimentales que nous nous sommes fixées, cet état physiologique a été plus ou moins perturbé et c'est pourquoi dans les conditions extrêmes nous avons observé soit des temps de génération très longs, soit une mortalité élevée ( effet associé du pH et de la dilution bactérienne).

c) enfin pour les facteurs intrinsèques, propres à chaque protozoaire, nous avons toujours utilisé le même clone de paramécies dont l'état nucléaire pourrait cependant être différent en raison de conjugaisons intraclonales et d'hémixie.

Dans notre étude nous n'avons envisagé qu'un nombre limité de facteurs et nous avons pu noter que leur influence était variable. C'est ainsi que la quantité bactérienne, le volume de liquide, le rang de génération, sont trois facteurs particulièrement importants. Les deux premiers facteurs correspondent plus précisément à la même notion, la densité bactérienne, et c'est celui qui intervient en premier lieu. Par contre le pH et le milieu de culture utilisés paraissent jouer un rôle moins important.

E.	II <sub>2-1</sub>	II <sub>2-1</sub>	II <sub>2-1</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>2</sub>	II <sub>2-2</sub>	II <sub>2-1</sub>	II <sub>2-1</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>1</sub>	II <sub>2-2</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>1</sub>	II <sub>2-2</sub>	II <sub>2-1</sub>	II <sub>1</sub>	II <sub>2-1</sub>	II <sub>1</sub>	I <sub>1</sub>
1°G.	a	a	a	a	a	1606	1457	a	2714	1726	1668	1225	1786	1603	1500	1625	1553	1678	1446	1468
						1252	1448		2528	1584	1410	1107	1730	1387	1165	1347	1349	1137	1257	1250
2°G.	a	a	a	a	a	994	999	a	1400	1090	972	931	1255	903	1109	850	850	992	849	869
						818	871		1333	950	831	703	1118	813	698	665	770	794	770	767
b/mm <sup>3</sup> .	8	28	38	45	75	134	140	190	220	420	420	490	660	660	669	695	715	950	1430	1530

I <sub>2</sub>	II <sub>1</sub>	II <sub>2-2</sub>	II <sub>1</sub>	II <sub>1</sub>	II <sub>2-2</sub>	II <sub>2-1</sub>	II <sub>2-1</sub>	IV	II <sub>2</sub>	II <sub>2-2</sub>	II <sub>2-2</sub>	II <sub>2-1</sub>	II <sub>2-2</sub>	II <sub>2-1</sub>	II <sub>2-2</sub>
1628	1473	1080	1725	1696	1322	1473	1232	1582	1475	1077	1272	1173	1069	1022	1036
1448	1239	991	1342	1414	1034	1326	1220	1496	1373	996	1072	1170	931	954	904
912	850	891	890	846	970	813	772	1012	782	964	912	776	1048	884	972
797	787	666	805	773	858	683	705	938	774	735	734	707	860	784	812
1530	1660	2455	2860	3330	3345	3460	4730	5500	6660	12270	16725	17330	61350	83635	306670

Tableau comparatif des densités bactériennes.

a. = tous les individus mis en expérience sont morts avant de se diviser.  
 E. = références des expériences.  
 G. = 3 générations.  
 b/mm<sup>3</sup>. = nombre de bactéries contenues dans 1mm<sup>3</sup>.  
 Les temps, exprimés en mn, pour chaque génération correspondent aux limites de l'intervalle de confiance.

Tableau 16.

Bien que nous n'ayons pu envisager toutes les conditions expérimentales, à la limite, il semblerait possible d'obtenir la division d'un seul individu dans un volume important à condition que la densité bactérienne puisse être contrôlée.

Pour préciser cette notion il est intéressant de comparer les expériences effectuées avec une seule paramécie et dans un même milieu ( laitue) en les ramenant à la quantité de bactéries contenues par  $\text{mm}^3$ .

C'est ce que nous avons fait dans le tableau (16), dans lequel nous avons porté l'intervalle de confiance des moyennes des temps pour la 1<sup>o</sup> génération et la 2<sup>o</sup> génération et le nombre de bactéries contenues dans 1  $\text{mm}^3$  correspondant à chacune des expériences.

Dans l'ensemble, pour la 1<sup>o</sup> génération, les différents temps sont progressivement plus courts à mesure que la densité bactérienne par  $\text{mm}^3$  augmente. Pour la 2<sup>o</sup> génération, jusque 10 000 b/ $\text{mm}^3$  les temps sont approximativement semblables. Au-delà, ils sont légèrement plus élevés et la différence 1<sup>o</sup>-2<sup>o</sup> générations est peu importante.

Nous pouvons ainsi faire deux remarques :

- d'une part l'intervalle de confiance autour de la moyenne est plus important pour la 1<sup>o</sup> division que pour la 2<sup>o</sup>.

- d'autre part pour des densités bactériennes inférieures à 10 000 b/ $\text{mm}^3$  les vitesses de division sont plus élevées pour la 1<sup>o</sup> génération que pour la 2<sup>o</sup> génération.

Ceci tend à prouver l'importance d'effectuer des comptages bactériens pour chaque expérience : il est alors possible de comparer les résultats observés en fonction de la densité bactérienne, par suite de voir quel est l'effet du facteur considéré, et de comparer entre eux les résultats de différentes expériences.

Ces comptages nous permettent aussi d'expliquer les temps de génération très longs et la mortalité constatée dans certaines expériences, les densités bactériennes étant alors inférieures à  $250 \text{ b/mm}^3$ .

Le phénomène de la division chez la paramécie est donc en rapport avec un seuil bactérien minimum qui d'après nos résultats semble se situer aux alentours de  $250 \text{ b/mm}^3$  compte tenu de l'imprécision résultant des variations aléatoires (homogénéisation imparfaite du tube-mère de suspension bactérienne, dilutions, ...). En outre dans le cadre de l'étude de l'effet du milieu de culture utilisé, nous avons pour une même densité bactérienne observé des temps de génération très différents selon le milieu; celui-ci peut avoir une action sur l'état physiologique de la paramécie, mais il a une action, indirecte, selon qu'il favorise plus ou moins le développement des bactéries. Ainsi le milieu de Carter s'est révélé être le moins favorable aux bactéries : les flacons renfermant ce milieu, laissés ouverts avec des flacons de milieu de laitue ou de blé se souillent beaucoup moins vite que les autres. Il en est de même dans les loges contenant ce milieu et où se divisent

les paramécies. Or ce milieu est très vite apparu comme ayant permis d'obtenir les temps de génération les plus courts. Dans ce cas nous pourrions peut-être donner une explication pour les temps très longs des premières générations, simplement par les conditions expérimentales : les paramécies ne sont pas lavées et amènent donc alors une certaine quantité de bactéries étrangères pour l'expérience et variables en raison du contrôle imparfait des tubes de culture à partir desquels elles sont prélevées. Progressivement cet "apport bactérien" devient équivalent pour toutes les paramécies : nous observons alors des intervalles de confiance autour de la moyenne plus petits et des temps de génération semblables entre eux.

Bien que nous ayons toujours essayé de contrôler de façon la plus stricte les facteurs expérimentaux, il n'en reste pas moins que les erreurs faites sur le contrôle de ces facteurs et la variabilité individuelle de chaque paramécie se traduisent par l'observation de temps de génération différents pour chaque individu et pour une même expérience. Cependant lorsque l'ensemble des facteurs est contrôlé au mieux, on peut avoir une idée de l'importance de la variabilité résiduelle, variabilité due aux facteurs non contrôlés : celle-ci est en effet assez faible ce qui se traduit par l'observation de temps de génération équivalents, c'est-à-dire un synchronisme de division chez *P. caudatum*. Nous n'avons pu cependant obtenir un synchronisme aussi net que chez *Tetrahymena pyriformis*,

G.	N.	n.	s (%)
1	17	8	47,05.
2	32	13	40,62
3	35	18	51,42
4	10	7	70
5	18	16	88,88
6	16	11	68,75
7	25	22	88
8	18	15	83,33
9	21	13	61,90
10	25	22	88
11	26	25	96,15
12	27	22	81,48
13	26	21	80,76
14	19	17	89,47
15	18	19	72,22

$$S = \frac{\sum n}{\sum N} = 73 \%$$

Pourcentage de synchronisme de division.

G. = générations.

N. = nombre total de paramécies.

n. = nombre de paramécies ayant effectué leur division dans la période

$$\bar{m} \pm 1 \text{ h}$$

( $\bar{m}$  = moyenne des temps de génération).

s. (%) = pourcentage de synchronisme de division pour chaque génération.

$$s = \frac{n}{N}$$

S. = pourcentage de synchronisme de division pour l'ensemble des générations.



mais nos résultats sur milieu de Carter apparaissent plus favorables que ceux obtenus par J. DUPY ( 1969). En effet cet auteur note un synchronisme de division de 30% en l'espace de 3 heures d'observation.

Nous avons dénombré pour chaque génération le nombre de paramécies qui se sont divisées dans un temps de  $\pm 1$  heure par rapport à la moyenne des temps de génération ( Tableau 17). Le pourcentage moyen de synchronisme est de 73% et les pourcentages les plus faibles sont observés dans les premières générations ( ce qui correspondrait à l'effet dû à l'apport initial bactérien : contrôle insuffisant des facteurs).

Le contrôle satisfaisant des conditions expérimentales nous a permis d'obtenir aisément le clonage des spirostomes : les difficultés rencontrées par différents auteurs étaient de toute évidence dues à un contrôle imparfait des différents facteurs et en particulier de la densité bactérienne.

En ce qui concerne le modèle mathématique utilisé, nous avons déjà donné les raisons pour lesquelles nous avons retenu le modèle suivant :

$$X = \mu + \alpha + \beta + \epsilon$$

Ce modèle s'est avéré généralement satisfaisant malgré l'existence, dans quelques cas d'une corrélation entre les individus père-fils. Il nous montre donc que l'effet des différents facteurs sur la vitesse de division d'un individu est additif. C'est ainsi que dans chaque expérience où l'on tient compte d'un "traitement" et du rang de génération le modèle s'écrira :

$$X = \mu + \alpha + \beta + \varepsilon$$

où  $\mu$  est une valeur constante et fixe pour l'ensemble de toutes les données, qui est la moyenne générale du groupe.

$\alpha$  est l'effet dû au "traitement", effet constant pour les individus soumis au même traitement.

$\beta$  est l'effet dû au "rang de génération", effet constant pour un même rang.

$\varepsilon$  est l'"erreur" individuelle due aux facteurs non contrôlés.

Dans les quelques cas où nous avons mis en évidence l'existence d'une liaison entre la vitesse de division de l'individu-père et des individus-fils, ce modèle s'écrit alors :

$$X = \mu + \alpha + \beta + x + \varepsilon$$

dans lequel  $x$  représente cette liaison, c'est-à-dire l'influence de l'individu-père.

Ces différentes considérations relatives aux modèles expérimentaux, à l'influence des facteurs et la nécessité de leur parfait contrôle, au modèle mathématique utilisé enfin, peuvent expliquer les divergences des résultats obtenus par les différents auteurs ayant étudié le phénomène de la division chez les Protozoaires.

Parmi les travaux publiés que nous avons résumés dans des tableaux bibliographiques concernant ce problème, nous pouvons faire un certain nombre de remarques :

- en ce qui concerne la mise en expérience, celle-ci ne s'effectue pas juste après la division des individus : le choix consiste à retenir les animaux ayant une taille semblable par exemple ( BEERS,1933; JOHNSON,1933). Or nous savons que pour *P. caudatum* , en particulier ( MIZUNO,1926), la "taille adulte" est pratiquement acquise au cours de la première heure qui suit la division et que la modification de taille (largeur, longueur) précédant la division débute environ 1 heure aussi avant celle-ci. Ceci perturbe donc de façon non négligeable la détermination des temps de génération.

- les individus ne sont jamais réisolés après chaque division mais comptés à intervalles fixes et variables selon les auteurs ( BEERS,1933; GRIMWALD,1928; JOHNSON,1933,1936; MYERS,1927; ...). Dans ces conditions il est normal d'observer des temps de génération très différents entre les expériences car plus les comptages sont espacés et moins souvent le milieu est changé ou même

simplement "rénové" ( WOODRUFF,1911), plus vite celui-ci est souillé et ne convient plus aux besoins requis par les individus.

- pour l'effet nourriture, les travaux ont porté essentiellement sur la recherche de l'espèce bactérienne qui permettait d'obtenir des divisions plus rapides ( BEERS,1933; JOHNSON,1936; PHILLIPS,1922). Seul CHEJFEC (1929) sur *P. caudatum* a considéré ce problème d'un point de vue quantitatif et a déterminé que la concentration minimale de 24 000 *Bacillus coli* par mm<sup>3</sup> permettait une division pour les individus.

Les autres auteurs n'ont jamais déterminé cette quantité de nourriture : d'une part pour chaque expérience aucun comptage bactérien n'a été effectué, d'autre part les milieux de suspension bactérienne n'ont jamais été contrôlés, l'enrichissement d'un milieu stérile étant réalisé en laissant les flacons ouverts pendant une nuit et ceux-ci conservés ensuite à la température ordinaire : le nombre de bactéries varie donc au cours des expériences; enfin différentes suspensions bactériennes sont utilisées au cours d'une même expérience. Dans la mesure où d'après nos résultats nous avons pu mettre en évidence l'effet primordial joué par la nourriture il est évident que des résultats très variables soient observés.

- l'étude de l'effet du volume ( BEERS,1933; CUTLER et CRUMP,1923, 1925; GREENLEAF,1926; GRIMWALD,1928;...) a été envisagé en même temps que l'effet du nombre de

protozoaires ( effet groupe), et seul ROBERTSON ( 1921, 1924) sur *Enchelys farcimen*, *Colpidium* sp. a pu montrer cet effet. Il existerait une substance favorisant la division ( effet allélocatalytique) : ainsi 2 individus se divisent plus vite qu'un seul dans le même volume. Cette substance ne serait libérée que pendant la période de division et lorsqu'elle est présente en trop grande quantité son effet est alors inversé : les cultures âgées cessent de se développer. Cette hypothèse expliquerait aussi le fait de toujours observer une période de latence même avec un grand nombre initial d'individus ( le réisolement apporte un peu de milieu antérieur qui contient une forte proportion de cette substance).

Dans nos expériences nous n'avons pu montrer de façon évidente l'existence de cette substance. De plus les hypothèses de ROBERTSON ne peuvent expliquer l'observation des secondes générations plus courtes quel que soit le nombre d'animaux, ceux-ci étant réisolés dans tous les cas après division. L'effet allélocatalytique observé par ROBERTSON ne serait peut-être pas dû à la libération d'une substance dans le milieu par les individus au cours de leur division mais ainsi que DRZEWINA et BOHN ( 1920) sur *Convoluta* et nous-mêmes ( graphique 10) l'avons constaté à la mise en jeu d'un "procédé" pour subsister vis-à-vis de conditions défavorables.

Un contrôle insuffisant des différents facteurs ( pH, nourriture,...) intervenant sur la division d'un

individu contribuerait à placer les animaux dans des conditions néfastes : ceci pourrait déclencher une réaction de défense qui se traduirait par une accélération de la division afin d'obtenir rapidement une "population" ou de rendre aussi le milieu favorable dans un délai assez bref

( DARBY, 1930 sur *P. caudatum*, *P. aurelia* et *Stylonychia pustulata*).

- enfin certains autres facteurs tels que pH, température, ..., ont également été étudiés. Pour la température, nous avons toujours travaillé à  $19^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Pour le pH, nos résultats n'ont pas mis en évidence un effet important concernant ce facteur.

## CONCLUSION GENERALE

L'étude de différents facteurs qui influencent les temps de génération montre que :

- d'une part les facteurs exercent une plus ou moins grande action sur la division et c'est la densité bactérienne et le rang de génération qui agissent le plus fortement sur la division d'un individu isolé. Pour le rang de génération, le temps de la 1<sup>o</sup> division est en général plus long que pour les autres.

- d'autre part il est nécessaire de contrôler de façon la plus rigoureuse possible ces facteurs; dans ce cas il est mis en évidence un synchronisme de division chez *P. caudatum*. En outre ce contrôle rigoureux nous a permis d'effectuer le clonage de *S. minus*.

- enfin, pour l'effet groupe, ce phénomène n'apparaît pas critique d'après nos résultats; il semblerait étroitement lié à la quantité bactérienne.

Afin de le préciser, il faudrait alors envisager son étude sur des effectifs plus importants et dans des conditions expérimentales parfaitement contrôlées.

## BIBLIOGRAPHIE

- BARKER, H.A. et TAYLOR, C.V. 1931. A study of the condition of encystment of *Colpoda cucullus*. *Physiol. Zoöl.*, 4, 620-34.
- BEERS, C.D. 1933. The relation of density of population to rate of reproduction in the ciliates *Didinium nasutum* and *Stylonychia pustulata*. *Arch. f. Protistenk.*, 80, 36-63.
- BISHOP, A. 1923. Some observations upon *Spirostomum ambiguum* (Ehrenberg). *Quart. J. micr. Sci.*, 67, 391-434.
- BLATTNER, H. 1926. Beiträge zur Reizphysiologie von *Spirostomum ambiguum* (Ehrenberg). *Arch. f. Protistenk.*, 53, 253-311.
- BOHN, G. et DRZEWINA, A. 1920. Variations de la sensibilité à l'eau douce des *Convoluta* suivant les états physiologiques et le nombre des animaux en expérience. *C. R. Acad. Sci.*, 171, 1023-25.
- CALKINS, G.N. 1933. The Biology of the Protozoa. Philadelphia : Lea and Febiger, 1-607.
- CALKINS, G.N. et SUMMERS, F.M. 1941. Protozoa in Biological Research. New-York, Columbia University Press., 1-1148.
- CHEJFEC, M. 1929. Die Lebensdauer von *Paramecium caudatum* in Abhängigkeit von der Nahrungsmenge. *Acta Biol. Exptl.*, 4, 73-118.
- CUTLER, D.W. et CRUMP, L.M. 1923. The rate of reproduction in artificial cultures of *Colpidium colpoda*. *Biochem. J.*, 17, 174-86. (Part. I).
- CUTLER, D.W. et CRUMP, L.M. 1923. The rate of reproduction in artificial cultures of *Colpidium colpoda*. *Biochem. J.*, 17, 878-86. (Part. II).
- CUTLER, D.W. et CRUMP, L.M. 1923. The rate of reproduction in artificial cultures of *Colpidium colpoda*. *Biochem. J.*, 18, 905-12. (Part. III).



CUTLER, D.W. et CRUMP, L.M. 1925. The influence of washing upon the reproductive rate of *Colpidium colpoda*. *Biochem. J.*, 19, 450-53.

DARBY, H.H. 1930. Studies on growth acceleration in *Protozoa* and *Yeast*. *J. Exp. Biol.*, 7, 308-16.

DAWSON, J.A. et RICHARDS, O.W. 1927. The analysis of the division rates of ciliates. *J. Gen. Physiol.*, 10, 853-58.

DIMITROWA, A. 1932. Die fördernde Wirkung der Exkrete von *Paramecium caudatum* Ehrbg. auf dessen Teilungsgeschwindigkeit. *Zool. Anz.*, 100, 127-32.

DRZEWINA, A. et BOHN, G. 1921. Variations de la sensibilité aux agents nocifs avec le nombre des animaux traités. *C. R. Acad. Sci.*, 172, 485-87.

DRZEWINA, A. et BOHN, G. 1921. La défense des animaux groupés vis-à-vis des agents nocifs. *C. R. Acad. Sci.*, 172, 779-81.

DUPY, J. 1969. Contribution à l'étude des variations des teneurs en ADN nucléaire chez les paramécies, dans les conditions naturelles et expérimentales. *Thèse. Clermont-Ferrand*. 1-158.

EIGENBRODT, H.J. 1925. The somatic effects of certain environmental conditions on a homozygous race of *Drosophila*. *Ph. D. Thesis in University of Illinois Library*.

ESTEVE, J.C. 1966. Facteurs de groupement en anneau chez *Paramecium*. *Protistologica*, T II4, 95-100.

GARROD, L.P. 1936. Allelocatalysis. *J. Path. and Bact.*, 42, 535-36.

GENERMONT, J. 1966. Recherches sur les modifications durables et le déterminisme de certains caractères quantitatifs chez *Paramecium aurelia*. *L'Expansion-Editeur*. 1-67.

### III

GREENLEAF, W.E. 1926. The influence of volume of culture media and cell proximity on the rate of reproduction of *Infusoria*. *J. Exp. Zool.*, 46, 143-68.

GRIMWALD, E. 1928. Recherches sur les facteurs du développement des cultures de micro-organismes. L'action de la substance allélocatalytique apparaît-elle dans les cultures de *Colpidium colpoda*? *Acta Biol. Exp.*, 3, 81-100.

HALLER, G. (de) 1965. Sur l'hérédité de caractéristiques morphologiques du cortex chez *Paramecium aurelia*. *Arch. de Zool. Exp. et Gén.*, T 105<sub>2</sub>, 169-78.

JAHN, T.L. 1929. Studies on the physiology of the euglenoid flagellates. I. The relation of the density of population to the growth rate of *Euglena*. *Biol. Bull.*, 57, 81-106.

JAMES, T.W. 1960. Controlled division synchrony and growth in protozoan microorganisms. *Ann. New-York Acad. Sci.*, 90<sub>2</sub>, 550-64.

JOHNSON, W.H. 1933. Effects of population density on the rate of reproduction in *Oxytricha*. *Physiol. Zool.*, 6, 22-54.

JOHNSON, W.H. 1936. Studies on the nutrition and reproduction of *Paramecium*. *Physiol. Zool.*, 9, 1-14.

KITCHING, J.A. 1939. The effects of lack oxygen and of low oxygen tensions on *Paramecium*. *Biol. Bull.*, 77, 339-53.

LISON, L. 1958. Statistique appliquée à la biologie expérimentale. *Editions Gauthier-Villars*.

Mac KENDRICK et PAI. 1911. The rate of multiplication of micro-organisms. A mathematical study. *Proc. Roy. Soc. Edinburgh*, 31, 649.

#### IV

- MAUPAS, E. 1888. Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés. *Arch. de Zool. Exp. et Gén.*, 6, 165-277.
- MITCHELL, W.H. 1929. The division rate of *Paramecium* in relation to temperature. *J. Exp. Zool.*, 54, 383-410.
- MIZUNO, F. 1927. Sur la croissance de *Paramecium caudatum*. *Sci. Rep. Tôhoku Univ. 4th Ser.*, 2, 367-81.
- MONOD, J. et TEISSIER, G. 1935. La concentration de l'aliment, facteur quantitatif de l'accroissement des populations d'Infusoires. *C. R. Acad. Sci.*, 202, 162.
- MYERS, E.C. 1927. Relation of density of population and certain other factors to survival and reproduction in different biotypes of *Paramecium caudatum*. *J. Exp. Zool.*, 49, 1-43.
- PESKETT, G.L. 1925. Studies on the growth of *Yeast*. I. The influence of the volume of culture medium employed. *Biochem. J.*, 19, 466-73.
- PESKETT, G.L. 1925. Studies on the growth of *Yeast*. II. A further note on allelocatalysis. *Biochem. J.*, 19, 474-76.
- PETERSEN, W.A. 1929. The relation of density of population to rate of reproduction in *Paramecium caudatum*. *Physiol. Zool.*, 2, 221-54.
- PHILLIPS, R.L. 1922. The growth of *Paramecium* in infusions of known bacterial content. *J. Exp. Zool.*, 36, 135-83.
- ROBERTSON, T.B. 1921. Experimental studies on cellular multiplication. I. The multiplication of isolated *Infusoria*. *Biochem. J.*, 15, 595-611.

- ROBERTSON, T.B. 1921. Experimental studies on cellular multiplication. II. The influence of mutual contiguity upon reproductive rate and the part played therein by the "X-substance" in bacterized infusions which stimulates the multiplication in *Infusoria*. *Biochem. J.*, 15, 612-19.
- ROBERTSON, T.B. 1924. The nature of the factors which determine the duration of the period of lag in cultures of *Infusoria*. *Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci.*, 1, 105-20.
- ROBERTSON, T.B. 1924. The influence of washing upon the multiplication of isolated *Infusoria* and upon the allelocatalytic effect in cultures initially containing two *Infusoria*. *Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci.*, 1, 151-73.
- ROBERTSON, T.B. 1924. Allelocatalytic effect in cultures of *Colpidium* in hay infusion and in synthetic medium. *Biochem. J.*, 18, 1240-47.
- SCHERBAUM, O.H. 1960. Synchronous division of micro-organism. *Ann. Rev. Microbiol.*, 14, 283-310.
- SCHWARTZ, D. 1963. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. *Editions médicales Flammarion*.
- SESHACHAR, B.R. et PADMAVATHI, P.B. 1956. The cytology of a new species of *Spirostomum*. *J. Protozool.*, 3, 145.
- SPECHT, H. 1935. The culture of *Spirostomum ambiguum*. *Arch. f. Protistenk.*, 85, 150.
- SYNGAJEWSKAJA, K. 1926. Individual growth of *Paramecium caudatum*. *Mem. Acad. Sci. Ukrain. Socialistic Rep.*, 2, 437-42.

VI

- VANDERMEER, J.H. 1969. The competitive structure of communities: an experimental approach with *Protozoa*. *Ecology U.S.A.*, 50<sub>3</sub>, 362-71.
- VIVIER, E. 1960. Contribution à l'étude de la conjugaison chez *Paramecium caudatum*. *Ann. Sci. Nat. Zool.*, 12<sub>2</sub>, 387-506.
- WICHTERMAN, R. 1953. The biology of *Paramecium*. *The Blakiston Company Inc. New-York, Toronto*, 1-527.
- WOODRUFF, L.L. 1911. The effect of culture medium contaminated with the excretion products of *Paramecium* on its rate of reproduction. *Proc. Soc. for Exper. Biol. and Med.*, 8, 100.
- WOODRUFF, L.L. 1911. The effect of excretion products of *Paramecium* on its rate of reproduction. *J. Exp. Zool.*, 10, 557-81.
- WOODRUFF, L.L. 1913. The effect of excretion products of *Infusoria* on the same and on different species, with special reference to the protozoan sequence in infusions. *J. Exp. Zool.*, 14, 575-82.
- YOCUM, H.B. 1927. The effect of quantity of culture medium on the division rate of *Oxytricha*. *Anat. Rec.*, 37, 144.
- YOCUM, H.B. 1928. The effect of the quantity of culture medium on the division rate of *Oxytricha*. *Biol. Bull.*, 54, 410-17.

