

## INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS ÉCOLOGIQUES SUR LA VITESSE DE REPRODUCTION DU CILIÉ HYPOTRICHE *EUPLOTES VANNUS* MULLER

Guido PERSOONE et Mariette DEPLAECIE

Interfacultair Centrum voor de studie van lucht-,  
bodem- en waterverontreiniging  
Afdeling Biologisch onderzoek van milieuverontreiniging  
Rijksuniversiteit Gent  
B 9000 Gand/Belgique.

### RÉSUMÉ

Au cours de recherches écologiques sur les conditions « optimum » de culture de certains ciliés nous avons étudié l'influence de quelques facteurs abiotiques sur la vitesse de reproduction du cilié hypotriche *Euplotes vannus* Muller, telles la nature et la quantité de nourriture, la température et la salinité. Les expériences furent effectuées dans des boîtes de pétri de 5 cm de diamètre contenant 5 ml de suspension nutritive. Les inoculats étaient toujours constitués d'individus exconjugants. Par son caractère microphage, *Euplotes vannus* se cultive facilement sur quantité de milieux nutritifs. Les meilleurs résultats furent obtenus sur homogénat de levure, à savoir une densité maximale de 10 000 à 20 000 individus dans 5 ml de suspension nutritive. Dans les meilleures conditions de culture, la phase de plateau fut atteinte en 7 jours, ce qui implique une vitesse de reproduction moyenne de  $\pm 12$  heures. En ce qui concerne l'influence de la température, les meilleurs résultats furent obtenus à 20 et à 25 °C. Bien que les ciliés se divisent très rapidement à 30 °C (vitesse de reproduction de 6 heures à peine), les cultures dégénèrent après quelques jours et les densités atteintes sont bien inférieures aux chiffres précités. Finalement, la culture d'*Euplotes vannus* à 20 ‰, 25 ‰, 30 ‰ et 35 ‰ de salinité a donné des résultats très proches les uns des autres, ce qui confirme le caractère euryhalin de cette espèce, déjà démontré en 1941 par GAUSE.

### SUMMARY

During ecological investigations on the optimum culturing conditions of ciliates, we studied the influence of a number of abiotic factors on the reproductive potential of the hypotrichous ciliate *Euplotes vannus* Muller, such as the nature and the quantity of food, the temperature and the salinity. The experiments were run in petri dishes of 5 cm diameter containing 5 ml of food suspension, and were always started with exconjugants. The microphagous *Euplotes vannus* thrives on a variety of food media. Excellent results were observed on homogenized bakers yeast, i.e. 10.000-20.000 animals in 5 ml of food suspension. In good culturing conditions the stationary phase was reached in 7 days, which implicates a mean rate of division of 12 hours. The optimum culturing temperature seems to be situated between 20 and 25 °C; although the rate of division was higher at 30 °C (down to 6 hours) the cultures collapse after a short time and don't reach the high densities mentioned previously. Finally culturing the animals in salinities of 20 ‰, 25 ‰, 30 ‰ and 35 ‰ gave quite similar results, which confirms the euryhaline character of the species as already described by GAUSE in 1941.

### I. — INTRODUCTION

Si le nombre de travaux sur les ciliés libres est à ce jour immense, la part des recherches consacrées à l'écologie des infusoires marins est très faible et plus faible encore le nombre d'investigations sur la reproduction *in vitro* de ces protistes.

L'importance et le rôle capital des infusoires libres dans l'éco-dynamique du benthos ont cependant été mis en relief dans plusieurs travaux remarquables dont nous ne citerons pour mémoire que ceux du regretté FAURÉ-FREMIET (1950), DRAGESCO (1960), TUCOLESKO (1961), BORROR (1963) et FENCHEL (1969).

Dans un des rares travaux consacrés à la vitesse de reproduction des ciliés marins, FENCHEL (1968 b) signale

(\*) Manuscrit reçu le 9 juin 1972.

bien à propos : « Knowledge on the reproductive potentials is of importance when the role played by different organisms in natural environments is to be evaluated ».

Il est navrant de constater que pas mal d'espèces de ciliés, tant d'eau douce que marines ont été et sont encore cultivées en laboratoire, sans qu'on en connaisse vraiment les préférences ou les optima nutritifs, et que si certaines de ces souches ont pu être maintenues en vie sur quelque nourriture appropriée, le hasard y a très souvent joué un rôle déterminant.

Notre ignorance du point de vue « cultures » s'étend d'ailleurs à la plupart des organismes de nos écosystèmes aquatiques. KINNE (1970) signale qu'à l'heure actuelle moins de 2 % de tous les organismes marins connus peuvent être maintenus en culture en laboratoire dans des conditions contrôlées, pour un cycle de vie complet.

On peut en déduire que l'extension des connaissances de nos écosystèmes est bien souvent retardée par le manque de recherches *in vitro* sur la biologie de ses composantes, et pas le moins par les prémices qui sont la culture et la détermination des préférences écologiques.

Dans une série d'expériences, nous avons, sur les traces de FENCHEL (1968 b), tenté de déterminer l'influence de quelques paramètres abiotiques sur la vitesse de reproduction d'un cilié marin bien connu, l'hypotriche *Euplotes vannus* MULLER.

Le choix de cet organisme nous a été dicté tant par son caractère ubiquiste que par son rôle potentiel futur de débroyeur dans des mini-écosystèmes gnotobiotiques contrôlés. ZILLIUX (1969) nous en donne un premier exemple dans son système de culture contenu de copépodes, dans lequel *Euplotes vannus* tient sous contrôle les populations bactériennes et prévient l'accumulation des excréments et des restes de nourriture.

L'espèce précitée se cultive facilement en laboratoire sur quantité de milieux nutritifs, tels la levure *Torula utilis* et la bactérie *Bacillus subtilis* (GAUSE, 1941), le jus de levure (TUFFRAU, 1960 ; FAURÉ-FRÉMIET, 1961 ; FENCHEL, 1968 a), l'algue unicellulaire *Dunaliella* (HECKMANN, 1963), les grains de riz (BORROR, 1963), les bactéries et flagellés incolores cultivés eux-mêmes sur la solution de peptone (FENCHEL, 1968 b).

BORROR (1963) mentionne une vitesse de division optimum de 8 heures « dans une boîte de pétri contenant de l'eau de mer filtrée et 1 à 3 grains de riz... » et FENCHEL (1968 b) en arrive à peu près au même résultat avec 0,25-0,50 gr de peptone par litre d'eau de mer (ce milieu ayant « vieilli » 24 heures avant l'inoculation, pour permettre un développement de bactéries).

Comme aucun auteur n'a donné jusqu'à présent quelque indication sur le nombre maximum d'*Euplotes vannus*, qu'on peut obtenir sur un milieu de culture donné, dans un volume d'eau déterminé, en un temps déterminé, nous avons tenté d'établir quelques courbes de croissance de populations de cet hypotriche en fonction de la qualité et de la quantité de nourriture, de la température et de la salinité.

Nous signalons toutefois que nos cultures n'étant pas

axéniques, les expériences ont pour but de tenter de déterminer des « optimum de culture » plutôt que des préférences écologiques.

## II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les ciliés utilisés au cours des diverses expériences furent isolés de salissures de substrats immergés dans le port d'Ostende. Comme milieu de culture initial nous avons utilisé de l'eau de mer additionnée d'un peu de levure (TUFFRAU, 1960 ; FAURE-FRÉMIET, 1961).

Les *Euplotes* furent repiqués régulièrement sur du milieu frais. Les cultures n'étant pas clonales au départ, nous avons dans toutes les expériences fait usage d'individus exconjugants, ceci pour éviter des décalages dans la vitesse de reproduction, dus à des facteurs de vieillissement. La détermination de l'espèce fut faite après imprégnation argentique selon CHATTON-LWOFF, coloration au Protargol selon TUFFRAU (1967) et coloration nucléaire selon FEULGEN.

Tous les individus examinés possédaient les caractères spécifiques d'*Euplotes vannus* MULLER tels que TUFFRAU les a décrits en 1960 dans sa « Révision du genre *Euplotes* fondée sur la comparaison des structures superficielles ».

Comme chambres de culture, nous avons utilisé des boîtes de pétri en polystyrène, de 5 cm de diamètre contenant 5 ml de milieu de culture.

Les boîtes furent incubées à l'obscurité dans une étuve à 20 °C. Chaque boîte fut inoculée avec un seul cilié, sauf dans les 2 dernières expériences (température et salinité) où nous avons débuté avec 10 individus par récipient. Les cultures furent suivies de 6 à 10 jours.

Afin de déterminer la courbe de croissance, nous avons chaque jour fixé le contenu d'un certain nombre de boîtes, à la solution de Lugol (1 ml par récipient). Le nombre de ciliés fut ensuite déterminé sous la loupe binoculaire, soit directement, soit après dilution.

Toutes les expériences ayant été effectuées en 6 parallèles, il fallait donc pour chaque facteur examiné (milieu nutritif, température, etc.), inoculer au départ un nombre de boîtes de pétri  $N = 6(j-1)$ ,  $j$  étant le nombre de jours de l'expérience. Signalons que dans les expériences entamées avec 1 hypotriche, les cultures ne furent fixées et dénombrées, pour la première fois, qu'après 48 heures.

Comme eau de mer, il fut toujours fait usage d'une eau de mer artificielle de salinité 35 ‰, selon la formule de LYMAN et FLEMING (1940). Bien qu'il soit possible de cultiver les *Euplotes* dans quantité de nourritures différentes, nous nous sommes limités dans ce travail à comparer des préparations diverses de levure, à savoir un milieu à base d'extrait de levure (OXOID Yeast extract), une suspension de levure et un homogénat de levure. En cultivant les ciliés dans diverses concentrations de milieu nutritif, nous avons essayé de déter-

miner l'influence de la quantité de nourriture sur la vitesse de division et la concentration maximale atteinte en fin d'expérience. La composition de ces milieux de culture était la suivante.

#### A. Extrait de levure.

A partir d'une solution-mère contenant 1 g de Yeast extract OXOID par 100 ml d'eau de mer artificielle, des dilutions furent préparées de façon à obtenir des milieux de culture contenant respectivement 0,5 g, 1 g et 2 g d'extrait de levure par litre.

#### B. Levure.

Deux solutions-mère furent préparées contenant chacune 1 g de levure par 100 ml d'eau de mer artificielle. L'une fut homogénéisée (au moyen d'un Ultra-Turrax à 20 000 tours/min), l'autre fut simplement agitée de façon à obtenir une suspension homogène. Les milieux de cultures utilisés étaient des solutions à 10 % des 2 solutions-mère précitées (1 g de levure/litre).

#### C. Homogénat de levure.

L'homogénéisation ayant donné des résultats supérieurs, différentes concentrations furent essayées, à savoir 0,25 g, 0,50 g, 1 g et 1,5 g de levure par litre d'eau de mer artificielle.

Finalement nous avons tenté de déterminer l'influence de la température (15 °C, 20 °C, 25 °C et 30 °C) et de la salinité (20 ‰, 25 ‰, 30 ‰ et 35 ‰) sur la vitesse de reproduction et la densité maximale des ciliés dans les conditions expérimentales précitées (c.-à-d. : 5 ml de solution nutritive par boîte de pétri). Ces dernières expériences furent faites sur homogénat de levure respectivement à la concentration de 1,5 g/litre et de 1,0 g/litre.

Les résultats sont exprimés en courbes de croissance des populations et en nombre de générations. Les courbes de croissance ont été tracées à vue et le nombre de divisions a été calculé de la façon suivante : Si «  $n$  » est le nombre de ciliés après un temps déterminé :  $2^x < n < 2^{x+1}$  (GENERMONT, 1969) «  $x$  » étant le nombre de divisions. Comme  $n$  est généralement  $> 2^x$  il est évident que quelques-uns des individus présents ont déjà effectué la  $x + 1^{\text{me}}$  division. C'est pourquoi nous avons pour chaque résultat calculé «  $x$  » mais pris «  $x + 1$  » en considération comme représentatif pour le nombre (minimum) de divisions.

### III. RÉSULTATS

Une première constatation qui s'applique à toutes les expériences faites, est la variabilité des résultats entre les 6 parallèles (fixés au même moment). Exprimée en nombre de divisions, la différence s'élevait parfois à 2 et 3 générations en fin d'expérience. Les raisons de ces écarts sont aussi nombreuses que variées, par exemple les différences individuelles des inoculats (culture non-clonale au départ) les différentes évolutions possibles des milieux de culture d'un parallèle à l'autre (milieu non stérile) les accidents dus aux manipulations (individus blessés), la mortalité de certains individus en cours d'expérience pour diverses raisons.

Pour l'interprétation des résultats nous avons préféré prendre en considération uniquement, celle des 6 parallèles qui donnait le résultat le plus élevé. Il est clair que c'est ce chiffre qui s'approche le plus des conditions « optimum » de culture.

#### A) Extrait de levure (figures 1 et 2).

En comparant les 3 courbes de croissance il ressort que la concentration la plus élevée de ce milieu de culture (2 g/l) a donné les meilleurs résultats, à savoir 10 000 individus environ par boîte de pétri après 9 jours, contre 2 200 dans la concentration la plus faible (0,5 g/l).

Fait mystérieux, la concentration de 1 g/litre donna des résultats bien inférieurs à ceux des 2 autres concentrations : seulement 540 individus.

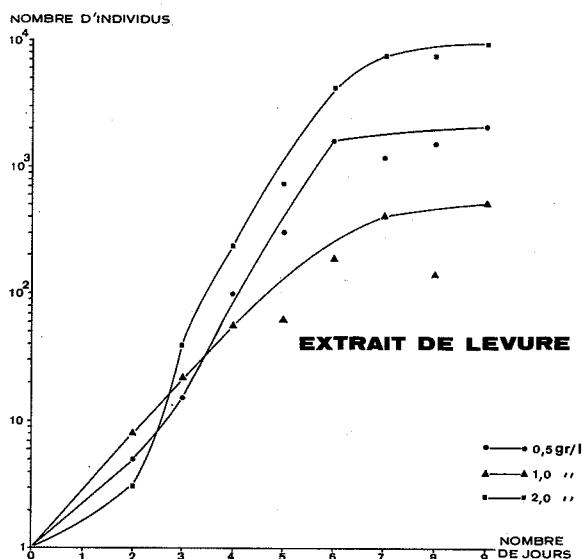


Fig. 1. — Courbes de croissance des *Euplotes* dans différentes concentrations d'extrait de levure.

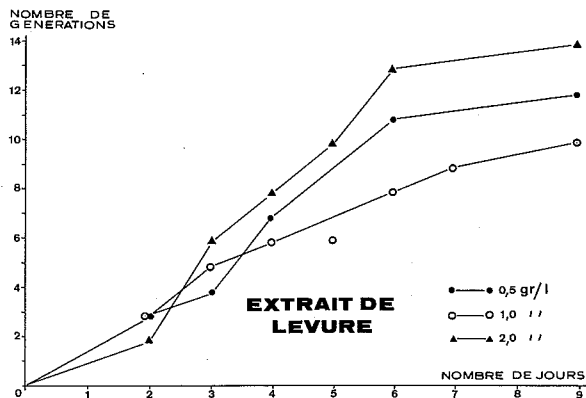


FIG. 2. — Evolution de la vitesse de division en fonction du temps dans différentes concentrations d'extrait de levure.

Ce paradoxe s'est éclairci quand nous avons découvert que les boîtes de pétri avec une concentration de 1 g/l d'extrait de levure avaient toutes été inoculées (par erreur) avec des individus provenant d'une culture mère sur extrait de levure (d'une expérience préliminaire) contrairement aux autres qui avaient été inoculées avec des individus de cultures mères sur jus de levure. Nous reviendrons sur ce fait lors de la discussion. Il ressort également de la figure 1 que la phase d'adaptation est plus longue dans le milieu le plus concentré. Dans la figure 2 où nous avons exprimé les résultats en nombre de générations, on remarque qu'en 6 jours de temps, les ciliés se sont divisés 13 fois (fin de la phase logarithmique), la 14<sup>e</sup> génération n'étant atteinte qu'au bout de 9 jours.

### B) Levure (figures 3 et 4).

Après 8 jours, la densité maximale était respectivement de 4 100 *Euplotes* dans le milieu à base de levure en suspension et de 9 500 dans celui à levure homogénéisée. Cette différence du simple au double ne signifie cependant qu'une division de moins (13 au lieu de 14) et semble due à une phase d'adaptation plus longue des ciliés sur le milieu non homogénéisé.

### C) Homogénat de levure (figures 5 et 6).

L'influence de la quantité de nourriture se fait déjà sentir après 6 jours : 12 500 individus dans le milieu le plus riche en nourriture contre 6 000, 2 600 et 1 400 dans les milieux de culture plus dilués. Cette série d'expériences ayant été prolongée, nous avons pu constater que sur le milieu le plus concentré les densités fluctuaient ensuite entre 12 000 et 16 000, atteignant même un maximum de 21 000. Nous ne pouvons que conjecturer sur les causes possibles du plateau de

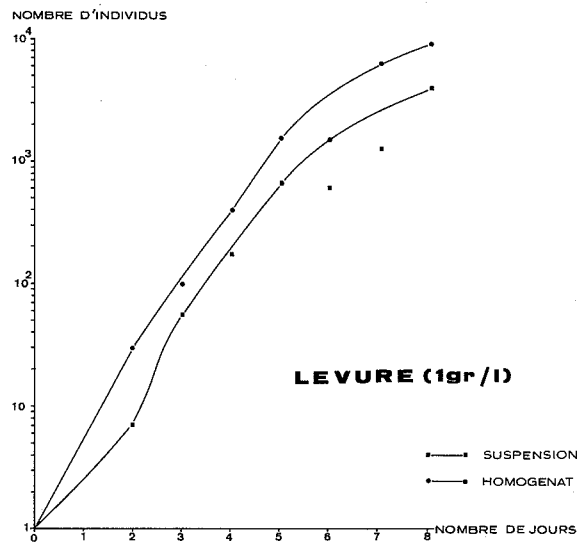


FIG. 3. — Courbe de croissance des *Euplotes* dans une suspension de levure, comparée à celle obtenue dans un homogénat de levure (1 gr/l).

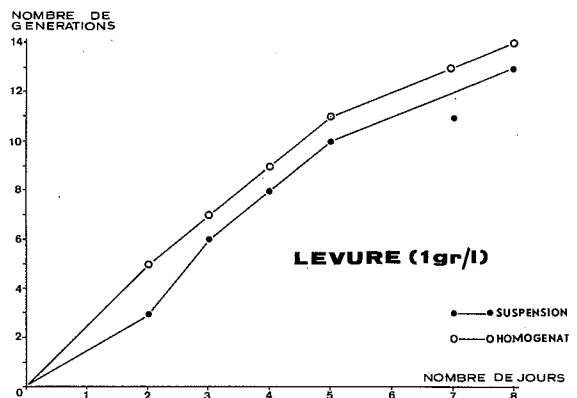


FIG. 4. — Vitesse de reproduction des ciliés, dans une suspension de levure et dans un homogénat de levure (1 gr/l).

$\pm 1\ 300$  individus après 6 jours dans la concentration 0,50 g/l, alors que le milieu à 0,25 g/l atteint jusqu'à 3 000 ciliés après 8-11 jours.

Comme ce fut déjà le cas avec l'extrait de levure, la longueur de la phase d'adaptation semble être, à partir d'un certain seuil, fonction de la concentration des particules de nourriture. En effet, ici aussi, nous trouvons moins de ciliés après 2 jours d'incubation dans la série avec 1,5 g de levure (17 individus) que dans celles avec 0,25 g, 0,50 g et 1 g de levure par litre (environ 30 individus).

Cette différence est cependant masquée quand on considère le nombre de divisions, puisque aussi bien 17 individus que 30 signifient que la 5<sup>e</sup> division a déjà lieu ne fut ce que chez quelques-uns des hypotriches.

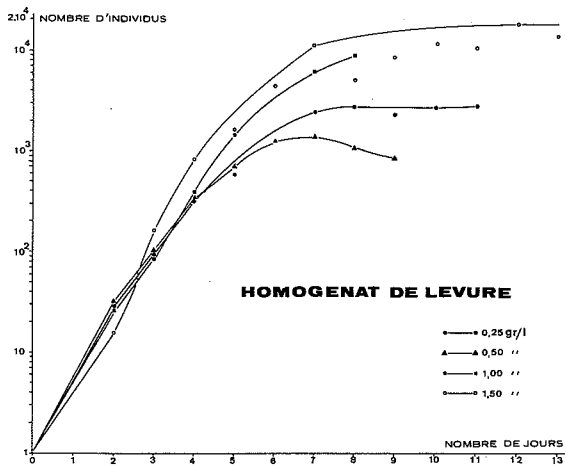


FIG. 5. — Courbes de croissance des *Euplotes* dans différentes concentrations d'homogénat de levure.

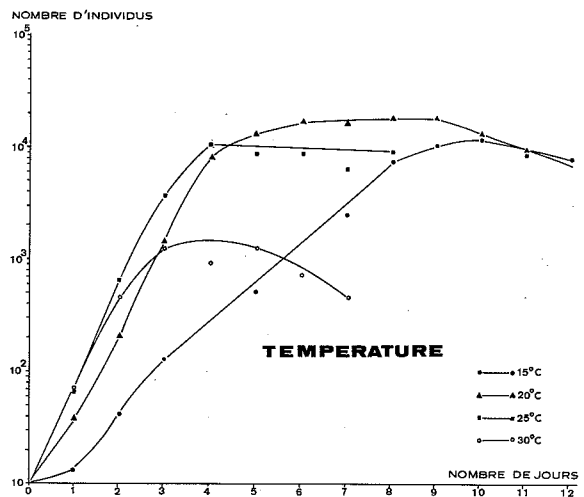


FIG. 7. — Courbes de croissance des *Euplotes* cultivés à différentes températures dans un homogénat de levure.

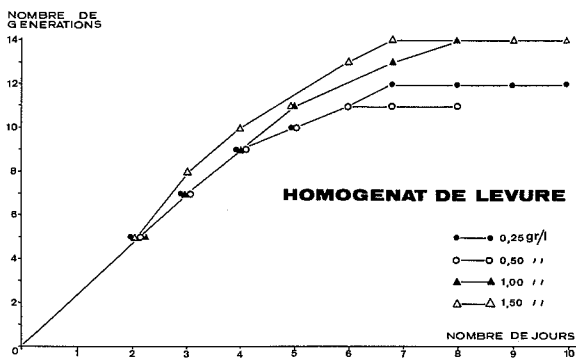


FIG. 6. — Vitesse de reproduction des ciliés, dans différentes concentrations d'homogénat de levure.

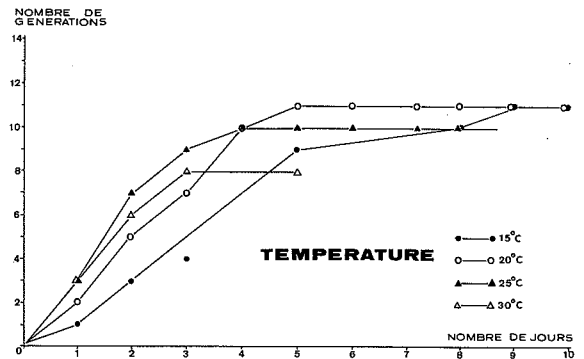


FIG. 8. — Vitesse de reproduction des ciliés cultivés à différentes températures dans un homogénat de levure.

L'on peut très bien suivre sur le graphique 6 l'influence du manque de nourriture sur le nombre de divisions. De jour en jour, l'écart se creuse entre les diverses populations dans leurs concentrations de nourriture respectives, les plateaux étant situés à 11-12 générations dans 0,25 et 0,50 g/l contre 14 dans 1 et 1,5 g d'homogénat de levure par litre.

#### D) Température (figures 7 et 8).

Rappelons que cette expérience de même que la suivante a été effectuée avec au départ 10 individus par boîte de pétri.

La température jouant un rôle déterminant sur la vitesse de division, l'augmentation de la population fut plus rapide dans les boîtes incubées à 25° et 30°C.

Si nous considérons cependant les densités maximales atteintes, il est clair que les conditions de culture

deviennent vite défavorables à 30 °C puisqu'après 3 jours déjà, les cultures stagnent à un plateau de 1 300 individus, soit après 8 divisions.

A 25 °C la croissance de la population est telle qu'en 4 jours on atteint un plateau de 10 000 individus environ (10 générations). Ce même plateau est atteint dans les cultures incubées à 15 °C après 10 jours seulement. Les meilleures conditions de culture semblent cependant être situées entre 20 et 25 °C. En effet non seulement les cultures à 20 °C ont atteint la 10<sup>e</sup> génération en 4 jours (8 200 ciliés) mais la phase de plateau est située entre 16 000 et 18 000 *Euplotes* après 6-9 jours d'incubation.

#### E) Salinité (figures 9 et 10).

Numériquement l'on pourrait conclure de cette série qu'une salinité de 30 ‰ semble convenir le mieux pour

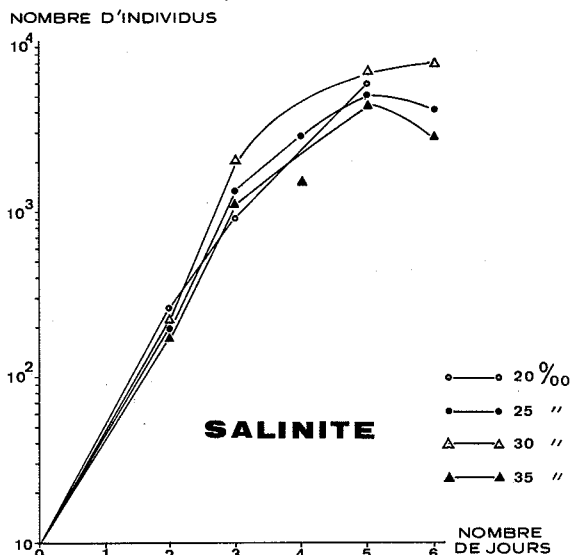


FIG. 9. — Courbes de croissance des *Euplotes* cultivés à des salinités différentes dans un homogénat de levure.

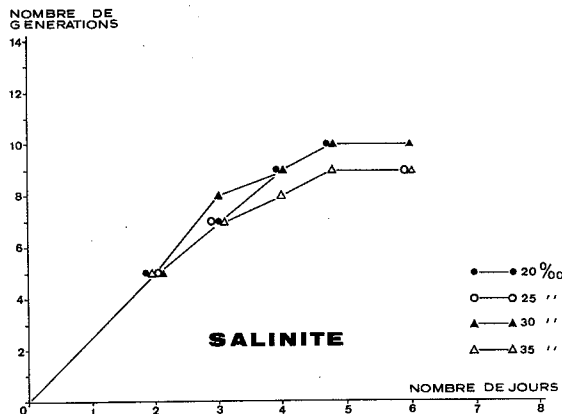


FIG. 10. — Vitesse de reproduction des ciliés cultivés à des salinités différentes dans un homogénat de levure.

la culture d'*Euplotes vannus* puisque les densités atteintes à partir du 3<sup>e</sup> jour d'incubation dépassent assez nettement celles des autres salinités. Exprimé en nombre de divisions, on peut cependant conclure que la salinité (dans les limites de notre expérience) n'influence que faiblement le développement des cultures. En effet dans des milieux à 20 et 30 ‰ de salinité, les ciliés se sont divisés au maximum 10 fois et 9 fois dans ceux à 25 et 30 ‰.

Il est à remarquer que les densités atteintes dans cette dernière expérience (maximum 8 000 ciliés) sont inférieures à celles de la précédente. L'explication en est que les essais sur l'influence de la température ont été effectués avec 1,5 g d'homogénat de levure par litre, contre 1 g seulement par litre dans la série sur la salinité.

#### IV. DISCUSSION

L'on aurait tendance à croire à première vue que l'extrait de levure soit un milieu nutritif valable pour *Euplotes vannus*, puisqu'en 9 jours de temps la densité des organismes est de l'ordre de 10<sup>4</sup> individus sur 5 ml de suspension nutritive à 2 g/l. Les résultats obtenus avec celle des 3 séries inoculée (par erreur) avec des individus d'une culture mère sur extrait de levure (au lieu de la culture mère sur jus de levure) donnent pourtant à réfléchir. On y constate en effet que la vitesse de division (les 2 premiers jours mis à part) est notablement inférieure à celle des autres séries. Or LILLY (1942) a trouvé que plusieurs facteurs de croissance sont éliminés pendant l'extraction de la levure. Il faut en conclure que ce milieu ne convient donc guère comme solution mère, pour entretien à longue durée des cultures d'*Euplotes*.

En ce qui concerne l'utilisation de la levure classique de boulangerie comme milieu nutritif approprié et favorable pour la culture des *Euplotes*, nos expériences confirment entièrement les données de la littérature.

Considérant le caractère microphage de cet hypotriche, nos présomptions que l'homogénéisation de la levure donnerait de meilleurs résultats se sont confirmées : 30 ciliés au lieu de 7 en 48 heures, soit 5 divisions au lieu de 3. Les 2 courbes de croissances devenant ensuite quasi parallèles, il faut en conclure que le broyage des cellules de levure est surtout bénéfique pendant la phase d'adaptation.

En ce qui concerne l'influence de la quantité de nourriture sur le développement des populations, il est clair que c'est la concentration de l'homogénat de levure qui détermine la densité des organismes dans la phase de plateau.

L'on serait dès lors tenté de poursuivre ces expériences préliminaires avec des concentrations encore plus élevées de nourriture. On peut cependant extrapoler de nos résultats actuels que si les densités atteintes pourraient éventuellement être encore plus élevées dans des milieux plus concentrés, il est fort probable que la vitesse de reproduction soit, dans ce cas, considérablement ralentie. En effet, nous avons à deux reprises (extrait de levure et homogénat de levure) pu constater qu'une trop grande densité de particules nutritives semble influencer défavorablement les ciliés pendant la phase d'adaptation (vitesse de multiplication plus lente les premiers jours). Il n'est pas exclu qu'un développement bactérien plus intense sur des milieux de culture plus concentrés au départ soit à l'origine de ce phénomène.

En effet dans une série d'expériences préliminaires, nous avons pu constater que la prolifération bactérienne sur un milieu à 2,5 g de peptone au litre inhibait complètement la reproduction des ciliés.

Le même phénomène pourrait peut-être expliquer la collapso rapide des cultures dans l'expérience à 30 °C.

Du point de vue température, l'optimum semble être entre 20 et 25 °C, toutefois plus près de 20 que de 25 °C si l'on prend en considération la longévité des cultures.

Il est intéressant de constater que dans ces expériences sur la température, effectuées rappelons le avec 10 ciliés au départ et sur 1,5 g d'homogénat de levure par litre, la courbe de croissance à 20 °C confirme entièrement celle obtenue dans l'expérience précédente (avec 1 cilié au départ) sur la même concentration de milieu nutritif. Non seulement les vitesses de division sont analogues (10 divisions pendant les 4 premiers jours) mais les densités atteintes en phase de plateau sont du même ordre de grandeur. Ceci infirme à notre avis la critique que le développement foruit et irrégulier de bactéries sur les milieux à base de levure influencerait les résultats au point de rendre les diverses expériences non comparables ou non reproductibles.

On peut d'ailleurs discuter longtemps sur la question si les *Euplotes* à la fois microphages et bactériophages se nourrissent surtout de bactéries ou si elles ingèrent avec la même aisance ou de préférence les particules de levure.

En 1941 déjà GAUSE a démontré qu'*Euplotes vannus* est très résistant aux variations de salinité, et supporte aisément des transferts brusques d'un milieu à 25 ‰ à un autre de 50 ‰ ou de 10 ‰. Comme cet auteur n'a cependant donné aucune indication sur l'influence des variations de salinité sur la vitesse de division, nous avons effectué quelques expériences et constaté que par son caractère euryhalin, *Euplotes vannus* se multiplie aussi vite à 20 qu'à 35 ‰ et que la salinité n'influence pas ou très peu la densité des hypotriches en phase de plateau.

En résumé, on peut conclure de ces expériences préliminaires que l'homogénat de levure constitue un milieu excellent pour la culture du cilié hypotriche *Euplotes vannus* et que la concentration optimale semble être située aux environs de 1,5 g de litre.

La température optimale pour cultiver les infusoires dans ce milieu nutritif est située entre 20 et 25 °C et les variations de salinité entre 20 et 35 ‰ n'influencent pas notablement la courbe de croissance.

Dans les conditions précitées, nous avons pu obtenir de 10 000 à 20 000 ciliés dans 5 ml de suspension nutritive, soit 14 générations en partant d'un seul hypotriche.

Cette densité est atteinte en jours, ce qui implique une division toutes les 12 heures.

La vitesse de reproduction maximale est cependant bien plus courte puisque dans la série sur l'influence de la température, nous avons noté jusqu'à 3 divisions en 24 heures et en 48 heures, soit une vitesse de multiplication de 6 heures à peine.

## BIBLIOGRAPHIE

- BORROR A. C. (1963). — Morphology and Ecology of the Benthic ciliated Protozoa of Alligator Harbor, Florida. *Arch. Protistenk.*, **106**, p. 465-534.
- DRAGESCO J. (1960). — Les Ciliés mésopsammiques littoraux (systématique, morphologie, écologie). *Trav. Sta. Biol. de Roscoff*, **12**, N.S., p. 1-356.
- FAURÉ-FREMIET E. (1950). — Ecologie des Ciliés psammophiles littoraux. *Bull. Biol. France-Belgique*, **84**, p. 35-75.
- FAURÉ-FREMIET E. (1961). — Documents et observations écologiques et pratiques sur la culture des infusoires ciliés. *Hydrobiologia*, **18** (4), p. 300-320.
- FENCHEL T. (1968 a). — The Ecology of marine microbenthos II. The food of marine benthic ciliates. *Ophelia*, **5**, p. 73-121.
- FENCHEL T. (1968 b). — The Ecology of marine microbenthos III. The reproductive potential of ciliates. *Ophelia*, **5**, p. 123-136.
- FENCHEL T. (1969). — The Ecology of marine microbenthos IV. Structure and function of the benthic ecosystem, its chemical and physical factors and the microfauna communities with special reference to the ciliated protozoa. *Ophelia*, **6**, p. 1-182.
- GAUSE G. F. (1941). — The effect of natural selection in the acclimatization of *Euplotes* to different salinities of the medium. *J. exp. Zool.*, **87**, p. 85-100.
- GENERMONT T. (1969). — Quelques caractéristiques des populations de *Paramecium aurelia* adaptées au chlorure de Calcium. *Protistologica*, **5**, p. 101-108.
- HECKMANN K. (1963). — Paarungssystem und genabhängige Paarungstyp-differenzierung bei dem hypotrichen Ciliaten *Euplotes vannus* O. F. MÜLLER. *Arch. Protistenk.*, **106**, p. 393-421.
- KINNE O. (1970). — International Symposium "Cultivation of marine organisms and its importance for marine biology". Opening address. *Helgoländer wiss. Meeresunters*, **20**, p. 1-5.
- LILLY D. M. (1942). — Nutritional and supplementary factors in the growth of carnivorous ciliates. *Phys. Zool.*, **15**, p. 146-167.
- LYMAN J. et FLEMING R. H. (1940). — *J. Mar. Res.*, **3**, p. 134.
- TUCOLESKO J. (1961). — Ecodynamique des infusoires du littoral roumain de la mer Noire et des bassins salés para-marins. *Annl. Sc. nat. Zoologie et Biologie animale*, 12<sup>e</sup> Série, **3** (4), p. 788-845.
- TUFFRAU M. (1960). — Révision du genre *Euplotes*, fondée sur la comparaison des structures superficielles. *Hydrobiologia*, **15** (1-2), p. 1-77.
- TUFFRAU M. (1967). — Perfectionnements et pratique de la technique d'imprégnation au Protargol des infusoires ciliés. *Protistologica*, **3** (1), p. 91-98.
- ZILLIOUX E. J. (1969). — A continuous recirculating culture system for planktonic copepods. *Mar. Biol.*, **4**, p. 215-218.

