

N° d'ordre : 1026

50376
1983
211-2

50376
1983
211-2

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

THÈSE

présentée pour l'obtention du titre de

**DOCTEUR EN 3^{ème} CYCLE EN
BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALE**

par

Marc MEREAU

**UTILISATION DE TETRAHYMENA PYRIFORMIS SYNCHRONE
EN ECOTOXICOLOGIE : CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EFFETS DU
THIRAME (FONGICIDE DITHIOCARBAMATE) SUR
L'ULTRASTRUCTURE CELLULAIRE**



Soutenu le 28 janvier 1983 devant la Commission d'Examen

Jury :	Président :	M. E. VIVIER
	Rapporteur :	M. D. DIVE
	Examineurs :	M. A. DHAINAUT
		M. H. LECLERC
		M. P. DE PUYTORAC

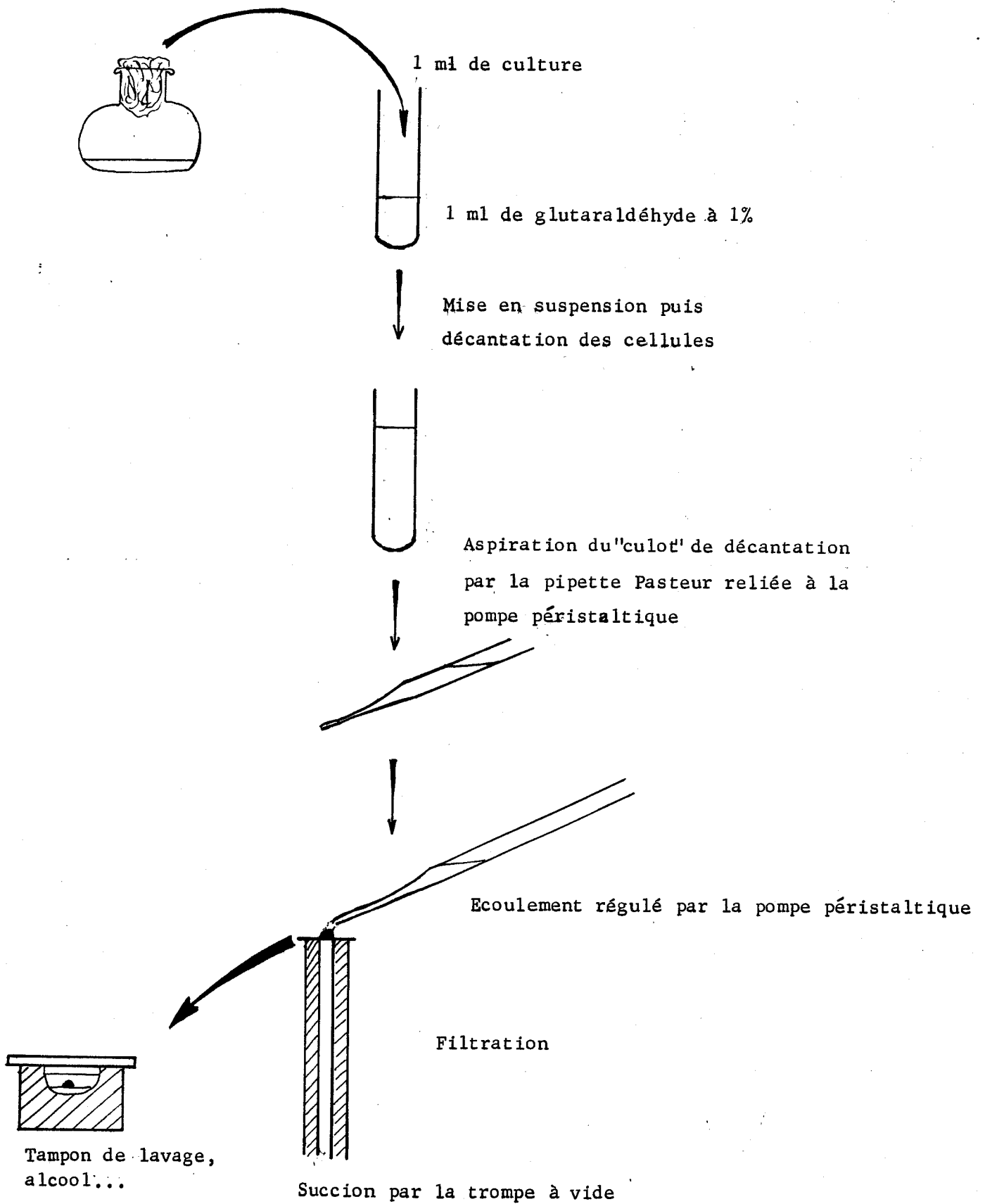


Fig. 3 : RASSEMBLEMENT DES CILIES
Mode opératoire

FIG. 4 a et 4 b

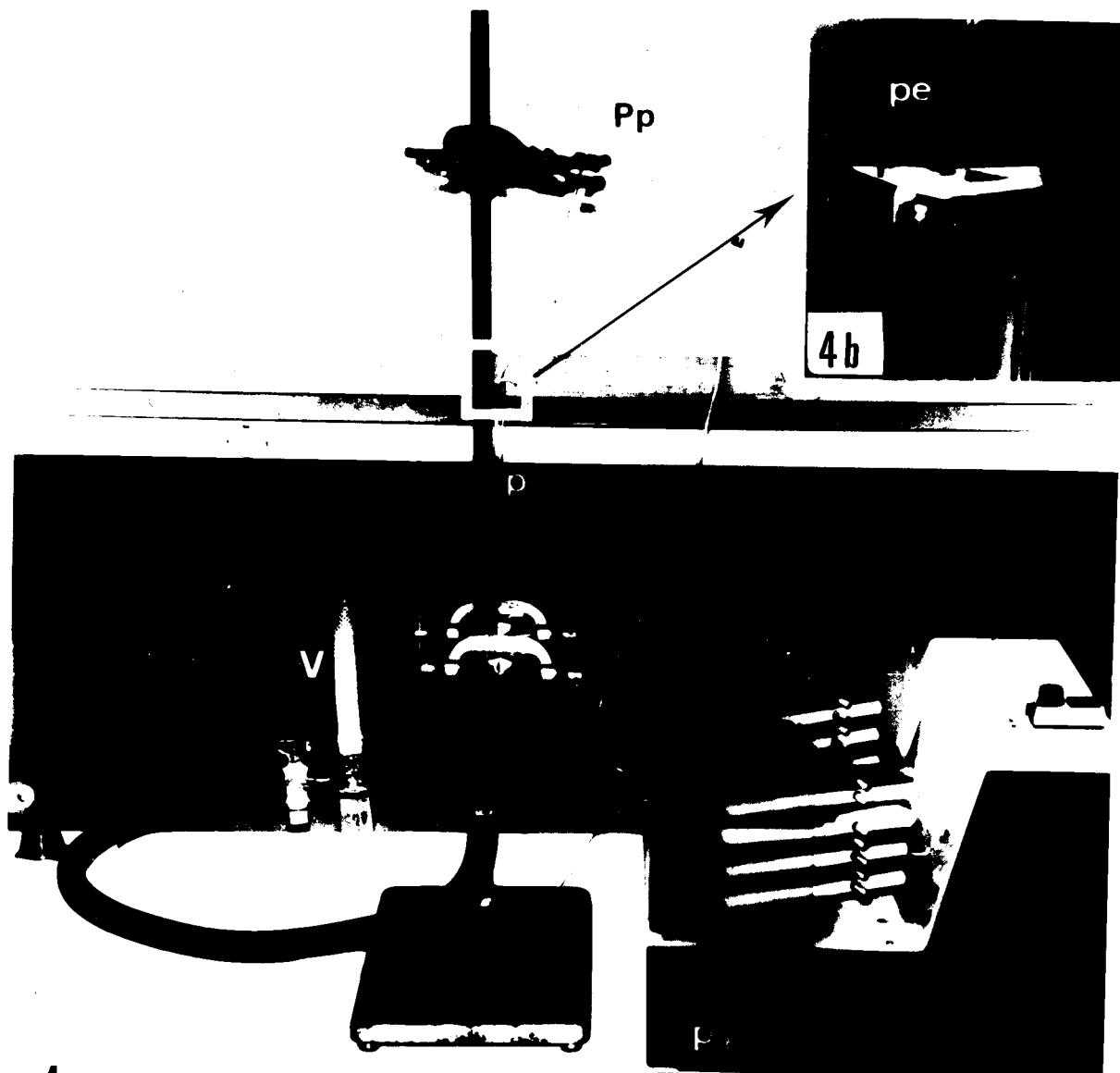
Système de rassemblement des Ciliés.

F : filtre ; p : pipette ; pp : pompe
péristaltique ; pe : culot ; Pp : pipet-
te Pasteur ; V : pompe à vide.

FIG. 4 c

Coupe semi-fine. Remarquer la densité
cellulaire du culot obtenu grâce au sys-
tème décrit à la FIG. 4 a et b.





4a



4c

FIG. 5

Effets du thirame sur la division synchrone
de Tetrahymena pyriformis GL :

— Témoin
- - - 0,25 $\mu\text{g/ml}$ de T.M.T.D.
●●● 1,25 $\mu\text{g/ml}$ de T.M.T.D.
→ moment d'addition de toxique

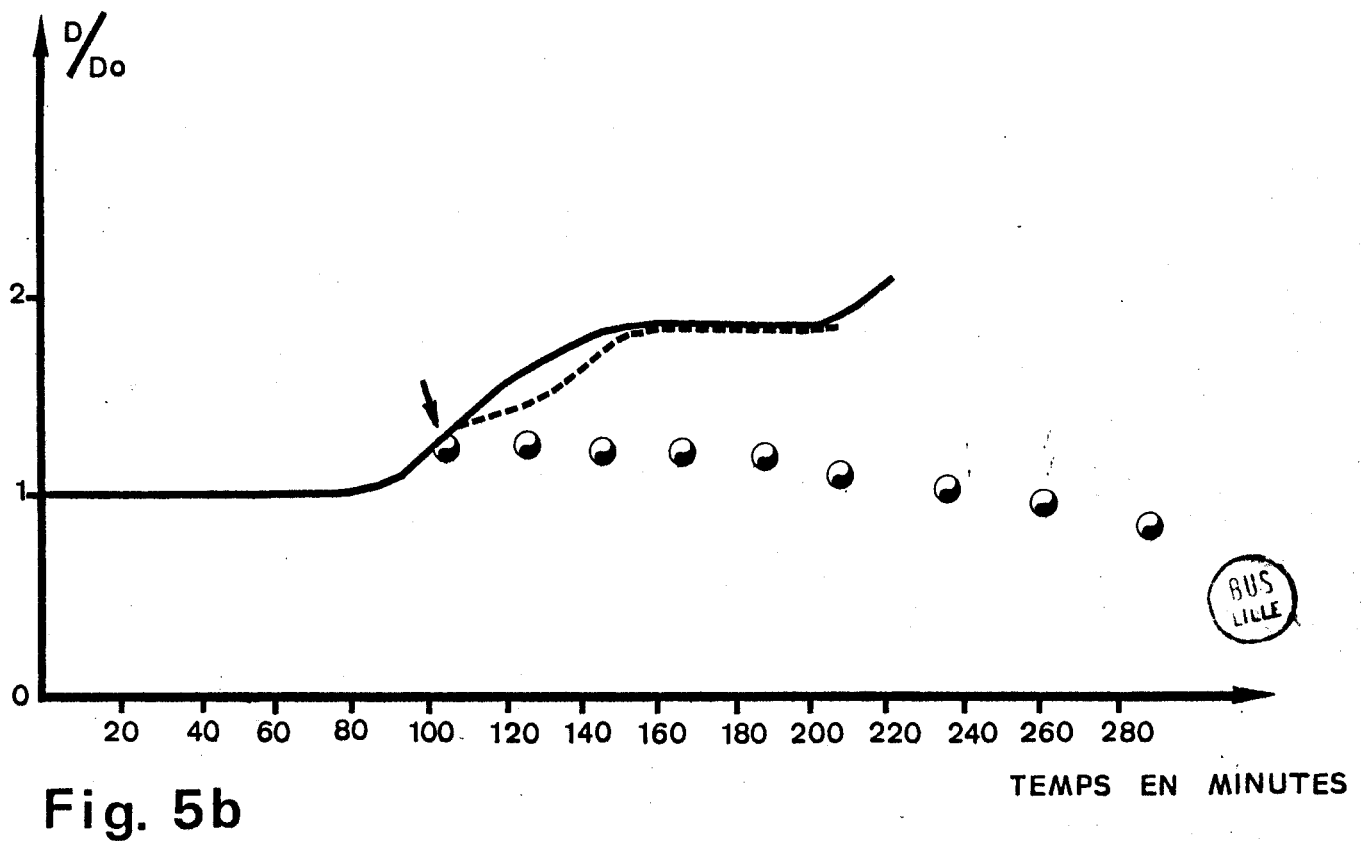
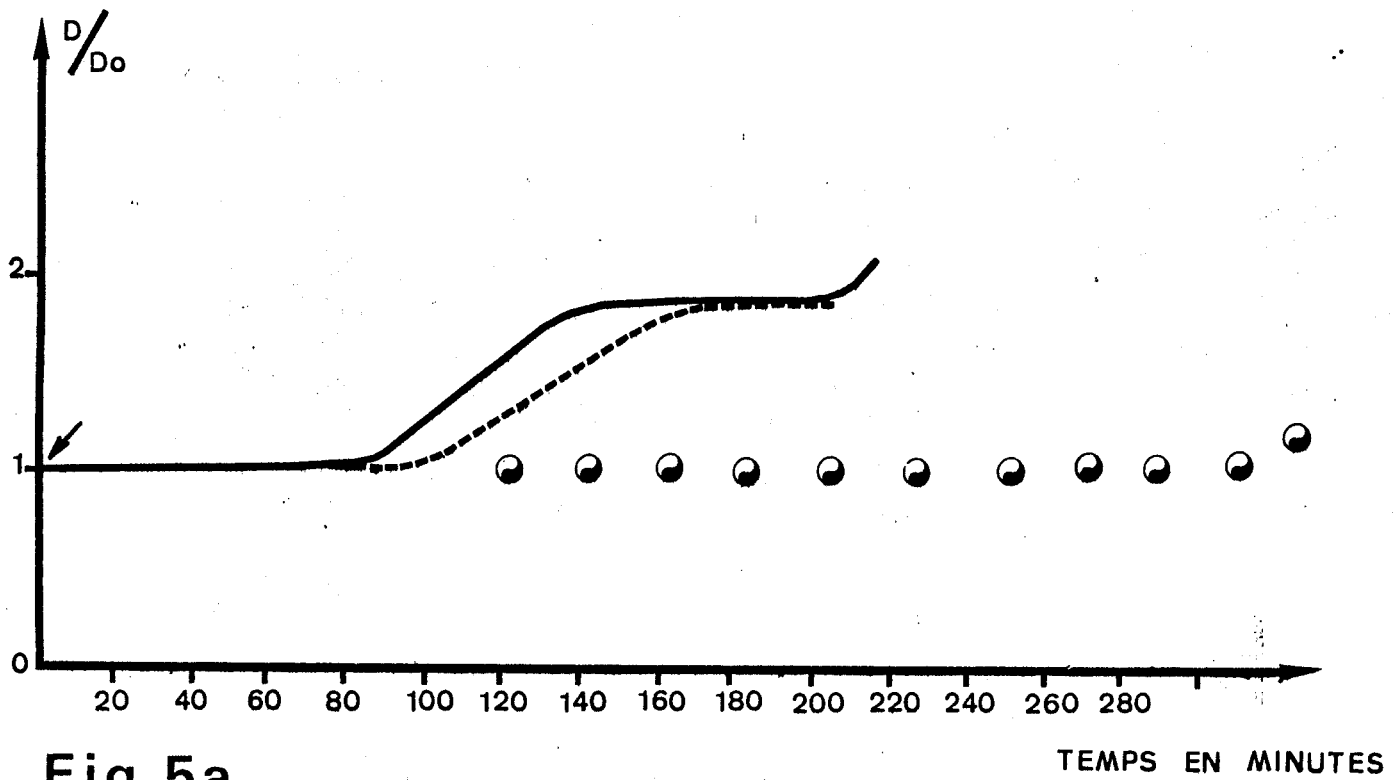


FIG.6: ultrastructure de Tetrahymena au temps T10
en absence de toxique.

6a: cb:cavité buccale;

cy:cytoplasme;

mi:mitochondrie;

n:noyau;

vad:vacuole digestive;

6b: c:chromatine;

en:enveloppe nucléaire;

nu:nucléoles

Noter l'aspect granulaire du cytoplasme (→)

*Sur les clichés, la barre noire indique l'échelle.
En l'absence d'indication chiffrée, elle corres-
pond à un micron.*



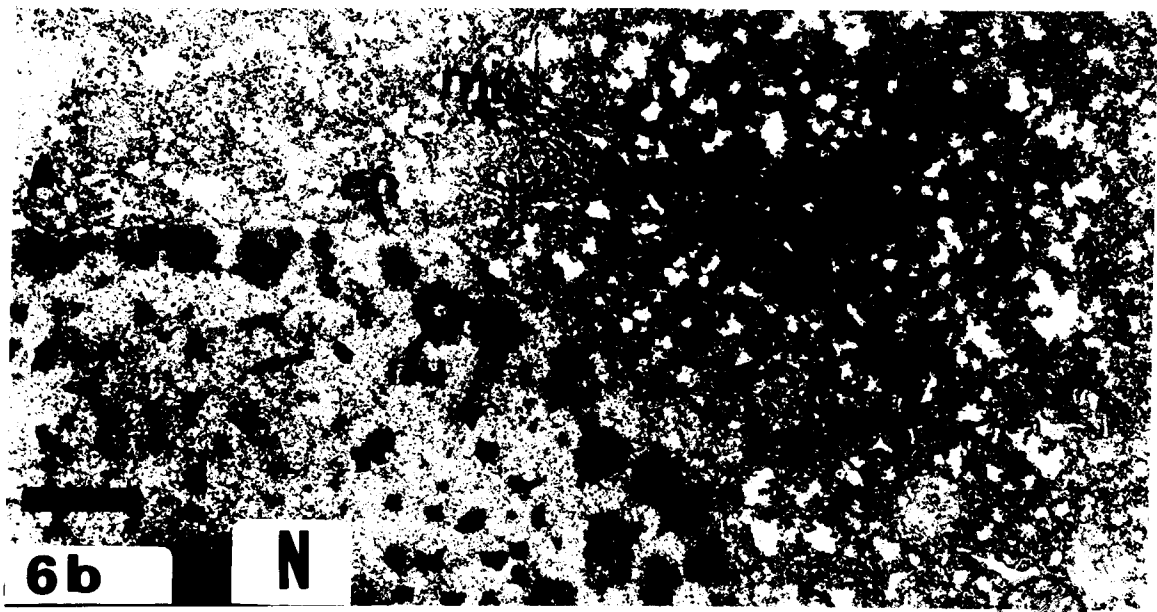
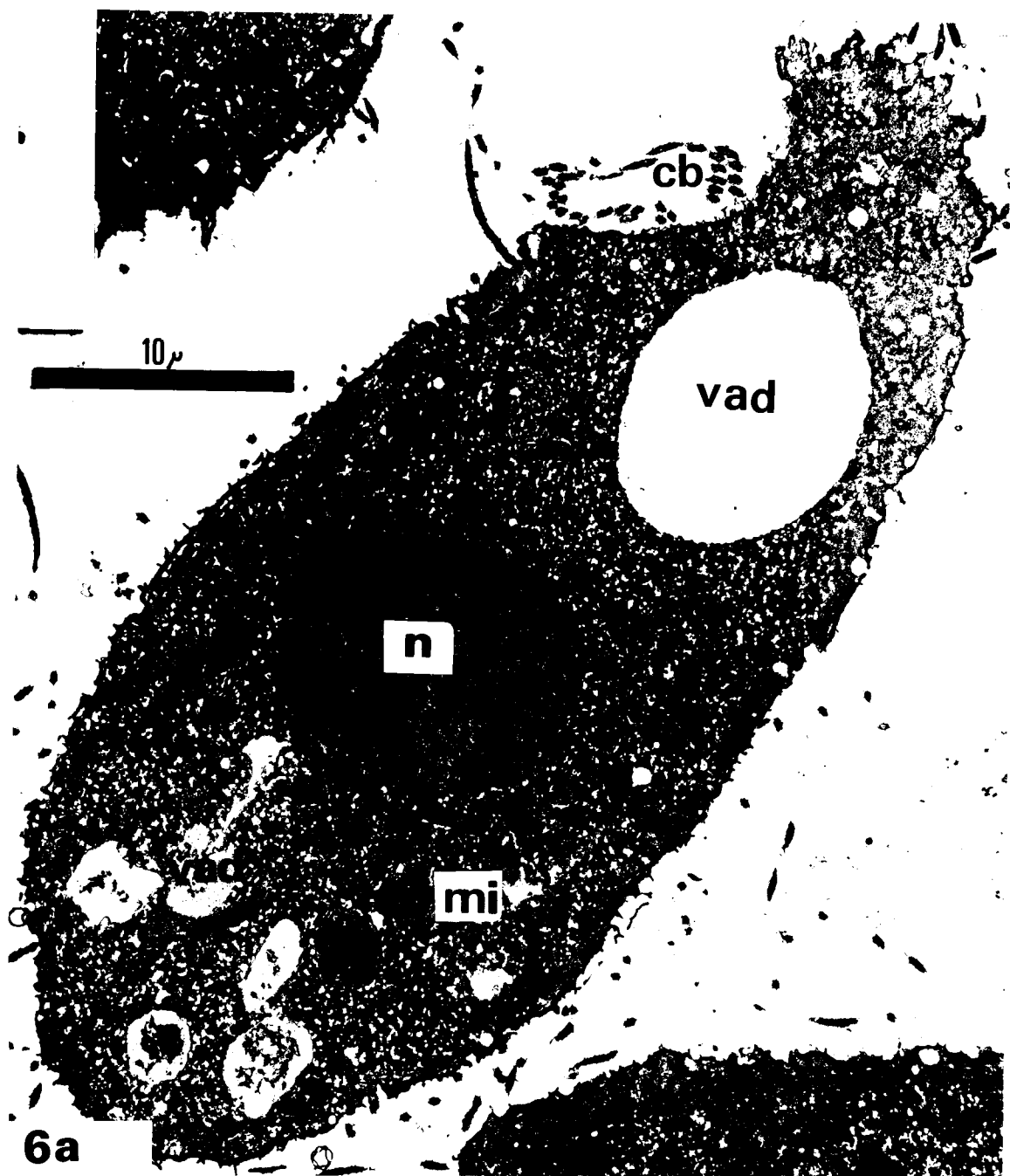


FIG.7. Ultrastructure de Tetrahymena en absence de toxique.

7a :observation à T 40.

c:chromatine;

cy:cytoplasme;

er:reticulum endoplasmique granulaire;

mi:mitochondrie;

n:noyau;

nu:nucléole;

vad:vacuole digestive;

Noter l'association entre le reticulum granulaire et les mitochondries (→)

7b :observation à T 80.

c:chromatine;

n:noyau;

nu:nucléole;

7c :observation à T 80.

en:enveloppe nucléaire;

Noter la double couronne nucléolaire (→)



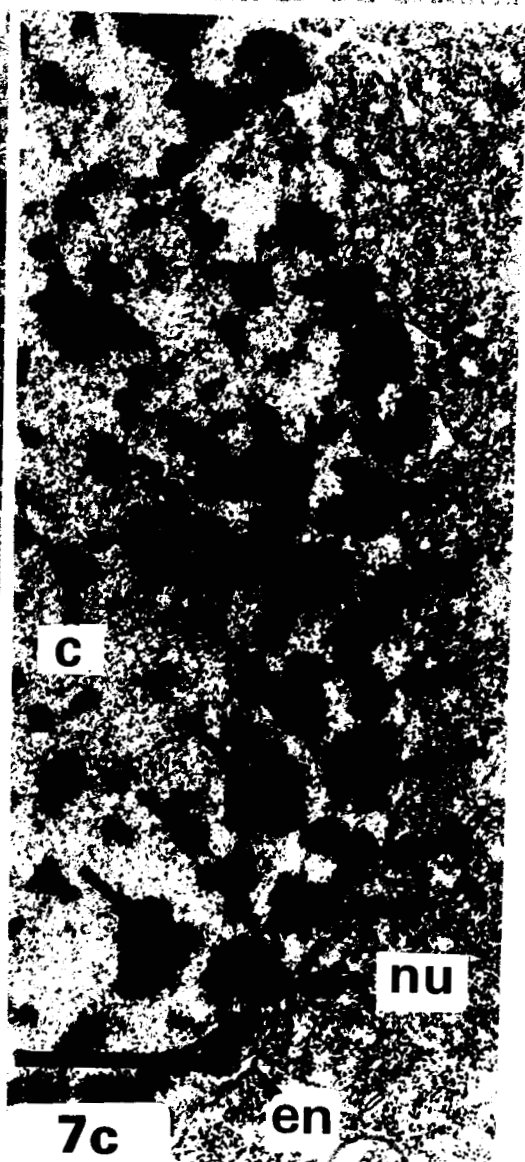
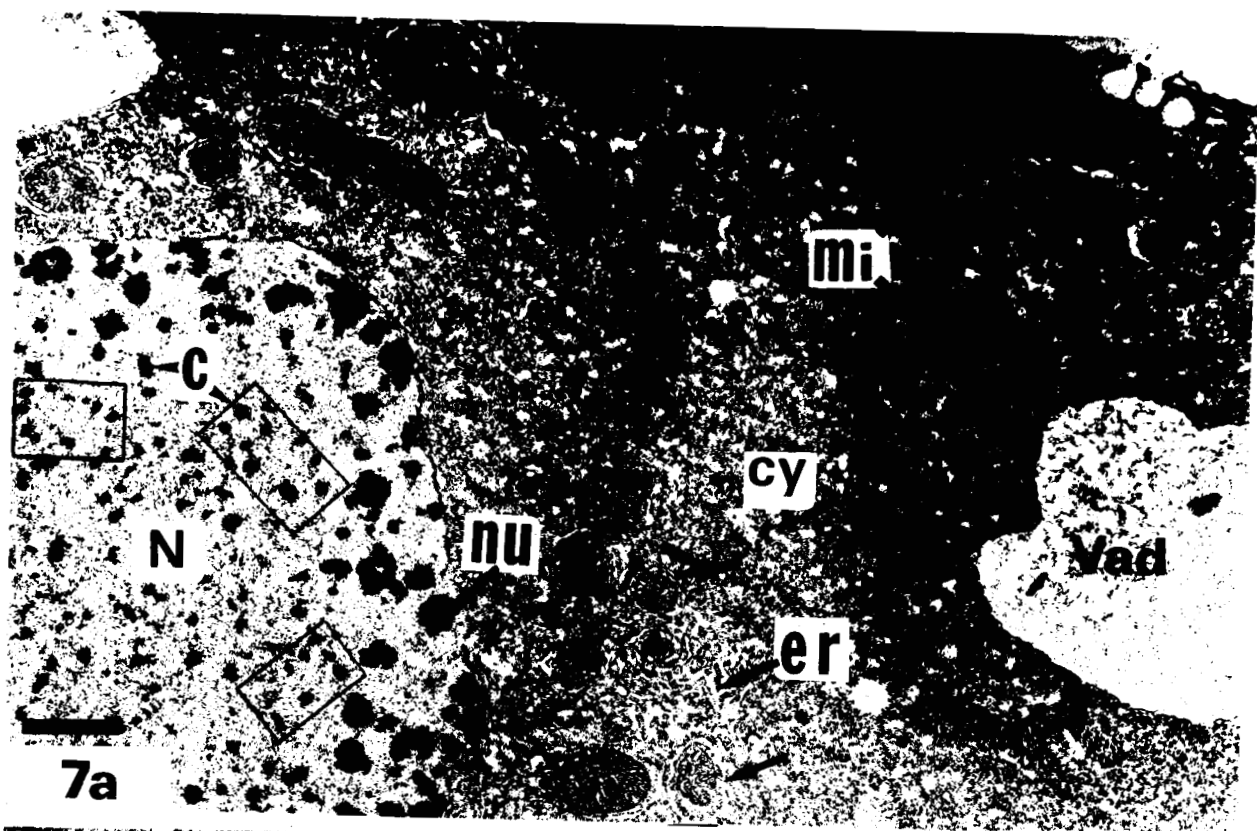


FIG.8: Ultrastructure de Tetrahymena en absence de toxique.

Observation à T 90.

8a: Sub : subnucleus;

8b: mi : mitochondrie;

n : noyau;

Noter la zone de constriction médiane annonçant la cytodiérese (►).

8c: nu : nucléole;

Noter la présence de nucléoles fusionnés (►►)
et de nucléoles intranucléoplasmiques (►►►).

8d: en : enveloppe nucléaire.

Noter la présence de microtubules intranucléoplasmiques (►) et l'aspect des îlots de glycogène dans le cytoplasme: ○

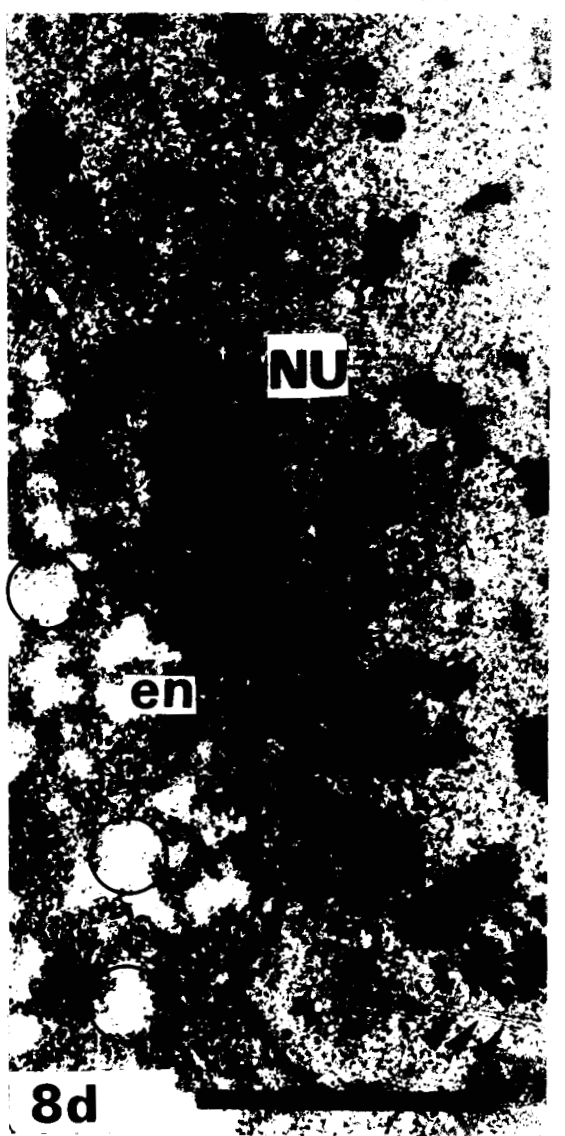
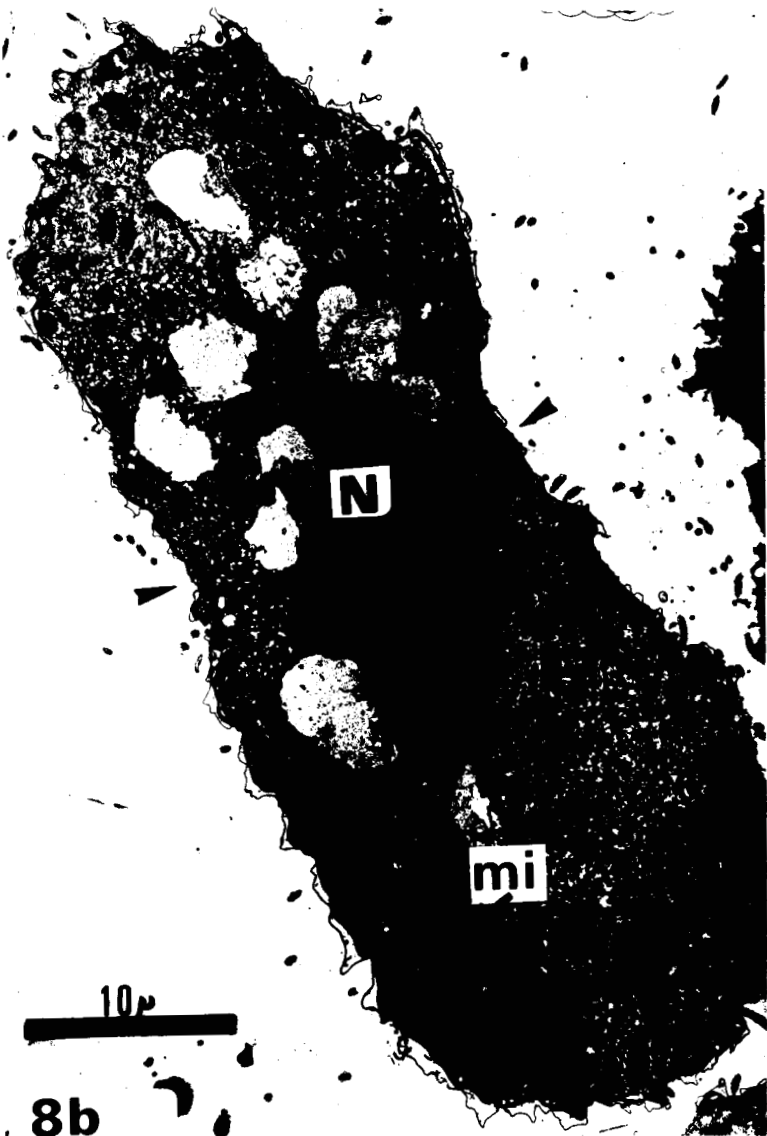
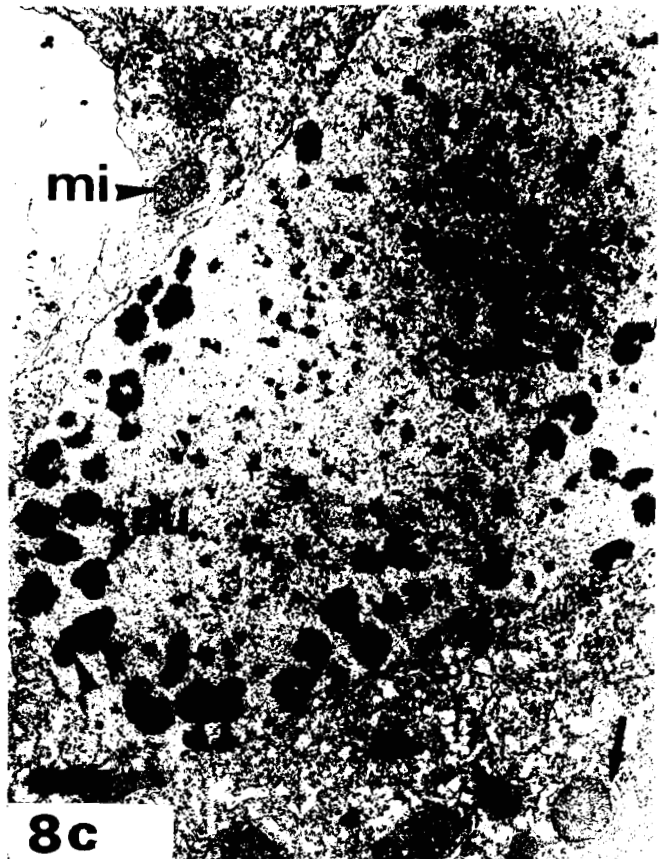


FIG.9. Ultrastructure de Tetrahymena en absence de toxique.

Observation à T 100.

9a: Cellule fille

N : noyau.

9b: c : chromatine;

mi : mitochondrie;

N : noyau;

nu : nucléoles qui reconstituent une couronne régulière (►);

Noter l'association étroite entre les mitochondries et le reticulum endoplasmique rugueux (►►).

9c: en : enveloppe nucléaire;

m : matrice mitochondriale;

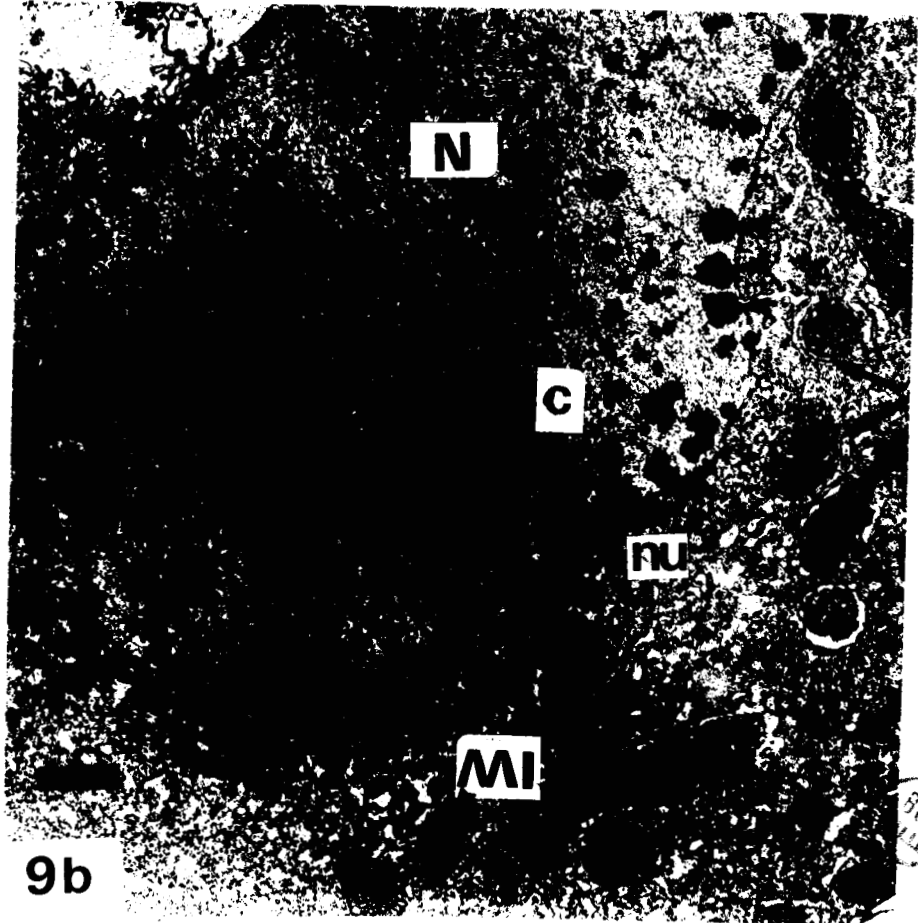
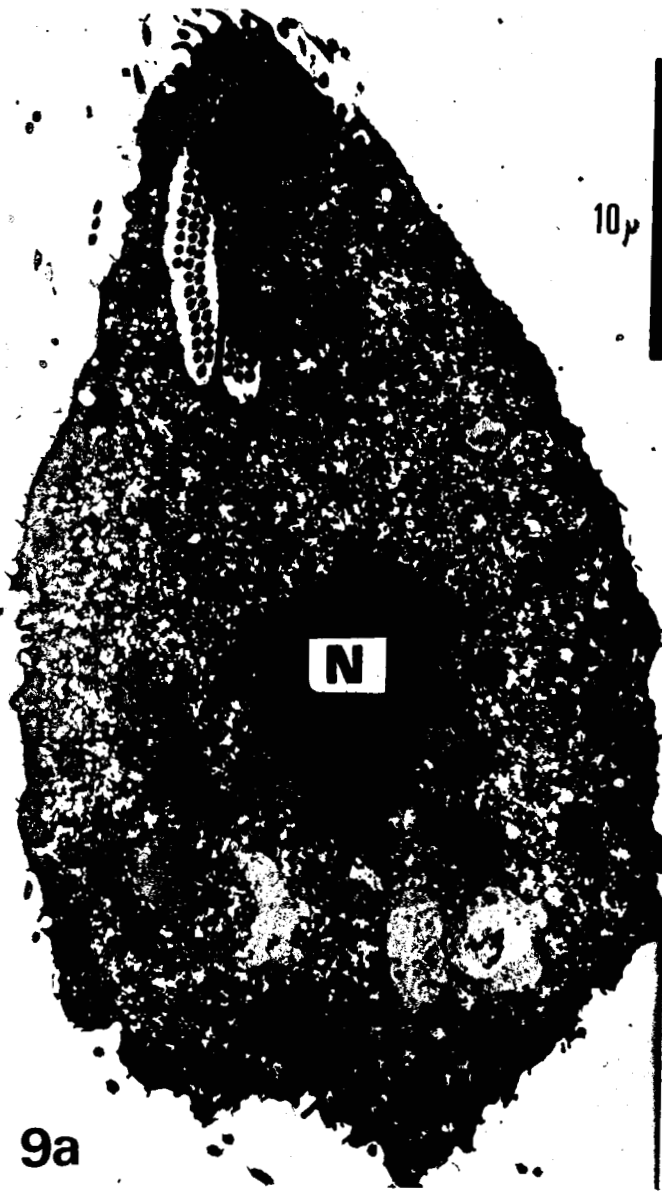
me : membrane mitochondriale externe;

mi : membrane mitochondriale interne;

MI : mitochondrie;

Nu : nucléole;

Noter la continuité entre le reticulum granulaire et l'enveloppe nucléaire (►).



BHS
FILE

FIG.10. Ultrastructure de Tetrahymena en absence de toxique.

Observation à T 140.

10a: c : chromatine;

n : noyau;

nu : nucléole;

on : organisateur nucléolaire.

Noter la présence de matériel fibrillaire émis par la chromatine (▶) et d'un globule chromatinien extranucléaire (►) ainsi que l'association entre le reticulum et les vacuoles digestives (►►).

10b: observation à T 170.

c : cil;

er : reticulum endoplasmique granulaire;

ly : lysosome;

mp : membrane plasmique;

○ : particules de glycogène;

◻ : vésicule Golgienne;

Noter l'association du reticulum granulaire avec les mitochondries (▶), avec les vacuoles (►), avec la membrane plasmique (►), ou libre dans le cytoplasme (◻).

Le reticulum lisse est quelquefois associé aux mitochondries (►).



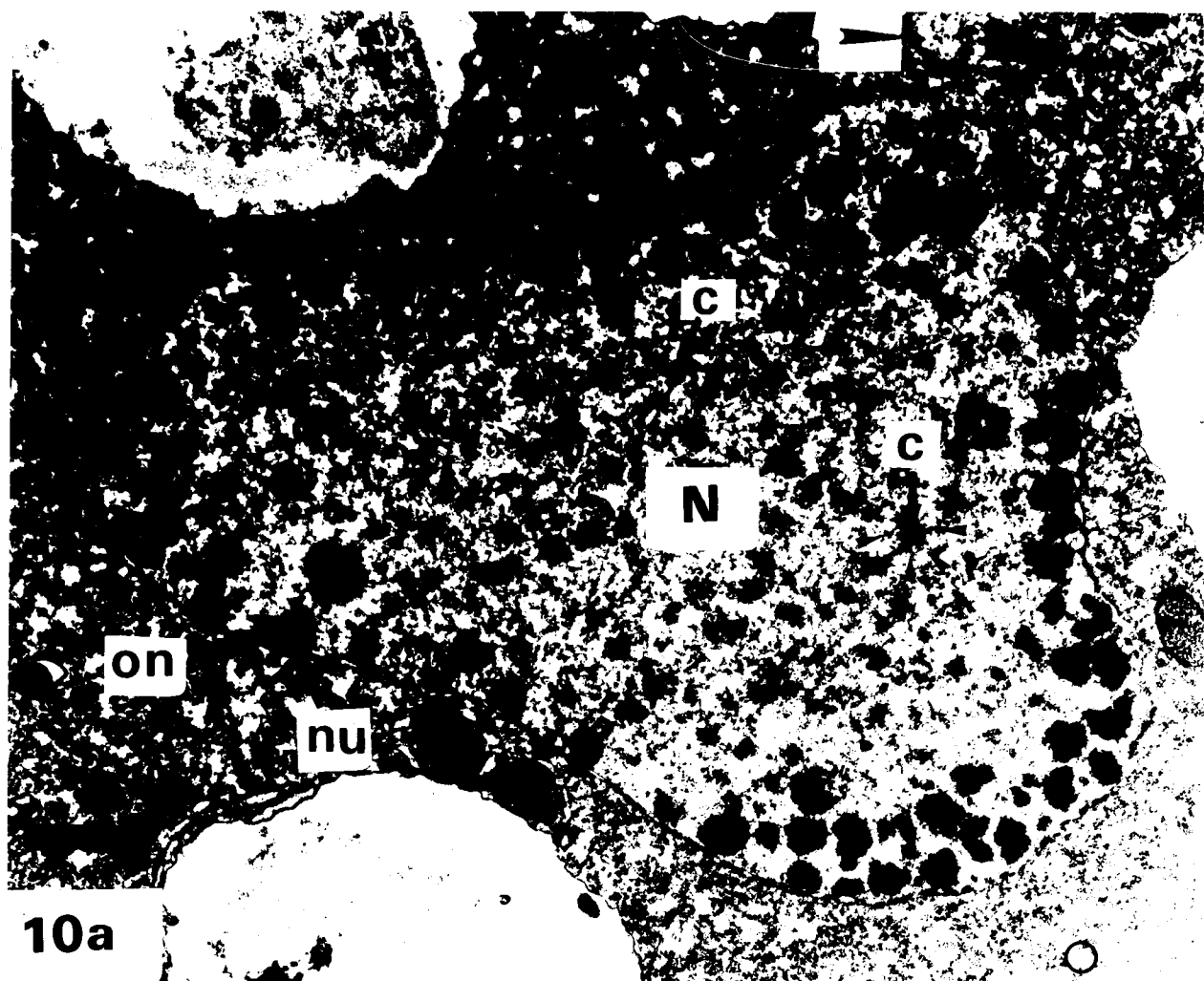


FIG.11. Ultrastructure de Tetrahymena en absence de toxique.

Observation à T 170.

11a: c : chromatine;

en : enveloppe nucléaire;

N : noyau;

nu ; nucléole;

11b: er : reticulum granulaire;

mi : mitochondrie;

○ : îlot de glycogène;

Noter la nature granulaire du nucléoplasme(▶▶)



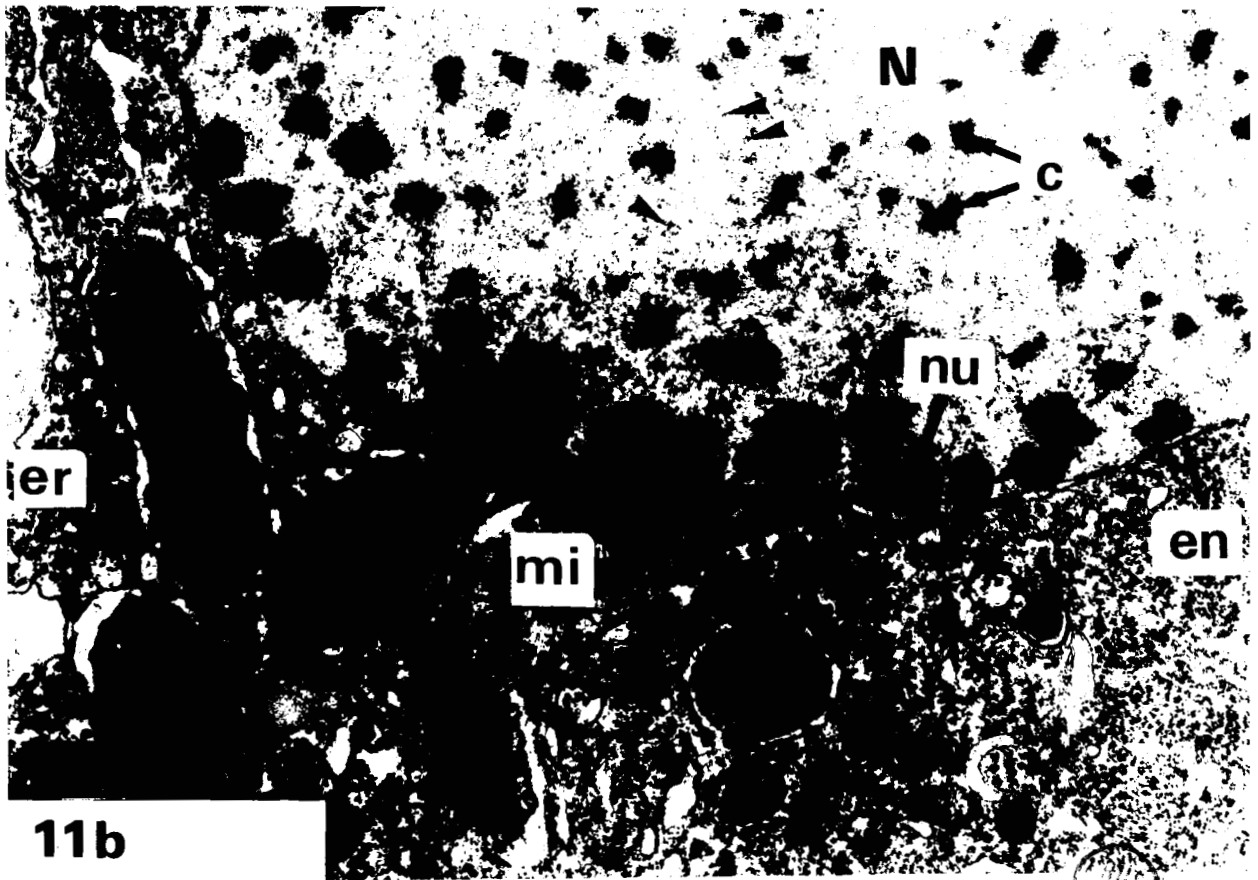
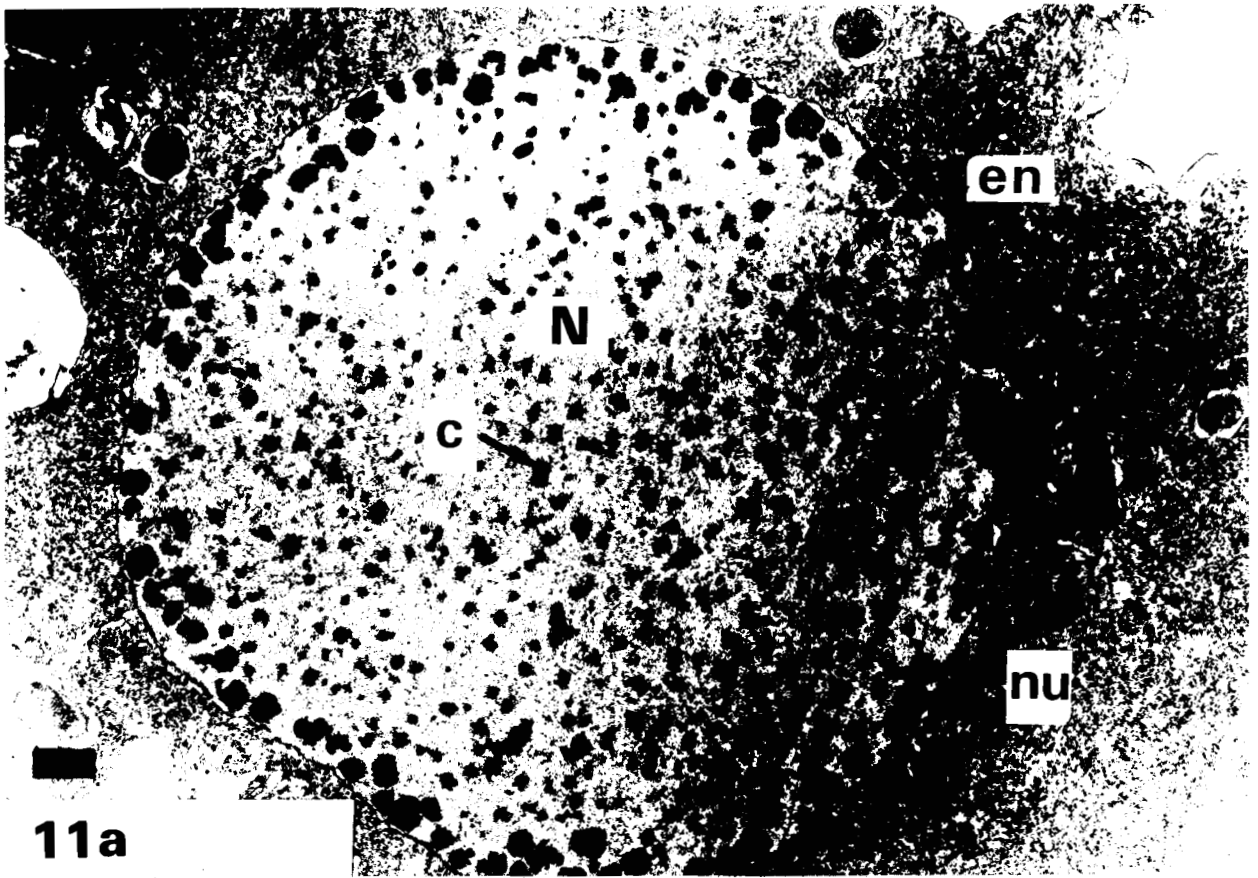


FIG.12. Mise en évidence du glycogène selon la méthode de THIERRY.

12a: ultrastructure de Tetrahymena en absence de toxique.

mi : mitochondrie;

mp : membrane plasmique;

○ : répartition du glycogène en particules isolées.

12b: ultrastructure de Tetrahymena en présence de 1,25 μ g/ml de T.M.T.D. additionné à T0.

vad : vacuole digestive.

Noter la formation d'îlots importants de glycogène:

que ceinture quelquefois des mitochondries (→) ○



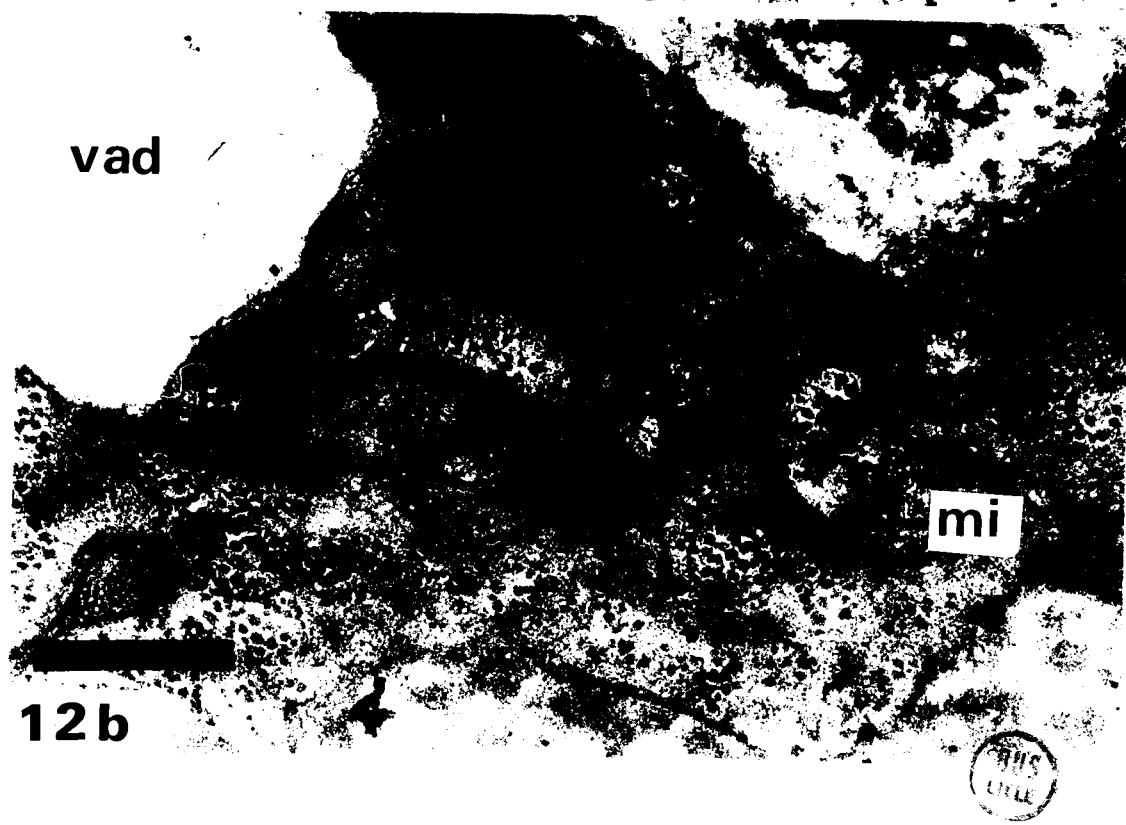
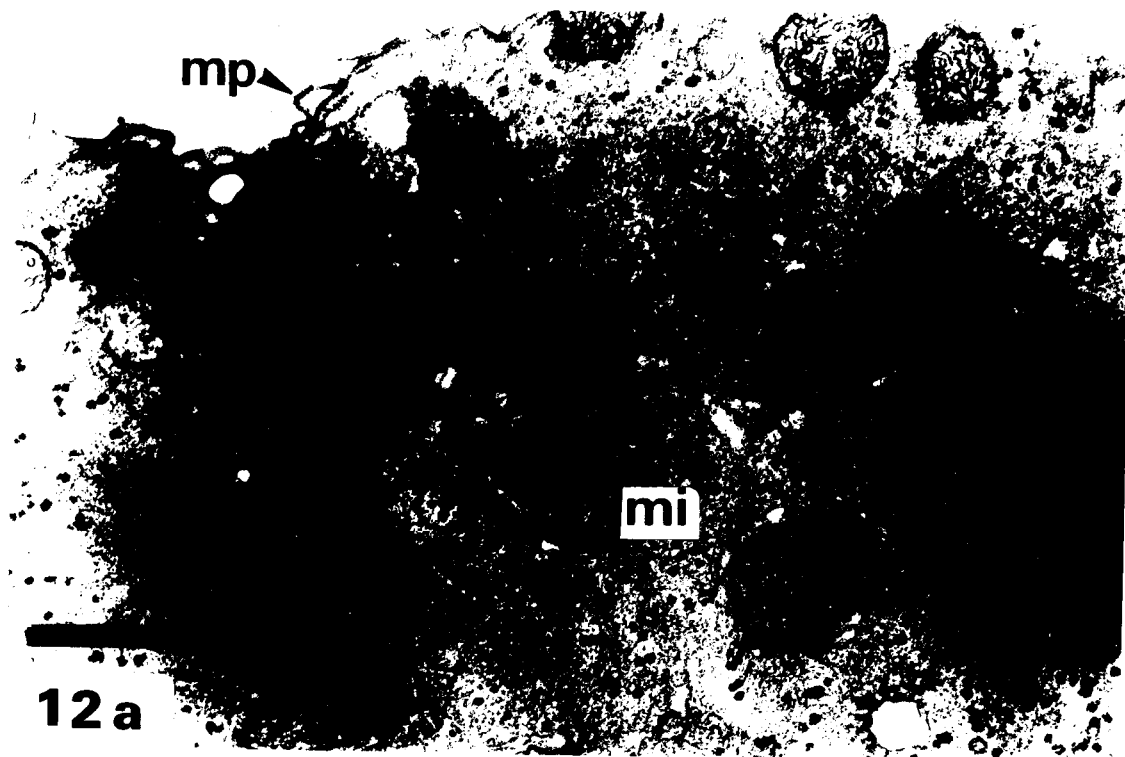


FIG.13. Mise en évidence de la phosphatase acide.

13a: ultrastructure de Tetrahymena en absence de toxique.

ly : lysosome (→);

vad : vacuole digestive.

13 b et c : cellules intoxiquées par 1,25 $\mu\text{g/ml}$ de T.M.T.D. additionné à TO.

13b: zone de prolifération de lysosomes (ly, →);

13c: la phosphatase acide est absente au niveau des zones de prolifération du reticulum (→) et d'accumulation de matériel granulaire (→) mais est présente dans la vacuole que ceinture le reticulum (→) et dans les lysosomes (→)

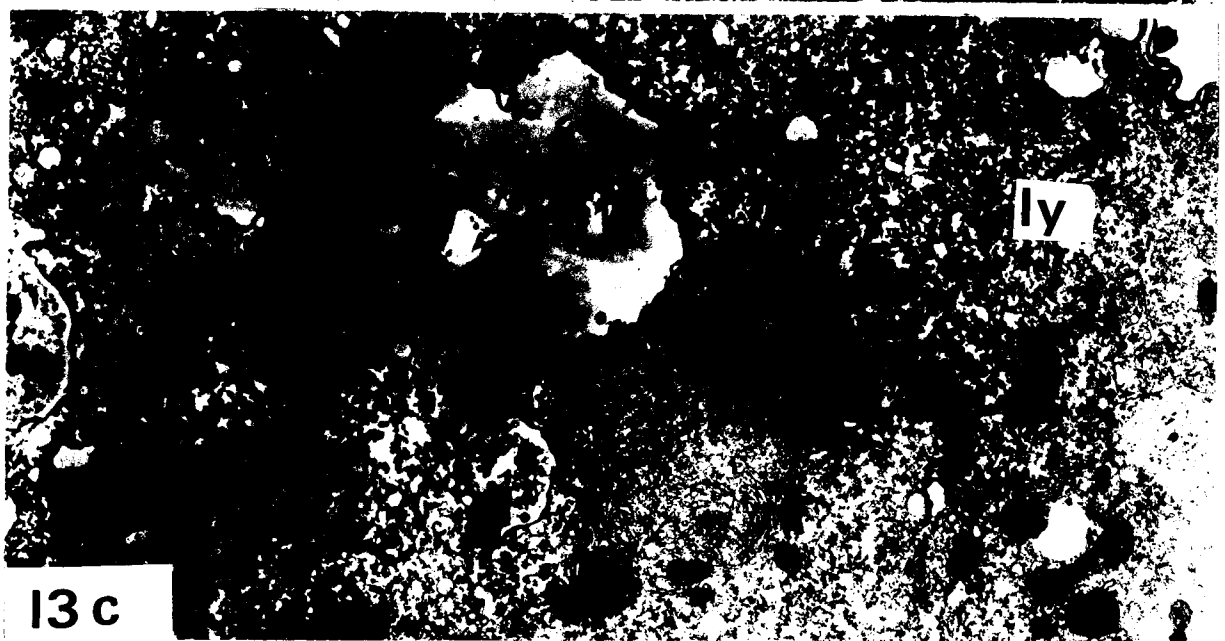
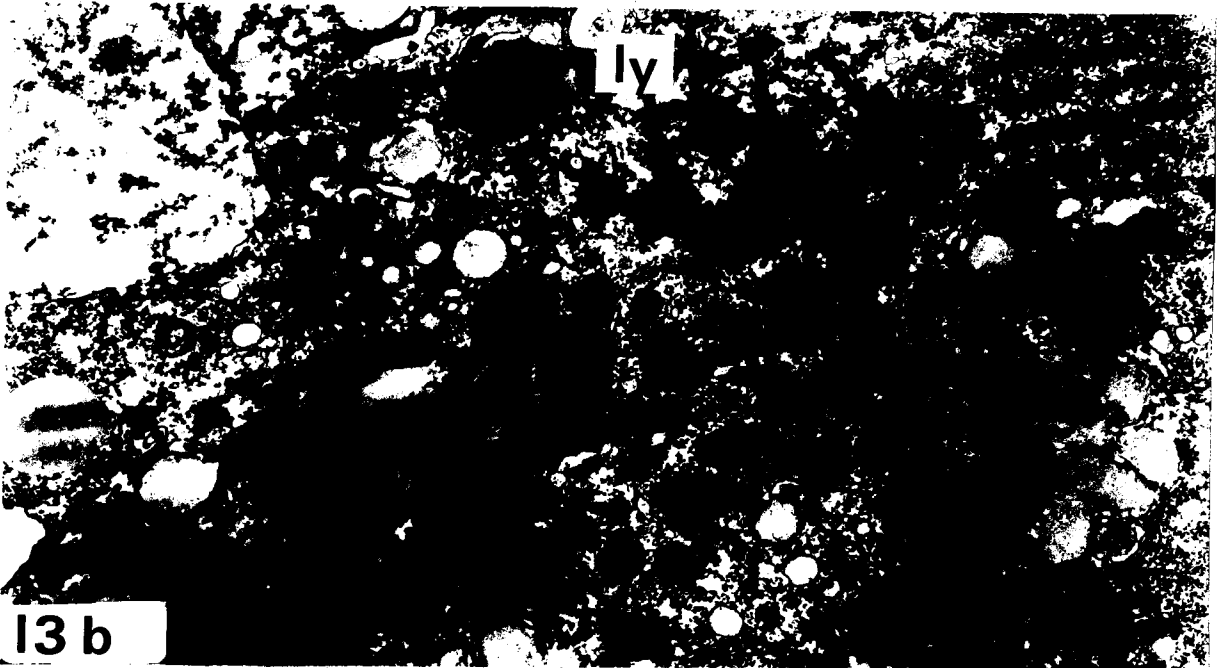
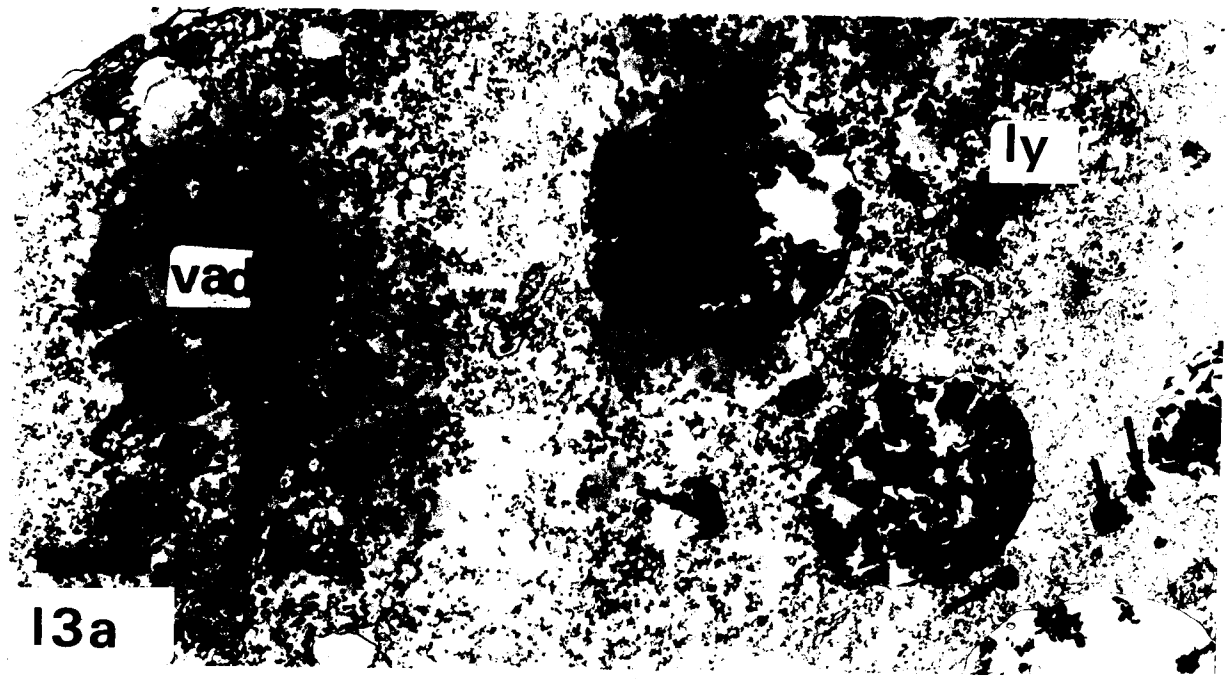


FIG.14. Coupe traitée à la pronase.

14a : mitochondrie d'une cellule intoxiquée par 1,25 $\mu\text{g/ml}$ de T.M.T.D. additionné à T0.

er : reticulum endoplasmique granulaire;

me : membrane mitochondriale externe;

mi : membrane mitochondriale interne;

il : îlot cytoplasmique;

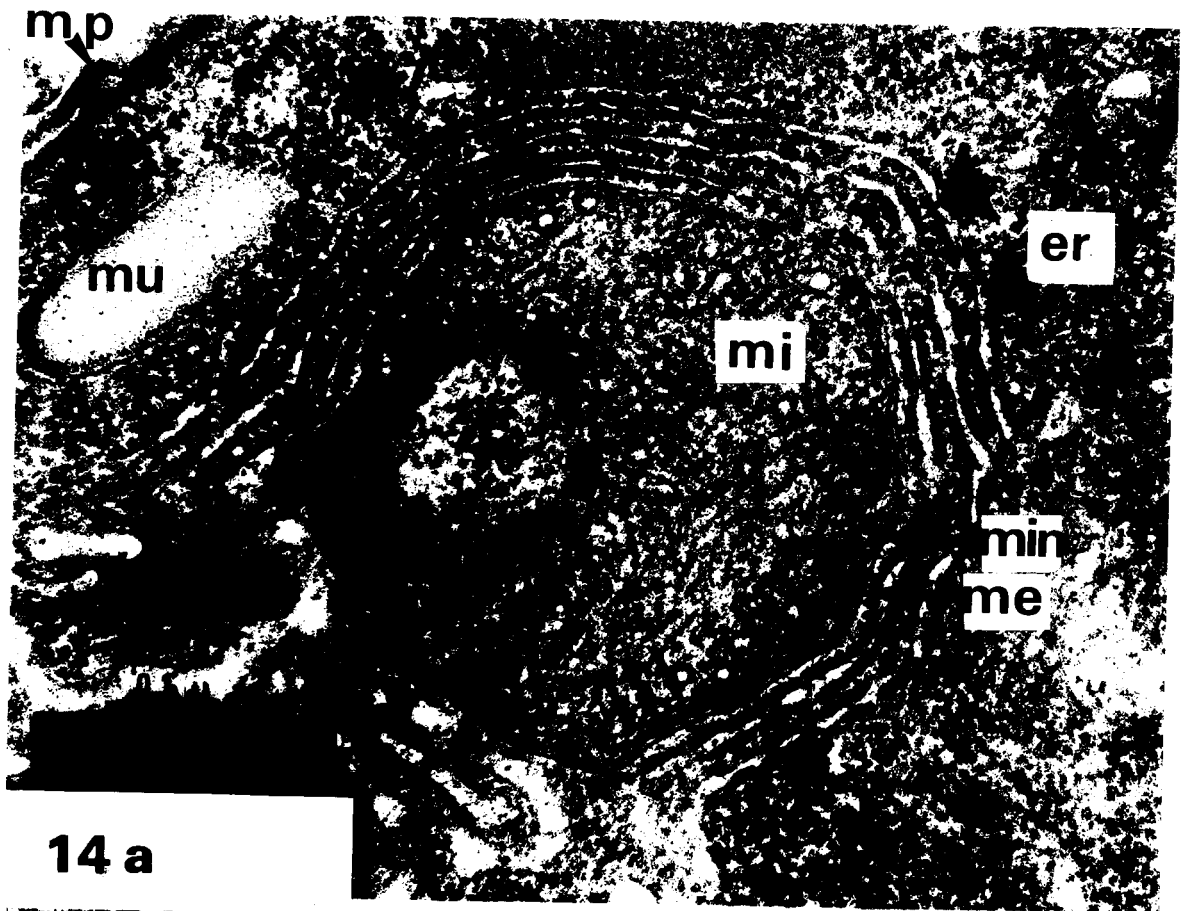
mp : membrane plasmique;

mu : mucocyste;

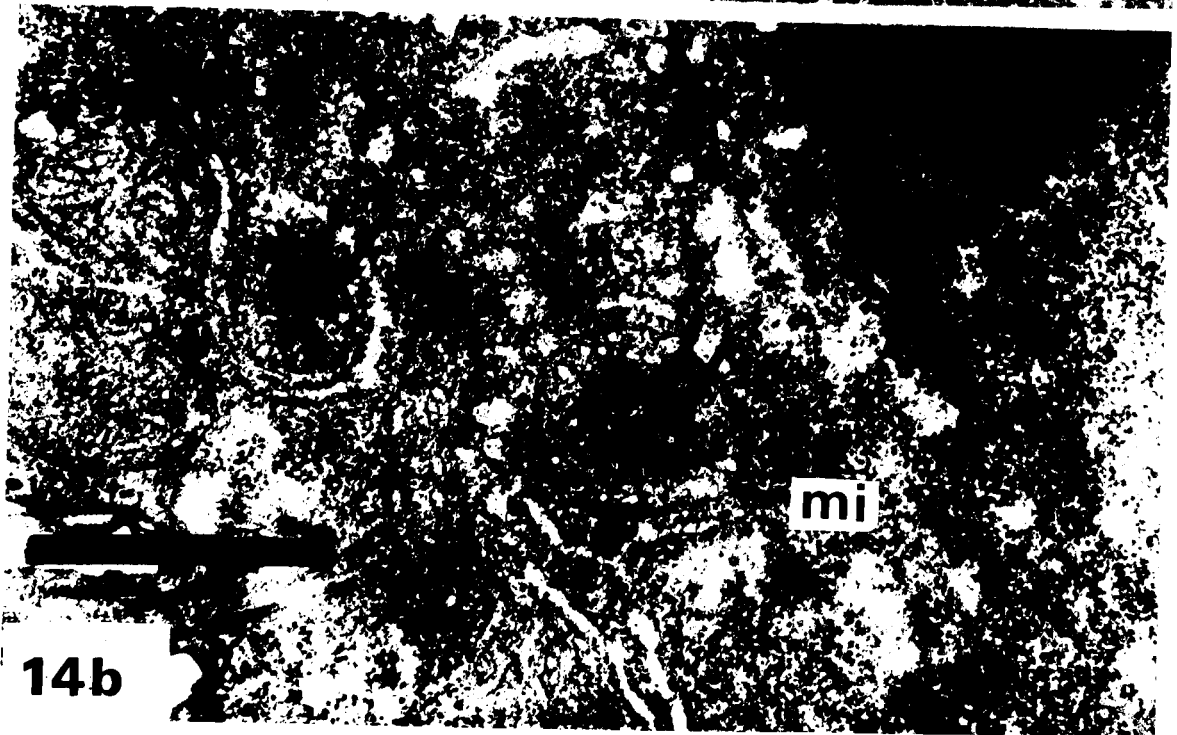
Noter l'invagination lamellaire émise par la membrane interne (\blackrightarrow).

14b : mitochondrie d'une cellule non intoxiquée: les corps denses ne sont pas digérés par la pronase (\blackrightarrow).





14 a



14 b

FIG.15.Aspect des cellules en microscopie optique.

15a :témoins aux temps 10, 80, 140 mn après la fin du dernier choc thermique.

15b :cellules traitées au temps T0 par 1,25 μ g/ml de T.M.T.D.

Observations aux temps 10, 80, 140 mn.





10 μm

Temoin 10'



20 μm

Te 80'



10 μm

Te 140'

Fig 15 A



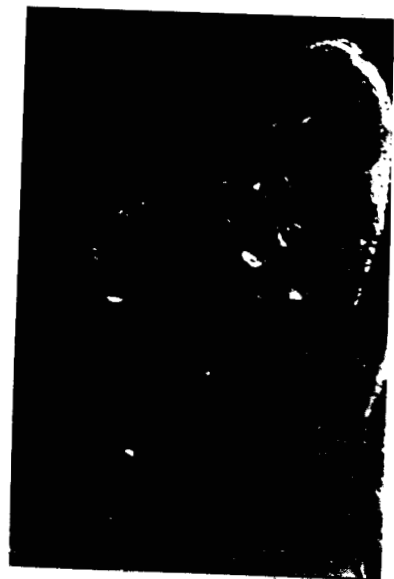
1,25 μg/ml de Thirame à T0

T 10'

10 μm



T 80'



T 140'

Fig 15 B

FIG.15c : cellules traitées au temps T0 par 1,25 μ g/ml
de T.M.T.D.

Observations aux temps 180, 280 et 300 mn.

1,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de Thirame à T0

T 180'

T 280'



T 300'

10 μm



Fig 15 C

FIG.15 d : cellules traitées au temps T90 AFT par 1,25 μ g/ml
de T.M.T.D..

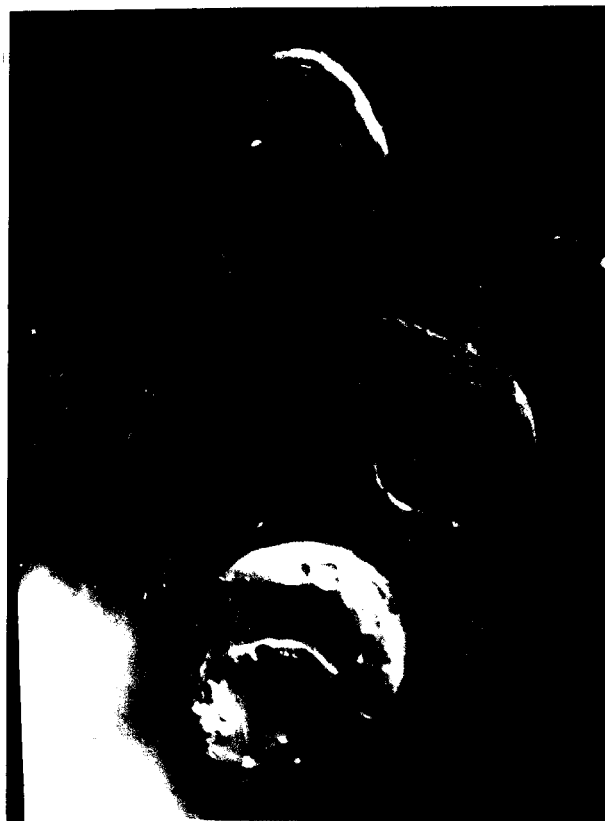
Observations aux temps 90, 130 et 170 mn.



1,25 $\mu\text{g/ml}$ de Thirame à T90'

T 90'

T 130'



T 170'



T 170'

10 μm

Fig 15D

FIG.16. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par
1,25 μ g/ml de T.M.T.D.


16a : observation à T 10.

ext : extrusion nucléaire () contenant des
agrégats nucléolaires ();

n : noyau

16b : observation au temps T 40.


en : enveloppe nucléaire,

mi : mitochondrie en cupule où s'observe un îlot
cytoplasmique ();

mp : membrane plasmique;

an : agrégat nucléolaire;

on : organisateur nucléolaire;

Noter la fragmentation du cortex granulaire des nu-
cléoles ()



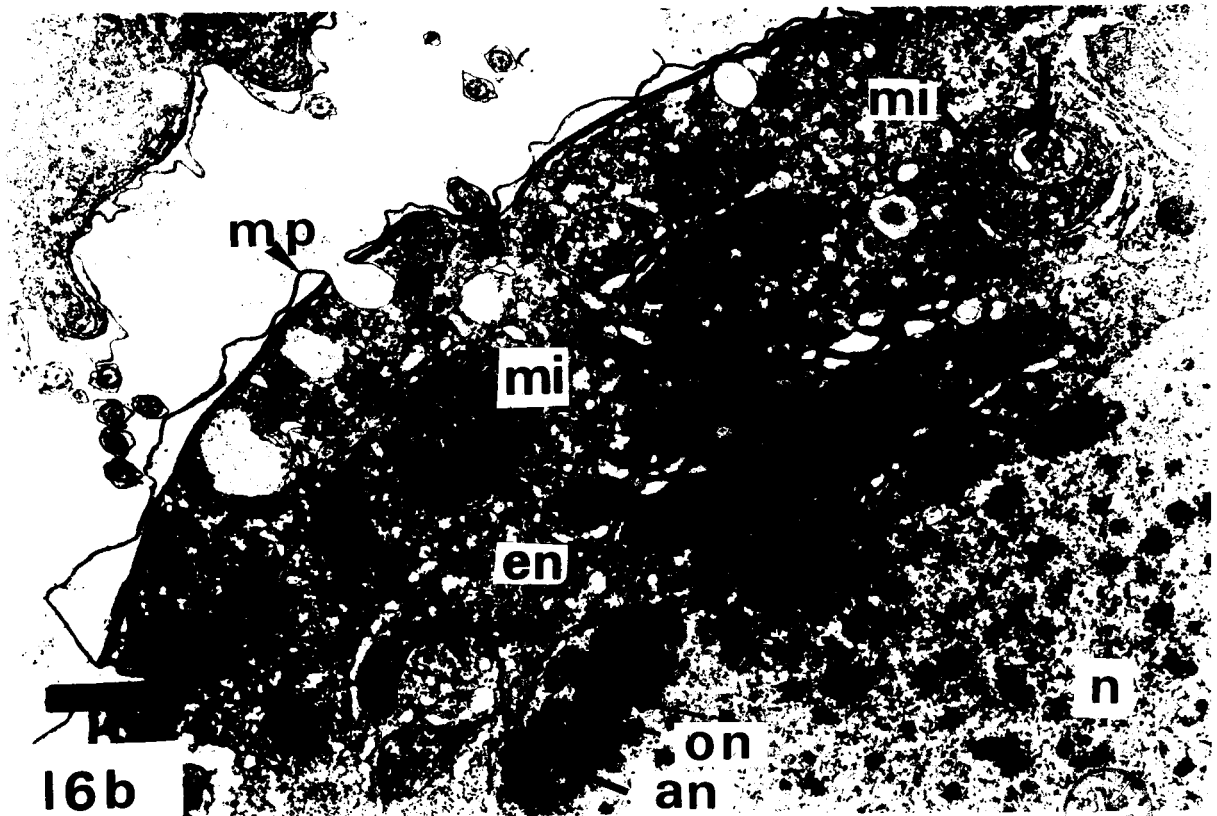
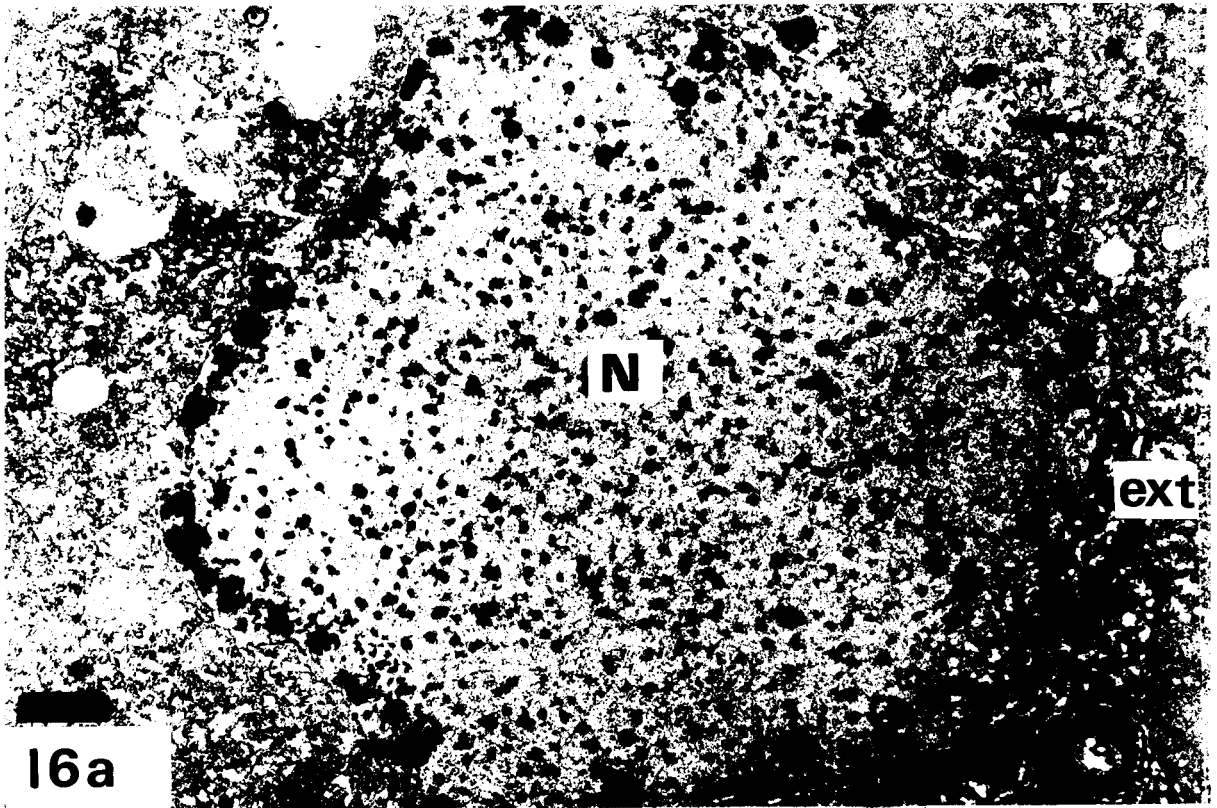


FIG.17. Coupes sériées de mitochondries d'une cellule intoxicu ee   T0 par 1,25 μ g/ml de T.M.T.D.

:mi : mitochondrie;

mp : membrane plasmiq ue;

Selon le plan de coupe, la même mitochondrie présentera une configuration annulaire (17a) puis en cupule (17 b et c).

► : apex de la cupule;

→ : ouverture de la cupule;

→ : ilôt cytoplasmique;

→ : extrusion membranaire.

L'interprétation de ces images est donnée par le schéma de la FIG.18.

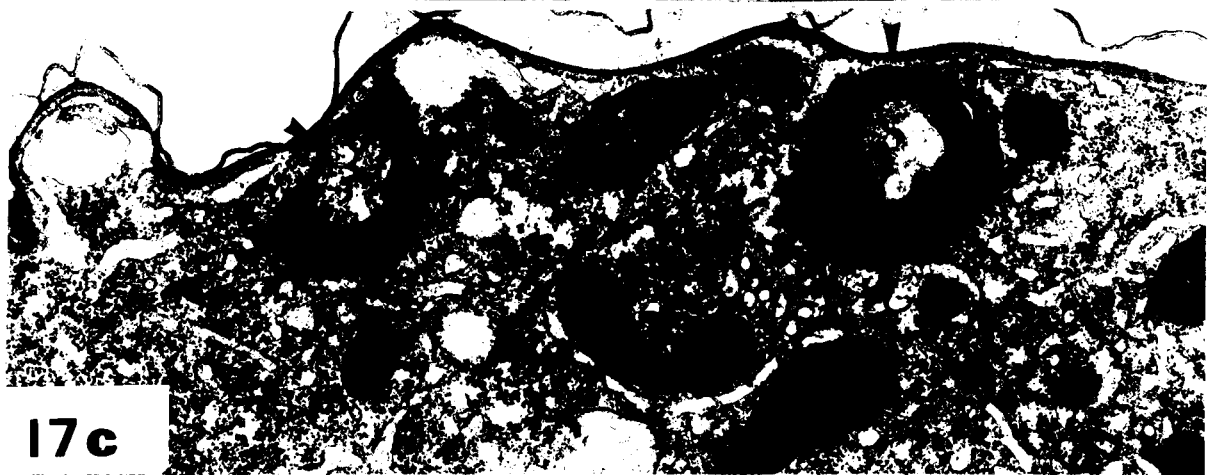
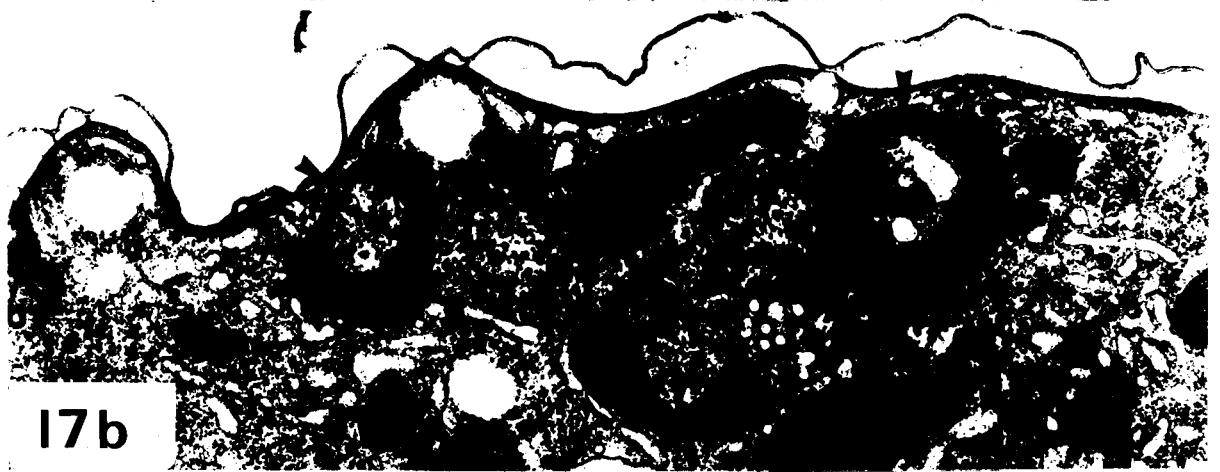


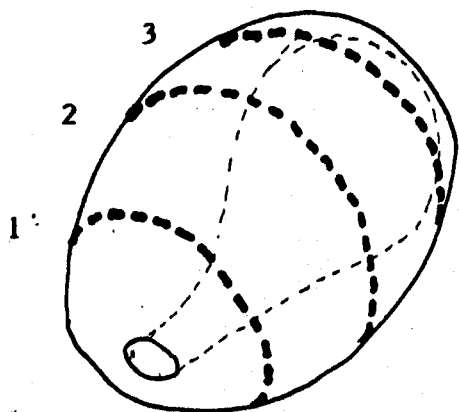
FIG.18. Représentation schématique des déformations mitochondriales. Essai d'interprétation.

cyt : cytoplasme;

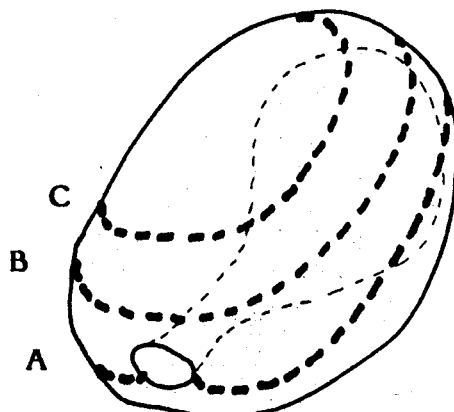
ME : membrane mitochondriale externe;

MI : membrane mitochondriale interne;

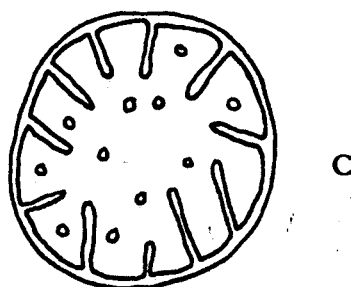
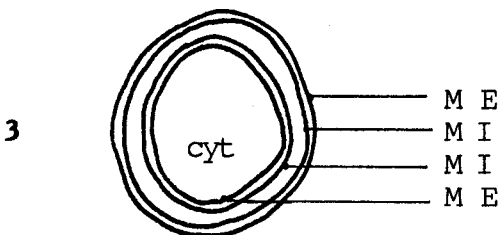
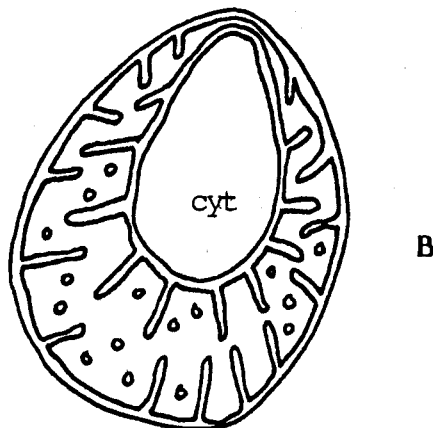
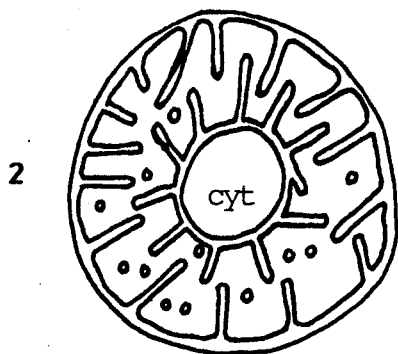
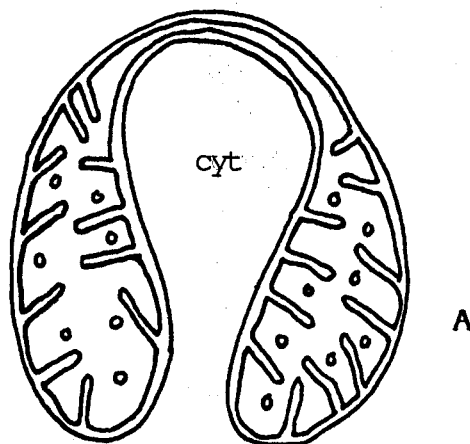
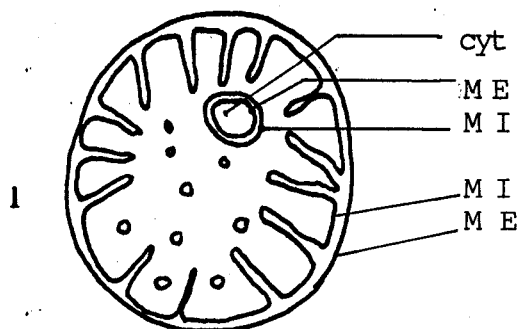
Les configurations 1,2,3 et A,B,C que l'on observe dans le cytoplasme des cellules intoxiquées, correspondraient, d'après les coupes sériées (Fig.17), à des sections respectivement axiales et longitudinales de mitochondries déformées en cupule.



coupes axiales




coupes longitudinales



**Fig.18: REPRESENTATION SCHEMATIQUE
DES DEFORMATIONS MITOCHONDRIALES**
Essai d'interprétation des coupes s rie es





FIG.19. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à TO par
1,25 µg/ml de T.M.T.D.
Observation à T 80.

19a :ext : extrusion nucléaire évoluant en vacuole
autophagique ()

g :globule granulaire intranucléoplasmique;

mi : mitochondrie;

 :mitochondrie en cupule;


 :mitochondrie à matrice éclaircie.


19b :en :enveloppe nucléaire;

er : reticulum endoplasmique granulaire;

mi : mitochondrie;

c : chromatine;

 :mitochondrie en cupule étirée;

Le cortex granulaire des nucléoles se dispose en
structure cupuliforme sous l'enveloppe nucléaire ()

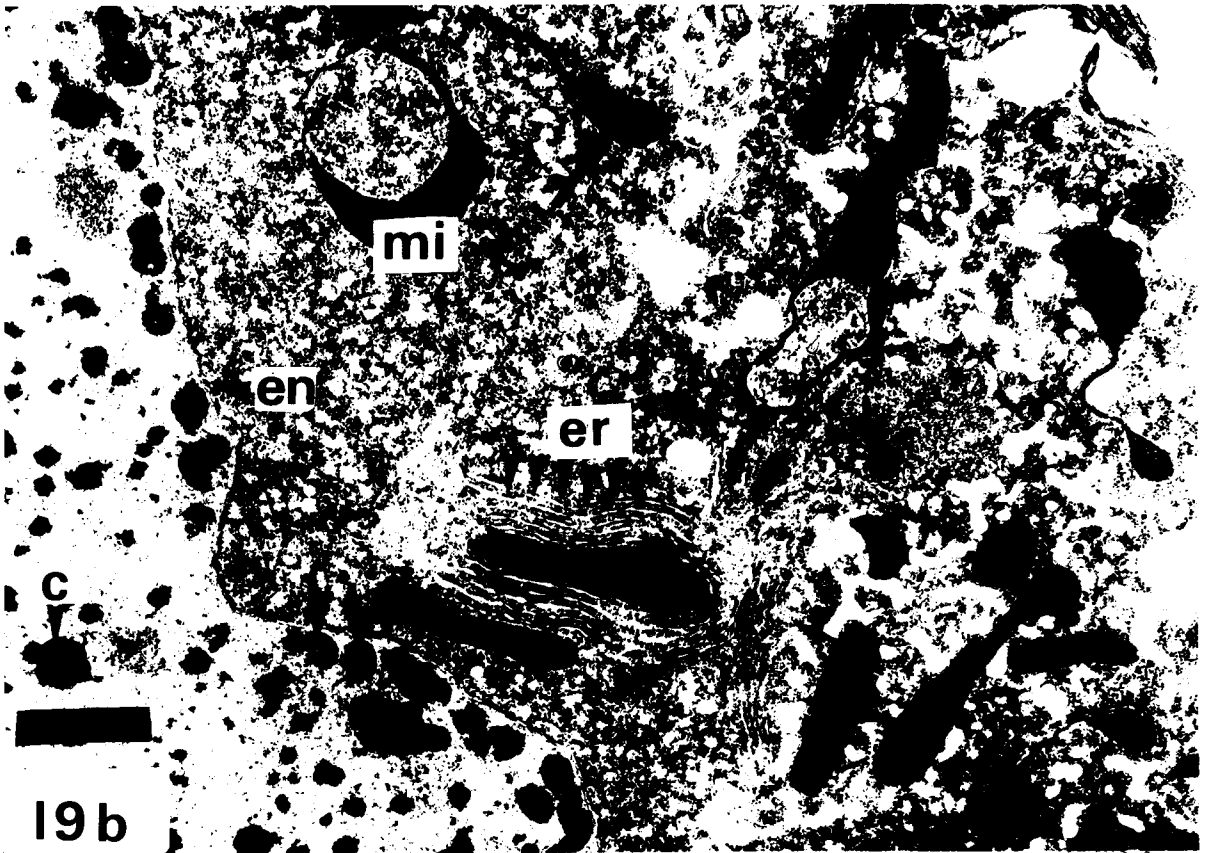
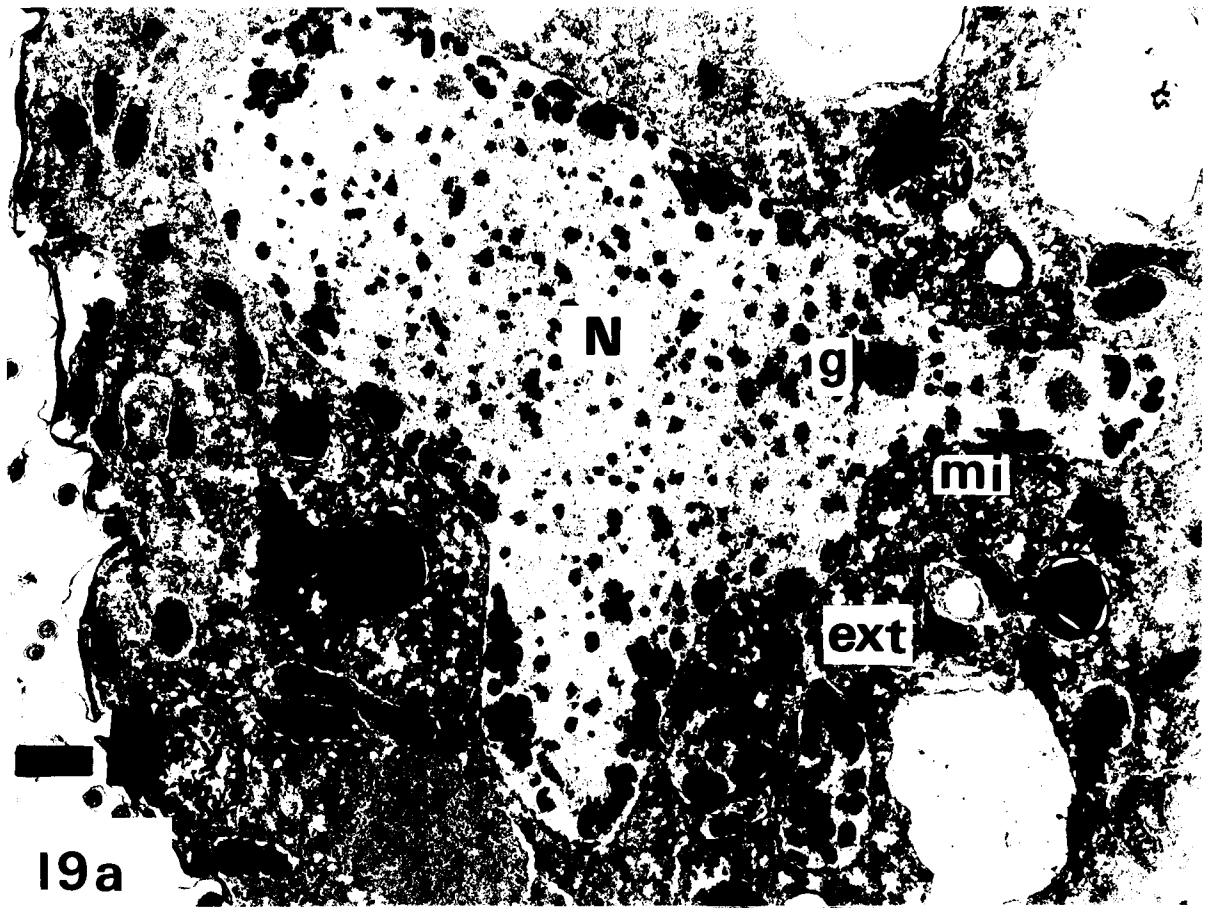




FIG.20. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par
1;25 μ g/ml de T.M.T.D.

Observation à T 80.

20a :er : reticulum granulaire;
v : vacuole.

20b :détail d'une zone de prolifération du reticulum.
er : reticulum endoplasmique granulaire;
mi : mitochondrie;

Noter qu'au niveau des zones d'accumulation de
matériel granulaire, le reticulum se fragmente ().

20c :présence d'invagination contenant des membranes en-
roulées sur elles-mêmes () dans des vacuoles
situées à proximité des zones de prolifération du
reticulum.



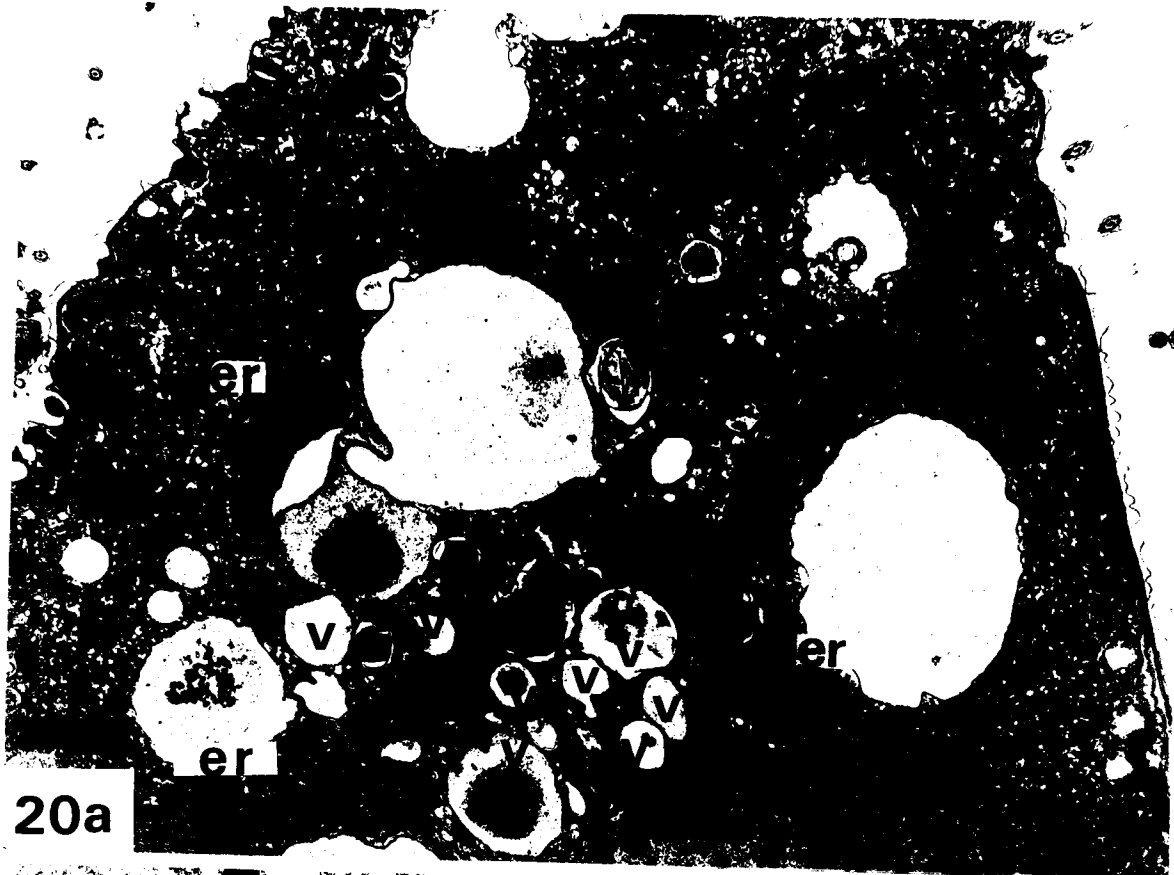


FIG.21. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par
1,25 µg/ml de T.M.T.D.
Observation à T 140.

21a: les agrégats nucléolaires (ag) sont très volumi-
neux. Le cortex granulaire s'en détache en fragments
cupuliformes disposés sous l'enveloppe nucléaire (cg);
plusieurs organisateurs nucléolaires peuvent s'observer
dans chaque agrégat (→).

c : chromatine;

n : noyau.

21b: coupe traitée à l'E.D.T.A.

cf : structure fibrillaire des agrégats nucléolaires;

ag : agrégat nucléolaire;

cg : cortex granulaire;

on : organisateur nucléolaire;

n : noyau;

mi : mitochondrie;

mit : mitoribosome;

21c: coupe traitée à l'E.D.T.A.

Les structures cupuliformes ont une nature essentiel-
lement granulaire (cg) alors que les agrégats sont de
nature plutôt fibrillaire (cf);

mi : mitochondrie;

mit : mitoribosome.

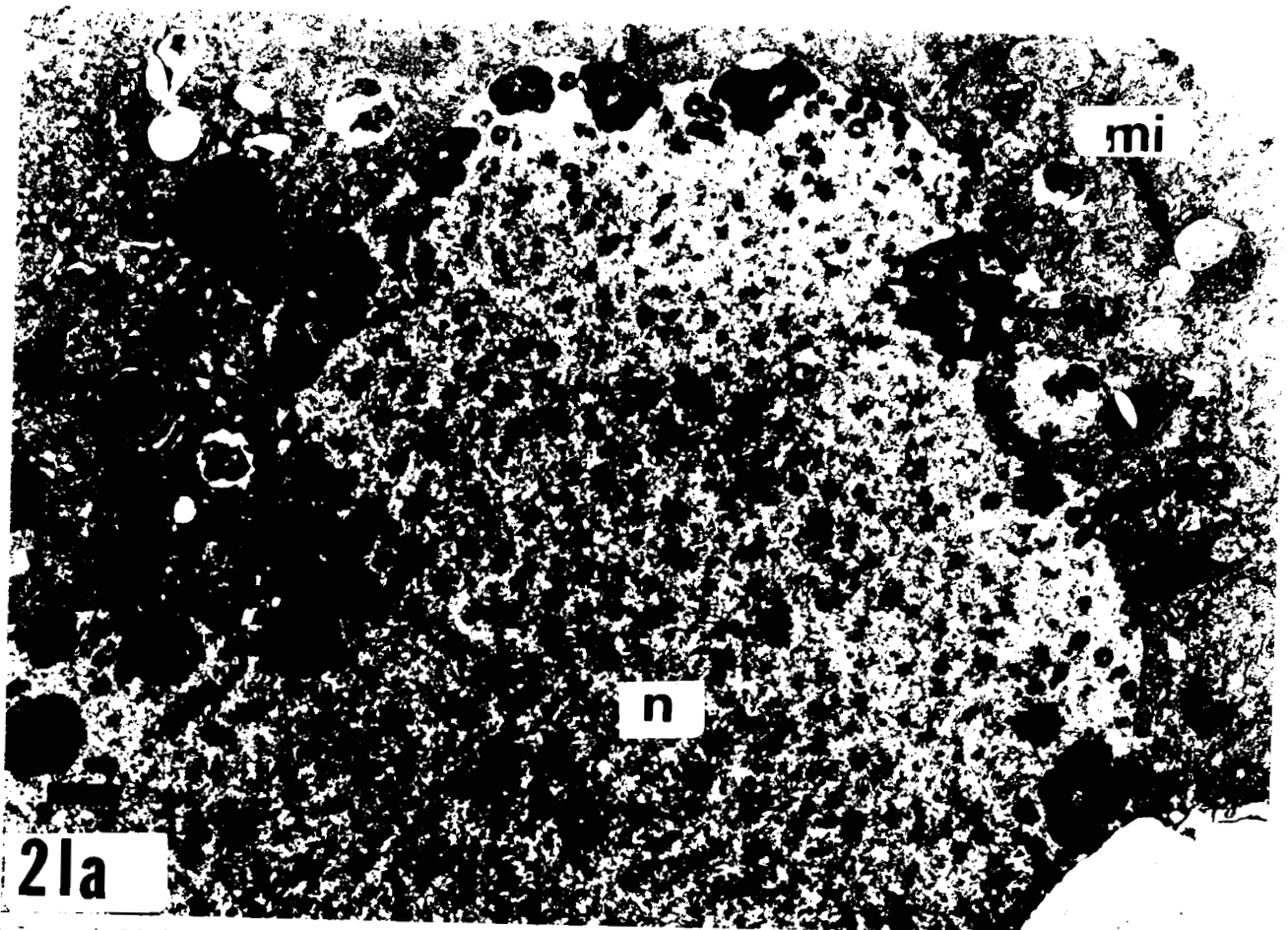



FIG.22. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par
1,25 μ g/ml de T.M.T.D.


Observation à T 160.

22a: prolifération de vacuoles autophagiques (vau);

22b: détail d'une vacuole autophagique (vau): noter l'ac-
cumulation de membranes résiduelles ().

Il s'agit d'une coupe traitée à la pronase.

22c: détail de cytoplasme.

vau : vacuole autophagique contenant des mitochon-
dries ();



: îlot de glycogène.



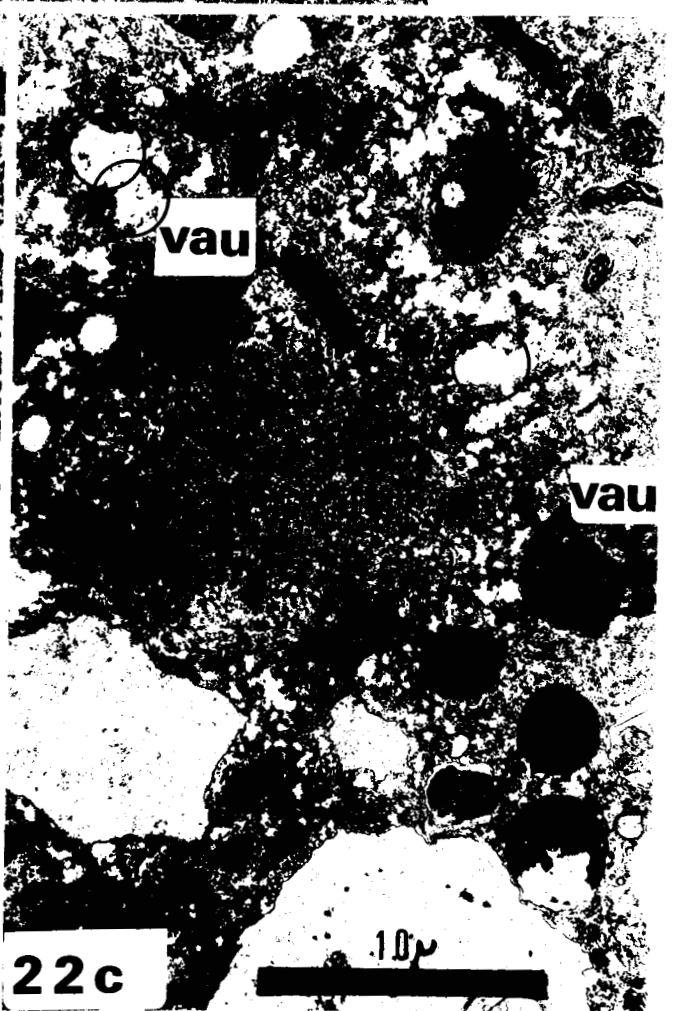
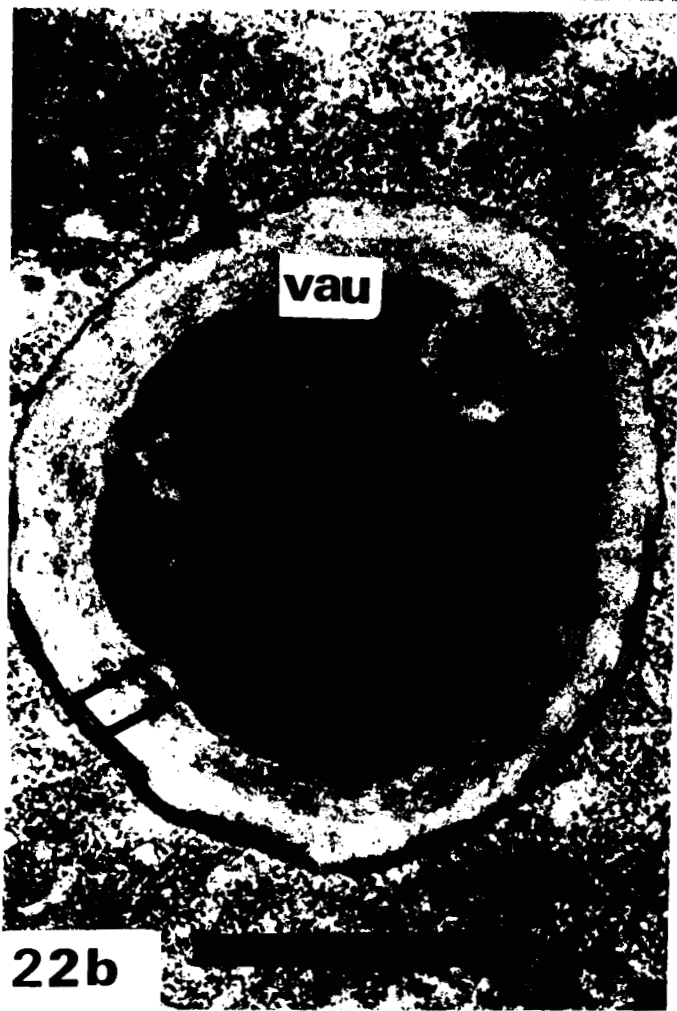
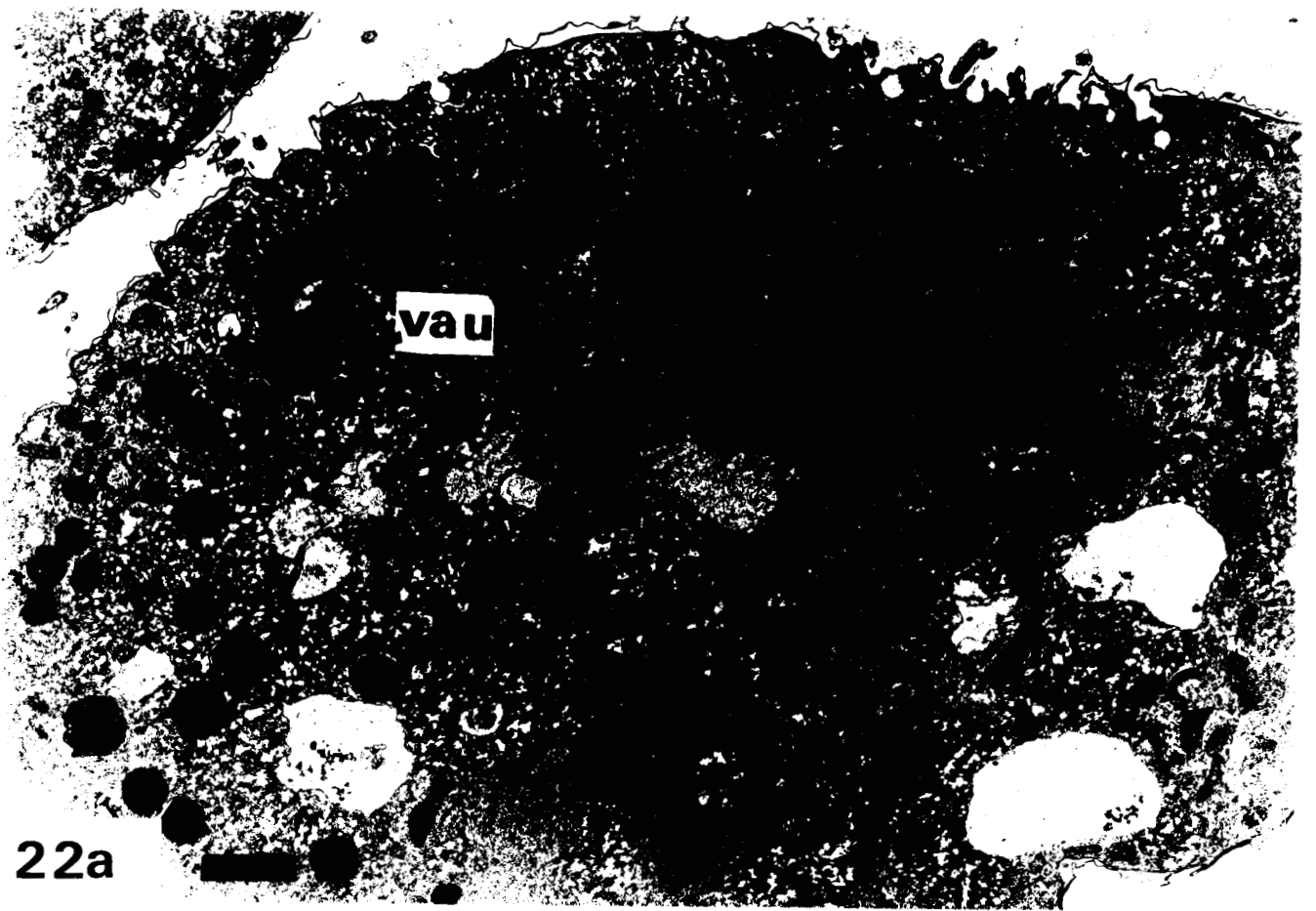




FIG.23. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par
1,25 μ g/ml de T.M.T.D.

Observation à T 160.

23 a et b : détail d'une vacuole autophagique en formation (vau).

23a : le reticulum () associe plusieurs vacuoles entre elles dont certaines ne contiennent que des ribosomes ().

23b : détail de la vacuole autophagique montrée à la FIG.23a
^{montre}
qui ↓ la présence de matériel nucléolaire (nu).

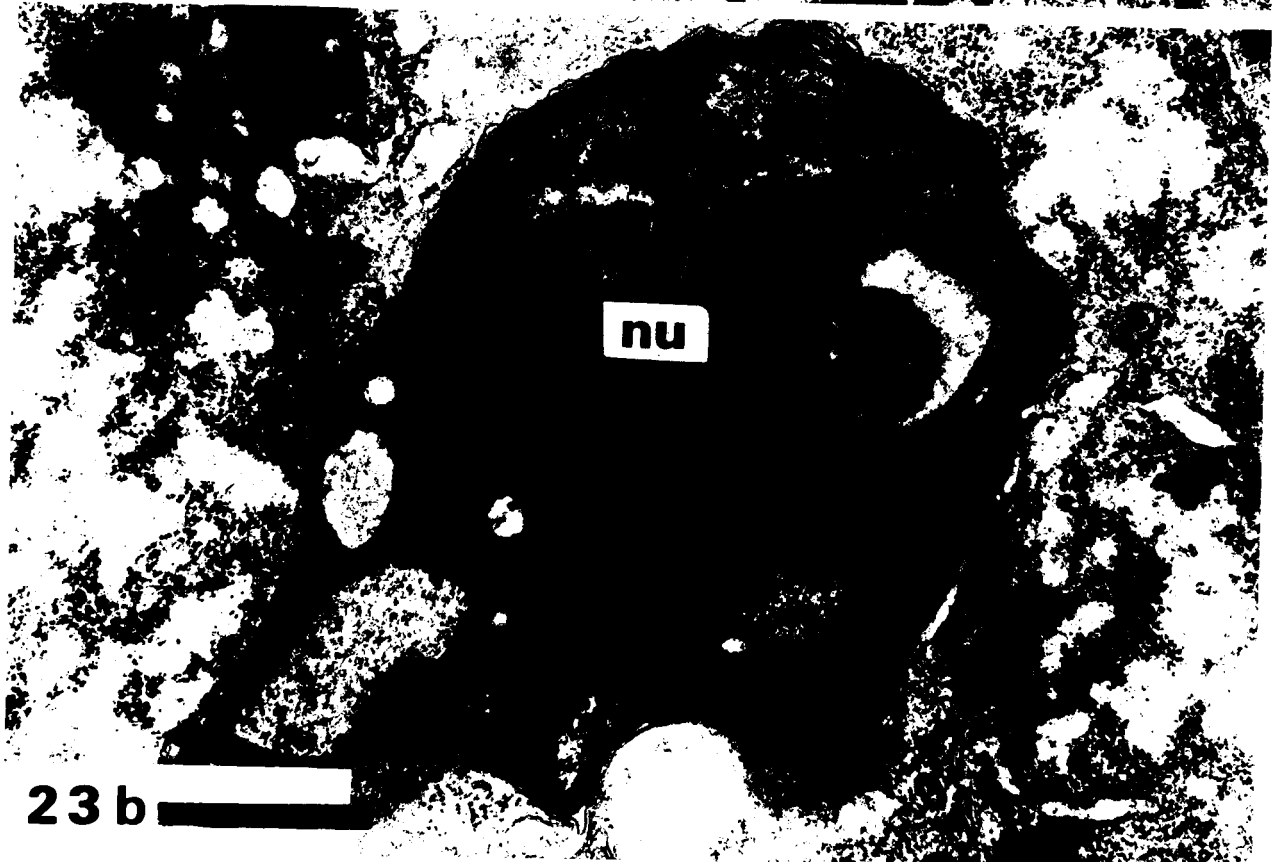
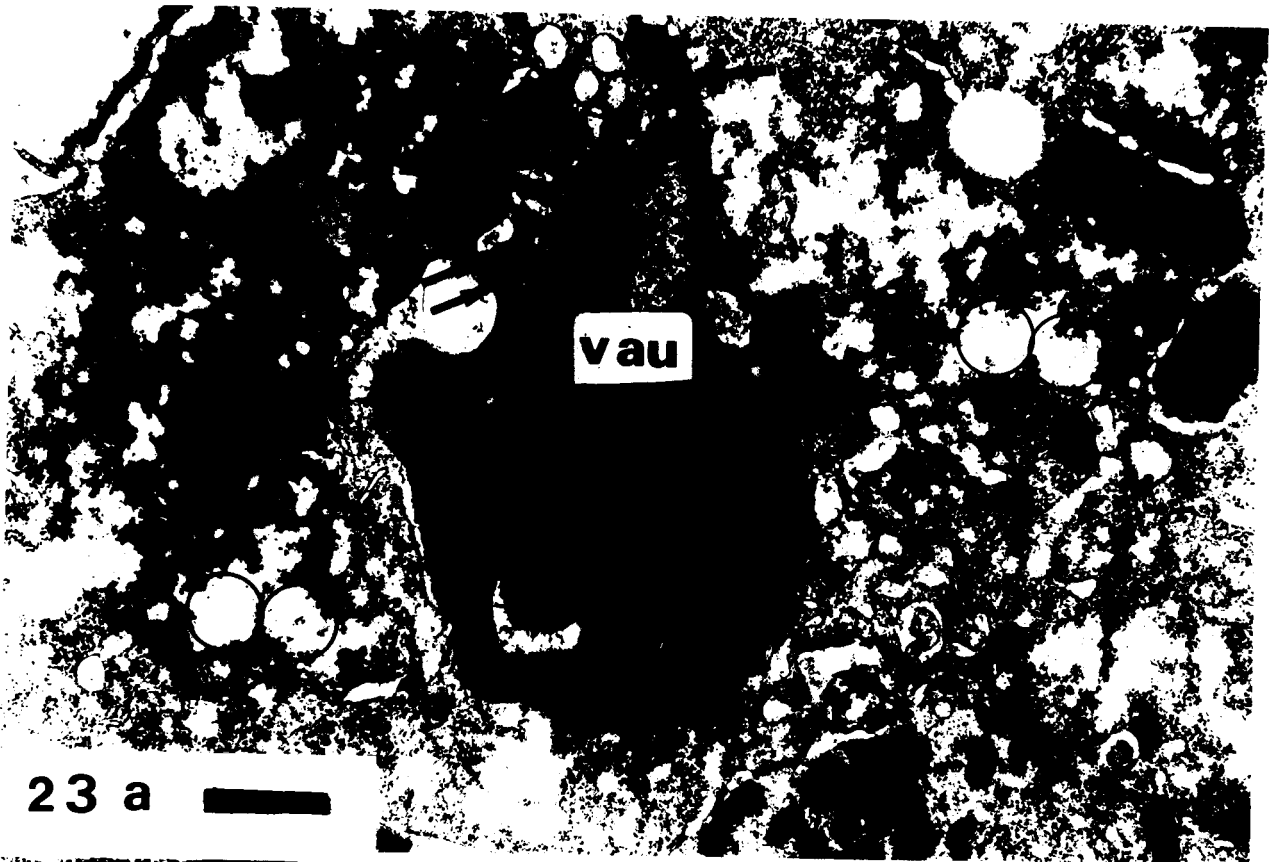


FIG.24. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à TO par
1,25 μ g/ml de T.M.T.D.

Observation à T 180.

Détail de cytoplasme où prolifère le reticulum endoplasmique granulaire associé à des accumulations de matériel de nature granulaire.

24a: en : enveloppe nucléaire;

er : reticulum endoplasmique granulaire;

mi : mitochondrie;

n : noyau;

mg : matériel granulaire;

Noter la continuité entre le reticulum et l'enveloppe nucléaire (\rightarrow).

Noter la présence de mitochondries non altérées (\rightarrow)

24b et c:

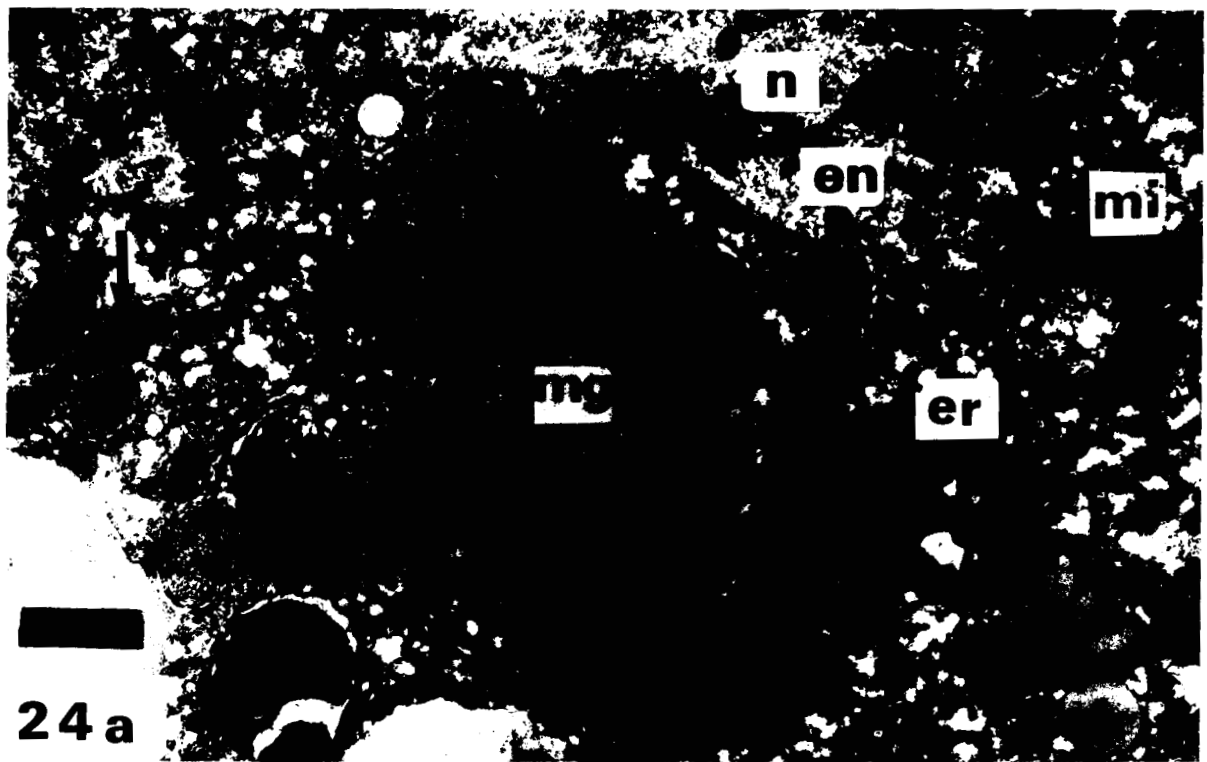
vau: vacuole autophagique;

l : gouttelette lipidique;

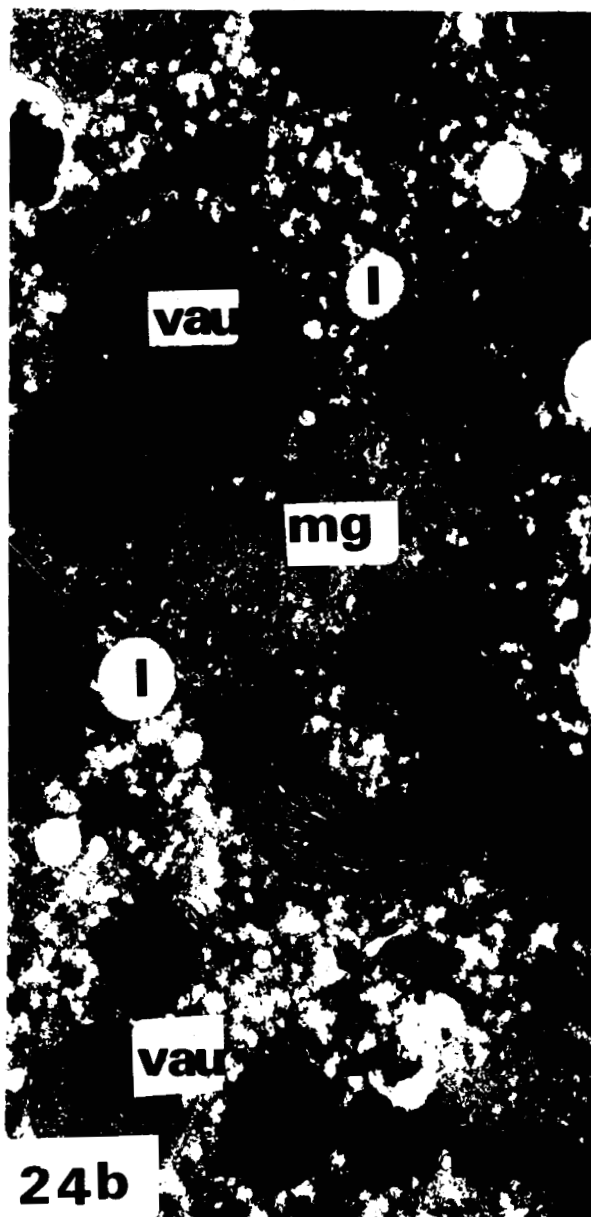
Noter la continuité entre le reticulum et les zones d'accumulation de matériel granulaire (mg) que souligne la présence d'un reticulum "diffus" (\blacktriangleright).

Noter la présence de mitochondries non altérées (\rightarrow)





24 a



24 b



24 c



FIG.25. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par

1,25 μ g/ml de T.M.T.D.

Observation à T 180.

25 a :coupe traitée à la pronase. Les zones d'accumulation de matériel granulaire révèlent la présence d'un reticulum granulaire en empilement à la périphérie (er) qui diffuse et se raméfie vers le centre (\rightarrow); de nombreuses vésicules y sont présentes (\rightarrow) ainsi que de nombreux ribosomes (\rightarrow)

25 b et c :coupe traitée à l'E.D.T.A.

On observe nettement les ribosomes bien contrastés (\rightarrow) et des grains bien définis mais moins contrastés (\rightarrow).

mi : mitochondrie;

mit : mitoribosome (\rightarrow).



25a



25b


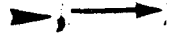


25c






FIG.26, Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par
1,25 µg/ml de T.M.T.D.

26a: coupe traitée à la pronase.

Les zones de prolifération du reticulum granulaire
(er) sont présentes à proximité d'accumulation de
ribosomes (). L'interpénétration de reti-
culum y est bien visible ().

26 b et c:

Détail de cytoplasme où la relation entre le reticu-
lum et les zones d'accumulation de ribosomes ()
est bien visible ().

26d: détail d'une gouttelette lipidique (l) ceinturée
par du reticulum endoplasmique granulaire ().

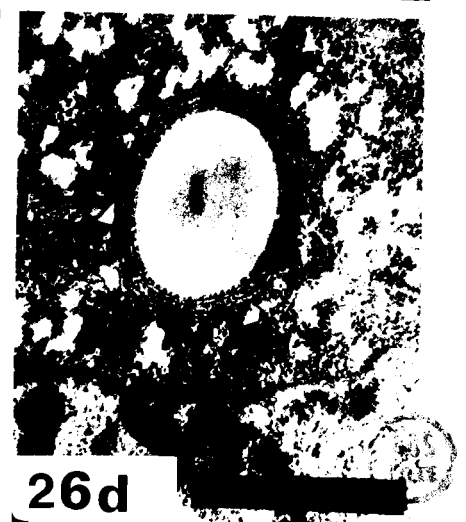
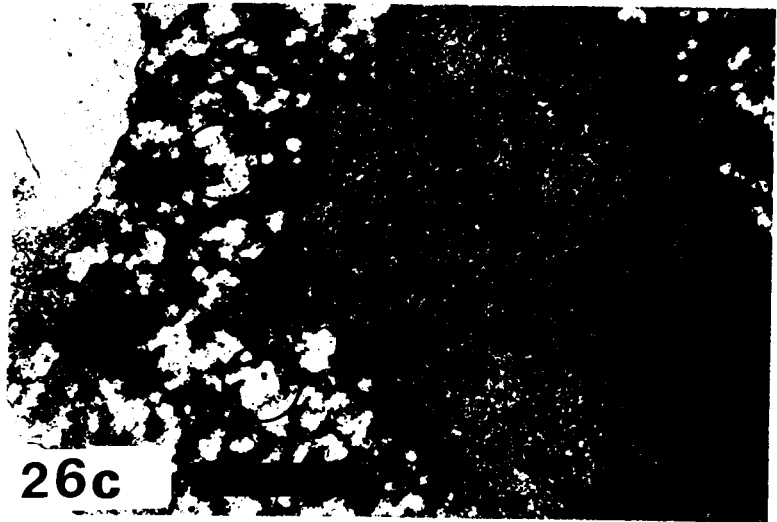
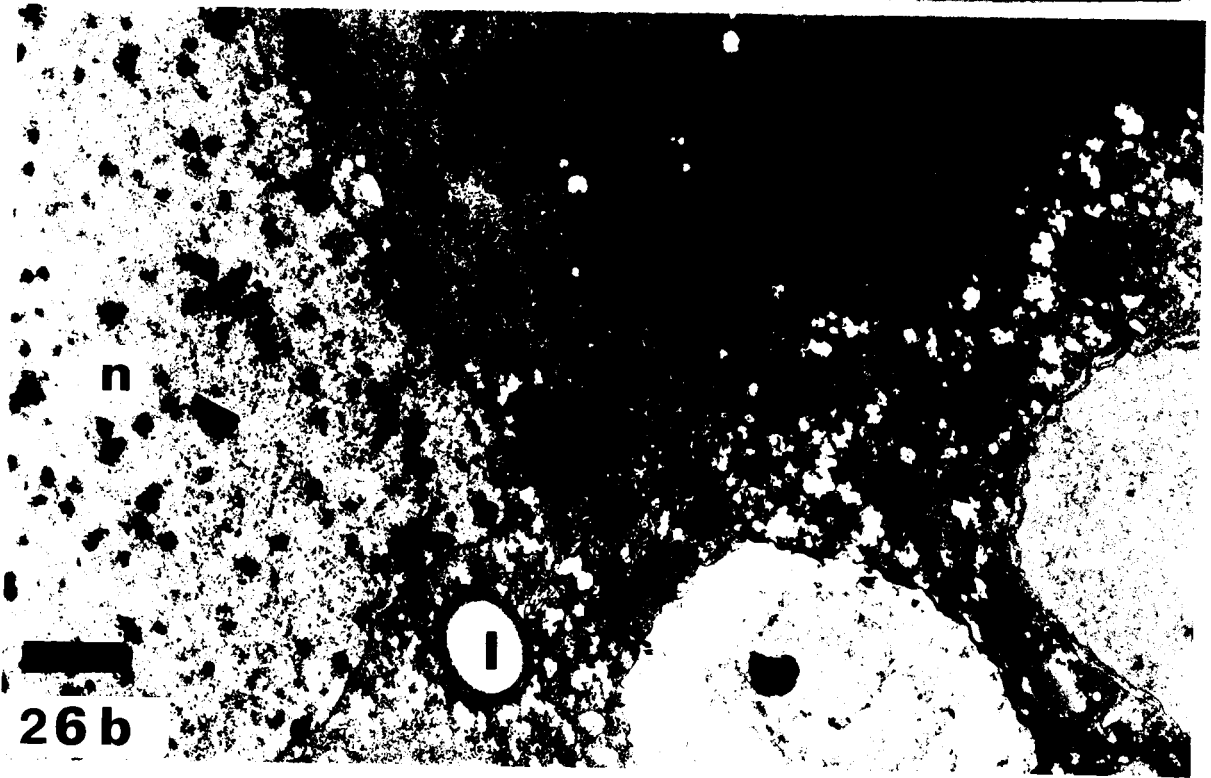
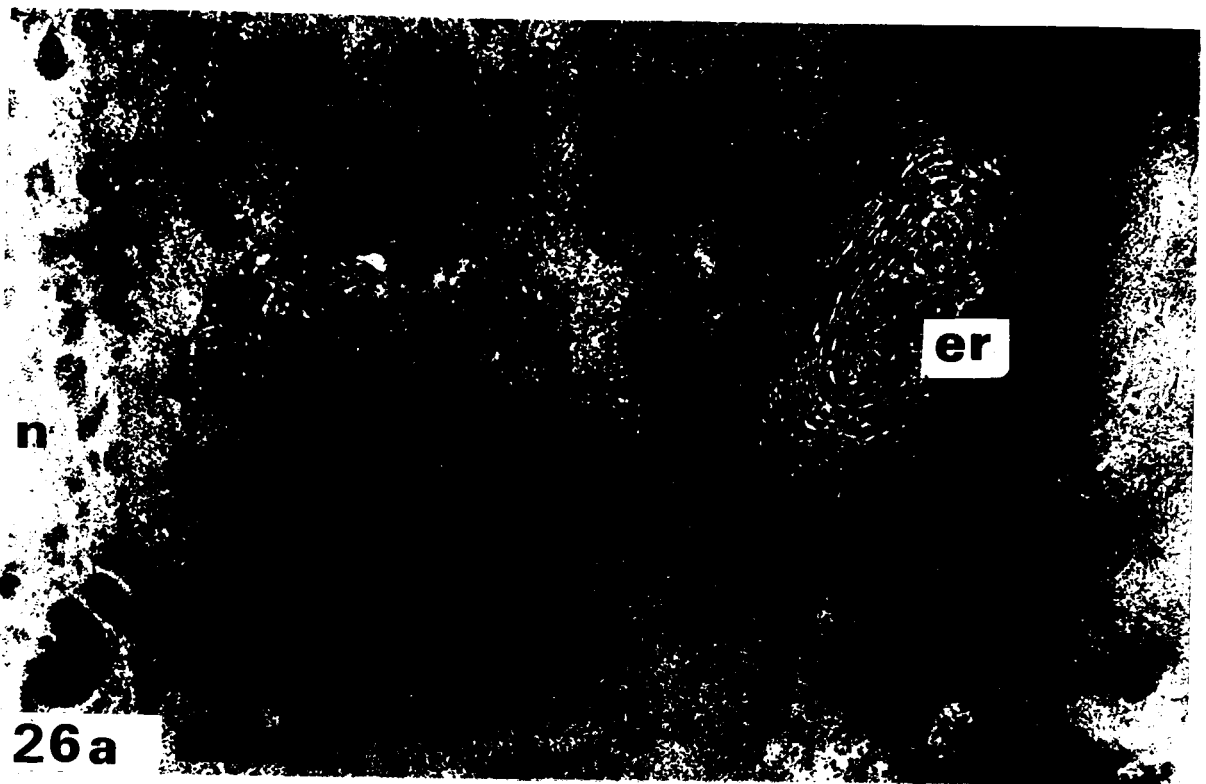


FIG.27. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par
1,25 μ g/ml de T.M.T.D.

Observation à T 220.

27a : ag :agrégat nucléolaire;

vau : vacuole autophagique.


27b : er :reticulum endoplasmique granulaire;

mi : mitochondrie;

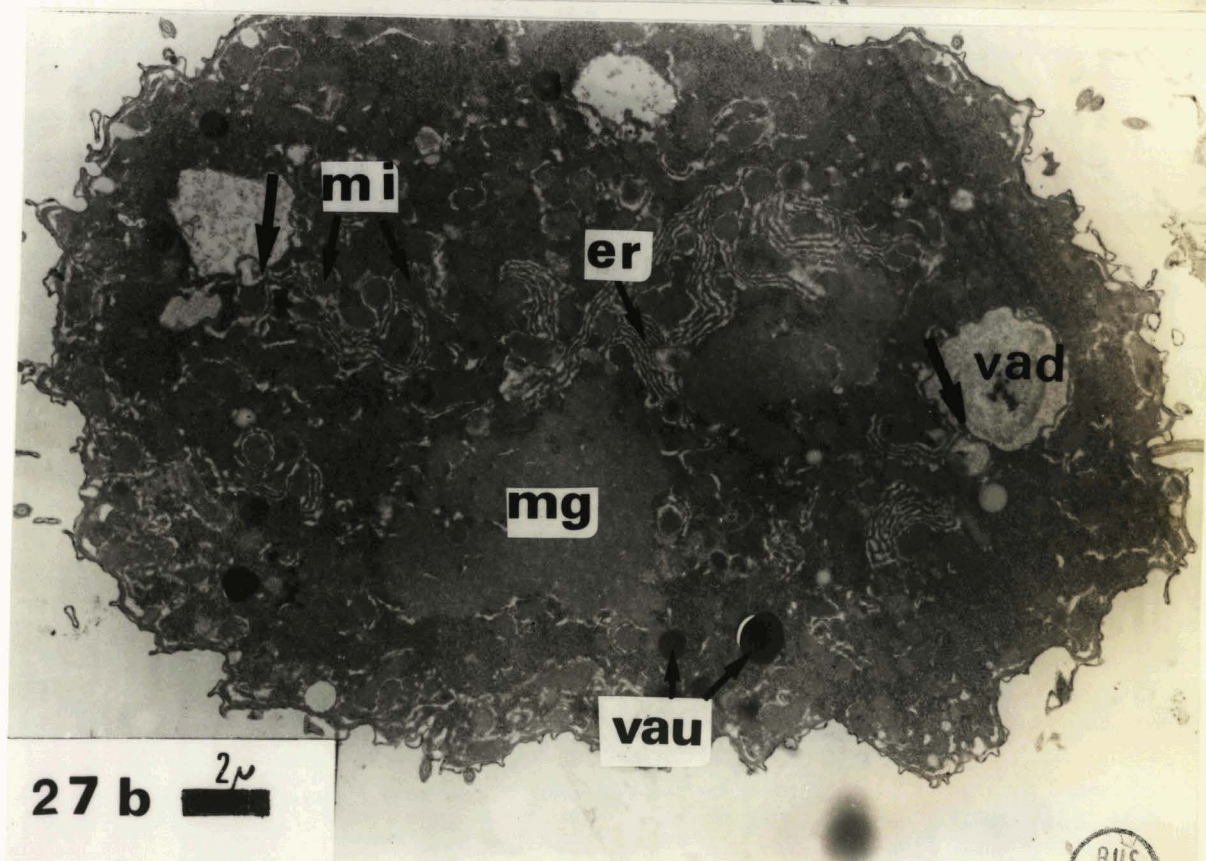
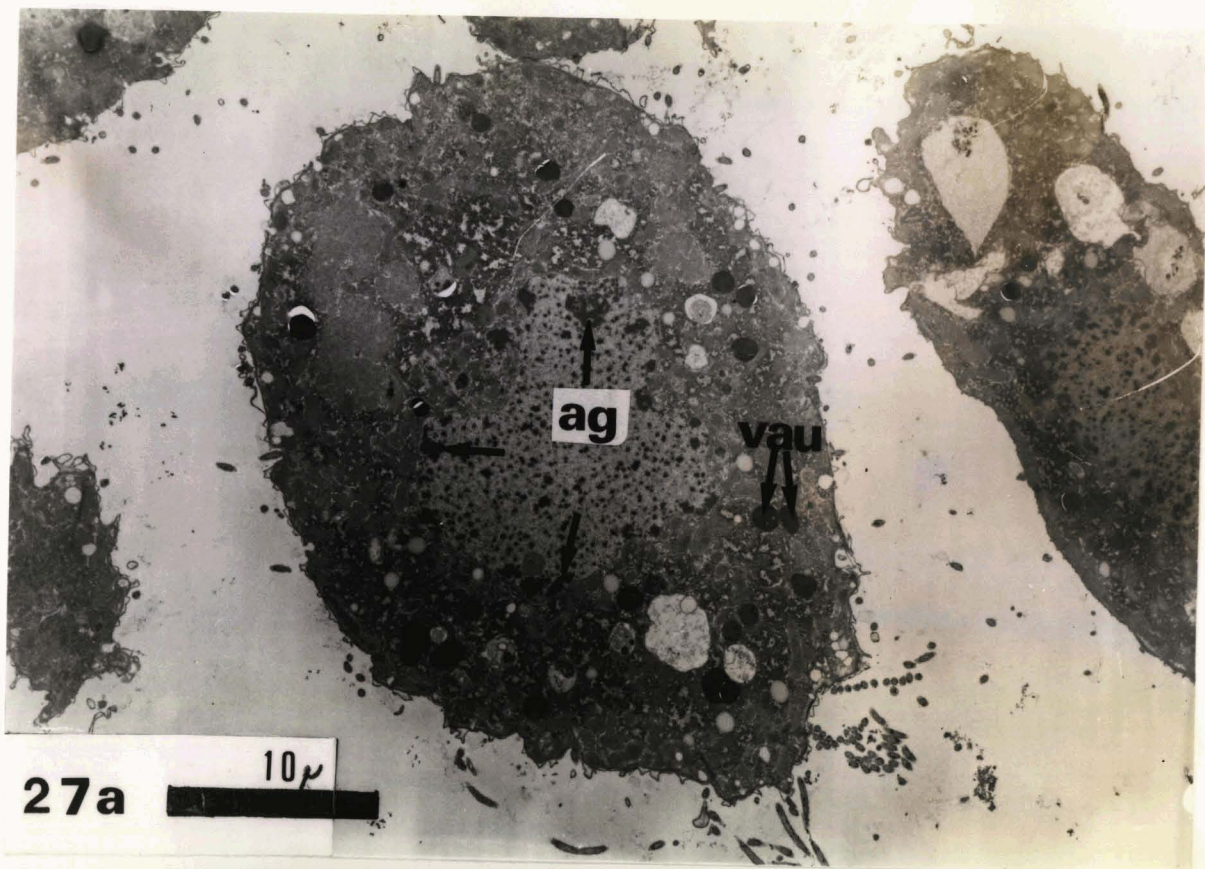
mg : matériel granulaire;

vau : vacuole autophagique;

vad : vacuole digestive;

Noter les communications directes entre le reticu-
lum granulaire et les vacuoles ().





BUS
LILLE

FIG.28. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à TO par
1,25 μ g/ml de T.M.T.D.

28 a : Observation à T 220.

Portion de cytoplasme où s'observe le reticulum communiquant directement avec les vacuoles digestives (vad, \rightarrow). Le glycogène (g) forme encore des îlots importants.

mi : mitochondrie;

l : gouttelette lipidique.

28b: Détail du noyau à T 280.

Des nucléoles typiques de l'espèce réapparaissent dans le noyau des cellules intoxiquées (nu). Les mitochondries montrent une morphologie normale (mi);

l : gouttelette lipidique;

en : enveloppe nucléaire;

on : organisateur nucléolaire.



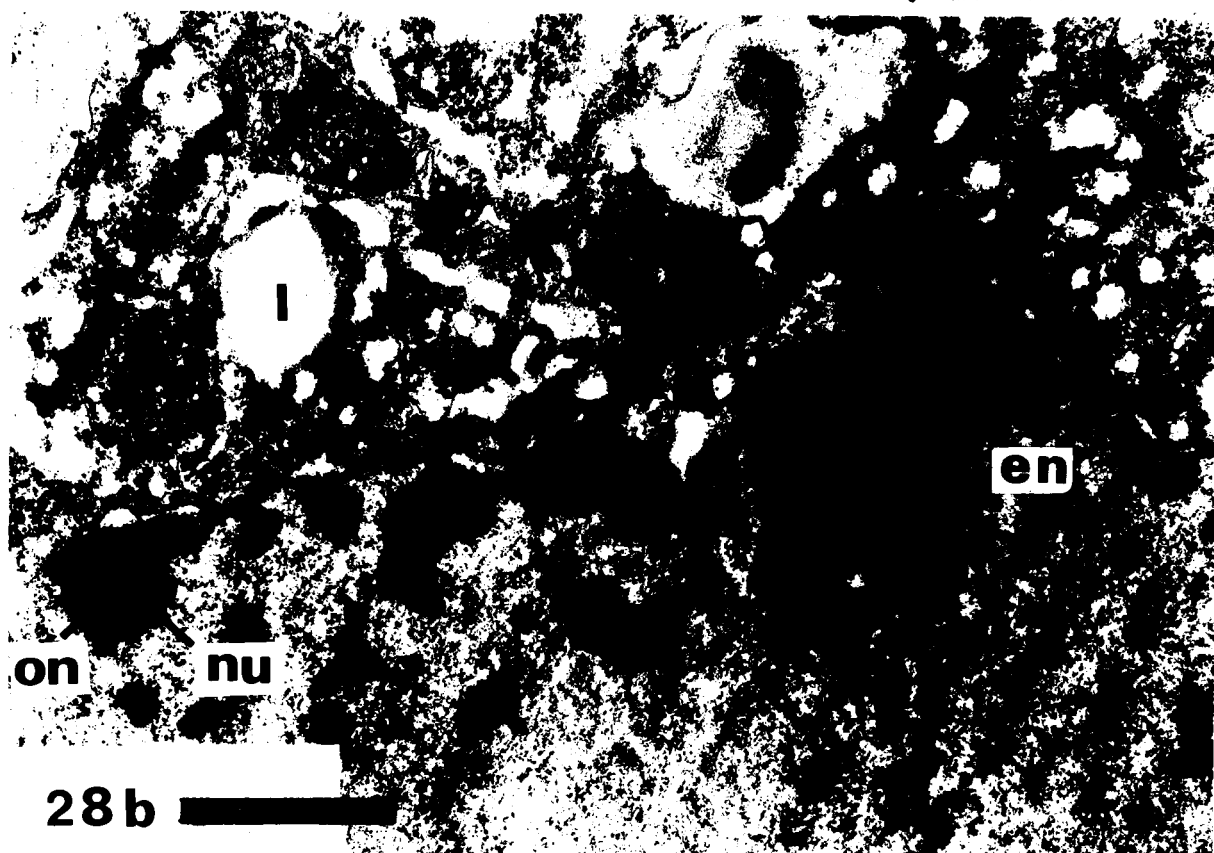
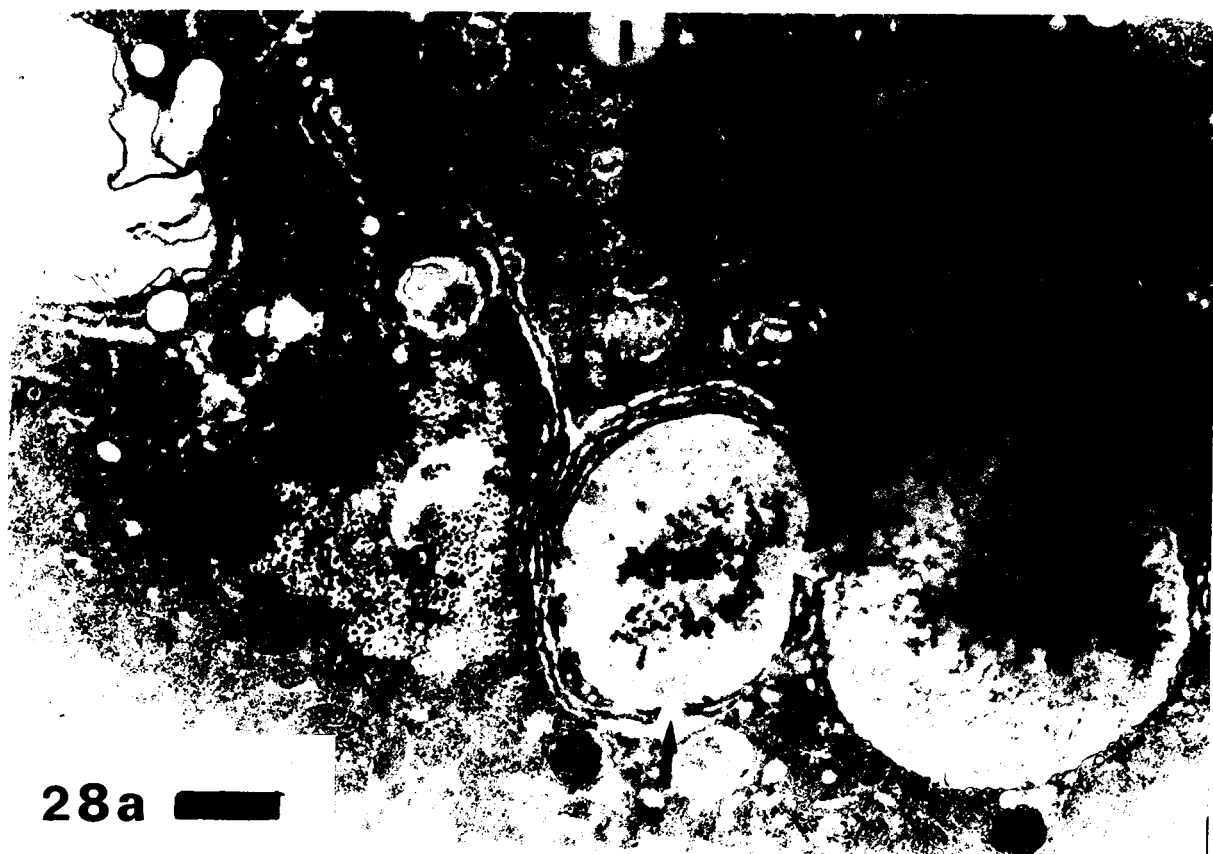


FIG.29. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T0 par
1,25 $\mu\text{g/ml}$ de T.M.T.D.
Observation à T 300.

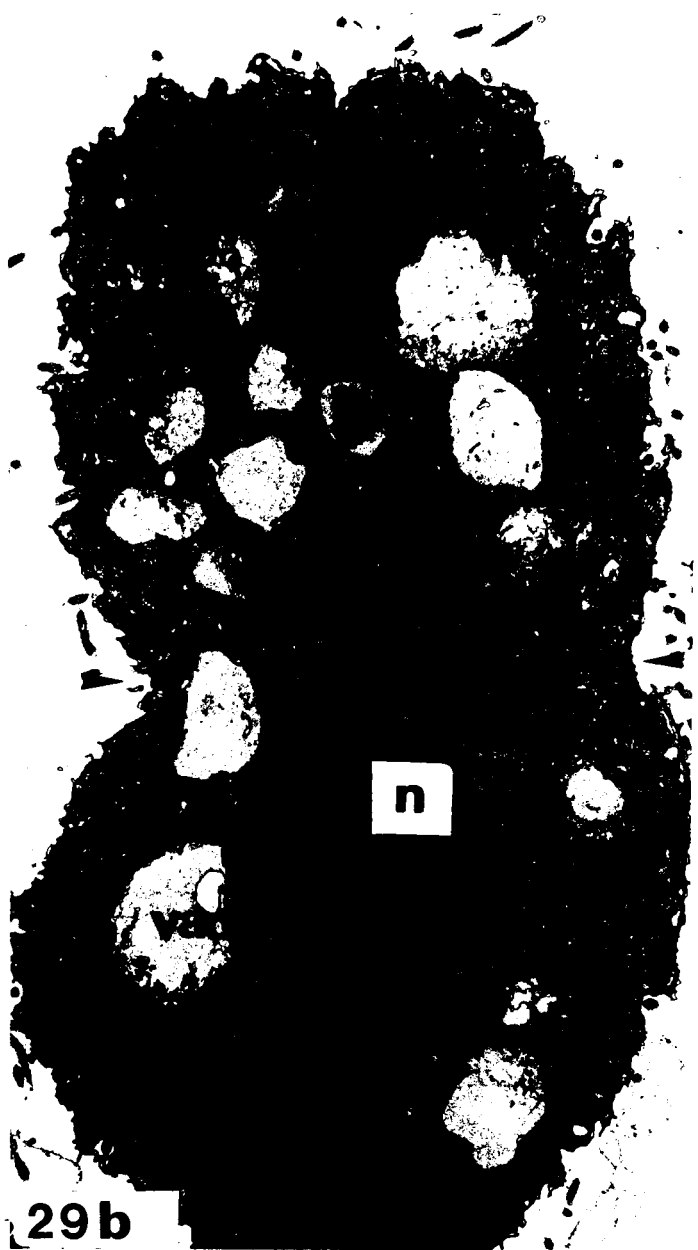
29a: l : gouttelette lipidique;
n : noyau;
nucléole: ►

29b: cellule en cours de division.
Noter la zone de constriction médiane (►).
n : noyau;
vad : vacuole digestive.

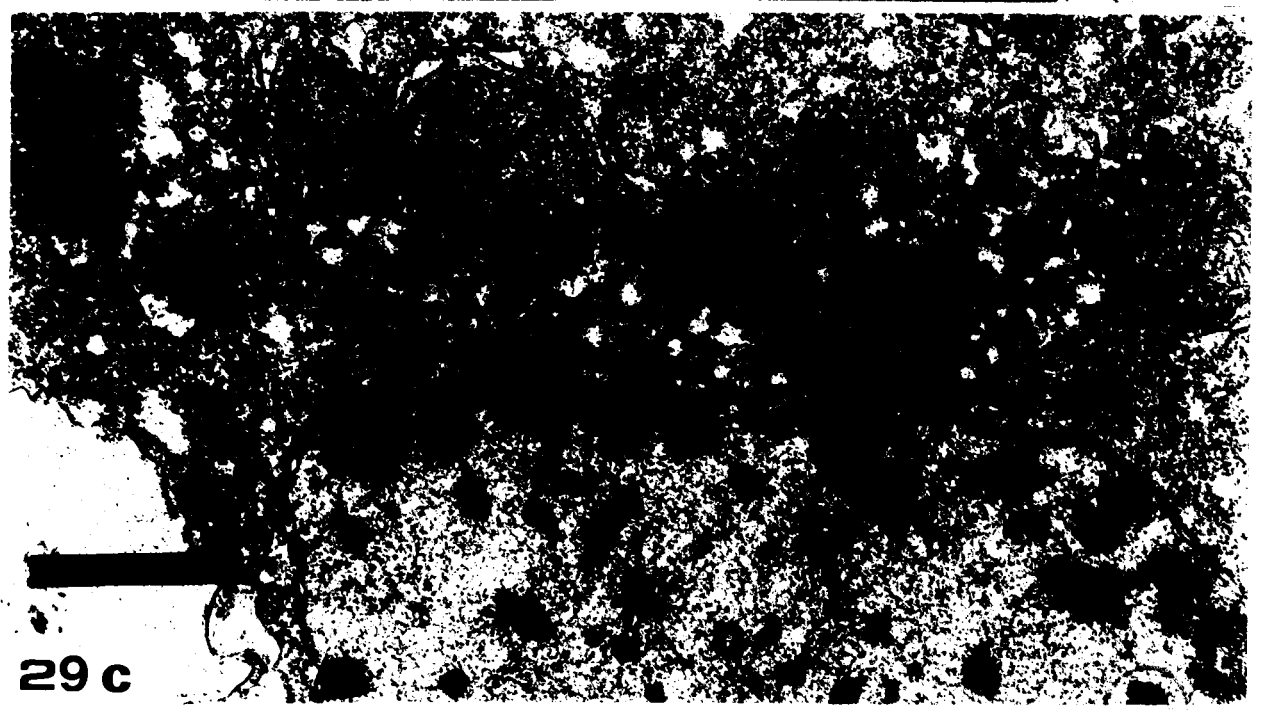
29c: détail du noyau et du cytoplasme.
n : noyau;
nu : nucléole;
en : enveloppe nucléaire;
er : reticulum endoplasmique granulaire;
mi : mitochondrie;
ly: lysosome;
c : chromatine.



29a



29b



29c

FIG. 30. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T90 par
1,25 $\mu\text{g/ml}$ de T.M.T.D.
Observation à T 110.

30a: Le noyau est fortement déformé (n); les agrégats
nucléolaires sont dispersés (\blackrightarrow).

er : prolifération de reticulum endoplasmique granulaire
mi : mitochondrie.

30b: détail d'une zone de prolifération de reticulum endo-
plasmique granulaire.

er : reticulum granulaire;
mi : mitochondrie;

Noter l'interpénétration du reticulum (\blackrightarrow) et
la zone d'accumulation de matériel granulaire, où de
nombreux ribosomes s'observent (\blacktriangleright).



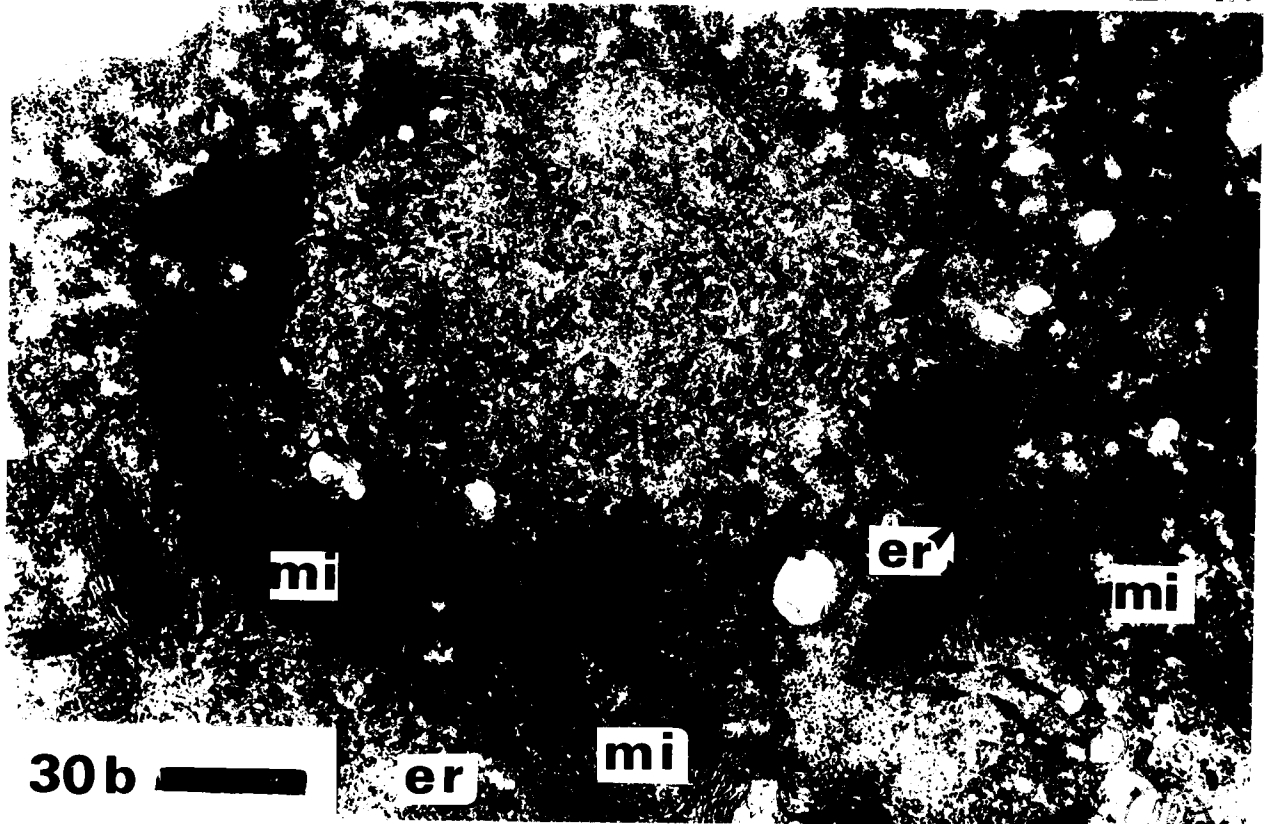
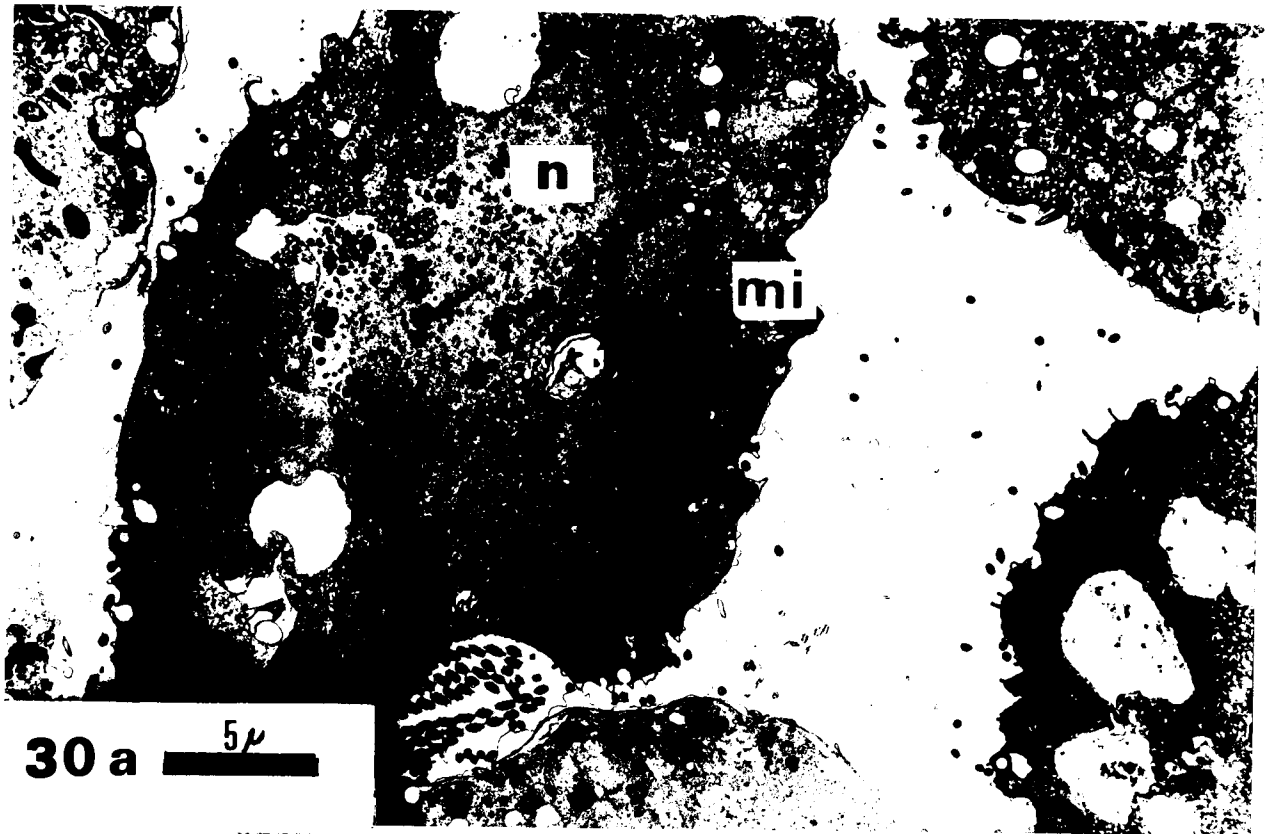


FIG.31. Mitochondries de cellules intoxiquées à T 90 par
1,25 μ g/ml de T.M.T.D.
Observation à T 110.

31a: des mitochondries à matrice sombre et en cupule ou à
matrice éclaircie s'observent conjointement (mi).
er : reticulum endoplasmique granulaire;
ext : extrusion nucléaire.

31b: ultrastructure des mitochondries à matrice éclaircie.
mi : mitochondrie;
les tubules sont fragmentés (\blackrightarrow), la matrice
s'éclaircie (\rightarrow); des vésicules se forment à partir
des membranes (\blacktriangleright).



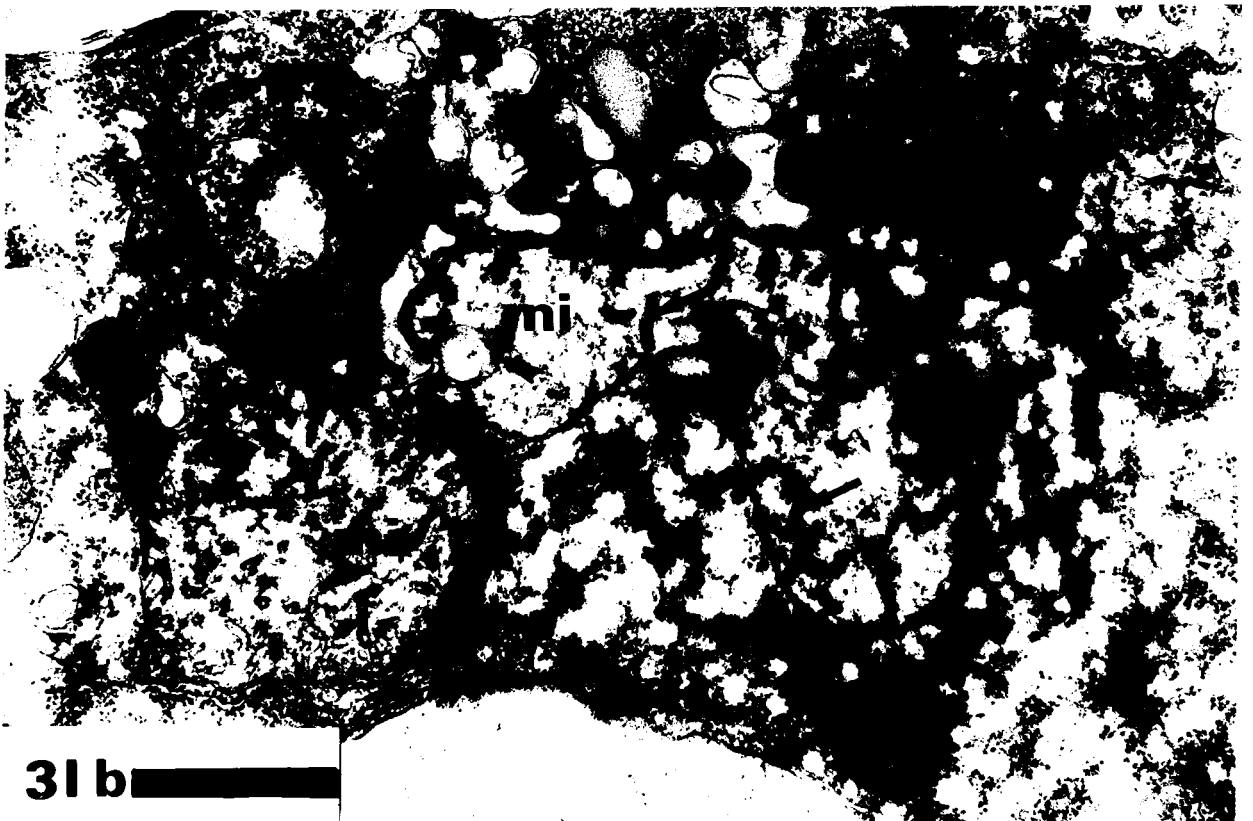
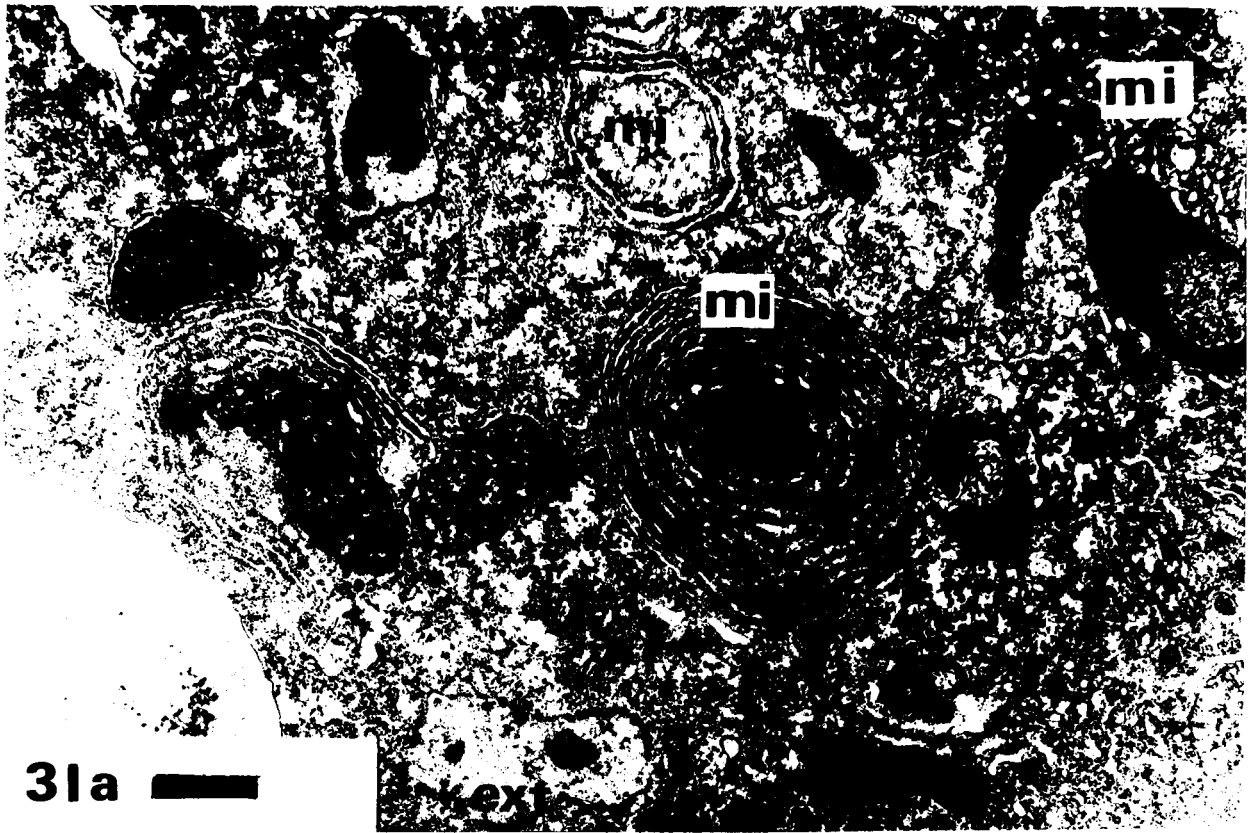


FIG.32. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T90 par
1,25 $\mu\text{g/ml}$ de T.M.T.D.

32a et b : Observation à T 140.

Les mitochondries ont toutes une configuration
éclaircie (mi). Les nucléoles se raréfient (nu);

n : noyau;

c : chromatine agrégée;

g : glycogène.

32c: Observation à T 170.

Le noyau ne contient plus de nucléoles et se déforme
de telle sorte que des îlots de cytoplasme y apparaissent
(icy). Le cytoplasme se raréfie (cy).

mi : mitochondrie.



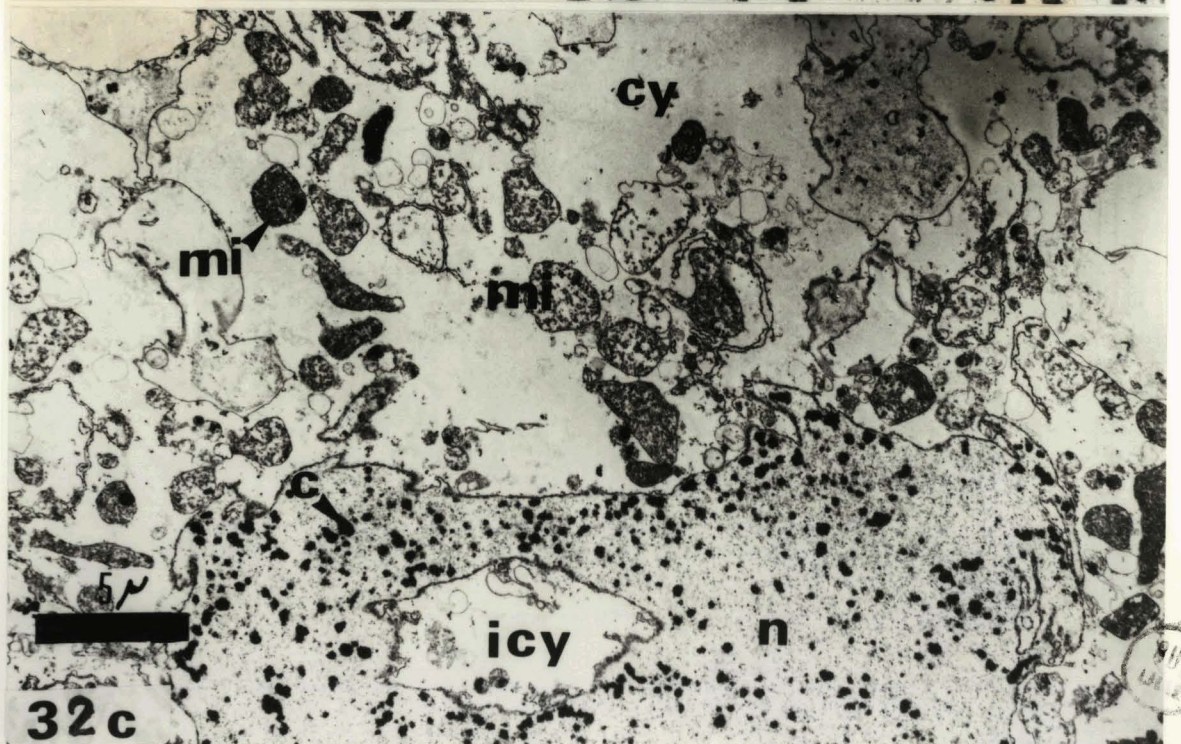
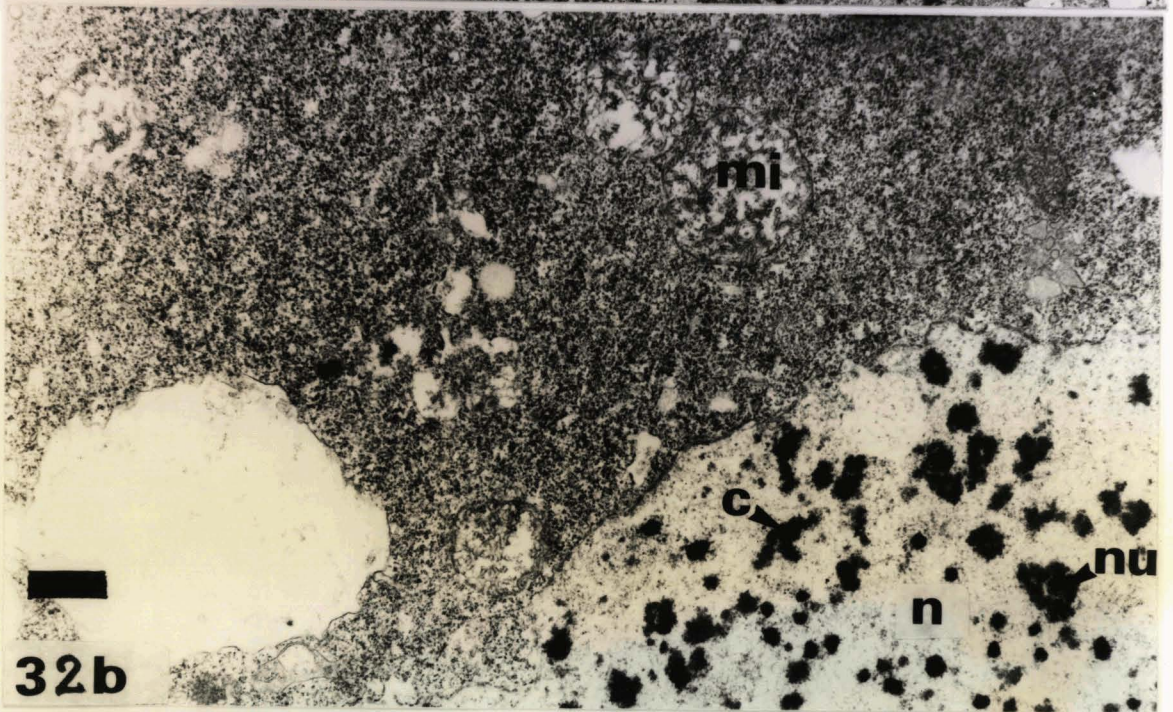
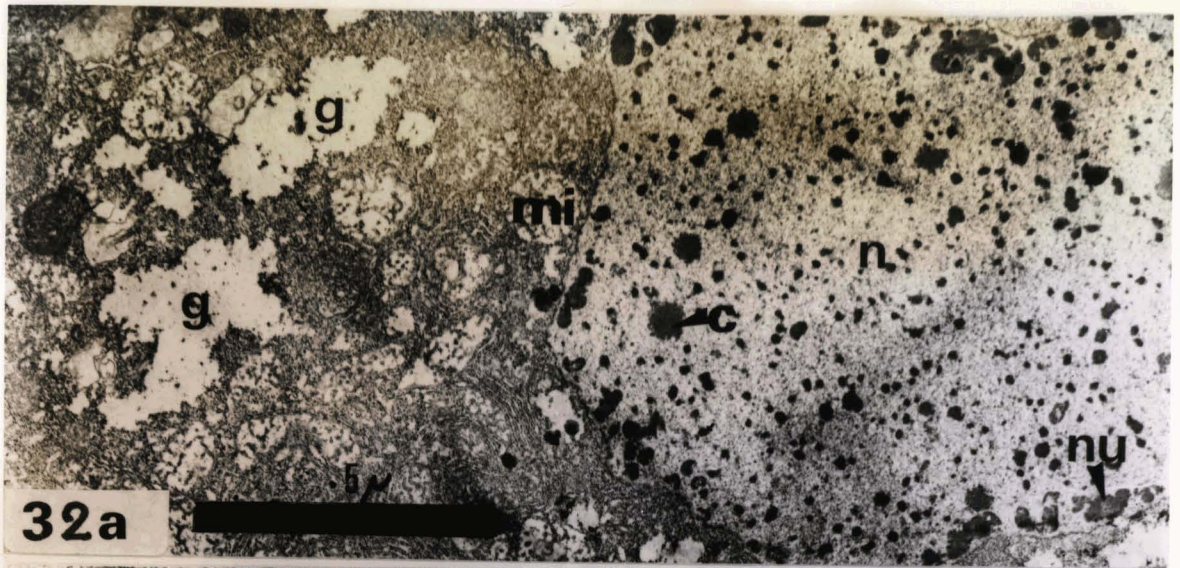


FIG.33. Ultrastructure de Tetrahymens intoxiqué à T0 par

0,25 μ g/ml de T.M.T.D.

Observation à T 80.

33a: aspect général.

Les altérations sont peu prononcées: quelques agrégats nucléolaires (ag) et des mitochondries en cupule (mi) s'observent.

vad:: vacuole digestive.

33b: n : noyau;

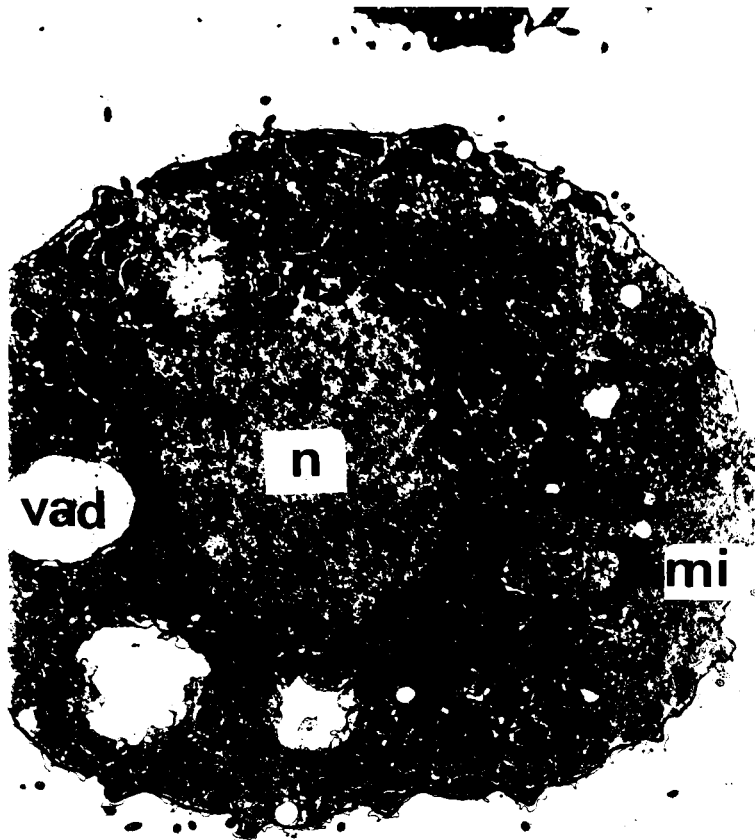
nu : nucléole;

er : reticulum granulaire;

33c: zone de prolifération du reticulum granulaire (er)

en association avec des mitochondries (mi); des invaginations intravacuolaires s'observent à ce niveau (\rightarrow).

33d: quelques mitochondries se déforment en cupule (mi).



33a

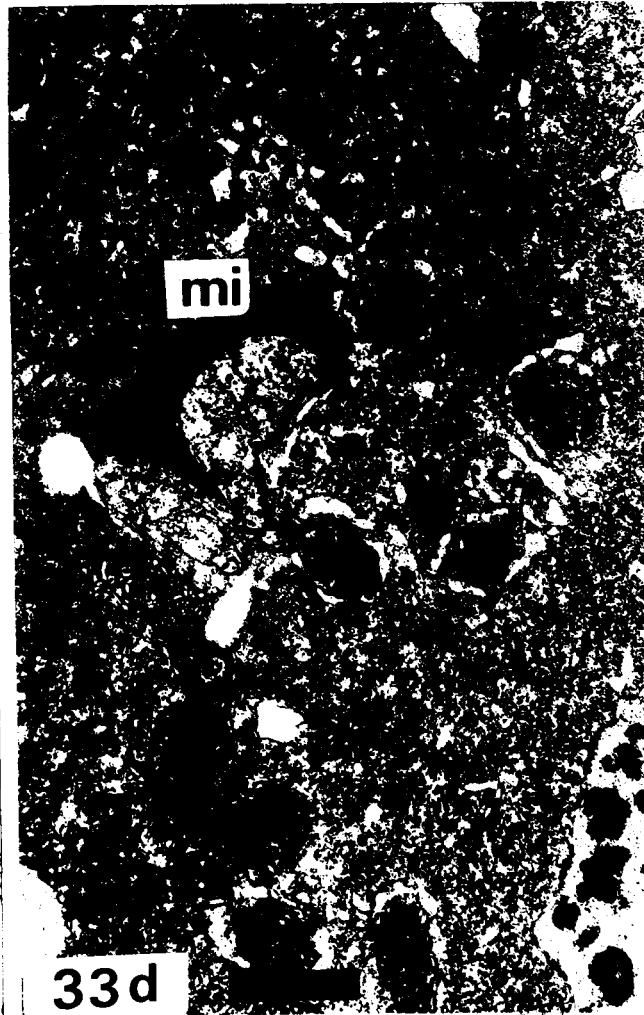
10 μ



33b



33c



33d

FIG.34. Ultrastructure de Tetrahymena intoxiqué à T90 par
0,25 μ g/ml de T.M.T.D.

Observation à T 110.

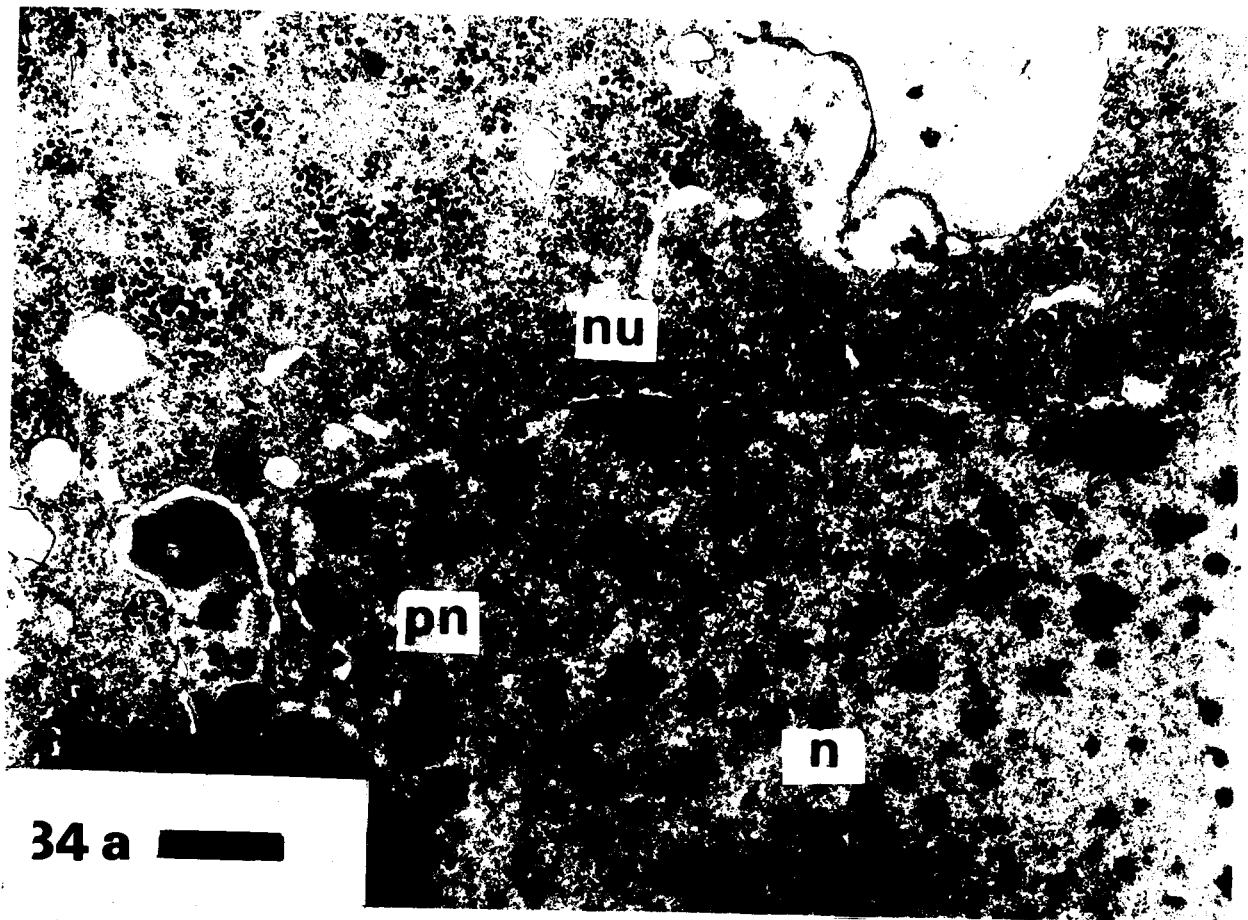
n : noyau;

nu : nucléole;

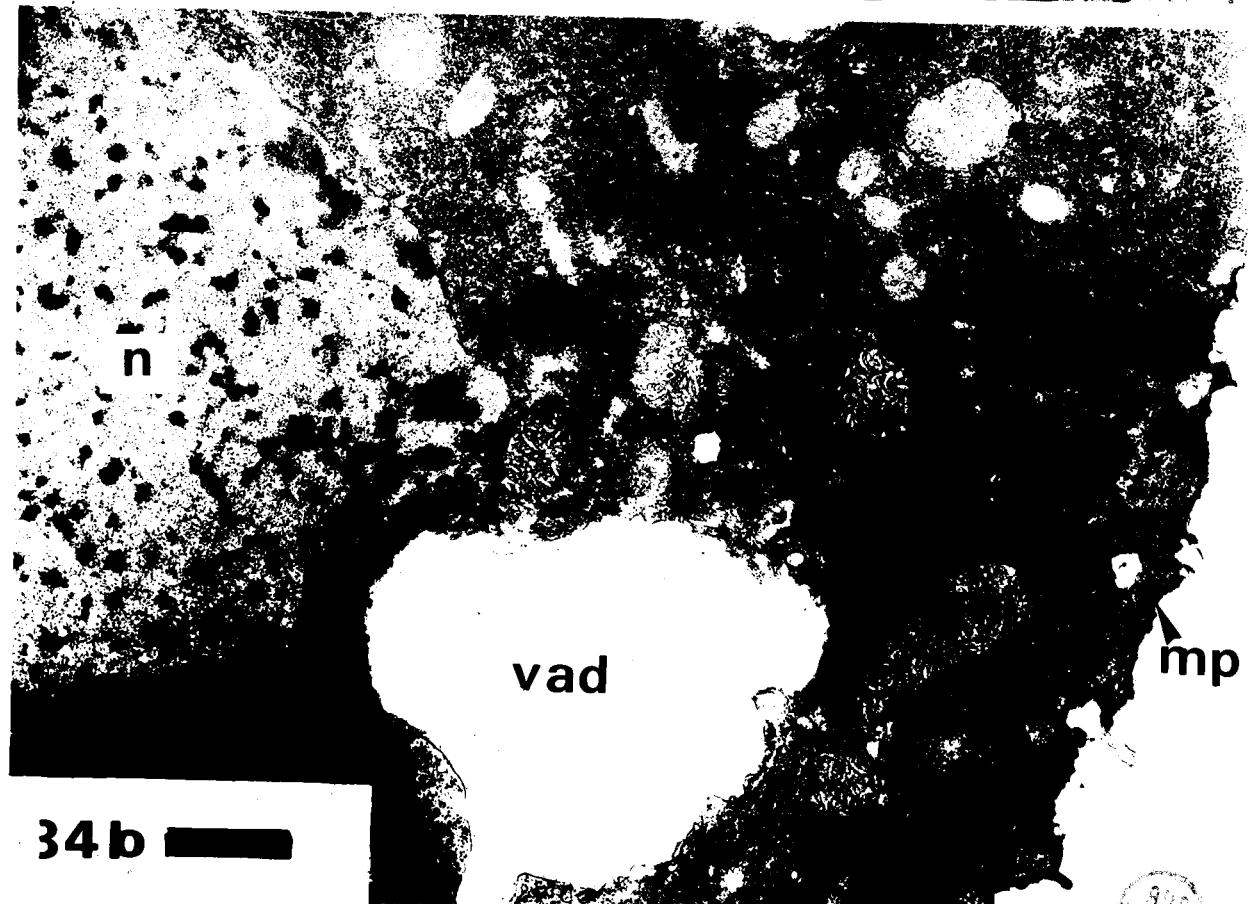
en : enveloppe nucléaire;

pn : pores nucléaires.





34 a



34 b

9116

FIG.35. Ultrastructure de Tetrahymena pyriformis G1 en culture exponentielle.

35a; cellule non intoxiquée.

mi : mitochondrie;

er : reticulum endoplasmique granulaire;

en : enveloppe nucléaire;

c : chromatine;

nu : nucléole;

on : organisateur nucléolaire.

35 b et c : cellule intoxiquée à T0 (densité cellulaire de la culture:30.000 cellules/ml) par 1,25 µg/ml de T.M.T.D.

Observation à T80.


35b: ag : agrégat nucléolaire;

c : chromatine;

en : enveloppe nucléaire.

35c: l : gouttelette lipidique;

des vésicules contenant des membranes résiduelles

() s'observent en abondance dans des vacuoles (v)

vau : vacuole autophagique;

mi : mitochondrie.



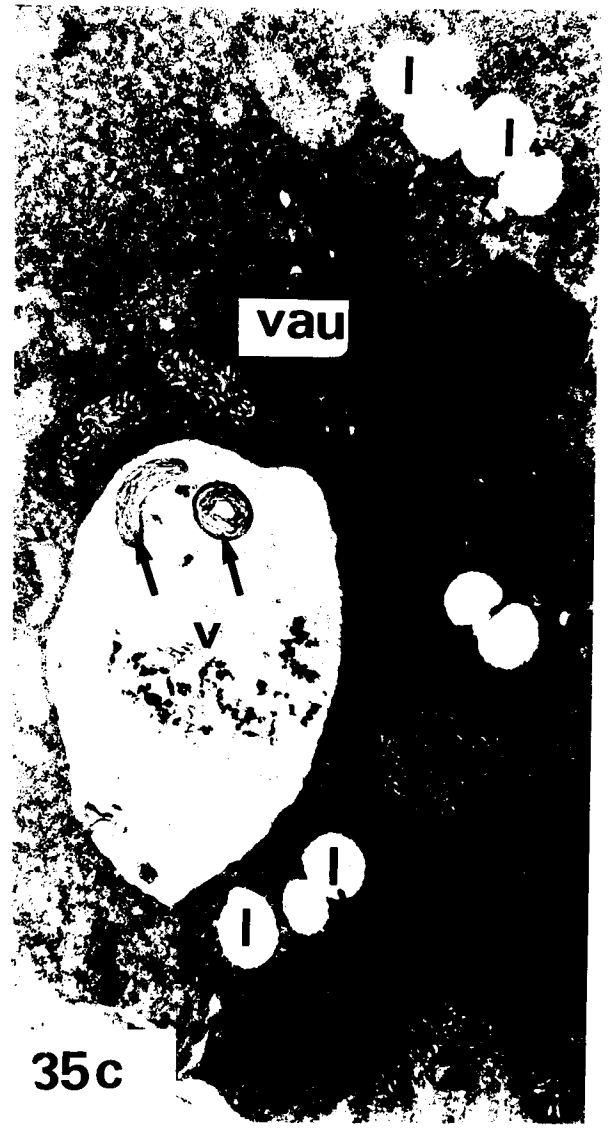
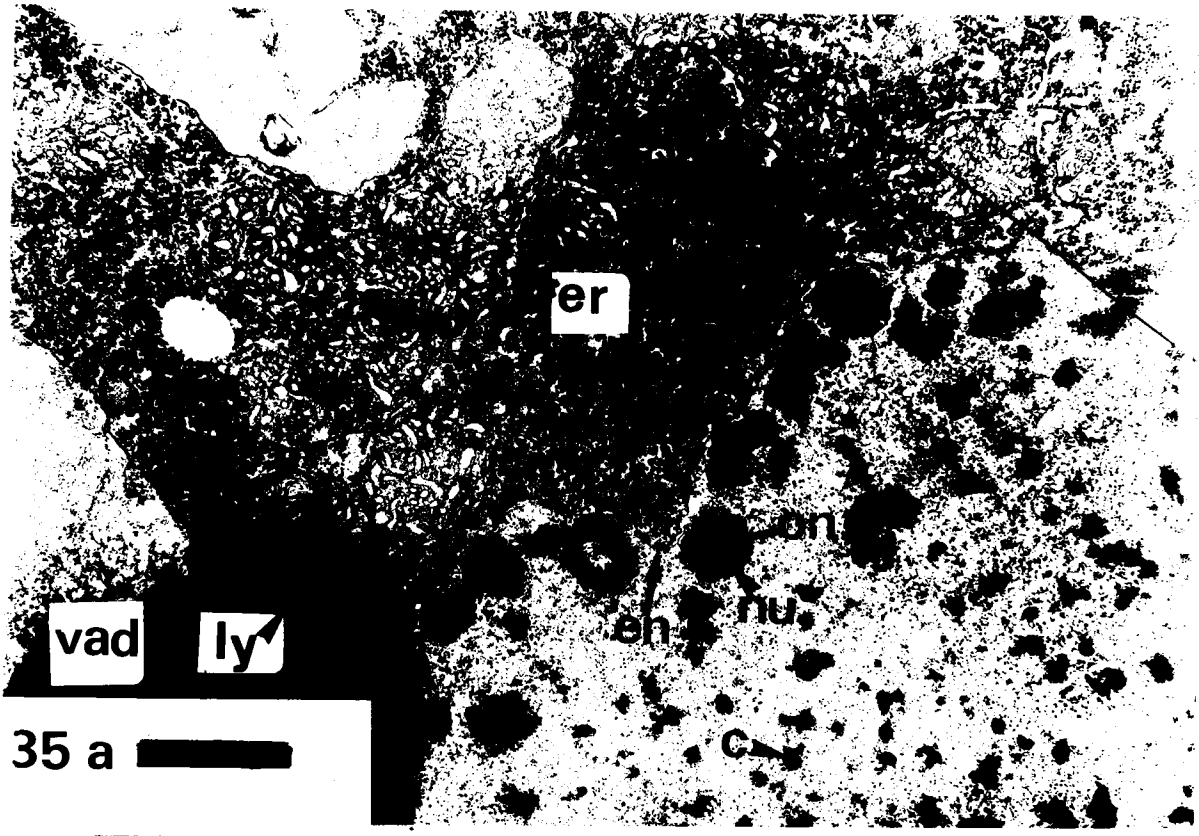


FIG.36. Ultrastructure de Tetrahymena en culture exponentielle
intoxiqué à T0 par 1,25 μ g/ml de T.M.T.D.
Observation à T 80.

36 a et b : de nombreuses cellules montrent des mitochondries
à matrice éclaircie (\blacktriangleright) et à tubules fragmentés (t)
ou au contraire à matrice très sombre déformées en cupule
36 c : des zones d'accumulation du reticulum granulaire
(\blackrightarrow) apparaît dans la cellule;
mi : mitochondrie.

