

PROTISTOLOGICA, 1982, T. XVIII, fasc. 4, p. 427-430.

DIVISION MACRONUCLÉAIRE

DU CILIÉ LAURENTIELLA ACUMINATA

A. TORRES, P. CALVO, J.J. MUÑOZ * et J. PEREZ-SILVA Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla, Sevilla, Espagne.

RÉSUMÉ

La distribution de PADN lors de la division macronucléaire du cilié hypotriche *Laurentiella acuminata* a été étudiée par cytophotométrie. Le degré moyen d'inégalité de la répartition de PADN entre cellules sœurs est 10,05 p. cent. Les différences de teneur en ADN sont plus grandes entre deux cellules tirées au sort qu'entre deux cellules sœurs: ce résultat peut être expliqué par l'accumulation des petites différences qui apparaissent à chaque division.

SUMMARY

The distribution of DNA in the macronuclear division of the Hypotrich ciliate *Laurentiella acuminata* has been studied by cytophotometric techniques. The mean degree of inequality found in the distribution of DNA between sister cells is 10.05 %. Differences in DNA contents in randomly-paired cells is greater than in sister cells, this result could be due to

accumulation of small differences over many divisions.

INTRODUCTION

Le macronucléus des Ciliés est un noyau polyploïde dont la division amitotique n'assure pas une équipartition rigoureuse de PADN entre cellules sœurs. En conséquence, toute culture de ces protozoaires acquiert une variabilité plus ou moins importante pour la teneur en ADN macronucléaire. Ces phénomènes ont été étudiés chez *Tetrahymena pyriformis* (CLEFFMAN, 1968; Mc DONALD, 1958; DOERDER et al., 1975), *Tetrahymena paravorax* (DuPY-BLANC et MÉTÉNIER, 1978), *Paramecium aurelia* (KIMBALL et BARKA, 1959) et *Bursaria truncatella* (RUTHMANN, 1964). Cependant, on ne dispose que de peu de données sur la répartition de PADN macronucléaire des Hypotriches, le seul travail sur le sujet étant dû à WRRR (1977), sur *Euplotes eurystomus*.

Le présent travail est une étude de la distribution

de PADN au cours de la division macronucléaire du cilié hypotriche *Laurentiella acuminata* FEDRIANI et al., 1976.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les cultures sont effectuées sur milieu de Pringsheim, à 20°C, et nourries de *Chlorogonium* sp.

Le dosage de PADN est effectué par cytophotométrie après coloration de Feulgen, selon des techniques déjà décrites (TORRES et al., 1979). Les teneurs en ADN macronucléaires sont caractérisées par le rapport ma/mi , mi désignant la teneur moyenne en ADN des micro- nucléus en phase G1 de la même préparation. Les analyses statistiques ont été faites à l'aide d'un calculateur Philips digital PDP 11-23; le niveau de signification choisi pour les tests est 0,01.

- Departamento de Estadística. Facultad de Matemáticas. Universidad de Sevilla, Sevilla, Espagne. Manuscrit regu le 18 juin 1980, accepté par le Comité de lecture le 2 juin 1982.

427

/ a A

RÉSULTATS

Comme nous Pavons déjàa montré (TORRES et al, 1979), les quatre fragments constituant le macronucléus de *Laurentiella acuminata* fusionnent après la période S macronucléaire, formant ainsi une seule masse compacte ellipsoïdale. Cette masse subit ensuite trois divisions consécutives, donnant naissance á huit fragments qui se répartissent entre les deux cellules filles.

Nous avons sélectionné 92 individus qui avaient atteint les derniers stades de la cytodièrese : les cellules présentent létrangement équatorial caractéristique qui les rendent facilement identifiables á la loupe bino- culaire; le macronucléus en est alors á la deuxième ou troisième division.

Aprés coloration par la méthode de Feulgen, les teneurs en ADN du proter et de Popisthe ont été mesurées, soit respectivement Q_p et Q_o . Ces valeurs permettent de calculer le degré d'inégalité de répartition de PADN entre deux cellules soeurs.

$$Q_r = 100(Q_p - Q_o) / (Q_p + Q_o) / 2$$

La distribution de Q_r est représentée par la fig. 1.

Les différences atteignent 40 á 50 p. cent : elles ne

Ol 30| - n vu po o : a 20 v DU v 13 2 10 E o Zz Ds | o o o o o o Oo o o + o a F he NA mM
«+ 10 ceo 1%] 1 lo 12(Q,+ Qp) FiG. 1. — Histogramme représentant la distribution des

différences relatives de teneur en ADN macronucléaire entre proter et opisthe pour 92 couples de cellules saeurs.

peuvent être dues á l'imprécision des mesures. La moyenne de $|Q_r|$, degré d'inégalité moyen, est 10,5 p. cent. L'étude statistique plus détaillée conduit aux con- clusions suivantes.

1. La distribution conjointe de Q_p et Q_o s'écarte significativement d'une loi normale á deux dimensions (test de Mardia). Pour cette raison, la recherche d'une liaison entre Q_p et Q_o est faite á Paide du coefficient de rang de Spearman : on trouve

0,648, valeur significativement différente de zéro. Les macronucléus de cellules seurs ont donc des teneurs en ADN présentant une tendance à la ressemblance.

2. La distribution de Q, peut être considérée comme normale (test d'Agostinho : $D = 0,2723$). Sa moyenne n'est pas significativement différente de zéro ($t = 0,15$), ce qui indique que la répartition inégale ne favorise systématiquement ni les proteres ni les opisthes.

A titre de témoin, deux autres distributions ont été constituées à partir des mêmes données.

— Des couples de cellules ont été constitués par tirage aléatoire de deux cellules parmi les 184 cellules filles mesurées, puis de deux parmi les 182 restantes, et ainsi de suite. On obtient ainsi 92 couples aléatoires de cellules-filles.

— Par un procédé analogue, on a constitué des couples aléatoires de cellules-mères : la teneur en ADN macronucléaire d'une cellule mère est obtenue en faisant la demi-somme des teneurs des produits d'une division : $(Q_p + Q_o)/2$. On peut constituer 46 couples.

Dans chaque couple, une cellule est désignée au hasard comme proter et l'autre comme opisthe : un tel procédé est acceptable si l'on tient compte de l'absence de différence systématique entre proter et opisthe, précédemment démontrée.

Pour les couples aléatoires de cellules-filles, le degré d'inégalité Q_s (fig. 2) varie de — 70 à + 80, avec

16 | -] 7 | n m n £ a a o al UD o 5 E 4 o z Q, - 0, ma a 0 Fic. 2. — Histogramme représentant la distribution des

différences relatives de teneur en ADN macronucléaire entre les deux membres de 92 couples aléatoires de cellules-filles.

6h n v e o a v DU 3 5 v h 2 E o Zz o o o o a o o o o Ñ E e E e a m + 0 Qs _ Q, %] 12(Q,* Q;) Fic. 3. — Histogramme représentant la distribution des

différences relatives de teneur en ADN macronucléaire entre les deux membres de 46 couples aléatoires de cellules-mères.

un degré d'inégalité moyen de 19,66 p. cent. La distribution peut être considérée comme normale ($D = 0,2818$) et centrée sur zéro ($t = 0,505$). Le coefficient de corrélation de rang de Spearman entre Q_p et Q_o vaut — 0,091, non significativement différent de zéro.

Des résultats similaires sont obtenus pour les couples aléatoires de cellules-mères. La distribution du degré d'inégalité Q ; s'étend de — 40 à + 50 (fig. 3), le degré d'inégalité moyen étant de 16,73 p. cent. Elle peut être considérée comme normale ($D = 0,2817$)

et centrée sur zéro ($+ = - 0,025$). Enfin le coefficient de Spearman n'est pas significativement différent de zéro (0,042).

DISCUSSION

Les résultats ci-dessus montrent que la division du macronucléus n'assure pas une répartition égale de l'ADN entre les noyaux fils. Le degré moyen d'inégalité, 10,05 p. cent, diffère peu de celui qui a été observé

chez *Euplotes eurystomus*, 11,6 p. cent (WITT, 1977). Ces valeurs sont comparables à celles qui ont été trouvées chez plusieurs Ciliés non Hypotriches : 8 p. cent chez *Paramecium aurelia* (KIMBALL et BARKA, 1959), 8 et 10,5 p. cent chez *Tetrahymena pyriformis* (CLEFFMANN, 1968; DOERDER et al., 1975), 9,12 p. cent chez *Tetrahymena paravorax* (DuPY-BLANC et MÉTÉNIER, 1978). Le cas de *Bursaria truncatella* semble exceptionnel, avec une différence moyenne de 37,3 p. cent (RUTHMANN, 1964).

Malgré cette inégalité, la corrélation significativement positive observée entre cellules-soeurs montre que les teneurs en ADN macronucléaire de deux cellules soeurs sont plus semblables entre elles que celles de deux cellules quelconques d'une population. En outre, l'inégalité n'est pas directionnelle, puisqu'aucune différence systématique n'a été détectée entre proters et opisthes.

La comparaison des variances des distributions de Q_i , Q_0 , et Q_g montre une hétérogénéité significative (test de Bartlett : 32,84). Le test de Snédécour montre que la variance de Q_0 est inférieure à celles de Q_i et Q_g ($F = 3,43$ et $F = 2,54$, respectivement). Ce résultat confirme la conclusion précédente.

Des résultats similaires ont été obtenus chez d'autres Ciliés. Les différences entre noyaux non frères sont de 18 p. cent chez *Tetrahymena pyriformis*, supérieures à celles trouvées entre noyaux-frères, 8 p. cent (CLEFFMANN, 1968). Les valeurs correspondantes observées chez *Paramecium aurelia* sont 11 p. cent et 8 p. cent (KIMBALL et BARKA, 1959), et chez *Euplotes eurystomus* 15 à 16 p. cent et 11,6 p. cent. Pour *L. acuminata*, nous obtenons 16,7 à 19,7 p. cent et 10,05 p. cent.

Ces faits sont explicables, ainsi que Pont suggère KIMBALL et BARKA (1959) et WITT (1977) en admettant que les différences entre cellules non soeurs sont dues à l'accumulation des petites différences acquises au cours des divisions successives. Néanmoins, chez *L. acuminata*, comme chez *E. eurystomus*, la variance du degré d'inégalité entre couples de cellules aléatoires ne s'accroît pas significativement en une génération ($F_{Q_0, Q_3} = 1,34$) : il faudrait probablement un échantillonnage bien plus grand pour détecter le faible accroissement d'hétérogénéité réalisé en une seule génération.

BIBLIOGRAPHIE

CLEFFMANN G. (1968). — Regulierung der DNS-menge im Makronucleus von *Tetrahymena*. *Exp. Cell Res.*, 50, 193-207.

DOERDER F.P., FRANKEL J., JENKINS L.M. and DEBAULT L.E. (1975). — Form and pattern in ciliated protozoa: analysis of a genic mutant with altered cell shape in *Tetrahymena pyriformis*, syngen 1. *J. Exp. Zool.*, 192, 237-258.

429

DurPY-BLANC J. et MÉTÉNIER G. (1978). — Etude cyto- photométrique et autoradiographique sur les relations entre le cycle de réplication de "ADN macronucléaire et la transformation microstome-macrotosome induite par la stomatine chez un Cilié (*Tetrahymena para- vorax*). *Biol. Cellulaire*, 33, 225-234.

FEDRIANI C., MARTIN J. and PEREZ-SILVA J. (1976). — *Laurentia acuminata* n. sp. *Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.)*, 74, 67-74.

KimBALL R.F. and BARKa T. (1959). — Quantitative cytochemical studies on *Paramecium aurelia*. 11 Feul- gen microspectrophotometry of the macronucleus during exponential growth. *Exp. Cell Res.*, 17, 173- 182.

McDonaLD B.B. (1958). — Quantitative aspects of DNA metabolism in an amiconucleate strain of *Tetrahymena*. *Biol. Bull.*, 114, 71-94.

RUTHMANN A. (1964). — Autoradiographische und Mikrophotometrische Untersuchungen zur DNS- Synthese im Makronucleus von *Bursaria truncatella*. *Arch. Protistenk.*, 107, 117-130.

TORRES A., MORENZA C., FEDRIANI C. and GUTIERREZ- NAVARRO A.M. (1979). — Nuclear cycles and DNA contents in *Laurentia acuminata* (Hypotrichida, Oxytrichidae). *Protistologica*, 15, 133-138.

Wrrr P. (1977). — Unequal distribution of DNA in the macronuclear division of the ciliate *Euplotes eurys- tomus*. *Chromosoma (Berl.)*, 60, 59-67.