

## TP N°3 DE BIOLOGIE CELLULAIRE :

## ETUDE D'UN PROTOZOAIRE CILIE (PARAMECIE)

## 1- Introduction

Découverts en 1675 par Anthony Van Leeuwenhoek, les Protozoaires sont classiquement définis comme étant des animaux unicellulaires, c'est-à-dire formés par une seule cellule. Ils sont hétérotrophes, par opposition aux Protophytes (végétaux unicellulaires) qui, possédant de la chlorophylle, sont autotrophes.

Les Protozoaires (Protos = Premier, primitif et Zoon = animal), sont les premiers animaux dans la série évolutive. Ce sont des organismes unicellulaires, microscopiques et hétérotrophes. Bien que réduits à une seule cellule ; ils possèdent les fonctions fondamentales de tout animal où les organites fondamentaux à toute cellule y sont représentés (Mitochondries, appareil de Golgi, Lysosomes, microtubules,...).

Selon les espèces, les Protozoaires se nourrissent soit par osmose (dans le milieu biologique-formes parasites), soit par phagocytose (dans le milieu aquatique-formes libres). La reproduction se fait par division du corps (division binaire) et recourt dans certaines conditions du milieu à la sexualité.

## 2- Caractéristiques des Ciliés

Les ciliés sont des protistes évolués, anciennement appelés infusoires. Les ciliés constituent une classe unique. Ils vivent dans tous les milieux aquatiques et se caractérisent par la présence d'une bouche, d'un anus et, au moins à une étape de leur cycle de vie, par des cils vibratiles, utilisés pour la nage, la marche ou pour faire bouger l'eau qui les environne de façon à se procurer de la nourriture. Leur cellule contient deux noyaux : le *macronucléus* (polyploïde) et le *micronucléus* (diploïde), impliqué dans la reproduction sexuée ou conjugaison. Les ciliés se multiplient, en outre, par scissiparité transversale. De nombreux ciliés vivent comme commensaux dans la panse des herbivores dont ils partagent la nourriture. Sous une forme parasitaire, l'un d'eux vit dans l'intestin humain où il provoque une inflammation appelée Balantidiose (*Balantidium coli*).

On divise actuellement les ciliés en deux sous-classes. Les holotriches, à ciliature uniforme, comprennent la fameuse *paramécie* des eaux douces ; les spirotriches, plus différenciés, portent des membranelles et des cirrhes (cils fusionnés).

## 3- Classification

Elle est basée essentiellement sur la disposition et la dimension des cils vibratiles.

- A côté des cils simples, on trouve des organites plus volumineux constitués par des cils agglomérés.

On distingue deux classes :

- **Classe des holotriches** : ciliés dont la ciliature est faite de cils simples et de membranelles. La classification interne de cette classe se fait d'après la position de la bouche.

**Exemples** : *Colpodium colpoda*, *Paramecium caudatum*, *Vorticelles*.

- **Classe des Spirotriches** : ils présentent des organites ciliaires complexe comme des cirrhes ou des membranes ondulantes formant un frange adorale.

**Exemples** : *Stentors*, *Balantidium coli*, *Stylonychia*

## 4-La paramécie : *Paramecium caudatum*

La paramécie (*Paramecium*) est un genre bien connu de protozoaire cilié, et est couramment étudié comme représentant type de ce groupe (en particulier *P. caudatum*). Elle est l'un des premiers organismes unicellulaires à avoir été observé au microscope. La taille de la cellule varie de 50 à 300 µm de long suivant les espèces. La paramécie utilise des cils pour se déplacer et se nourrir. La ciliature somatique, qui recouvre la cellule et bat de façon synchronisée, lui permet de se déplacer. Une ciliature orale distincte couvre la grande invagination ventrale en forme d'entonnoir, le

péristome, qui mène jusqu'au cytostome (la bouche). Elle se nourrit essentiellement de bactéries par phagocytose.

La paramécie vit isolée en eau douce. Elle fait partie des « infusoires » des anciens auteurs : elle apparaît en grand nombre dans les infusions de végétaux, rendant sa culture et son étude aisée.

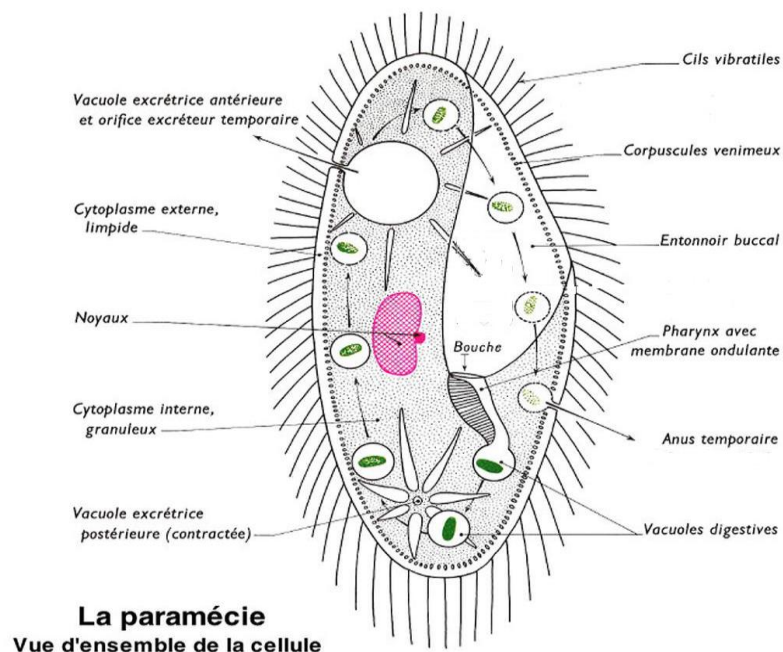
Vivant dans un milieu hypotonique par rapport à son cytoplasme, la cellule absorbe constamment l'eau de son environnement par osmose. L'excès d'eau dans le cytoplasme est alors évacué grâce à des vacuoles pulsatiles, où le cytoplasme se contracte périodiquement pour expulser l'eau à travers la membrane plasmique.

Comme la plupart des ciliés, la paramécie présente la particularité d'avoir un appareil nucléaire en deux parties : un (ou plusieurs) petit noyau, le micronucleus, et un gros noyau, le macronucleus. Le premier assure les fonctions sexuelles indispensables pour engendrer des variations génétiques alors que le second dirige les fonctions trophiques quotidiennes et la multiplication asexuée.

## 5-Ciliés voisins de la Paramécie et communs dans les mêmes milieux

**a- Les Col podiums** : très communs dans les macérations de cresson ou de foin, sont plus petits (100 microns) que la paramécie. Leur corps ovoïde possède un lobe antérieur déjeté sur le côté.

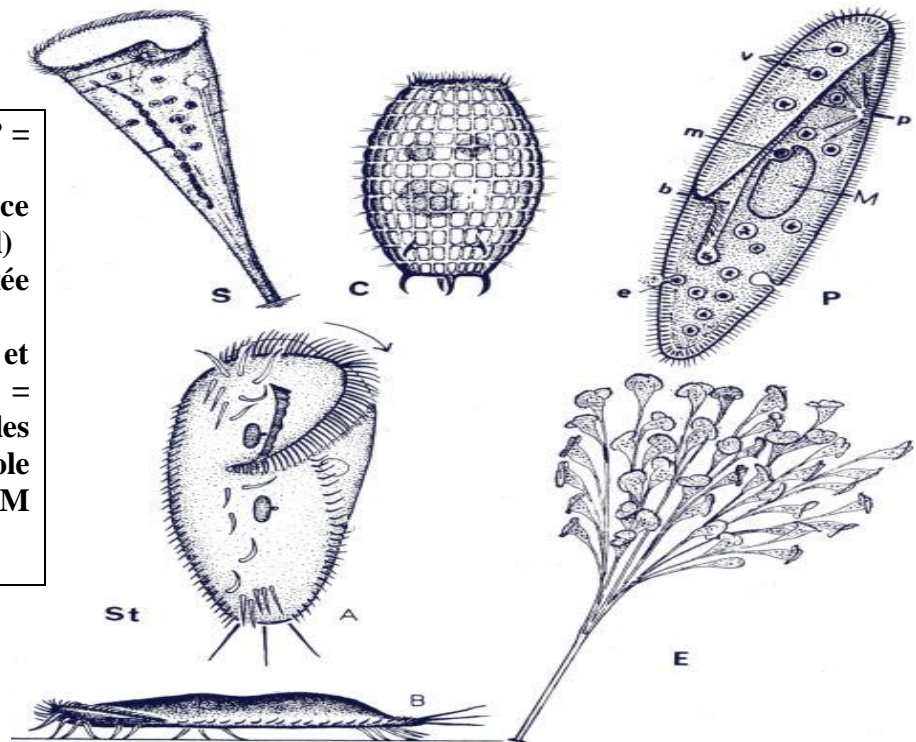
**b- Les Stentors** : très gros (de 500 microns à 1 millimètre), se reconnaissent facilement car ils ont la forme d'une trompette. Entièrement couverts de cils, ils présentent de plus une frange de membranelles (cils agglutinés) autour de la bouche. Ils peuvent se fixer par l'extrémité postérieure pointue ou nager librement. Leur cytoplasme est contractile grâce à des fibrilles puissantes.



**c- Les Stylonechies** : ciliés dont la face ventrale aplatie porte des cils agglutinés en cirres pouvant se détendre, ce qui provoque le déplacement par bonds de l'animal (taille 300microns).

**d- Les Vorticelles** : possèdent un pédoncule allongé pouvant s'enrouler en spirale comme un ressort. Ces ciliés vivent en colonies très denses. La bouche est entourée par une frange de membranelles. Quand la nourriture devient insuffisante, la Vorticelle peut se détacher.

S = Stentor / C = Coleps / P = Paramécie / St = Stylonichia  
 (A = vue de la surface inférieure / B = vue de profil)  
 E = Epistylis (colonie fixée par un pédoncule commun)  
 Détails de la paramécie et vacuole : b = bouche / e = "anus" / v = vacuoles digestives / p = vacuole pulsatile / m = petit noyau / M = gros noyau



## 6- Matériel :

Microscope, lames, lamelles, cultures (\*), récipient avec eau de Javel, rouge neutre, bleu de méthylène, solution d'iode.

(\*) Pour les cultures, éviter l'eau de conduite qui est souvent chlorée. Il vaut mieux utiliser de l'eau déminéralisée, ou de l'eau de ruisseau. Ne pas mettre plus d'un à deux cm d'eau dans le cristalliseur. Végétaux pour les infusions : foin, laitue non lavée, feuilles mortes de végétaux, grains de blé, ... Faire les infusions une semaine avant la séance.

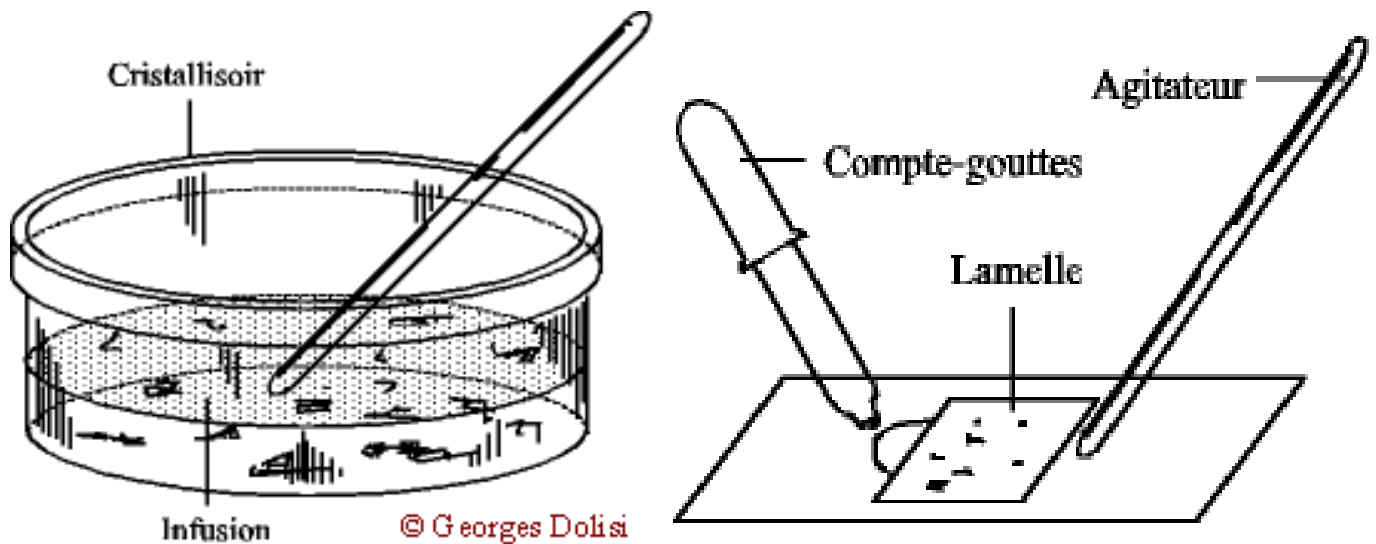
## 7- Manipulation:

Sur des cultures (infusions) de débris végétaux en décomposition, on observe un voile grisâtre (voile bactérien), qui contient, si la culture est suffisamment avancée, un grand nombre de bactéries, ainsi que des protozoaires.

A l'aide d'une pipette on prélève délicatement une goutte d'eau de la macération et un peu de voile qu'on place entre lame et lamelle et on passe à l'observation au faible grossissement. On constate que les paramécies se déplacent rapidement et ne restent pas dans le champ du microscope. Pour limiter leur déplacement et faciliter l'observation, on introduit dans la goutte d'eau une goutte d'acide acétique pour mieux les fixer.

**ATTENTION** : il est possible que ces cultures renferment des formes pathogènes. Il faut donc prendre certaines précautions :

- ne pas tenir l'agitateur du mauvais côté, se laver soigneusement les mains après la manipulation,
- mettre les lames dans l'eau de Javel après l'observation.



### 8- Observation :

Des formes bougent : ce sont des êtres vivants. Les mouvements sont dus à des cils vibratiles. On distingue une membrane, 1 ou 2 noyaux, le cytoplasme : ce sont des cellules de ciliés.

### 9- Coloration :

- Faire une nouvelle lame pour chaque colorant.
- Après avoir posé la lamelle, placer une goutte de colorant sur le bord de la lamelle.
- Attendre un peu que le colorant ait diffusé.
  - Avec l'iode, on colore sélectivement la membrane et les cils vibratiles.
  - Le bleu de méthylène met en évidence les noyaux.
  - Le rouge neutre colore plus spécialement les vacuoles.

### 10- Travail à faire :

- Observation de quelques types de ciliés
- Dessin d'une paramécie

