

50376
1969
65-1

N° d'ordre 190

50.376
1969
65-1

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DES SCIENCES

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE

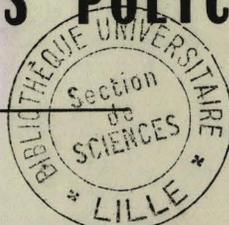
pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR
ES SCIENCES NATURELLES

par

JOSEPH SCHRÉVEL

**BIOLOGIE, CYTOLOGIE, PHYSIOLOGIE
DES GRÉGARINES PARASITES
D'ANNELIDES POLYCHETES**



Soutenu le 1969
devant la commission d'examen

MM. R. DEFRETIN, Président
E. VIVIER, Rapporteur
M. DURCHON, Examineur
P. FAVARD, Membre invité

*à recoller
svp*

FACULTE DES SCIENCES DE LILLE

DOYENS HONORAIRES : MM. H. LEFEBVRE, M. PARREAU

PROFESSEURS HONORAIRES : MM. ARNOULT, BEGHIN, BROCHARD, CAU, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, DEHEUVELS, DEHORNE, DOLLE, FLEURY, P. GERMAIN, KAMPE DE FERIET, LAMOTTE, LELONG, KOURGANOFF, Mme LELONG, MM. MAZET, A. MICHEL, NORMANT, PARISELLE, PASCAL, PAUTHENIER, ROIG, ROSEAU, ROUBINE, ROUELLE, WIENAN, ZAMANSKY.

DOYEN : M. R. DEFRETIN, Professeur de Biologie Marine

ASSESSEURS : M. J. HEUBEL, Professeur de Chimie Minérale
M. A. LEBRUN, Professeur de Radioélectricité et Electronique

PROFESSEURS

M. P. BACCHUS
M. J.P. BEAUFILS
M. M. BECART
M. V. BLOCH
M. P. BONNEMAN
M. A. BONTE
M. P. BOUGHON
M. S. BOUISSET
M. R. BOURIQUET
M. P. CELET
M. E. CONSTANT
M. P. CORSIN
M. M. DECUYPER
M. P. DEDECKER

Astronomie et Calcul Numérique
Chimie Générale
I.U.T. Physique
Psychophysiologie
Chimie et Physico-Chimie industrielle
Géologie Appliquée
Mathématiques
Physiologie Animale
Biologie Végétale
Géologie Générale
Radioélectricité
Paléobotanique
Mathématiques
Mathématiques

M. R. DEHORS	Automatique
M. C. DELATTRE	Géologie Générale
M. P. DELEAU	Géologie et Minéralogie
M. M. DELHAYE	Chimie Physique et Minérale
M. J.M. DERCOURT	Géologie et Minéralogie
M. R. DESCOMBES	Calcul Différentiel et Intégral
M. M. DURCHON	Biologie Animale
M. R. FOURET	Physique
M. R. GABILLARD	Electronique
M. G. GLACET	Chimie Organique
M. G. GONTIER	Mécanique des Fluides
M. H. HEIM DE BALSAC	Biologie Animale
M. M. HEUBEL	Chimie Minérale
M. M. HOCQUETTE	Biologie Végétale
M. A. LEBRUN	Radioélectricité
M. H. LEFEBVRE	Chimie
Melle J. LENOBLE	Physique
M. R. LIEBAERT	I.U.T.
M. R. LINDER	Biologie Végétale
M. M. LUCQUIN	Chimie Physique
Melle S. MARQUET	Mathématiques
M. A. MARTINOT-LAGARDE	Mécanique des Fluides
M. F. MONTARIOL	Chimie Minérale Appliquée
M. J. MONTREUIL	Chimie Biologique
M. M. MORIAMEZ	Physique
M. M. PARREAU	Mathématiques
M. J.P. PEREZ	Physique
M. PHAM MAU QUAN	Mathématiques
M. P. POUZET	Mathématiques
M. J. PROUVOST	Géologie et Minéralogie
M. J. SAVARD	Chimie Générale
M. F. SCHALLER	Biologie Animale
M. R. SCHILTZ	Physique

Mme M.H. SCHWARTZ	Mathématiques
M. J. TILLIEU	Physique
M. G. TRIDOT	Chimie Minérale Appliquée
M. J. VAILLANT	Mathématiques
M. E. VIVIER	Biologie Animale
M. G. WATERLOT	Géologie et Minéralogie
M. R. WERTHEIMER	Physique

MAITRES DE CONFERENCES

M. J. BELLET	Physique
M. J. BENABOU	Mathématiques
M. J. BILLARD	Physique
M. P. BOILLET	Physique
M. BUI TRONG LIEU	Mathématiques
M. Y. CHERRUAULT	Mathématiques
M. P. DEVRAINNE	Chimie Minérale
Mme R. DRAN	Chimie Organique
M. P. GUDMAND	Chimie Physique
M. P. GUILBAUT	Physiologie Animale
M. J. GUILLAUME	Biologie Végétale
M. T. HANGAN	Mathématiques
M. J. HERZ	Mathématiques Appliquées
M. P. HUARD DE LA MARRE	Mathématiques Appliquées
M. A. LABLACHE-COMBIER	Chimie Générale
M. L. LACOSTE	Biologie Végétale
M. J. LANDAIS	Chimie Organique
M. D. LEHMANN	Mathématiques
Mme J. LEHMANN	Mathématiques
M. C. LOUCHEUX	Chimie Physique
M. S. MAES	Physique
M. M. MONTEL	Physique
M. M. PANET	Electrotechnique

M. F. PARSY
M. L. RACZY
M. F. ROBERT
M. G. SAADA
M. E. SEGARD
M. P. VIDAL
Mme N. ZIN-JUSTIN

Mécanique des Fluides
Radioélectricité
Mathématiques Appliquées
Physique
Chimie Biologique
Automatique
Mathématiques

BIOLOGIE, CYTOLOGIE, PHYSIOLOGIE DES
GREGARINES PARASITES D'ANNELIDES POLYCHETES.

Joseph SCHREVEL

Laboratoire de Biologie Animale
Service de Protistologie et de Microscopie Electronique
Faculté des Sciences de Lille

SOMMAIRE

Introduction.....	p. 1
Aperçu historique.....	p. 2
Matériel et Méthodes.....	p. 4
I - Matériel.....	p. 4
II - Méthodes.....	p. 4
A - Méthodes d'études des Grégarines et de leurs hôtes sur le vivant.....	p. 4
B - Techniques histologiques et cytologiques.....	p. 6
C - Techniques opératoires pour l'étude des facteurs contrôlant la reproduction des Grégarines.....	p. 7
D - Terminologie.....	p. 7

PREMIERE PARTIE

Etude des Cycles de Grégarines parasites d'Annélides Polychètes de la Manche	p. 9
Chapitre I - Grégarines intestinales.....	p. 10
I - Famille des <u>Selenidiidae</u> Brasil 1907.....	p. 10
A - Cycle de l'espèce type <u>Selenidium pendula</u> Giard 1884 para- site de <u>Nerine cirratulus</u> D. Chiaje.....	p. 11
B - <u>Selenidiidae</u> parasites des <u>Spionidae</u>	p. 19
C - <u>Selenidiidae</u> parasites de <u>Sabellaria alveolata</u> L.....	p. 24
D - <u>Selenidiidae</u> parasites de <u>Sabellidae</u>	p. 32
E - <u>Selenidiidae</u> parasites de <u>Serpulidae</u>	p. 34
F - <u>Selenidiidae</u> parasites des <u>Terebellidae</u> et <u>Ampharetidae</u>	p. 37
G - <u>Selenidiidae</u> parasites de <u>Cirratulidae</u>	p. 40
H - Discussion générale sur le cycle des <u>Selenidiidae</u>	p. 45
I - Conclusion.....	p. 48

II - Famille des <u>Lecudinidae</u> Kamm 1922.....	p.	49
A - <u>Lecudinidae</u> parasites des <u>Nereidae</u>	p.	50
B - <u>Lecudina heterocephala</u> (Ming.) 1893, parasite de <u>Nephtys hombergii</u> Audouin et M. Edwards.....	p.	65
C - <u>Lecudina legeri</u> (Brasil) 1909, parasite de <u>Glycera convoluta</u> Kefferstein et <u>G. alba</u> (Rathke).....	p.	68
D - <u>Lecudinidae</u> parasites des <u>Eunicidae</u>	p.	69
E - Discussion générale sur les <u>Lecudinidae</u>	p.	75
F - Conclusion.....	p.	78
 Chapitre II - Grégarines coelomiques.....	p.	79
I - Famille des <u>Urosporidae</u>	p.	80
A - <u>Urospora lagidis</u> De Saint-Joseph, parasite de <u>Pectinaria koreni</u> Malmgren.....	p.	80
B - <u>Urospora longissima</u> (Caullery et Mesnil 1898) parasite de <u>Dodecaceria caulleryi</u> Dehorne.....	p.	80
II - Famille des <u>Gonosporidae</u>	p.	84
A - Cycle de <u>Gonospora varia</u> Léger 1892, parasite d' <u>Audouinia tentaculata</u> Mont.....	p.	84
B - Les Gonosporides parasites d' <u>Arenicola ecaudata</u> Jonhston..	p.	90
III - Discussion et Conclusion.....	p.	92
Conclusion de la première partie.....	p.	95

DEUXIEME PARTIE

Etude cytologique des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes	p.	96
 Chapitre III - Etude de la région corticale des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes.....	p.	98
I - Morphologie de la région corticale chez les différents trophozoïtes.....	p.	98
A - Observations.....	p.	98
B - Discussion : Notion d'épicyte.....	p.	100

II - La paroi et ses dérivés	p. 101
A - Observations.....	p. 101
B - Discussion.....	p. 106
III - Le cytoplasme cortical.....	p. 108
A - Les systèmes fibrillaires.....	p. 108
B - Les organites cytoplasmiques.....	p. 111
C - Discussion.....	p. 114
IV - Conclusion.....	p. 115
 Chapitre IV - Les organites cytoplasmiques - L'endoplasme.....	 p. 117
I - Les Mitochondries.....	p. 117
A - <u>Selenidiidae</u>	p. 117
B - Eugrégarines.....	p. 119
C - Discussion.....	p. 119
II - Enclaves glucidiques : Paraglycogène et Mucopolysaccharides...	p. 120
A - Le paraglycogène.....	p. 121
B - Les mucopolysaccharides.....	p. 127
C - Les enclaves lipidiques.....	p. 128
D - Discussion sur les enclaves.....	p. 128
III - Corps denses antérieurs (= Toxonèmes = Rhoptries = Paired Organelles).....	p. 131
A - Description des corps denses antérieurs.....	p. 131
B - Mise en évidence de la phosphatase acide au niveau des corps denses antérieurs.....	p. 132
C - Discussion.....	p. 133
IV - Système Ribosomal - Ergastoplasme - Dictyosomes.....	p. 134
A - <u>Selenidiidae</u>	p. 134
B - Eugrégarines : étude de <u>Lecudina tuzetae</u>	p. 136
C - Discussion.....	p. 137
V - Les différenciations endoplasmiques.....	p. 140
A - Observations.....	p. 140
B - Discussion.....	p. 140
VI - Conclusion.....	p. 141

Chapitre V - Le noyau et la région périnucléaire.....	p. 143
I - Noyau.....	p. 143
A - Aspects sur le vivant.....	p. 143
B - Aspects cytochimiques.....	p. 144
C - Ultrastructure du noyau.....	p. 145
II - La zone périphérique cytoplasmique.....	p. 147
A - <u>Selenidiidae</u>	p. 147
B - <u>Sycia inopinata</u>	p. 148
III - Discussion.....	p. 148
IV - Conclusion.....	p. 150
Conclusion de la deuxième partie.....	p. 151

TROISIEME PARTIE

Etude physiologique des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes p. 153

Chapitre VI - La Nutrition.....	p. 154
I - Arguments favorables à l'hypothèse de l'absorption par le mucron : étude des mucrons de <u>Lecudinidae</u>	p. 154
A - Observations.....	p. 154
B - Discussion : rôle des mucrons des <u>Lecudinidae</u>	p. 157
II - Démonstration de la nutrition par la région antérieure : étude du mucron des <u>Selenidiidae</u>	p. 158
A - Ultrastructure du mucron de <u>S. hollandei</u>	p. 158
B - Discussion : rôle du mucron chez les <u>Selenidiidae</u>	p. 160
III - Rôle de la région antérieure des <u>Selenidium</u> et <u>Lecudina</u> dans la nutrition	p. 162
A - Corps denses antérieurs.....	p. 162
B - Discussion : rôle des corps denses antérieurs.....	p. 163
IV - Nutrition par la surface.....	p. 164
A - Paroi et organites périphériques de <u>Selenidium hollandei</u> ..	p. 164
B - Essais d'analyse expérimentale.....	p. 165
C - Discussion.....	p. 166

V - Conclusion.....	p. 168
Chapitre VII - Croissance.....	p. 169
I - Principales étapes de la croissance de <u>S. inopinata</u>	p. 169
A - Début de la croissance.....	p. 169
B - Passage du noyau de l'épimérite dans le "corps" du trophozoïte.....	p. 171
C - Apparition de la zone intermédiaire correspondant au protomérite et au développement maximum de la phase "Tricystidée" de <u>S. inopinata</u>	p. 172
D - Fin de la phase "Tricystidée" et chute du trophozoïte dans la lumière intestinale.....	p. 173
E - Le Sporadin.....	p. 174
II - Discussion.....	p. 175
III - Conclusion.....	p. 177
Chapitre VIII - Métabolisme.....	p. 178
I - Etude autoradiographique de la synthèse des ribonucléines et protéines.....	p. 178
A - Matériel et Méthodes.....	p. 178
B - Etude cinétique de la synthèse des ribonucléines de <u>Lecudina tuzetae</u>	p. 179
C - Etude cinétique de la synthèse des protéines de <u>Lecudina tuzetae</u>	p. 183
II - Mise en évidence d'une activité phosphorylasique chez <u>Lecudina tuzetae</u> et <u>Selenidium hollandei</u>	p. 187
A - Matériel et méthodes.....	p. 187
B - Mise en évidence de la phosphorylase par le Lugol dilué chez <u>S. hollandei</u> et <u>L. tuzetae</u>	p. 188
C - Démonstration de l'activité phosphorylasique chez <u>L. tuzetae</u> par voie autoradiographique.....	p. 188
D - Discussion.....	p. 189
III - Conclusion.....	p. 190

Chapitre IX - Mouvements des trophozoïtes : différents types, analyse des mouvements pendulaires et d'enroule- ment des <u>Selenidiidae</u>	p. 191
I - Observations.....	p. 191
A - Mouvements péristaltiques.....	p. 191
B - Mouvements de glissement ou de translation.....	p. 192
C - Mouvements pendulaires et d'enroulement.....	p. 192
D - Modifications du type de mouvement selon la période du cycle	p. 193
II - Discussion.....	p. 193
A - Recherche du mécanisme des mouvements des <u>Selenidiidae</u>	p. 193
B - Comparaison avec les systèmes fibrillaires sous-cuticulai- res des autres Protozoaires.....	p. 195
III - Conclusion.....	p. 195
Chapitre X - Le problème de la schizogonie chez les <u>Selenidiidae</u>	p. 197
I - "Kystes à mérozoïtes" rencontrés dans l'intestin postérieur de <u>Sabellaria alveolata</u>	p. 197
A - Description en microscopie optique.....	p. 197
B - Observations ultrastructurales.....	p. 198
II - Cas des mérozoïtes isolés.....	p. 202
III - Discussion.....	p. 202
IV - Conclusion.....	p. 203
Chapitre XI - Facteurs contrôlant la reproduction des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes.....	p. 204
I - Corrélation entre le cycle d' <u>Urospora longissima</u> et celui de son hôte, <u>Dodecaceria caulleryi</u>	p. 205
II - Etude des facteurs d'enkystement chez les Grégarines intes- tinales.....	p. 205
A - Rappel des résultats sur les Grégarines intestinales de <u>Syllis amica</u>	p. 206
B - Etude de certains facteurs intervenant dans l'enkystement de <u>L. tuzetae</u> , parasite de <u>N. diversicolor</u>	p. 207
III - Conclusion.....	p. 217

Chapitre XII - Caractères du parasitisme des Grégarines chez les Annélides Polychètes.....	p. 219
I - Habitat.....	p. 219
II - Spécificité parasitaire.....	p. 220
III - Caractères de l'infestation.....	p. 222
A - Taux d'infestation.....	p. 222
B - Degré d'infestation.....	p. 227
IV - Discussion : Essais d'interprétation des infestations naturelles.....	p. 227
A - Densité de population des Annélides.....	p. 227
B - Exigences biologiques des Grégarines.....	p. 228
C - Fécondité des différentes Grégarines.....	p. 229
D - Résistance des spores et trophozoïtes.....	p. 229
V - Conclusion.....	p. 231
Conclusion de la troisième partie.....	p. 232
Liste des hôtes parasités et de leurs parasites étudiés.....	p. 234
Conclusion générale.....	p. 236
Bibliographie.....	I à XXV

AVANT-PROPOS

Il m'est particulièrement agréable d'exprimer mes plus vifs remerciements à Monsieur E. VIVIER, Professeur à la Faculté des Sciences de Lille, qui m'a proposé et a dirigé ce travail. Son active connaissance de la Protistologie et de la Biologie Cellulaire m'ont entraîné vers ce domaine passionnant de la Biologie où chaque jour nous apporte un nouvel étonnement. Ses multiples conseils, ses encouragements, sa confiance m'ont permis de surmonter les nombreuses difficultés qui jalonnent le long apprentissage de la rigueur scientifique. Son exemple restera, pour moi, le meilleur stimulant pour la poursuite de ce travail. Qu'il veuille trouver dans ce mémoire l'expression de mon fidèle attachement, de ma respectueuse gratitude.

En m'accueillant dans le Laboratoire de Biologie Animale, Monsieur M. DURCHON, Professeur à la Faculté des Sciences de Lille m'a toujours aimablement conseillé et m'a facilité, au maximum la réalisation matérielle de ce travail. Sa grande connaissance des Annélides Polychètes et de la Biologie Expérimentale m'ont permis d'envisager des conceptions nouvelles sur les rapports hôte-parasite. Qu'il soit assuré de ma profonde et sincère reconnaissance.

Monsieur R. DEFRETIN, Doyen de la Faculté des Sciences de Lille, m'a enseigné les notions fondamentales de la Zoologie, de la Biologie Marine, de l'Histologie et de la Cytologie. Au cours des nombreux séjours au Laboratoire de Biologie Maritime de Wimereux, qui m'ont facilité les observations sur le vivant rapportées dans ce travail, il m'a toujours reçu et conseillé avec la plus grande amabilité et une extrême disponibilité. Je lui prie de croire à toute ma reconnaissance.

Monsieur P. FAVARD, Professeur à la Faculté des Sciences de Paris, m'a fait l'honneur de participer au jury chargé de juger ce travail. Qu'il veuille trouver ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

En m'acceptant dans son Laboratoire de Biologie Cellulaire pendant mon service militaire, au titre de la D.R.M.E., Monsieur J.A. THOMAS, Professeur à la Faculté des Sciences de Paris, m'a fait bénéficier des nombreux enseignements

de son laboratoire. Ce séjour et les marques d'amitié de son personnel laisseront un bien agréable souvenir. Qu'il soit assuré de ma sincère reconnaissance.

Je tiens à remercier Monsieur G. TEISSIER, Directeur du Laboratoire de Biologie Marine de Roscoff, pour les facilités dont j'ai bénéficié pendant mes séjours.

Mon ami Claude OGER, m'a souvent donné de précieux conseils dans l'interprétation statistique des expériences relatives aux rapports hôte-parasite. Sa disparition brutale a arrêté une collaboration qui s'annonçait très fructueuse. Sa conception de la recherche et ses qualités humaines resteront un vivant souvenir.

Messieurs J.P. THIERY et P. DROCHMANS m'ont aidé très efficacement pour la mise en évidence ultrastructurale du paraglycogène et l'interprétation de cette réserve glucidique. Mademoiselle N. POUX, m'a très gentiment conseillé dans la recherche de l'activité phosphatasique acide.

Mademoiselle I. DESPORTES, Messieurs THEODORIDES, ORMIERES et DEVAUCHELLE m'ont souvent fait part de leurs résultats sur les Grégarines parasites d'Arthropodes et permis d'utiles comparaisons.

Mes collègues m'ont toujours apporté leur amicale collaboration. Je tiens à remercier particulièrement Madame PORCHET-HENNERE, Monsieur J.C. WISSOCQ du Laboratoire de Biologie Animale de Lille, pour le matériel abondant qu'ils m'ont procuré et Monsieur A. PETITPREZ de l'Institut Pasteur de Lille pour l'aide amicale qu'il a fournie en microscopie électronique.

Monsieur HIMPENS, Dessinateur au C.N.R.S. au service du Professeur DURCHON, Messieurs BOUCHEQUET et LAZARECKI photographes, Mesdames BONET, BREDA, CIARRET, DUCOULOMBIER, HIMPENS m'ont apporté, avec beaucoup de gentillesse, une aide particulièrement efficace dans la préparation matérielle de ce mémoire.

INTRODUCTION

Les Grégarines sont des Sporozoaires très fréquents chez les Annélides Polychètes. Nos connaissances disparates, basées sur des techniques de frottis ou d'histologie, nous ont valu des classifications où les critères retenus sont discutables.

Avec le perfectionnement des conditions d'observation sur le vivant, le développement de l'expérimentation, il paraissait nécessaire de reconsidérer la biologie de ces parasites.

L'emploi du microscope électronique devait permettre d'entreprendre, avec l'appui des techniques cytochimiques et autoradiographiques, une étude cytologique approfondie, et de préciser le degré de relation entre les différentes familles de Grégarines.

Le mode de vie parasitaire de ces Protozoaires, pose des problèmes de physiologie cellulaire très intéressants tels que la nutrition, la croissance, la mobilité, l'élaboration des réserves et les relations hôte-parasite.

La succession des trois phases d'investigation suivantes :

- biologie avec l'étude des cycles
- cytologie avec les techniques cytochimiques et ultrastructurales
- physiologie avec les aspects propres aux Grégarines et les relations hôte-parasite.

constitue une suite logique pour l'exposé des résultats et un moyen de souligner les possibilités de recherches qu'offrent les Grégarines aussi bien en Protistologie qu'en Biologie et Physiologie Cellulaires.

APERÇU HISTORIQUE

Le tableau 1 présente les travaux relatifs aux cinq principales familles de Grégarines parasites d'Annélides Polychètes : Selenidiidae Brasil 1907, Lecudinidae Kamm 1922, Polyrhabdinidae Kamm 1922, Urosporidae Léger 1892 et Gonosporidae Léger 1892. A partir de ces données et de l'analyse exposée dans ce travail, nous pouvons considérer quatre périodes dans l'évolution de nos connaissances de ces Grégarines.

I - AVANT 1900

Il existe une première phase correspondant à la découverte des Grégarines chez les Annélides Polychètes (KOLLIKER 1848, DE SAINT-JOSEPH 1860, CIAPAREDE 1861, LANKESTER 1863, SCHNEIDER 1875, GIARD 1884). De nombreux noms sont proposés. Les travaux de MINGAZZINI (1893), LEGER (1892), CAULLERY et MESNIL (1899) ont le mérite de faire ressortir les genres fondamentaux que sont Selenidium Giard 1884, Lecudina Mingazzini 1891, Polyrhabdina Mingazzini 1891, Gonospora Schneider 1875, Urospora Schneider 1875.

Par ailleurs, CAULLERY et MESNIL (1898) signalent pour la première fois chez les Grégarines, une multiplication schizogonique chez Urospora longissima (Caullery et Mesnil), parasite du Dodecaceria.

II - PERIODE DE 1900-1922

Cette période se caractérise par le développement des techniques cytologiques utilisant le microscope photonique.

BRASIL (1905, 1907, 1909) fait connaître la structure de nombreux trophozoïtes appartenant aux genres Selenidium et Lecudina, et décrit des stades de multiplication schizogonique chez Selenidium caulleryi, parasite de Protula tubularia.

CAULLERY et MESNIL (1900 a) décrivent une division nucléaire particulière dans le genre Selenidium et précisent la structure des différentes Grégarines intestinales. L'importante monographie de KAMM (1922) résume les données concernant les Grégarines Polycystidées.

<u>SELEPHIDINAE</u> Brasil 1907	<u>LECYNIDINAE</u> Kamm 1922	<u>POLYHAARDININAE</u> Kamm 1922	<u>UROSPORINAE</u> Léger 1892 <u>DOROSPORINAE</u> Léger 1892
GIARD 1888	: TUZET et ORMIERES 1958	: MINGOZZINI 1891	: SCHNEIDER 1875
LEGER 1892	: MACKINNON et HAWES 1961	: MINGOZZINI 1893	: LEGER 1892
CAULLERY et MESNIL 1899	: LEVINE 1961	: LEGER 1893	: LABBE et MACOTVITZA 1897
CAULLERY et MESNIL 1900	: TUZET et ORMIERES 1962	: LABBE 1899	: CAULLERY et MESNIL 1898
CAULLERY et MESNIL 1900 a	: THEODORIDES et LAUBIER 1962	: WYCKIN 1903	: BRASIL 1904
CAULLERY et MESNIL 1901	: CHEISSIN et NOLJANSKY 1963	: GECOWY 1905	: BRASIL 1905
STEDLECKY 1903	: BURT, DENNY, THOMASSEN 1963	: BRASIL 1908	: BRASIL 1905 a
BRASIL 1907	: TUZET et ORMIERES 1964	: BRASIL 1908 a	: CUNNINGHAM 1907
BRASIL et PANTHAM 1908	: VIVIER et SCHREVEL 1964	: BRASIL 1909	: ROBINSON 1910
PANTHAM 1908	: Comité de Taxonomie de la	: CAULLERY et MESNIL 1914	: FIXELL-GOODRICH 1916
POWER 1908	: Société Protocologie 1964	: KAMM 1922	: TREGOUBOFF 1918
BRASIL 1909	:	: SETNA 1931	: GOODRICH et FIXELL-GOODRICH 1921
LEGER et DJBOSSQ 1917	: COX 1965	: REICHENOW 1932	: NAVILLE 1927
CAULLERY et MESNIL 1918	: MAC GREGOR et THOMASSEN 1965	: GANAPATI et AIYAR 1937	: TUZET 1931
ROSKIN et LEVINSON 1929	: VIVIER et SCHREVEL 1966	: BATHIA et SETNA 1938	: REICHENOW 1932
RAY 1930	: SCHREVEL 1966 a	: GANAPATI 1946 a	: GRASSE 1953
REICHENOW 1932	: SCHREVEL 1966 b	: GANAPATI 1946 b	: LANG 1954
MACKINNON et RAY 1933	: VIVIER et SCHREVEL 1966	: ARNY 1952	: MACKINNON et HAWES 1961
REED 1933	: THEODORIDES 1968	: BOGOLEPOVA 1953	: TUZET et ORMIERES 1964
POWELL 1936 a	: SCHREVEL 1968 a	: GRASSE 1953	: SCHREVEL 1964 a
POWELL 1936 b	: SCHREVEL 1968 b	: HOSRIDE 1958	:
DIEB 1938	: SCHREVEL 1968 c	: SCHREVEL 1963 a	:
GANAPATI 1946 b	: SCHREVEL 1969	: SCHREVEL 1963 b	:
GRASSE 1953	:	: VIVIER, TUZET et ORMIERES 1964	:
BOGOLEPOVA 1953	:	: SCHREVEL 1964 a	:
WEISER 1955	:	: SCHREVEL 1964 b	:
:	:	: SCHREVEL et VIVIER 1966	:
:	:	: SCHREVEL et VIVIER 1966	:
:	:	: SCHREVEL et FOUQUET 1968	:
:	:	: SCHREVEL et DHADNAUT 1968	:
:	:	: VIVIER 1968	:
:	:	: SCHREVEL 1969	:

Tableau 1 - Revue bibliographique des principaux travaux relatifs à l'étude des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes

BUS
LILLE

III - PERIODE 1922-1953

Il convient de signaler pendant cette période, les travaux sur la systématique des Selenidiidae (RAY 1930, MACKINNON et RAY 1933, DIBB 1938) et les essais d'analyse des mouvements pendulaires (ROSKIN et LEVINSON 1929, FOWELL 1936 a, 1936 b). GANAPATI et Coll. (1936, 1946 a et b) décrivent le cycle de diverses Lecudina.

Le Traité de GRASSE (1953) apporte une remarquable mise au point de la systématique des Grégarines.

IV - DEPUIS 1953

Divers travaux concernant certaines espèces de Selenidiidae peuvent être signalés mais aucun travail de synthèse important n'a été entrepris.

La microscopie électronique nous apporte des premiers résultats chez les Polycystidées d'Insectes (GRASSE et THEODORIDES 1957, 1958, ¹⁹⁵⁹ KJMMEL 1958, KLUG 1959, BEAMS et Coll. 1957, 1959) et une Monocystidée d'Oligochètes (LACY et MILES 1955). A partir de 1964, VIVIER et SCHREVEL commencent une étude générale des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes. Leurs résultats amènent de nombreuses conceptions nouvelles sur la biologie et l'étude de ces parasites. Nous allons compléter ces résultats à l'aide de diverses techniques et essayer d'en faire une synthèse.

MATERIEL ET METHODES

I - MATERIEL

Les Annélides Polychètes étudiées proviennent de la Manche. Les principales stations de récolte sont le Boulonnais, les plages de la région de Luc-sur-Mer, le Cotentin, la région de Roscoff.

Nous rapporterons les observations sur 46 Grégarines, parasites de 35 espèces d'Annélides Polychètes. Leur liste détaillée sera donnée à la fin de ce travail.

II - METHODES

Toutes les Annélides Polychètes ont été déterminées à l'aide de la Faune FAUVEL (1923).

A - Méthodes d'études des Grégarines et de leurs hôtes, sur le vivant

1) Elevage des Annélides

Après la récolte, les Annélides sont isolées selon leur taille dans des boîtes de Pétri ou des cristallisoirs, contenant de l'eau de mer à la température de 15 à 20° C.

L'élevage d'une Annélide Polychète, en vue d'une étude des Grégarines, suppose d'une part qu'elle soit fréquemment et intensément parasitée, d'autre part que sa conservation en laboratoire soit facile. Cette survie au laboratoire peut durer plusieurs semaines (jusqu'à 2 à 3 mois) pour les Nereidae, Syllidae, Cirratulidae, Hermellidae, familles souvent très parasitées. Elle peut être facilitée par abaissement thermique à 3 ou 4° C mais les conséquences biologiques sur les Grégarines (chapitre XI) obligent à éviter un tel procédé, surtout dans le cas d'une étude cytochimique ou ultrastructurale.

2) Détection des Annélides parasitées par les Grégarines

Après la récolte, il est nécessaire de laver le tégument des vers à l'eau de mer et d'attendre un à deux jours pour éliminer le contenu

digestif.

Les Annélides, anesthésiées au MS 222 (tricaïne méthane sulfonate) à 1 % dans l'eau de mer sont examinées selon deux procédés :

1°) Les vers, de petite taille et au tégument peu coloré, sont observés entre lame et lamelle. Après légère compression, les Grégarines et leurs kystes apparaissent comme des masses généralement blanchâtres.

2°) Les vers de grande taille sont disséqués sous la loupe binoculaire pour les Grégarines intestinales, ou ponctionnés dans le cas des Grégarines coelomiques (pour les précisions techniques voir DURCHON 1952), l'examen de la ponction pouvant se faire à la loupe binoculaire ou de préférence au microscope.

3) Récolte des kystes

Les kystes des Grégarines coelomiques sont généralement récoltés par ponction. Pour les kystes, provenant d'espèces intestinales, il est nécessaire de vérifier, dans les boîtes de Pétri ou cristallisoirs, les déchets rejetés par l'Annélide.

4) Observation des Grégarines et de leurs kystes

Les Grégarines et les kystes repérés par les méthodes précédentes, sont facilement prélevés à l'aide de micropipettes et observés entre lame et lamelle, au microscope. Pour faciliter la conservation, il est souvent recommandé de réaliser de petites chambres humides, closes par de la vaseline et d'ajouter à l'eau de mer, quelques traces de Pénicilline 100 000 U, de façon à réduire le développement bactérien.

L'observation sur le vivant s'est trouvée facilitée par l'emploi de la microscopie en contraste de phase ou en contraste interférentiel et d'une cellule à compression permettant d'immobiliser temporairement les Grégarines.

Les microphotographies sur le vivant ont été réalisées pour la plupart au flash électronique.

B - Techniques histologiques et cytologiques

1) Microscopie photonique

Les tronçons de vers parasités sont fixés de préférence au Bouin Alcoolique, Carnoy, Gendre, 6 - 3 - 1. Ils sont inclus à la paraffine et coupés à 6 μ . Les colorations de Prenant, et PAS - Glychemalun de Meyer associé au Picroindigo Carmin. ou au jaune Naphtol S constituent les techniques usuelles.

2) Microscopie électronique

Les pièces ont subi pour la plupart la double fixation : glutaraldéhyde 6,5 % en tampon phosphate 0,1 M à 4° C pendant 2 heures, lavage dans le tampon additionné de sucrose puis postfixation à l'acide osmique 1 à 2 % dans le même tampon.

Certaines fixations simples, -acide osmique 2 % dans le tampon Millonig. - ont été également réalisées. Les inclusions, à l'Epon 812 selon LUFT, sont coupées aux ultramicrotomes Porter-Blum ou Reichert. Les coupes sont contrastées par l'hydroxyde de Plomb selon la méthode A de Karnovsky (1961), ou le citrate de Plomb selon la technique de Reynolds (1963), précédée ou non d'un passage dans l'acétate d'uranyle en solution alcoolique. Les préparations ont été observées aux microscopes électroniques Siemens Elmiskop 1 ou Hitachi 11B.

3) Techniques cytochimiques et autoradiographiques

Diverses techniques cytochimiques portant en particulier sur le paraglycogène, les mucopolysaccharides, les acides nucléiques ont été pratiquées.

Nous avons suivi l'incorporation d'Uridine ^3H et Leucine ^3H chez Lecudina tuzetae Schrevel, parasite de Nereis diversicolor O.F. Müller.

Pour la mise en évidence de la phosphorylase chez cette même Grégarine nous avons utilisé du glucose - 1 - Phosphate ^{14}C selon la technique de Guha et Wegmann (1959 et 1966).

En microscopie électronique nous avons détecté la phosphatase acide selon la méthode de Gomori.

Le paraglycogène a fait l'objet d'une étude avec la technique à la Thiocarbohydrazide-Protéinate d'Argent (technique de Seligman modifiée par THIERY 1968), associée à des traitements enzymatiques utilisant l' α amylase et la trypsine.

Les conditions d'utilisation de ces techniques seront précisées au cours de ce travail.

C - Techniques opératoires pour l'étude des facteurs contrôlant la reproduction des Grégarines.

Toutes les expériences, réalisées sur Syllis amica et Nereis diversicolor pour analyser certains facteurs susceptibles de contrôler la reproduction des Grégarines, ont été effectuées selon les techniques de DURCHON (1952, 1959).

D - Terminologie

Le projet de révision de la terminologie relative aux Sporozoaires (LEVINE 1969) nous oblige à définir les termes que nous utiliserons :

- Anisogamie : différence morphologique et physiologique entre les gamètes
- Céphalin : trophozoïte attaché au tissu hôte par son épimérite ou mucron
- Copula : voir zygote
- Deutomérite : segment postérieur, contenant le noyau, d'une Grégarine Polycystidée
- Dicystidée : Grégarine possédant un épimérite mais dépourvue de septum fibrillaire comparable aux Tricystidées
- Epimérite : Région antérieure des Grégarines Polycystidées, enfoncée dans le tissu hôte pendant la croissance et devenant caduque au cours de la transformation des céphalins en gamontes ou en sporadins.
- Gamétogénèse : phase consécutive à la syzygie, pendant laquelle s'élaborent les gamètes.
- Gamétokyste : kyste, issu de la syzygie, dans lequel s'effectue la gamétogénèse

PREMIERE PARTIE

ETUDE DES CYCLES DE GREGARINES PARASITES
D'ANNELIDES POLYCHETES DE LA MANCHE

- Gamonte : Individu qui produit les gamètes. Chez les Grégarines, le gamonte mâle et le gamonte femelle produisent de nombreux gamètes.
- Mérozoïte : Germe initial élaboré par division.
- Monocystidée : Grégarine non divisée par un septum et dépourvue d'épimérite
- Mucron : Appareil de fixation fonctionnant comme ventouse. Il n'est pas caduc, à la fin de la croissance.
- Oocyste : voir sporocyste
- Polycystidées : terme désignant les Di et Tricystidées.
- Protomérite : segment situé au-dessus ^{du} deutomérite chez les Grégarines Polycystidées
- Schizogonie : multiplication asexuée où la formation des cellules filles se fait par fission multiple
- Schizozoïte : cellule issue de la schizogonie
- Sporadin : trophozoïte qui s'est détaché du tissu hôte et peut entrer en syzygie
- Spores : sporocystes matures
- Sporoblaste : voir zygote
- Sporocyste : zygote qui s'est entouré d'une coque
- Sporogénèse : évolution de la copula en sporocyste mature avec formation de sporozoïtes
- Sporokyste : nom du kyste pendant la période où s'effectue la sporogénèse.
- Sporozoïte : germe infectieux résultant ou non de la division du zygote.
Ce germe présente une structure caractéristique
- Syzygie : Association de deux sporadins en vue de constituer un gamétokyste.
- Tricystidée : Grégarine possédant trois segments : épimérite, protomérite, deutomérite. La limite proto-deutomérite est constituée par un système fibrillaire.
- Trophozoïte : forme végétative en croissance
- Zygote : cellule formée par la fusion d'un gamète mâle et d'un gamète femelle.

CHAPITRE I

GREGARINES INTESTINALES

I - FAMILLE DES SELENIDIIDAE BRASIL 1907

Le genre Selenidium est créé en 1884 par GIARD, pour les Grégarines parasites des Annélides Polychètes à mouvements pendulaires. CAULLERY et MESNIL (1899), les premiers, ont montré l'abondance de ces parasites. La présence de stades interprétés comme ceux d'une schizogonie (CAULLERY 1901, BRASIL 1907, LEGER et DUBOSCQ 1917, RAY 1930) va prendre une importance considérable dans la systématique des Grégarines.

Certains auteurs (FANTHAM 1908, WEISER 1955, LEVINE 1961, CHEISSIN et POLJANSKY 1963) les classent dans l'ordre des Schizogrégarines Leger. 1907, Grégarines faisant de la schizogonie, d'autres (GRASSE 1953, Comité de Taxonomie de la Société de Protozoology 1964) dans l'ordre des Archigrégarines (Grassé 1953, Grégarines primitives à schizogonie.

En dépit de nombreux travaux (Tableau 1) le cycle des Selenidiidae est mal défini.

Le tableau 2 résume les phases sexuées connues.

Nous remarquerons que l'observation des gamètes n'est signalée que chez trois espèces seulement. En fait, leur description n'est pas satisfaisante et l'isogamie avec gamètes flagellés chez Selenocystis foliata (DIBB 1938) ou avec gamètes dépourvus de flagelle chez S. mesnili (REED 1933) et sans doute S. potamillae (MACKINNON et RAY 1933) mérite des observations complémentaires.

De même le nombre de sporozoïtes par spore est souvent discuté. Il serait de quatre chez S. echinatum, S. spionis, S. mesnili, S. potamillae, cependant chez ce dernier il existerait des spores à 8 sporozoïtes. Chez Selenocystis foliata, le nombre serait plutôt de huit ; quant à Meroselinidium keilini, ses spores seraient polyzoïques.

Phase de la reproduction sexuée	Espèce de <u>Selenidiidae</u>	Auteurs	
Syzygie	<u>Selenidium spionis</u>	CAULLERY et MESNIL	1899
	<u>Selenidium echinatum</u>	CAULLERY et MESNIL	1899
	<u>Selenidium de Spic martinensis</u>	CAULLERY et MESNIL	1900 a
	<u>Selenidium caulleryi</u>	RAY	1930 a
	<u>Selenidium mesnili</u>	REED	1933
	<u>Selenidium flabelligerae</u>	TUZET et ORMIERES	1958
	<u>Selenidium marcierellae</u>	THEODORIDES et LAUBIER	1962
Gamètes	<u>Selenidium potamillae</u>	MACKINNON et RAY	1933
	<u>Selenidium mesnili</u>	REED	1933
	<u>Selenocystis foliata</u>	DIBB	1938
Spores	<u>Selenidium echinatum</u>	CAULLERY et MESNIL	1899
	<u>Selenidium spionis</u>	RAY	1930 a
	<u>Selenidium potamillae</u>	MACKINNON et RAY	1933
	<u>Meroselepidium keilini</u>	MACKINNON et RAY	1933
	<u>Selenocystis foliata</u>	RAY 1930 et DIBB	1938
	<u>Selenidium mesnili</u>	REED	1933
	<u>Selenidium flabelligerae</u>	TUZET et ORMIERES	1958

Tableau 2 - Revue bibliographique relative à la reproduction sexuée des Grégarines de la famille des Selenidiidae, parasites d'Annélides Polychètes.

BUS
MILE

Dans cette première partie, nous nous intéresserons aux cycles de ces parasites. Les observations ont été réalisées, pour la plupart, sur le vivant.

A - Cycle de l'espèce type Selenidium pendula Giard 1884 parasite de Nerine cirratulus D. Chiaje

Découvert par GIARD (1884), Selenidium pendula, parasite de Nerine cirratulus, constitue l'espèce type du genre. Sa localisation coelomique pour GIARD, est en réalité intestinale (CAULLERY et MESNIL 1899, BRASIL 1907). Le trophozoïte est resté, jusqu'à ces dernières années, le seul stade connu (BRASIL 1909, GANAPATI 1946 b). Nous avons fait connaître les principaux stades de la reproduction sexuée (SCHREVEL 1966 a).

Les Nerine cirratulus de Wimereux, Luc-sur-Mer, Roscoff, sont parasitées plus ou moins abondamment. Les trophozoïtes fixés à l'épithélium intestinal, baignent dans un liquide intestinal brunâtre parmi les grains de sable et les fragments d'algues. Avec une certaine habitude, ils se repèrent facilement par leur aspect blanchâtre et surtout leurs mouvements pendulaires.

1 - Observations

a) Le trophozoïte

Tous les trophozoïtes sont animés de mouvements pendulaires.

Les Grégarines minces et allongées atteignent 180 μ de long sur 35 μ de large (Pl. I, fig. a). Un léger étranglement délimite la région antérieure appelée mucron. Ce dernier, parfois effilé (Pl. I, fig. a) présente souvent un aspect globuleux (Pl. I, fig. b et e). On peut y observer, dans un cytoplasme apparemment homogène et peu dense, des corpuscules sphériques et des filaments internes (Pl. I, fig. e). La présence d'une grande vacuole claire (4 μ x 2 μ environ) colorable au Rouge Neutre dilué est fréquente. La surface de la Grégarine est parcourue par une vingtaine de bombements longitudinaux, parallèles, sombres, qui sont séparés par un étroit sillon

clair, en microscopie à contraste de phase, appelé généralement strie (Pl. I, fig. b, c et f). La microscopie électronique (VIVIER, SCHREVEL 1964) a démontré contrairement à l'opinion admise généralement, que les "myonèmes" ne pouvaient pas correspondre aux sillons ou stries mais devaient probablement s'identifier aux systèmes fibrillaires sous cuticulaires situés sous les bombements longitudinaux. Ces derniers sont disposés chez S. pendula selon des génératrices régulières, toutefois, dans quelques cas, on assiste à une légère spiralisation dans la région antérieure.

Sous la paroi, le cytoplasme est constitué d'une multitude de fins granules souvent alignés déterminant une fine striation transversale. L'axe du trophozoïte présente une zone claire nettement visible dans la région antérieure (Pl. II, fig. d). Elle forme autour du noyau une sorte de manchon (Fig. 1 b).

Cette zone déjà observée par CAULLERY et MESNIL (1899) chez S. spionis, parasite de Scolecopsis fuliginosa a fait l'objet d'une étude minutieuse de la part de FOWELL (1936 a, 1936 b) chez Selenidium axiferens, parasite de Polydora. De nombreux examens sur le vivant et en microcinématographie permettent de dire que cette zone existe d'une façon constante chez S. pendula.

Le noyau est situé dans l'axe du trophozoïte à un niveau compris entre le tiers antérieur et la moitié de la longueur. Il est généralement ovoïde de 36 μ de longueur sur 15 μ de largeur. Son grand axe correspond à celui de la Grégarine. Dans le nucléoplasme, clair sur le vivant, on observe un seul caryosome sphérique et sombre de 12 μ de diamètre (Pl. I, fig. a, d, g). La coloration au vert de méthyle acétique, ou au bleu de toluidine fait apparaître une sorte de masse floconneuse dans le nucléoplasme, correspondant à la chromatine (chapitre V).

Chez Selenidium pendula, aucune observation n'a permis d'envisager l'existence d'une schizogonie. Cependant, nous avons noté, contrairement à Brasil (1909), des infections intensives dont l'une avait abouti au rejet d'une pelote de plusieurs millimètres, formée de plus d'un millier de Grégarines. Cette infestation qui est surprenante ne constitue pas pour autant la preuve d'une multiplication schizogonique comme nous le verrons plus loin.

b) La syzygie

La syzygie est caudale (Pl. II). Elle s'effectue entre des conjoints de taille sensiblement identique (environ 160 μ de long sur 35 μ de large).

Elle débute par l'accolement des extrémités postérieures de chaque individu (Fig. 1 a). La zone de contact, relativement petite au départ, constitue toutefois un point d'attache solide (Pl. II, fig. a) : les deux conjoints continuent d'exécuter leurs mouvements pendulaires.

Très vite l'affrontement caudal des conjoints s'amplifie et ceux-ci sont bientôt accolés par toute leur surface postérieure arrondie (Fig. 1 b et c).

La région d'affrontement est alors marquée par un profond sillon (Pl. II, fig. b et c). La polarité régulière toujours caudale, même dans le cas des syzygies anormales à trois individus (Fig. 2 a), suggère soit une attraction par des substances sexuelles, soit l'existence de substances particulières dans la région caudale.

Les transformations nucléaires qui accompagnent la syzygie sont importantes et diffèrent de celles des Eugrégarines.

Dès le début de l'accouplement, on décèle dans les noyaux plusieurs plages circulaires de 3 μ à 5 μ de diamètre (Pl. II, fig. a). Très vite, alors que les mouvements pendulaires des conjoints continuent, on aperçoit dans le noyau primaire (celui du trophozoïte isolé) une vingtaine au moins de globules de 4 μ de diamètre (Fig. 1 d, e, f). Ces globules ou noyaux secondaires, généralement clairs en microscopie à contraste de phase (Pl. II, fig. c et d) baignent dans le nucléoplasme, et correspondent probablement comme semble l'indiquer la suite de la reproduction, aux futurs noyaux gamétiques. Le stade d'évolution nucléaire peut différer d'un conjoint à l'autre, il n'est pas rare de constater au début des transformations un léger décalage dans le nombre et l'importance des noyaux secondaires (Fig. 1 b) mais à la fin de la syzygie le nombre est sensiblement le même (Fig. 1 e et f).

Au bout d'une à deux heures, les mouvements pendulaires perdent leur vigueur. On assiste à un tassement des conjoints dans le sens antéro-postérieur et à un étalement de la région nucléaire (Fig. 1 f; Pl. III, fig. a).

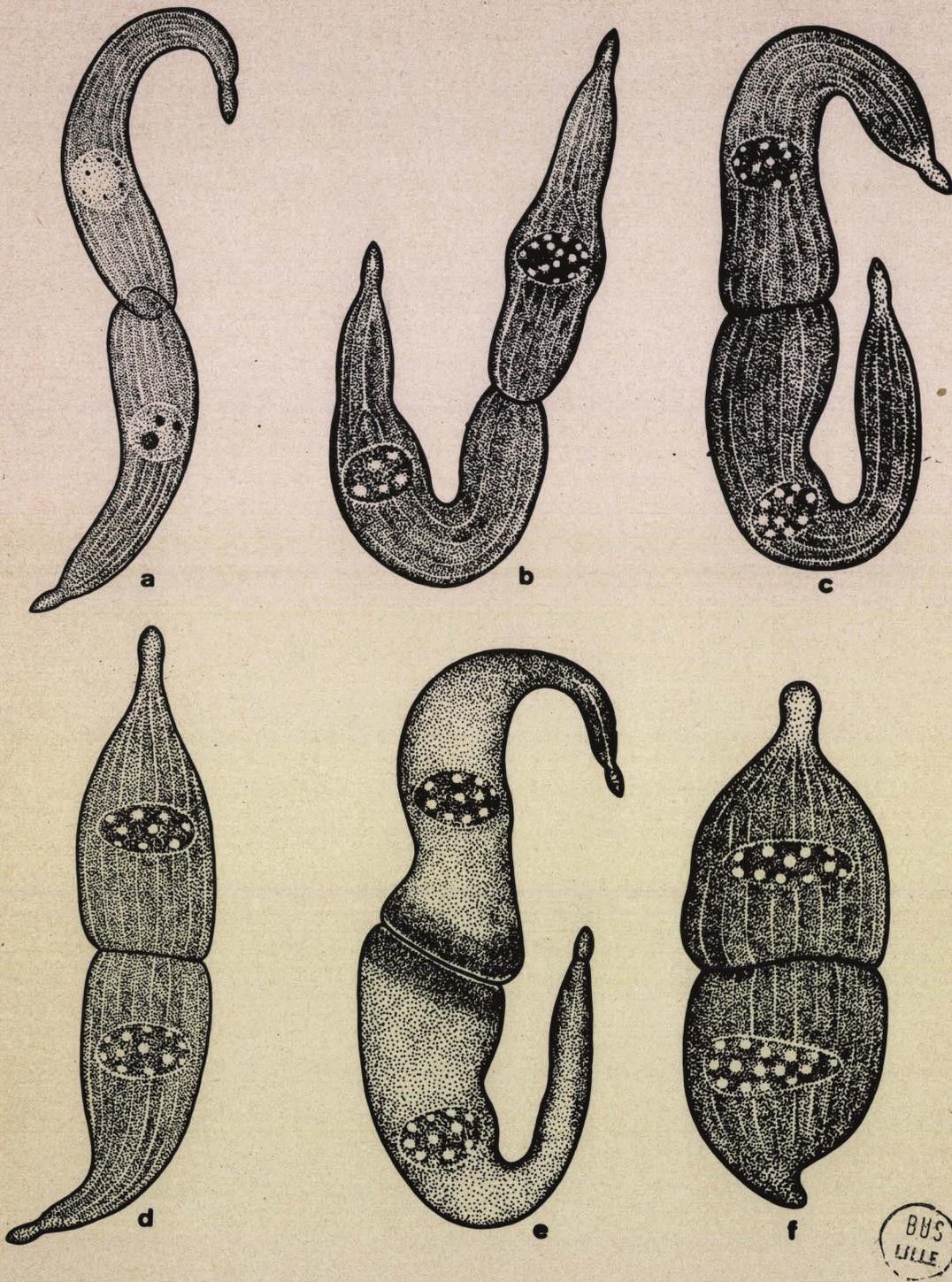


FIGURE 1 - EVOLUTION DE LA SYZYGIE AU COURS DU CYCLE DE SELENIDIUM PENDULA. X 500.

Les mouvements deviennent très lents et seules les régions antérieures montrent encore un léger balancement rythmique. Progressivement les myonèmes, les sillons s'effacent, les mucrons s'estompent et les deux conjoints constituent un kyste ovoïde (Pl. III, fig. a et b).

Cette phase du cycle, correspondant à la formation du gamétokyste ne dure que deux à trois heures.

c) La gamétogenèse

Le gamétokyste est une masse ovoïde où l'on distingue deux gamontes séparés par une ligne blanchâtre, légèrement ondulée en son centre (Pl. III, fig. b). L'évolution précise d'un kyste nous a montré que le gamonte mâle était légèrement plus petit que le gamonte femelle.

Le gamétokyste est entouré par une fine paroi souple et transparente qui ne mesure que 2μ d'épaisseur (Pl. III, fig. b). Elle est intimement appliquée contre les gamontes, toutefois au niveau du plan correspondant à la zone d'accolement des gamontes, il est possible d'observer un espace plus important qui représente déjà le futur copularium.

Dans le cytoplasme, à 1μ environ de la périphérie du gamonte, sont disposés régulièrement les futurs noyaux gamétiques (Fig. 2 b). Au microscope à contraste de phase, ils apparaissent comme de petites sphères claires plus ou moins appariées (Pl. III, fig. b).

Le cytoplasme se découpe par de profonds sillons et les îlots ainsi délimités exercent de puissants mouvements les uns sur les autres. Peu à peu, les gamètes s'individualisent par clivage et traction. Cette individualisation des gamètes à partir du cytoplasme indivis est très rapide : elle se déroule en moins de 50 minutes.

Au cours de l'élaboration des gamètes, le gamétokyste subit une augmentation de taille considérable. La planche III (fig. b et c) montre le même gamétokyste photographié au même grossissement à 45 minutes d'intervalle. Le gamétokyste au cytoplasme indivis mesure 120 à 130μ dans son grand axe sur 80 à 90μ ; lorsque les gamètes sont différenciés, il mesure 190μ de long sur 100μ de large. Cette augmentation de volume montre l'extrême plasticité de la membrane kystique et peut s'expliquer par la puissance des mouvements de clivage et de traction accompagnant la formation des gamètes.

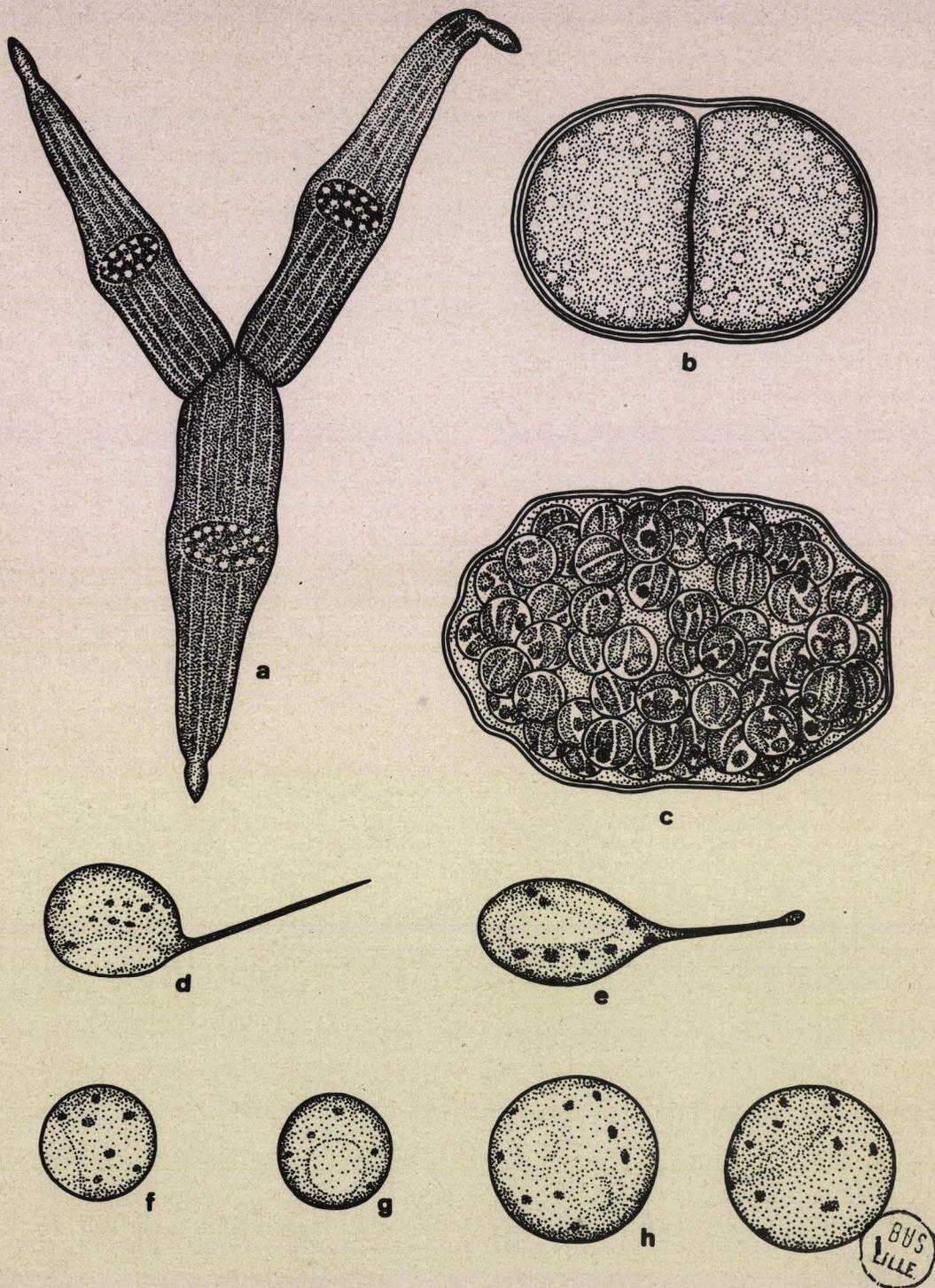


FIGURE 2 - SYZYGIE ANORMALE ET GAMETOGENESE DE SELENIDIUM PENDULA.

a, syzygie à trois individus ; b, gamétokyste ; c, sporokyste ; d et e, gamète mâle ; f et g, gamète femelle ; h et i, zygote.

a, b, c, X 500.

d, e, f, g, h, i, X 2000.

A la fin de la gamétogenèse, l'anisogamie est particulièrement nette. Dans le gamonte mâle, il existe une centaine de gamètes, éléments plus ou moins piriformes de 12 μ environ de long sur 10 μ de large (Fig. 2 d et e). Le gamète mâle est mobile grâce à un long diverticule flagelliforme (Pl. III, fig. d et e). Ce dernier, inséré au sommet d'une partie conique mesure 10 μ de long sur 0,4 μ de large. Il comporte souvent à son extrémité (Pl. III, fig. d) une sorte de dilatation en forme de spatule (1,5 μ de long sur 1 μ de large). Le noyau d'abord situé près de l'insertion du flagelle prend ensuite une position centrale. Le cytoplasme contient de nombreux petits corpuscules. Dans la partie arrondie opposée au flagelle, on peut observer parfois une petite évagination pointue rappelant un rostre.

Le gamonte femelle contient également une centaine de gamètes qui sont des éléments sphériques de 8 μ environ de diamètre (Fig. 2 f et g). Aucun diverticule n'est visible. Le noyau ovoïde ou sphérique de 3,5 μ est souvent excentrique.

L'élaboration rapide des gamètes, accompagnée de puissants sillons de clivage, laisse entrevoir l'intérêt de l'étude de ces transformations aussi bien sur le plan de l'ultrastructure que celui du métabolisme.

d) La danse des gamètes et la fécondation

Très vite, l'intérieur du kyste ou copularium devient le siège d'un bouillonnement intense où l'on distingue parmi les nombreux petits corpuscules animés de mouvements browniens, un brassage des gamètes mâles et femelles. L'observation à travers la paroi kystique transparente ne permet pas de distinguer la présence ou l'absence de flagelle chez les gamètes femelles, ce qui a peut-être amené DIBB (1938) à décrire chez Selenocystis foliata parasite du Scolecopsis fuliginosa une isogamie avec gamètes flagellés.

Lorsqu'on libère les gamètes par éclatement de la paroi kystique, les deux gamètes continuent de bouger sous l'impulsion du flagelle du gamète mâle.

La copula ou zygote est une sphère de 13 μ environ de diamètre où l'on distingue les deux noyaux sphériques (3,6 μ environ) provenant des gamètes (Pl. III, fig. f). L'aspect du cytoplasme est comparable à celui du

gamète femelle.

Après la danse des gamètes, l'agitation des corpuscules du copularium s'arrête. Ces corpuscules représentent probablement des reliquats cytoplasmiques libérés au cours de l'élaboration des gamètes. Leurs mouvements, qui précèdent la danse de gamètes et se terminent peu de temps après, durent environ 3 heures et constituent, comme le montrera l'étude des autres Grégarines, un repère assez fidèle pour préciser l'état d'évolution d'un kyste prélevé au hasard.

e) La sporogénèse

Le zygote s'entoure d'une coque transparente de 1 μ d'épaisseur (Fig. 3 a). Souvent il existe une légère dépression dans la coque (Fig. 3 f). Le sporocyste sphérique mesure 14 à 15 μ de diamètre (Pl. IV, fig. a et b). Dans le cytoplasme on peut voir le noyau allongé de 8,5 μ de long sur 5 μ de large (Fig. 2 i) ou sphérique de 6,5 μ de diamètre qui résulte de la fusion des noyaux des gamètes mâle et femelle.

Il est possible d'observer des sporocystes un peu plus petits n'atteignant que 10 μ avec un noyau sphérique de 4,5 μ .

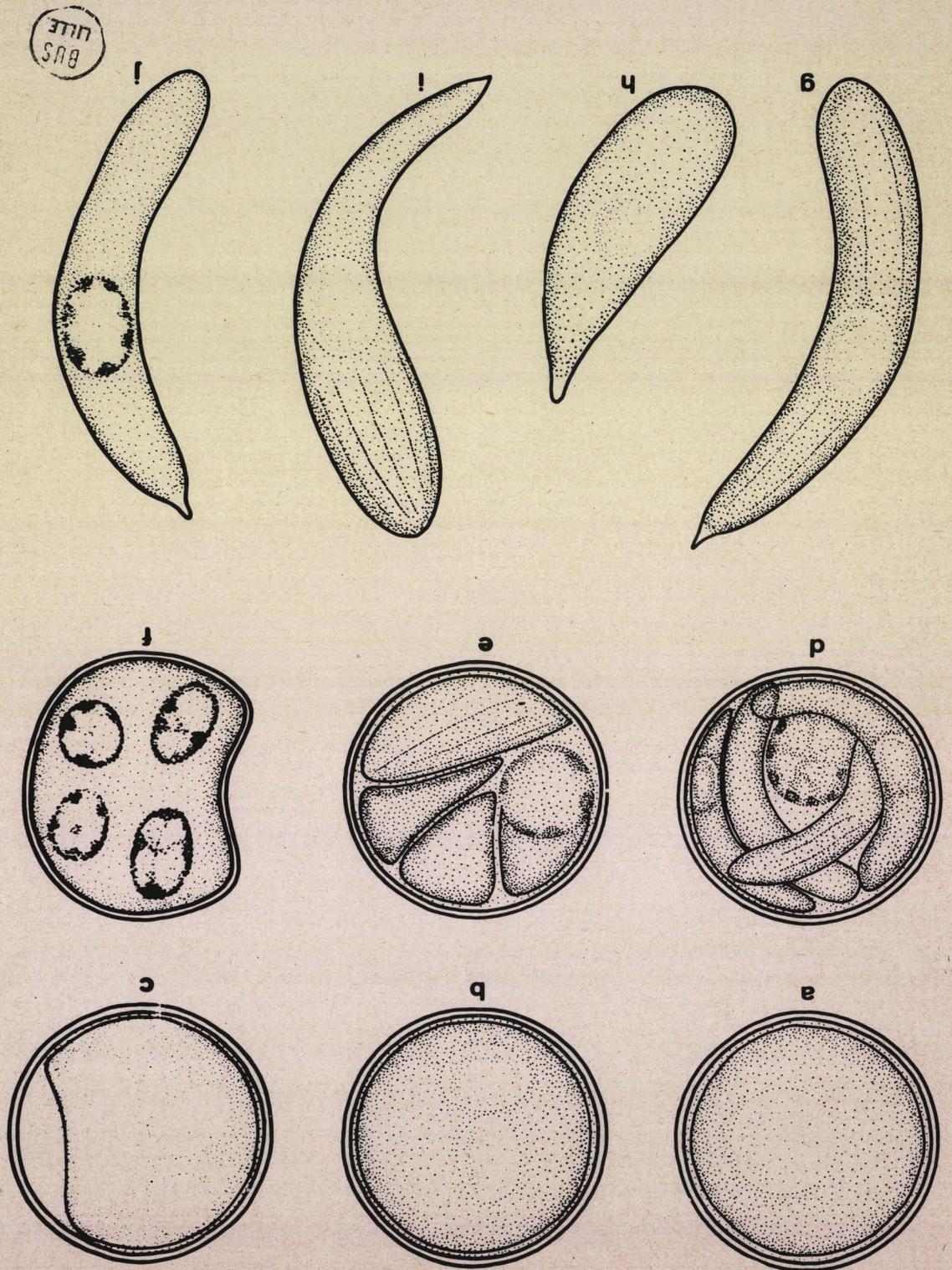
Après une première division on obtient deux noyaux ovoïdes de taille comparable, disposés perpendiculairement (Fig. 3 b). A la suite d'une seconde division, le cytoplasme garni de petits corpuscules mais encore indivis contient quatre noyaux sphériques de 3 μ environ de diamètre (Fig. 3 c). Autour de chaque noyau va s'individualiser un sporozoïte.

Le sporokyste ovoïde contient une centaine de sporocystes (Fig. 2 c). Sa paroi se moule sur la masse des sporocystes (Pl. III, fig. g). Le sporocyste mûr est entouré d'une coque (Pl. IV, fig. b) où il est possible de distinguer une membrane fine, transparente, externe, ou exospore et une membrane interne, souvent d'aspect foncé ou endospore. L'intérieur est occupé par quatre sporozoïtes (Fig. 3 d, e, f) qui entourent un reliquat cytoplasmique sphérique de 4,2 μ de diamètre.

Si on libère les sporozoïtes en comprimant les sporocystes, ils apparaissent comme des éléments arqués de 18 μ de long sur 2 μ de large avec l'extrémité antérieure pointue et l'extrémité postérieure arrondie (Fig. 3 g et h). Le noyau ovoïde, situé dans la région médiane, mesure 3 μ sur 2 μ .

De a à f, sporocyste ; de g à j, sporozote. X 2300.

FIGURE 3 - SPOROGENESE DE SELENIDIUM PENDULA.



Après coloration au vert de méthyle, on observe des amas verts appliqués contre la paroi nucléaire, tandis que le reste du nucléoplasme est à peine coloré. Avec le glychémalum de Meyer, on observe une disposition comparable (Fig. 3 j). Il est donc logique de penser comme on le démontrera chez les schizozoïtes de Selenidium hollandei Vivier et Schrevel, parasite de Sabellaria alveolata qu'il s'agit de chromatine (chapitre V). Le cytoplasme contient de nombreux granules (Fig. 3 h) et présente des stries souvent au nombre de 3 ou 4 atteignant parfois 6 à 7 (Fig. 3 i). Ces stries sensiblement parallèles, visibles surtout dans la région postérieure sont dirigées selon le grand axe du sporozoïte. Elles correspondent peut-être aux premières ébauches des sillons ou des bombements longitudinaux. La région antérieure est une plage homogène terminée par une petite pointe relativement sombre en microscopie à contraste de phase. On peut noter des sporozoïtes beaucoup plus trapus, de 12 μ de long sur 6 μ de large, à noyau sphérique contenant parfois un nucléole très clair de 1,5 μ de diamètre. Proviennent-ils de sporocystes plus petits ou existe-t-il deux types de sporozoïtes en rapport avec la sexualité des futurs trophozoïtes ?

La contamination des Nerines se fait sans doute par absorption de sporocystes ou de sporocystes avec les aliments. Ce point sera repris dans le chapitre XII.

2 - Discussion

L'observation sur le vivant nous a permis de décrire l'évolution de la syzygie, le dimorphisme des gamètes, la description des sporocystes, phases généralement mal précisées dans les études antérieures. Le cycle de l'espèce type Selenidium pendula est ainsi le premier où tous les stades de reproduction sexuée sont décrits.

Les trophozoïtes sont caractérisés par leurs mouvements dits pendulaires qui contrastent avec ceux soit péristaltiques, soit de translation ou de glissement des autres Grégarines. La région antérieure en forme de bouton, avec d'importantes vacuoles et la zone axiale claire définissent une polarité antéro-postérieure du trophozoïte. En se référant à la description de grandes vacuoles digestives chez S. hollandei (SCHREVEL 1968 a), il est

logique de penser que la région antérieure de S. pendula est également spécialisée dans la nutrition.

La syzygie caudale confirme cette polarité : les extrémités postérieures s'attachent par une surface de plus en plus large tandis qu'un tassement antéro-postérieur des sporadins aboutit à la formation d'un gamétokyste ovale. Pendant cette phase et avant même l'apparition de la paroi kystique, le noyau de chaque sporadin montre une transformation comparable à celle décrite chez le Selenidium de Spio martinensis par CAULLERY et MESNIL (1900 a). A la place du noyau primaire, apparaissent plusieurs dizaines de sphérules blanchâtres qui migreront ensuite à la périphérie du gamétokyste. Elles représentent les futurs noyaux gamétiques. Notons que ces transformations affectent les deux sporadins; elles correspondent à une réaction de type sexuel comme le confirment les syzygies à trois individus où chaque noyau subit cette transformation. Ce résultat rappelle les phénomènes d'autogamie qui apparaissent chez le troisième individu surnuméraire de certaines conjugaisons de P. caudatum (VIVIER 1960).

Par ailleurs, ces transformations nucléaires représentent pour nous un caractère important du genre Selenidium. Comme nous le verrons plus loin, les premières multiplications chez les autres Grégarines intestinales ou coelomiques des Annélides Polychètes et d'une façon très générale chez les Eugrégarines, n'apparaissent qu'après l'enkystement (quand la paroi kystique est déjà secrétée). De plus les noyaux gamétiques ne sont jamais concentrés au niveau du noyau primaire, mais se répartissent régulièrement dans tout le gamonte.

La paroi kystique est mince, 2 μ environ. L'augmentation de taille du gamétokyste au cours de l'élaboration des gamètes montre par ailleurs sa souplesse.

La gamétogenèse dure environ une heure. Ce temps est court si nous le comparons à celui de la gamétogenèse des Lecudinidae où il est, comme nous le verrons plus loin, de vingt quatre heures environ. Les gamètes, au nombre d'une centaine, présentent un dimorphisme net contrairement aux descriptions de MACKINNON et RAY (1933), FEED (1933), DIBB (1938). Le gamète mâle piriforme présente un prolongement flagelliforme, le gamète femelle en est dépourvu.

Les spores sphériques contiennent quatre sporozoïtes. Ce résultat est important car S. pendula correspond à l'espèce type. Le genre Selenidium aurait donc quatre sporozoïtes par spore comme l'ont signalé dès 1899 CAULIERY et MESNIL. Les spores à huit sporozoïtes (RAY 1930, MACKINNON et RAY 1933, DIBB 1938) risquent de constituer des cas particuliers. La poursuite de notre étude viendra préciser ce problème.

B - Selenidiidae parasites des Spionidae

Pour des raisons de clarté et surtout d'affinités comme nous le verrons plus loin, il nous semble raisonnable d'examiner les Selenidiidae par famille. d'Annélides Polychètes.

Nerine cirratulus héberge l'espèce type Selenidium pendula. Nous continuerons donc notre étude des Selenidiidae chez les Spionidae. Parmi ces Annélides très parasitées, nous avons examiné plus particulièrement les genres Polydora et Scoelepis.

En décrivant Selenidium axiferens chez Polydora flava Claparède, FOWELL (1936 b) attire l'attention sur l'existence d'un "tube" clair médian.

Les Scoelepis fuliginosa Claparède contiennent au moins cinq parasites intestinaux : trois Grégarines Selenidium spionis (Koll) Ray 1930, Selenocystis foliata (Ray) Dibb 1938, Polyrhabdina spionis Mingazzini 1891, une Coccidie Dorisiella scolelepidis Ray 1933, un Cilié astome Rhizocaryum scolelepidis De Puytorac et Schrevel 1965.

Notons que la Grégarine, Selenocystis foliata avait été décrite primitivement par RAY (1930) sous le nom de Selenidium foliatum. La création du genre Selenocystis Dibb 1938, ne semble pas avoir rallié tous les avis (MACKINNON et HAWES 1961).

1 - Selenidium axiferens Fowell, parasite de Polydora sp.

Nous avons retrouvé cette Grégarine (Pl. IV, fig. c) chez un Polydora du Boulonnais. Le trophozoïte allongé atteignant plus de 220 μ sur 30 μ de large est parcouru dans son axe et sur toute sa longueur par une zone blanchâtre qui englobe la région nucléaire et constitue une sorte de manchon.

Dans la région antérieure, elle semble pénétrer dans la base du mucron. Ce dernier est un mamelon légèrement déprimé à son apex, contenant un cytoplasme homogène dépourvu de granules.

L'endoplasme présente l'aspect granuleux classique. Cependant, la zone centrale claire communique avec de nombreuses et fines ramifications perpendiculaires qui découpent le cytoplasme et lui donnent un aspect strié. En surface, on aperçoit les bombements longitudinaux.

2 - Selenidiidae parasites de *Scolecopsis fuliginosa* Claparède

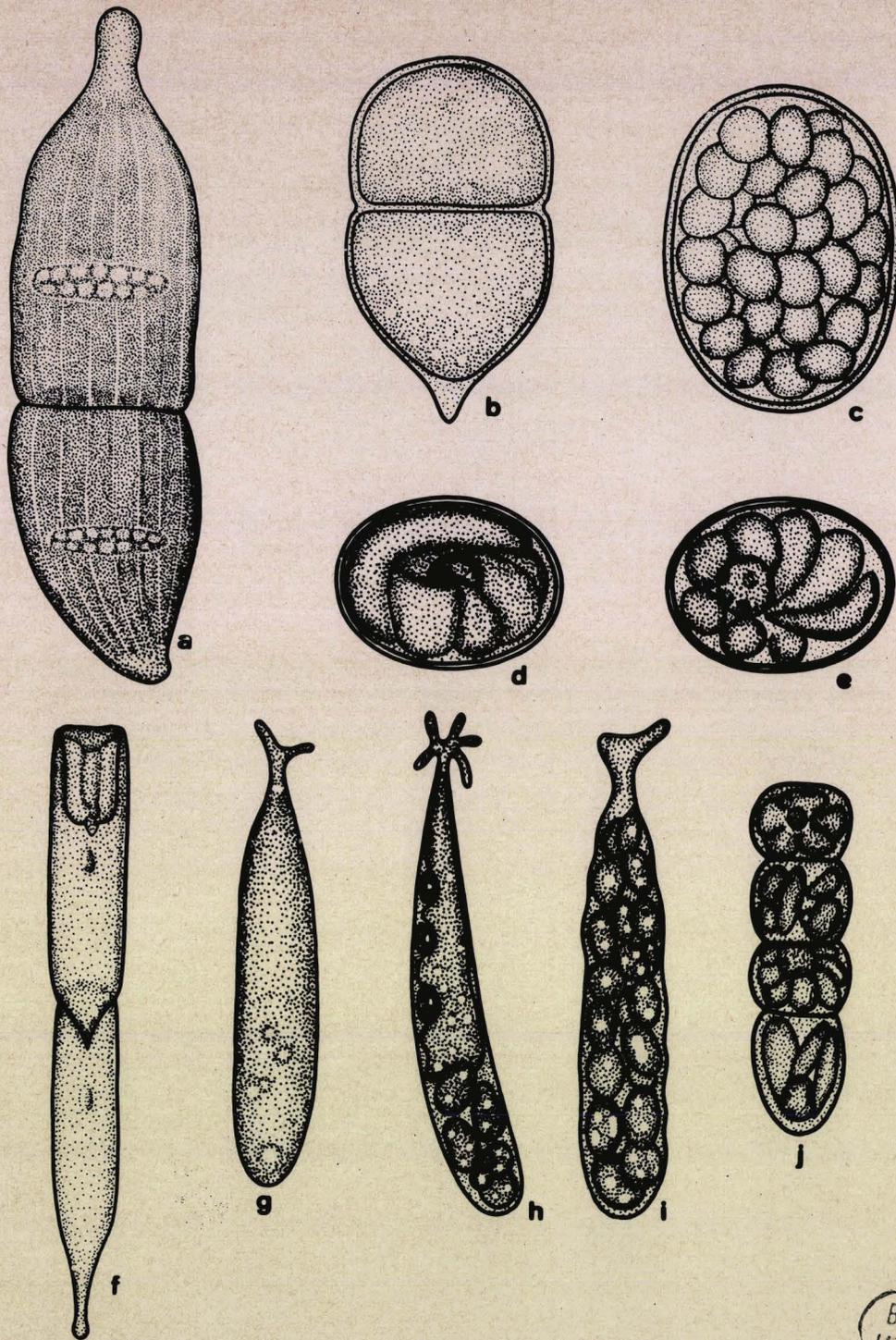
Les *Scolecopsis fuliginosa* de Cherbourg et de Roscoff sont régulièrement parasités par *Selenidium spionis* et par *Selenocystis foliata*.

a) *Selenidium spionis* (Kolliker) Ray

RAY(1930) a décrit les principaux stades du cycle mais l'illustration qu'il donne de la reproduction sexuée n'est pas abondante, de plus le schéma de la spore sur le vivant n'est pas précis. Comme *S. spionis* est fréquemment repris pour l'illustration de la reproduction sexuée des Selenidiidae (voir GRASSE 1953), il nous a paru nécessaire de représenter les principaux stades.

Ce *Selenidium* est surtout localisé dans l'intestin moyen. Allongé, il atteint 250 μ de long sur 30 μ de large. Sa région corticale parcourue par une vingtaine de bandes longitudinales et par une fine striation transversale a un aspect quadrillé particulièrement visible. Dans son axe existe une bande qui constitue une sorte de crochet au niveau du mucron. Le noyau présente en coupe une surface ovale ou en forme de losange dont le grand axe correspond à celui du trophozoïte. Il contient un caryosome sphérique disposé au sommet du noyau. Les mouvements pendulaires sont actifs et comparables à ceux de *S. pendula*.

La syzygie caudale (Fig. 4 a) présente les transformations nucléaires décrites chez *S. pendula*. Les mucrons s'estompent (Fig. 4 b) et l'on aboutit à un gamétokyste ovoïde (74 μ x 40 μ) entouré d'une fine paroi transparente de 2 μ . Le sporokyste (Fig. 4 c) contient de nombreux sporocystes sphériques (12 μ de diamètre) ou ovoïdes (16 μ x 14 μ). La coque de la spore est



BUS
LILLE

FIGURE 4 - SELENIDIIDAE PARASITES DE SCOLELEPIS FULIGINOSA.

Selenidium spionis : a, syzygie X 750 ; b, gamétokyste X 750 ; c, sporokyste X 750 ; d et e, sporocyste X 2300.

Solenocystis foliata : f, syzygie X 750 ; g et h, gamétokyste X 750 ; i, sporokyste X 750 ; sporocyste X 2300.

transparente comme chez S. pendula et montre une couche externe claire : l'exospore et une couche sombre : l'endospore. Les quatre sporozoïtes entourent le reliquat cytoplasmique (Fig. 4 d et e).

b) Selenocystis foliata (Ray) Dibb

Cette Grégarine localisée surtout dans l'intestin postérieur présente un certain nombre de particularités qui pose le problème de son appartenance au genre Selenidium. Les travaux histologiques de DIBB (1938) permettent de créer pour cette Grégarine un genre nouveau Selenocystis.

Notre étude sur le vivant nous a permis de préciser différents stades.

La Grégarine se distingue de S. spionis par son aplatissement extrême qui lui confère l'aspect de feuille d'où le nom de foliata ou foliatum attribué pour sa détermination spécifique. Elle atteint 100 μ environ de longueur sur 25 μ de largeur. La présence de bombements longitudinaux est difficile à établir : souvent il n'est pas possible de les observer. Dans l'axe des trophozoïtes et surtout au niveau de la région antérieure, on observe une bande sombre de 4 à 5 μ de large qui s'enfonce jusqu'à l'extrémité du mucron. Cette bande rectiligne, d'épaisseur régulière sauf à la base du mucron, où elle s'étrangle, a été considérée comme un myonème par CAULLERY et MESNIL (1901). Ces auteurs parlaient du Selenidium aplati à un seul myonème.

Quand la Grégarine exécute des mouvements, ces derniers affectent surtout l'extrémité antérieure qui pivote de chaque côté de l'axe du trophozoïte. A ce moment-là, on peut observer l'aspect en T de la section du trophozoïte.

Le noyau ovoïde semble petit pour la taille du trophozoïte car il n'atteint que 8 μ de long sur 5 μ de large. Son axe est disposé suivant celui du trophozoïte. Les trophozoïtes présentent par rapport au S. spionis certains caractères particuliers : difficulté d'observation des bombements longitudinaux, petite taille du noyau, section en T, existence non constante de mouvements qui restent surtout localisés à la région antérieure.

La syzygie de Selenocystis foliata est particulière. Elle est caudale (Pl. IV, fig. d) mais l'un des sporadins est immobile. Les deux régions

postérieures arrondies sont accolées ; elles s'affrontent sur un plan oblique. L'individu mobile est fréquemment plus grand : 70 à 100 μ de long sur 20 à 23 μ de large pour le sporadin mobile, 60 à 70 μ de long sur 12 à 18 μ de large pour l'autre.

Le conjoint mobile présente des bombements longitudinaux visibles près de la zone d'accolement. La région antérieure qui pivote régulièrement montre la structure en T (Fig. 4 f) et entraîne l'individu immobile. Ce dernier, rigide, est dépourvu de bombements longitudinaux.

Les noyaux de taille comparable à celui du trophozoïte montrent au début de la syzygie et après coloration au vert de méthyle acétique, des granules sphériques, foncés de 0,9 μ de diamètre, entourés d'une plage claire.

D'après DIBB (1938) la syzygie s'effectuerait dans la lumière intestinale; le sporadin immobile resterait fixé à l'épithélium intestinal. Nos coupes histologiques semblent confirmer cette observation.

L'évolution de la syzygie est difficile à obtenir ; le résultat semble être un gamétokyste allongé de 70 μ de long environ sur 15 μ de large possédant une extrémité bifide (Fig. 4 g et i) ou multifide (Fig. 4 h). Cette extrémité correspond sans doute à l'organe de fixation du gamétokyste comme semblent en témoigner les amas qui s'y adhèrent.

Dans le tiers postérieur, on peut noter une zone de séparation à la limite des deux gamontes (Fig. 4 g). Le cytoplasme, au départ indivis, contient quelques noyaux de 4,5 μ de diamètre.

Le nombre de ces derniers augmente et la masse cytoplasmique se divise en des éléments uninucléés de 7,2 μ de long et des éléments binucléés de 12 μ de long sur 10 μ de large (Fig. 4 h).

Au début de la sporogénèse, le kyste présente une trentaine de sporocystes, éléments ovales de 12 μ environ de long sur 10 μ de large, contenus dans une sorte de sac limité par une enveloppe transparente fine, épousant la forme des spores (Fig. 4 i). Chaque sporocyste contient à ce stade un, deux ou quatre noyaux.

Au terme de la sporogénèse, on aboutit à un sporokyste renfermant

une trentaine de sporocystes ovoïdes de 12μ de long sur 8 à 9μ de large (Pl. IV, fig. e et f). Le sporocyste mûr contient un reliquat sphérique de $4,5 \mu$ à 5μ de diamètre et des sporozoïtes dont le nombre, sans doute voisin de quatre, n'a pu être défini avec exactitude (Fig. 4 j).

Les sporocystes possèdent toujours une extrémité garnie d'une formation bifide (Pl. IV, fig. f).

3 - Discussion

Les Selenidiidae des Polydora et des Scolecopsis fuliginosa sont très intéressantes car elles confirment les observations faites chez S. pendula tout en montrant la complexité de leur systématique.

L'existence de la zone axiale claire est d'une netteté remarquable chez S. axiferens (FOWELL 1936 a et b). Son observation chez S. spionis et celle plus délicate chez Selenidium pendula montrent qu'il s'agit pour ces Grégarines, d'une différenciation réelle et constante.

Le cycle de S. spionis est analogue à celui de S. pendula, par contre celui de Selenocystis foliata nécessite un certain nombre de remarques. La syzygie, où l'un des individus est immobile, nous amène à nous demander si l'immobilité est liée au sexe. Dans l'affirmative, elle constituerait un moyen commode pour la détermination sexuelle.

L'enkystement probable de Selenocystis dans l'intestin du Scolecopsis et la présence d'un système rappelant un organe de fixation constituent des particularités par rapport au genre Selenidium.

Comme nous n'avons pas observé l'évolution nucléaire pendant la syzygie, il nous paraît nécessaire, compte tenu des autres particularités, de considérer ces Grégarines comme différentes du genre Selenidium et de préférer le nom de Selenocystis foliata (Ray) Dibb 1938 à celui de Selenidium foliatum Ray 1930.

C - Selenidiidae parasites de Sabellaria alveolata L.

Les Sabellaria alveolata de l'Ile Rouge à St Efflam (à proximité du laboratoire de Biologie marine de Roscoff) hébergent dans leur intestin, deux Grégarines. La première S. sabellariae n. sp. est localisée essentiellement dans la région abdominale ou post-abdominale, l'autre S. hollandei Viv. Schr. 1966 est abondante dans la petite partie caudale achète qui prolonge le postabdomen. Les Hermelles constituent un matériel de choix pour l'étude des Selenidiidae car leur récolte importante et leur conservation en circuit fermé au laboratoire sont particulièrement faciles.

1 - Cycle de Selenidium sabellariae n. sp.

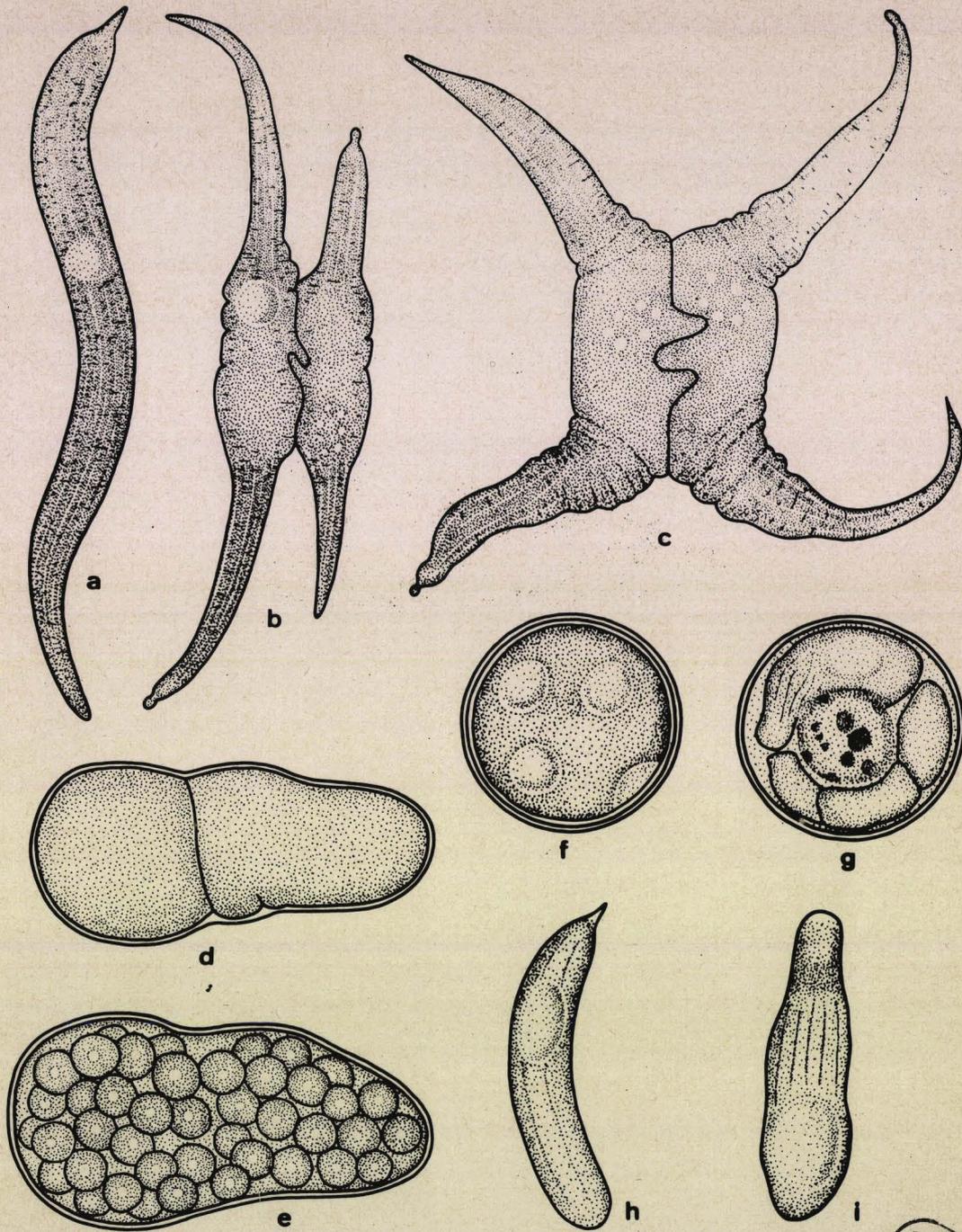
a) Le trophozoïte

C'est une grande Grégarine de 220 μ de long sur 16 μ de large en moyenne mais pouvant atteindre 450 à 500 μ de longueur sur 25 μ de largeur (Fig. 5 a). Elle se fixe par sa région antérieure à cytoplasme peu dense, différenciée en mucron. Il est possible d'observer de temps en temps une sorte d'épinq (Pl. V, fig. d) et une ou des vacuoles claires atteignant 2 à 4 μ . L'extrémité caudale est pointue. Le noyau situé dans la région médiane apparaît en microscopie à contraste de phase comme une masse ovoïde claire de 16 μ sur 13 μ , renfermant un caryosome unique, sphérique de 4,5 μ de diamètre (Pl. V, fig. b et f).

L'endoplasme fortement granuleux montre une striation transversale très nette (Pl. V, fig. f et g). L'observation des bombements correspondants aux zones fibrillaires sous cuticulaires ne se fait facilement qu'après une légère compression. Les trophozoïtes présentent des mouvements d'enroulement et de déroulement (Pl. V, fig. a, b et c) très actifs et d'une puissance surprenante pour des Grégarines.

b) La syzygie

Les Selenidium examinés précédemment avaient une syzygie caudale. Chez S. sabellariae la syzygie est latérale (Pl. VI, fig. a). L'accolement se fait entre des individus soit de même taille (Fig. 5 c) (par exemple



BUS
LILLE

FIGURE 5 - SELENIDIUM SABELLARIAE

a, trophozoïte ; b et c, syzygie ; d, gamétokyste ; e, sporokyste ; f et g, sporocyste ;
h et i, sporozoïte.

a à e X 380.

f à i X 2300.

de 170 μ) soit de taille différente (Fig. 5 b). Dans ce dernier cas, le dimorphisme peut être important : 250 μ pour le plus grand conjoint, 160 μ pour l'autre.

Dans la zone de soudure, large de 40 à 50 μ , les deux conjoints émettent une ou deux évaginations (Fig. 5 b et c). Elles doivent accroître l'adhérence ou renforcer l'accolément car les extrémités libres continuent de battre puissamment. La disposition des conjoints est difficile à saisir sur le vivant ; après fixation, on constate qu'elle est en position tête-bêche.

Puis on observe un tassement partant des extrémités libres vers la zone d'accolément, entraînant un élargissement du couple (Pl. VI, fig. b). Les noyaux subissent une transformation analogue à ceux de S. pendula ou S. spionis (Fig. 5 b et c). Les noyaux sont situés à proximité de la zone de soudure, près des évaginations. L'évolution peut également présenter un léger décalage entre les conjoints.

Par la suite les mouvements des extrémités libres se ralentissent tandis que s'arrondissent progressivement les conjoints pour former un gamétokyste (Pl. VI, fig. c).

La syzygie latérale à disposition tête-bêche de S. sabellariae diffère de celle caudale rencontrée chez l'espèce type S. pendula ; toutefois les transformations nucléaires sont identiques. Il ne nous semble donc pas nécessaire d'accorder à la position des conjoints une valeur importante susceptible de mettre en cause la dénomination générique de la Grégarine.

c) La gamétogenèse

Le gamétokyste (70 à 100 μ de long sur 50 à 60 μ de large) (Fig. 5 d) est ovoïde. Les deux gamontes s'affrontent dans le plan équatorial, par une surface centrale ondulée, encadrée de zones d'appui latérales, planes (Pl. VI, fig. d). On retrouve ainsi la disposition des surfaces d'accollement de la syzygie.

A la périphérie, apparaît une très fine coque transparente.

Les noyaux gamétiques, sphériques de 3,6 μ à 4 μ de diamètre et d'aspect clair, d'abord amassés dans la région centrale de chaque gamonte à l'endroit de l'ancien noyau primaire (Pl. VI, fig. e), sont par la suite répartis à la périphérie du gamétokyste.

Comme chez S. pendula, l'élaboration des gamètes est très rapide : en une heure, on passe du stade du gamétokyste à noyaux gamétiques et cytoplasme indivis, au stade où les gamètes mâles et femelles sont formés. Les gamètes sont encore immobiles quand débutent les mouvements browniens des petits corpuscules inférieurs à 1 μ , libérés au cours de la gamétogenèse.

d) La danse des gamètes

Une quinzaine de minutes après l'individualisation des gamètes, les premiers gamètes mâles deviennent actifs et s'insinuent entre les gamètes femelles.

Puis très vite, se déclenche la danse des gamètes comparable à celle de S. pendula. Le dimorphisme des gamètes est très net. Les gamètes mâles piriformes mesurent 12 μ de long sur 7 μ de large, et sont mobiles grâce à un prolongement flagelliforme de 12 μ . Le noyau de 2,5 μ est situé dans le cône proche du flagelle. Les gamètes femelles sphériques mesurent environ 9 μ de diamètre et contiennent un noyau légèrement excentrique, clair, de 3 μ de diamètre.

La fusion des gamètes aboutit à la formation d'une copula mesurant 16 μ environ de long sur 10 à 11 μ de large. Les mouvements browniens des corpuscules continuent quelques temps après la formation des zygotes. Ces derniers s'arrondissent et on obtient un jeune sporocyste.

e) La sporogenèse

Alors que la formation et la danse des gamètes ne durent que quelques heures : trois à quatre heures au maximum pour les deux phases, la sporogenèse se fait plus lentement et l'obtention de sporocystes demande deux à trois jours.

Le sporokyste de S. sabellariae, ovoïde, atteint 110 μ de long sur 60 à 70 μ de large (Fig. 5 e). Il contient au moins une soixantaine de sporocystes. Il est limité par une fine paroi kystique transparente, de 2 μ d'épaisseur qui épouse le contour des sporocystes (Pl. VI, fig. f). Le jeune sporocyste est une masse subsphérique de 15 à 16 μ de diamètre environ, toutefois il est possible d'en observer de plus petites (12 μ) dans le même

sporokyste. Cette différence de taille a déjà été signalée au cours de l'étude de Selenidium pendula. A l'intérieur du jeune sporocyste on observe soit un noyau sphérique (4,5 à 5 μ de diamètre) occupant une position centrale soit un noyau lenticulaire ayant une position excentrique (Pl. VI, fig. g). Ce dernier aspect rappelle le noyau de fécondation observé chez diverses Coccidies (E. VIVIER et E. HENNERE 1963; E. PORCHET HENNERE 1969).

Vingt quatre heures environ après la danse des gamètes, les sporocystes (Pl. VI, fig. h) contiennent quatre noyaux sphériques (de 3,6 μ de diamètre) ou ovoïdes disposés à la périphérie et souvent dans deux plans différents ce qui ne permet pas l'observation des quatre noyaux en même temps et donne des formes plus ou moins elliptiques ou en croissant, à ces derniers (Fig. 5 f). Le cytoplasme indivis présente un aspect granuleux.

Les sporocystes, de 12 μ à 16 μ de diamètre, sont limités par une coque transparente et fine de 1 μ d'épaisseur. La coloration au vert de méthyle acétique permet de distinguer d'une façon plus précise deux couches d'épaisseur comparables de 0,5 μ environ : l'externe transparente et non colorée correspond à l'exospore, l'interne foncée à l'endospore (Pl. VI, fig. i).

A l'intérieur du sporocyste mûr nous trouvons quatre sporozoïtes (Fig. 5 g). Ils entourent un reliquat cytoplasmique sphérique de 5 μ de diamètre disposé au centre de la spore.

Les sporozoïtes libérés de la spore, sont des éléments souvent arqués de 12 à 13 μ de longueur sur 3 à 3,5 μ de large (Fig. 5 h). Ils présentent une extrémité antérieure, généralement pointue, à cytoplasme clair. Sous cette plage claire, le cytoplasme est granuleux avec de place en place, en particulier près du noyau, quelques globules plus importants. A la surface du sporozoïte, plusieurs bandes plus foncées s'étendent parallèlement à l'axe, sur toute la longueur, excepté au niveau de la plage claire antérieure (Fig. 5 i).

Le noyau est une masse claire ovoïde de 4 μ x 3 à 3,5 μ qui occupe une position médiane ou postérieure. Son axe est disposé selon celui du sporozoïte. Il possède des mouvements de flexion comparables à ceux des Coccidies (E. PORCHET 1969), Toxoplasmes et Sarcosporidies (SENAUD 1967).

2 - Cycle de Selenidium hollandei Vivier Schrevel 1966

Cette Grégarine est localisée essentiellement dans l'intestin de l'extrémité caudale achète repliée le long du post-abdomen de Sabellaria alveolata.

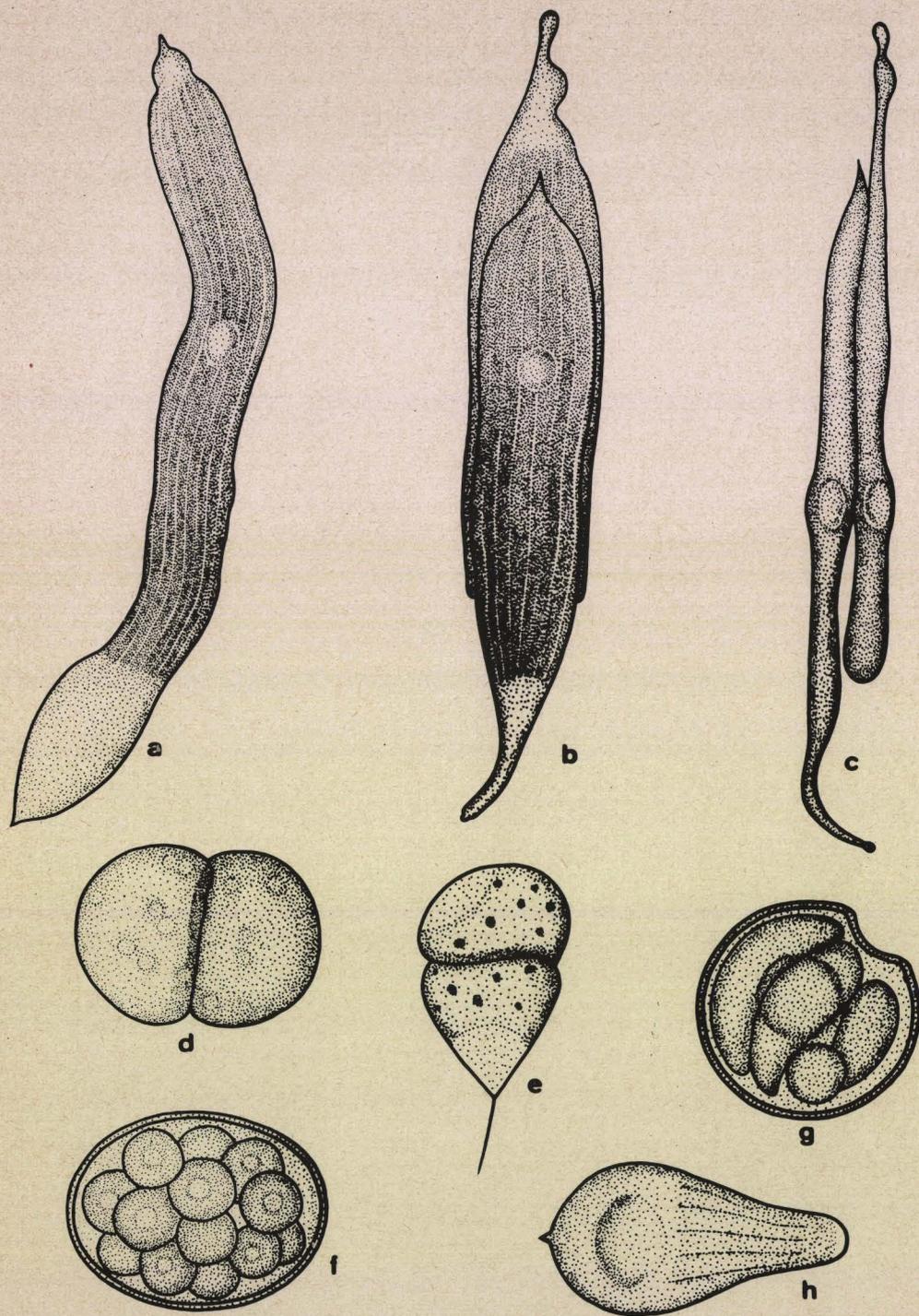
La section en un ou plusieurs fragments de l'extrémité caudale montre, à la loupe binoculaire, un amas de fins filaments qui se tortillent tout en restant fixés à la paroi intestinale.

a) Le trophozoïte

Le trophozoïte (400 à 500 μ x 20 μ environ) est aplati et donne l'aspect d'un long ruban (Fig. 6 a). Au microscope à contraste de phase, on distingue sur chaque face huit bandes longitudinales parallèles ayant 2 à 2,5 μ de large et séparées par des stries blanches (Pl. VII, fig. a, b et c). Comme la microscopie électronique l'a prouvé (VIVIER, SCHREVEL 1964) ces bandes correspondent à des champs de fibrilles longitudinales et sont souvent considérées comme des "myonèmes". Ces "myonèmes" ne sont généralement pas visibles ou peu marqués dans l'extrémité caudale (Fig. 6 a).

L'extrémité antérieure, à cytoplasme clair présente la forme d'un coeur. Elle repose sur une zone à cytoplasme finement granulaire où les bandes ne sont pas visibles, ce qui n'exclut pourtant pas la présence de fibres tubulaires sous cuticulaires comme le montre l'étude ultrastructurale (Ch. VI).

Le noyau est une masse claire généralement ovoïde (16 μ x 6 à 8 μ) située au tiers antérieur. Il possède une grande plasticité. Le même noyau peut présenter une forme ovoïde et quelques instants après une forme sphérique selon le passage des ondes de ^{metabolie} (Pl. VII, fig. a et b). Il devient évident que la forme du noyau ne constitue pas un critère important. Le noyau contient un ou deux caryosomes sphériques sombres (Pl. VII, fig. d) dont la position est variable. La fréquence de deux caryosomes, ^{établie à} trois périodes de l'année (Novembre 1966, Janvier 1967, Avril 1967) se situe autour de 30 %. La taille du caryosome unique est d'environ 2 à 2,5 μ ; quand il y a deux caryosomes par noyau, ces derniers mesurent entre 1,5 et 2 μ .



BUS
LILLE

FIGURE 6 - SELENIDIUM HOLLANDEI.

a, trophozoïte ; b et c, syzygie ; d, gamétokyste ; e, fécondation ; f, sporokyste ;
g, sporocyste ; h, sporozoïte.
a à f X 750.
e, g, h, X 2300.

b) La syzygie

La syzygie peut être qualifiée de caudale (Pl. VII, fig. e et f), toutefois la surface d'accolement est variable. En effet, si le cas le plus fréquent est celui où les deux régions caudales sont associées, il existe des cas où la zone d'accolement s'étend sur les $\frac{3}{4}$ de la longueur de chaque sporadin (Fig. 6 b). La zone de soudure commence au niveau des noyaux et les extrémités postérieures peuvent être libres dans certains cas et animés de battements de faible amplitude (Fig. 6 c). Les extrémités antérieures sont libres et battent régulièrement. L'accouplement correspond alors à une syzygie latérale à disposition tête-bêche. Ces résultats soulignent l'intérêt secondaire qu'il faut accorder à la position des sporadins au cours de la syzygie.

c) La gamétogenèse

Les transformations nucléaires que l'on a observées au cours de la syzygie de S. pendula, S. spionis, S. sabellariae n'ont pu être vérifiées, mais rien ne permet de penser qu'elles soient différentes. En effet, les sporadins se tassent et le gamétokyste obtenu est une masse ovoïde de 40 à 60 μ de long sur 30 à 35 μ de large (Pl. VIII, fig. a). On distingue dans chaque gamonte (Fig. 6 d) une à deux dizaines de noyaux sphériques de 3,6 μ de diamètre, disposés à la périphérie du gamonte comme dans les cas cités ci-dessus.

Le gamétokyste possède également une fine paroi kystique transparente de 2 μ environ. L'élaboration des gamètes est rapide. Depuis le stade du gamétokyste indivis jusqu'à la formation des zygotes immobiles il s'écoule environ 3 à 4 heures.

Au cours de l'élaboration des gamètes, ses dimensions s'accroissent. Nous avons suivi la transformation du même gamétokyste en sporokyste : le gamétokyste ovoïde avec un léger étranglement équatorial au niveau de la séparation ^{des gamontes} mesurait 39 μ de long sur 33 μ de large, après la fécondation le même kyste que l'on peut appeler alors sporokyste était devenu régulièrement ovoïde et mesurait 45 μ x 40 μ .

Le gamétokyste de S. hollandei se distingue donc de celui de S. sabellariae par sa plus petite taille. Chaque gamonte ne produit qu'une à deux dizaines de gamètes.

d) La danse des gamètes et la fécondation

La danse des gamètes est comparable aux cas précédents. L'anisogamie est nette.

Le gamète mâle piriforme ($11 \mu \times 8 \mu$) présente un long flagellé inséré dans le prolongement de l'extrémité conique postérieure (Fig. 6 e), le gamète femelle sphérique (8 à 9 μ de diamètre) en est dépourvu (Pl. VIII, Fig. b).

Le gamète mâle fusionne avec le gamète femelle par son extrémité antérieure (Fig. 6 e).

e) La sporogénèse

Le sporokyste ne contient qu'une vingtaine de sporocystes (Fig. 6 f). Le jeune sporocyste subsphérique de 12 μ à 14 μ de diamètre est limité par une fine coque de 1 μ d'épaisseur (Pl. VIII, Fig. c). Il contient un gros noyau sphérique de 4,5 à 5 μ de diamètre.

Vers le troisième ou quatrième jour après la fécondation on obtient des sporocystes mûrs à quatre sporozoïtes disposés autour d'un reliquat cytoplasmique sphérique de 5 μ de diamètre (Fig. 6 g). Souvent on peut noter la présence d'une légère dépression de 2 μ environ de profondeur dans la spore. Les sporozoïtes piriformes ($12 \mu \times 4$ à 5 μ) présentent un aspect comparable (Fig. 6 h) à ceux de S. pendula.

3 - Discussion des Selenidiidae de Sabellaria alveolata

La détermination générique doit être envisagée pour S. sabellariae. L'existence d'une syzygie en forme d'X pose en effet le problème de l'appartenance de ces Grégarines au genre Selenidium. Dans les espèces précédentes, le caractère fondamental au cours de l'accouplement est l'apparition de noyaux secondaires dans le noyau primaire. Ici nous avons les mêmes modifications importantes.

Le reste du cycle de la Grégarine étant comparable à celui de l'espèce type S. pendula, et dans le but de ne pas multiplier exagérément le nombre de genres, il convient de conserver pour cette Grégarine le nom de Selenidium. Pour la détermination spécifique, nous avons rassemblé dans le tableau 3 les différents caractères de chacune des deux espèces.

Espèces :	<u>S. sabellariae</u> n. sp. :	<u>S. hollandei</u> Viv. Schr. 1966 :
Caractères :		
Trophozoïte :		
Dimensions maximales :	500 μ x 16 μ à 25 μ	500 μ x 20 μ
Section :	Circulaire	En feuille
Noyau :	Ovoïde	Allongé généralement
Caryosomes :	Unique, central	Pour 30 % : 2 caryosomes à position variable
Striation transversale :	Très marquée	peu marquée
Myonèmes :	Peu marqués	Très marqués
Localisation :	Abdominale et postabdominale	Partie achète caudale
Syzygie :	Latérale en X	Caudale sur une longueur plus ou moins grande
Gamétokyste :	Grand 110 μ x 60 à 70 μ	Petit 45 μ x 30 à 40 μ
Spores :	Soixantaine	Vingtaine

Tableau 3 - Comparaison de Selenidium sabellariae n. sp. et Selenidium hollandei Viv. Schr. parasites de Sabellaria alveolata L.

D - Selenidiidae parasites des Sabellidae

Les Selenidiidae des Sabellidae sont surtout connues par l'espèce Selenidium mesnili Brasil (1909), parasite de Myxicola infundibulum. RAY (1930) y décrit une schizogonie. REED (1938) précise la sporogonie. Certains stades du cycle tels que les gamètes, les spores et les sporozoïtes restent mal précisés et nous ont amené à réexaminer cette Grégarine.

1 - Cycle de Selenidium mesnili Brasil parasite de Myxicola infundibulum Rénier

Ce Selenidium est un parasite fréquent des Myxicola infundibulum de l'herbier de Penpoull (Nord Finistère).

a) Le trophozoïte

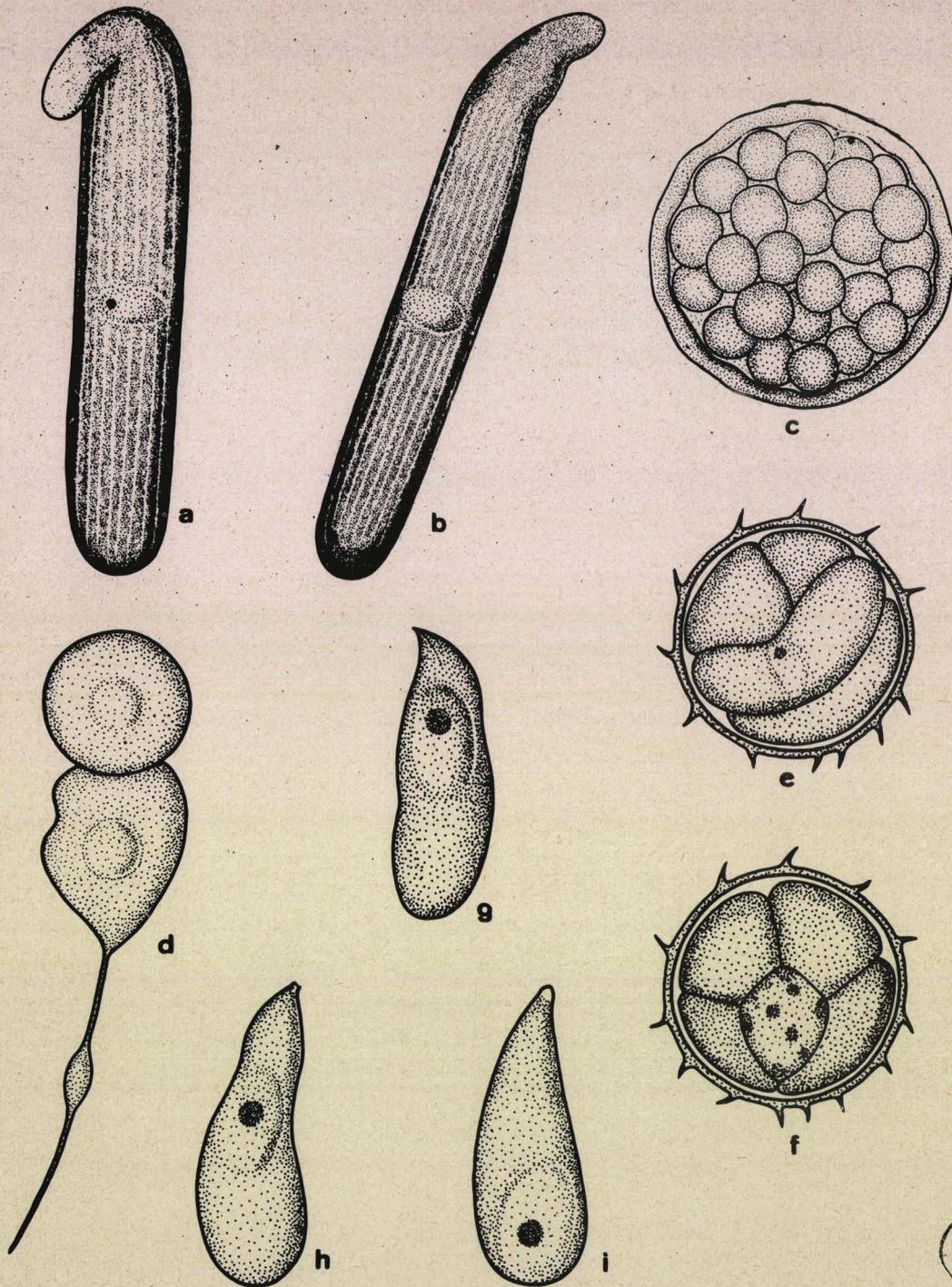
Le trophozoïte ($130 \mu \times 25$ à 30μ) possède environ 18 bombements (Fig. 7 a et b).

La région caudale, arrondie au niveau où s'arrêtent les stries, possède plusieurs gros granules. Le noyau ovoïde ($18 \mu \times 9 \mu$), situé dans la région médiane, est disposé perpendiculairement à l'axe du trophozoïte et contient un caryosome sphérique de $4,5 \mu$ présentant quelquefois une vacuole centrale claire.

Les trophozoïtes sont animés de mouvements de type pendulaire mais très lents par rapport à ceux de S. pendula.

b) Le gamétokyste

L'obtention des kystes de S. mesnili est facile. Il suffit de prélever et d'examiner régulièrement les excréments : ils contiennent de nombreux petits kystes sphériques, blancs, de 60 à 70μ de diamètre. Affirmer comme REED (1938) que les kystes compris dans la même masse d'excréments sont au même degré d'évolution est peut-être excessif : leur état est certes voisin, ce qui s'explique par l'évolution rapide de la gamétogenèse et de la sporogenèse, toutefois on peut observer dans un même amas des trophozoïtes, des gamétokystes et des jeunes sporokystes.



BUS
LILLE

FIGURE 7 - SELENIDIUM MESNILLI.

a et b, trophozoïte ; c, sporokyste ; d, fécondation ; e et f, même sporocyste à deux mises au point différentes ; g, h, i, sporozoïte.

a, b, c, X 750.

d à i, X 2300.

La syzygie serait caudale (RAY 1930, REED 1933) toutefois les auteurs anglais ne décrivent pas de transformations nucléaires.

Les gamétokystes sphériques mesurent environ 60μ et sont entourés par une paroi kystique beaucoup plus épaisse (5μ) que dans les cas précédents.

Au cours de l'individualisation des gamètes, le copularium devient le siège d'un bouillonnement intense, dû aux corpuscules libérés au cours de la gamétogenèse.

c) La danse des gamètes. Fécondation

La danse des gamètes se déroule suivant le processus habituel. Parmi les corpuscules animés de mouvements browniens, les gamètes se mélangent sous l'impulsion des prolongements flagelliformes des gamètes mâles. Contrairement à l'affirmation de REED (1933) il existe une anisogamie indiscutable.

Le gamète mâle (Fig. 7 d) généralement piriforme prend parfois une forme subsphérique. Il atteint 13μ de long sur 10 à 12μ de large. Le prolongement flagelliforme mobile est long. Il possède une sorte de dilatation claire de 3μ qui ressemble à l'élargissement en spatule, observé à l'extrémité du gamète mâle de S. pendula. Le noyau sphérique de $3,6 \mu$ de diamètre occupe une position centrale. On peut noter la présence d'une sorte de cône correspondant sans doute au rostre.

Le gamète femelle est sphérique (Fig. 7 d). Il mesure 10μ et contient un noyau sphérique central de $3,5 \mu$ de diamètre.

Le gamète mâle s'accroche au gamète femelle par l'extrémité opposée au flagelle. La copula s'arrondit et se transforme en sporocyste.

d) Sporokyste, spore et sporozoïte

Les sporokystes, sphériques à paroi épaisse identique à celle du gamétokyste, contiennent une soixantaine de sporocystes sphériques (Fig. 7 c).

Ces derniers mesurent environ $12,6 \mu$ de diamètre. L'observation à l'immersion montre une coque d'environ $0,5 \mu$ d'épaisseur, hérissée d'épines, atteignant $1,5$ à 2μ de long (Fig. 7 e). A l'intérieur, sont disposés quatre sporozoïtes (Fig. 7 e et f), en contact deux à deux. Ils entourent le reliquat cytoplasmique et chaque couple est perpendiculaire à l'autre.

Le vert de méthyle acétique fait ressortir à la périphérie du sporocyste mûr, la coque hérissée d'épines, et montre quatre taches verdâtres correspondant à la région nucléaire.

Le sporozoïte (13 à 13,5 μ x 5,6 μ) libéré du sporocyste est allongé (Fig. 7 g et h) ou plus ou moins piriforme (Fig. 7 i).

2 - Discussion

Les résultats obtenus permettent de rejeter l'isogamie décrite par REED (1933) chez S. mesnili. L'observation de la syzygie par cet auteur mériterait d'être vérifiée car il semble assez anormal que les noyaux des sporadins déjà enkystés, ne présentent pas les modifications nucléaires habituelles de S. pendula, S. spionis, S. sabellariae décrites précédemment. Un autre point intéressant est l'épaisseur de la coque kystique qui s'apparente comme nous le verrons plus loin à celle des Grégarines du genre Lecudina et se distingue de celle des autres kystes de Selenidiidae.

E - Selenidiidae parasites des Serpulidae

La présence de Selenidiidae chez les Serpulidae est fréquente. En les décrivant sous le nom de Monocystis serpulae Ray IANKESTER (1863) est sans doute le premier à savoir observé ces Grégarines chez Serpula contortuplicata Savigny. MINGAZZINI (1893) les retrouve et leur donne le nom de Polyrhabdina serpulae.

CAULLERY et MESNIL (1899) attribuent aux Grégarines précédentes le nom de genre Selenidium. Au cours de l'étude histologique de S. caulleryi, parasite de Protula tubularia, BRASIL (1907) décrit des stades qu'il interprète comme ceux d'une schizogonie.

RAY (1930) appelle Selenidium brasili, le Selenidium parasite du Pomatoceros triqueter déjà signalé par CAULLERY et MESNIL (1899) et BRASIL (1907).

Récemment THEODORIDES et LAUBIER (1962) ont fait connaître Selenidium mercierellae chez le Serpulier d'eau saumâtre Mercierella enigmatica.

1 - Selenidium mercierellae Théodorides et Laubier 1962 parasite de Mercierella enigmatica Fauvel

Nous avons trouvé cette Grégarine dans les Mercierella qui abondaient avant l'hiver de l'année 1962, dans le canal de Caen. Notre étude apporte quelques précisions aux observations de J. THEODORIDES et L. LAUBIER (1962) et complète une partie du cycle.

a) Le trophozoïte

Les trophozoïtes ($80 \mu \times 15$ à 25μ) sont légèrement plus petits que ceux décrits par les auteurs précédents. Ils présentent une forme plus élancée (Fig. 8 a et b). La région antérieure, effilée, se termine par un mucron plus ou moins dilaté. La région caudale est régulièrement arrondie. Le parasite présente 14 bombements séparés par autant de stries. Ce nombre de stries nous a paru sensiblement constant et la variation entre 10 et 18 citée par les auteurs précédents nous paraît grande. Les stries sont surtout visibles dans la moitié supérieure du trophozoïte (Fig. 8 b).

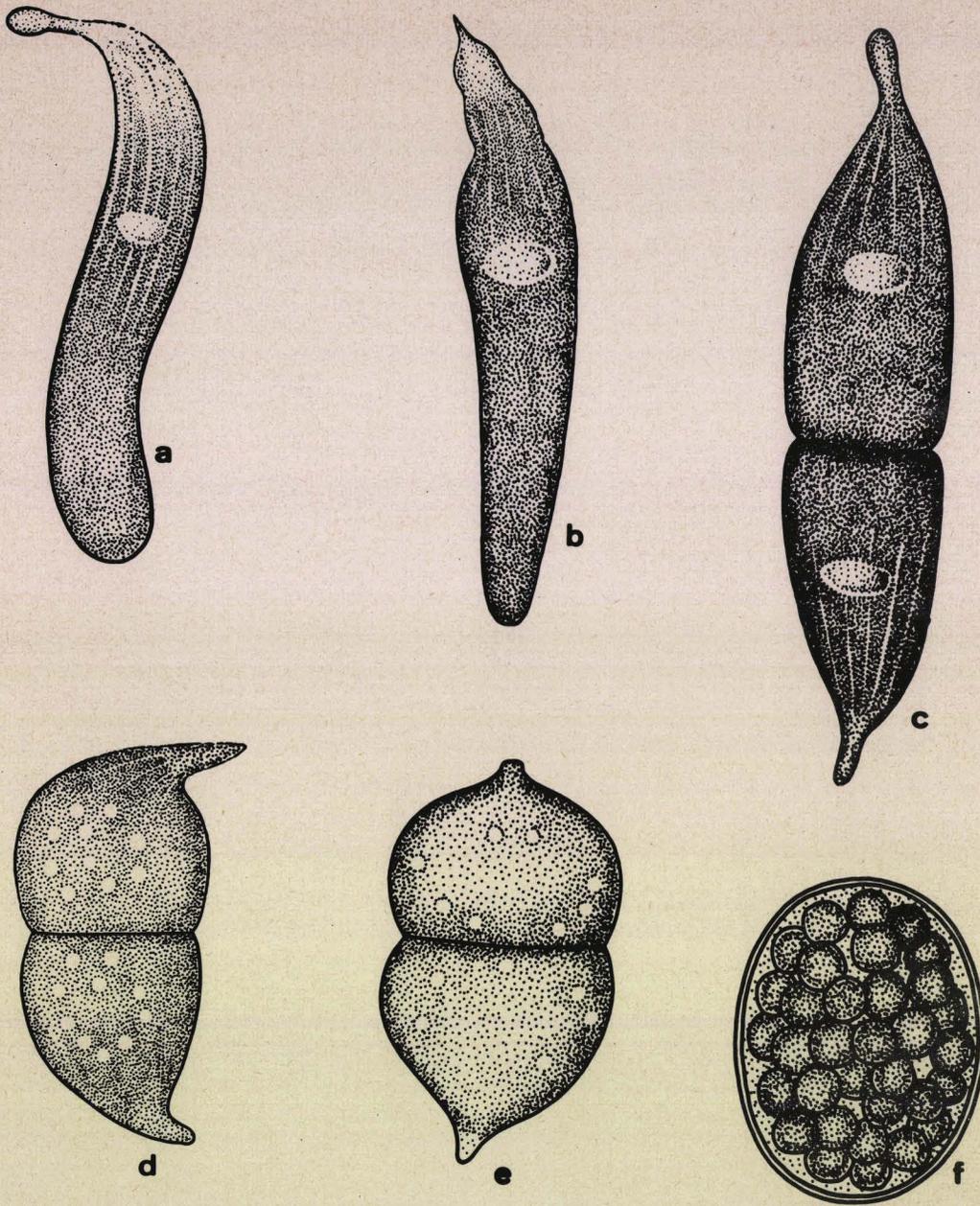
Les extrémités du trophozoïte sont animées d'un mouvement de balancement régulier.

Le noyau plus ou moins ovoïde (15μ sur 18μ) est situé dans la région médiane. Le caryosome unique, sphérique est surtout visible dans les coupes histologiques, il occupe une position centrale dans le noyau.

b) La syzygie

Elle est caudale et s'effectue entre deux sporadins de même taille (Fig. 8 c). Dans nos observations, les individus mesuraient 85μ . Seules les extrémités antérieures exécutent un mouvement de rotation, ce qui donne un léger mouvement d'oscillation aux sporadins.

Il se produit un tassement en direction du plan d'accolement. Les deux sporadins s'arrondissent tandis que s'estompent les extrémités antérieures. Parallèlement, on observe à la place du noyau primaire, l'apparition de quelques dizaines de petits noyaux clairs de $3,6 \mu$ de diamètre (Fig. 8 d), qui migrent ensuite vers la périphérie des gamontes (Fig. 8 e).



BMS
LILLE

FIGURE 8 - SELENIDIUM MERCIERELLAE.

a et b, trophozoite ; c, d, e, syzygie ; f, sporokyste. X 1000.

c) Les kystes

Les sporokystes sont généralement sphériques et mesurent entre 40 et 60 μ de diamètre (Fig. 8 f). Ils contiennent environ une trentaine de spores. L'observation détaillée de la fin du cycle n'a pu être menée à bien par suite de la disparition "momentanée" de l'hôte après l'hiver rigoureux de 1962.

2 - S. caulleryi Brasil 1907, parasite d'Apomatus similis
Marion et Bobretzky

Nous avons retrouvé dans les Apomatus similis récoltés sur des coquilles provenant de dragages au chateau du Taureau (baie de Morlaix) des Selenidium correspondant à la description par BRASIL (1907) de S. caulleryi, parasite de Protula tubularia Mont. Les trophozoïtes (110 μ x 25 μ) possèdent une vingtaine de bombements longitudinaux et un noyau médian (12 μ x 11 μ) dont l'axe est transversal.

Comme BRASIL (1907) le faisait remarquer les mouvements sont très lents.

3 - Selenidium brasili Ray 1930, parasite de Pomatoceros
triqueter Linné

Les P. triqueter de Wimereux hébergent fréquemment cette Grégarine, déjà signalée par CAULLERY et MESNIL (1899) qui présente une trentaine de bandes délimitées par autant de stries.

Sur les formes jeunes, il est difficile de voir les stries et le trophozoïte ressemble à une Lecudina (Pl. VIII, fig. h).

4 - Discussion

Les Selenidiidae des Serpulidae montrent une certaine homogénéité de forme et les trophozoïtes semblent présenter des mouvements lents par rapport à ceux de S. pendula ou S. hollandei. Nos observations sont conformes à celles des auteurs antérieurs toutefois l'aspect de S. mercierellae nous paraît plus élancé que celui décrit par THEODORIDES et LAUBIER (1962).

Dans cette espèce l'apparition de noyaux secondaires au cours de la syzygie est conforme aux données précédentes.

A propos de S. caulleryi, il convient de signaler la ténuité des caractères distinctifs des hôtes: Apomatus similis Marion et Bobretzky et Protula tubularia Montagu. La présence d'un opercule constitué par le gonflement d'un filament branchial semble en effet un caractère mineur.

La présence des mêmes parasites vient encore augmenter le doute quant à l'existence de deux espèces d'Annélides.

F - Selenidiidae parasites des Terebellidae et Ampharetidae

Probablement observés par KOLLIKER (1845 et 1849), MINGAZZINI (1891) les Selenidiidae des Terebellidae ont été peu étudiées. SIEDLECKI (1903) fait connaître S. costatum, parasite de Polymniaebulosa, qui présente en coupe, la forme d'une étoile à 7 branches. RAY (1930) décrit S. terebellae (Koll.) dans l'intestin de Terebella lapidaria.

L'étude des Grégarines intestinales de Terebellidae et Ampharetidae se heurte à deux difficultés essentielles : d'une part, la présence dans l'intestin de nombreux débris plus ou moins vaseux, d'autre part, la conservation délicate au laboratoire, de ces Annélides.

1 - Selenidiidae des Terebellidae

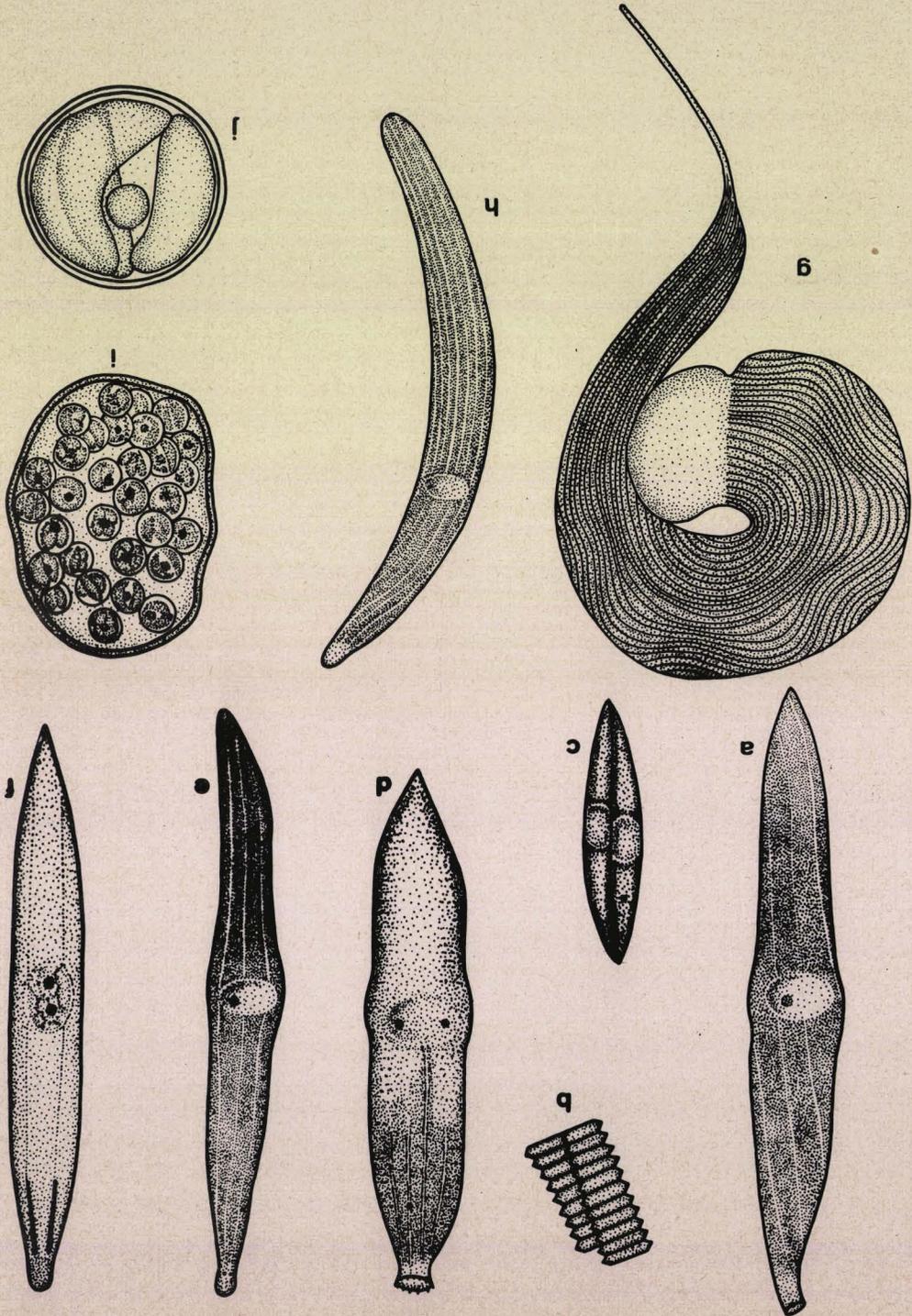
a) Selenidium terebellae (Koll.) Ray 1930, parasite de Terebella lapidaria

Le trophozoïte allongé ($330 \mu \times 30$ à 40μ) présente des bandes régulières (Fig. 9 a).

Ces bandes larges de 8μ environ, séparées par de fines stries, sont disposées selon des spires accentuées ou des génératrices sensiblement parallèles à l'axe du trophozoïte.

La transparence du cytoplasme permet d'observer simultanément les six bandes qui s'entrecroisent et constituent selon LEGER (1892) une ornementation rappelant la mosaïque (Pl. VIII, fig. f).

FIGURE 9 - Selenidiidae PARASITES DES TEREBELLIDAE ET DES CIRRIATULIDAE.
 a, *Selenidium terebellae*; b, bombements longitudinaux de *S. terebellae*; c, sporozytes
 rencontrés chez *Polymnia nebulosa*; d, e, f, *Selenidium melinae*; g, *Selenidium comato-*
morphe; h, *Selenidium virgula*; i, sporozyste de *S. virgula*; j, sporozyste de *S. virgula*.
 b, c, j, X 2300.
 a, d, e, f, g, h, i, X 750.



BAS
LITE

L'examen attentif sur le vivant et surtout après coloration au vert de méthyle acétique, de la bordure de ces "champs musculaires" montre une série régulière de plis rappelant le "soufflet" d'un accordéon (Fig. 9 b).

Le noyau ovoïde ($35 \mu \times 15 \mu$) situé dans la région médiane a son grand axe perpendiculaire à celui du trophozoïte et provoque fréquemment une boursoufflure sur le profil de la Grégarine. Il contient un caryosome sphérique de 5μ de diamètre, à position centrale, qui présente au vert de méthyle acétique une coloration vert foncé et plusieurs plages plus claires de taille variable.

b) Selenidium costatum Siedlecki 1903, parasite de Polymria nebulosa Mont.

On peut observer fréquemment dans les dilacérations de l'intestin de Polymria nebulosa des sporozoïtes et des jeunes trophozoïtes.

Nous avons ainsi trouvé des sporozoïtes accolés par 2, légèrement arqués, de 16μ de long sur $3,2 \mu$ de large (Fig. 9 c). Le noyau clair et ovoïde ($4 \mu \times 3,3 \mu$) occupe la région centrale, aucun caryosome n'est décelable à ce stade. Le cytoplasme est occupé par des petits corpuscules d'aspect verdâtre en microscopie optique.

Le trophozoïte de 40μ de longueur ressemble au sporozoïte. Au cours de la croissance (Pl. VIII, fig. d), on voit apparaître six bandes longitudinales disposées selon des génératrices parallèles à l'axe du jeune trophozoïte.

Par la suite, le trophozoïte (Pl. VIII, fig. e) devient comparable à celui de Terebella lapidaria, on retrouve les six bandes plus ou moins torsadées et le noyau ovale avec son caryosome central.

2 - Selenidium de Melinna palmata (Ampharetidae)

Les Melinna de Terenès et de Penpoull contiennent assez fréquemment des Selenidium.

On retrouve comme chez S. terebellae, des trophozoïtes (60μ à $130 \mu \times 20 \mu$) présentant des bandes régulières larges de $6,3 \mu$ qui parcourent toute la longueur du trophozoïte et se rétrécissent au niveau de la région antérieure (Fig. 9 d, e et f). Ces trophozoïtes ont une région caudale pointue.

L'extrémité antérieure possède soit un petit mamelon rempli de cytoplasme d'aspect homogène et clair (Fig. 9 e) soit une sorte d'anneau (Fig. 9 d). Il existe une striation transversale, très fine, perpendiculaire aux bandes longitudinales qui donne à la paroi un aspect légèrement hérissé. Le noyau ovoïde de 13μ sur 12μ à son grand axe perpendiculaire à celui du trophozoïte. Il contient souvent un seul caryosome, parfois deux. Dans le nucléoplasme, le vert de méthyle acétique colore en vert un amas granuleux et épais qui masque le caryosome. Les "myonèmes" ne pénètrent pas dans le mucron et le vert de méthyle acétique montre dans la région antérieure des stries épaissies qui donnent une impression de baguette (Fig. 9 f).

Il existe aussi des trophozoïtes à huit bandes plus ou moins spirales, montrant une boursouffure de la région médiane du noyau. La région antérieure effectue des mouvements de battements très lents et de faible amplitude.

3 - Discussion

Les Selenidiidae des Terebellidae montrent une remarquable homogénéité de formes. Les larges bandes torsadées rappelant la mosaïque, des Selenidiidae des Terebellidae se retrouvent chez les Selenidiidae parasites des Ampharetidae. Ce résultat vient renforcer indépendamment des caractères anatomiques et morphologiques, la parenté entre ces deux familles d'Annélides Polychètes.

Les différences entre les Selenidiidae de Terebella lapidaria et Polymnia nebulosa sont évidemment très faibles. Pour affirmer l'existence de deux espèces, il nous semble souhaitable de faire une étude plus complète.

Le nombre de myonèmes est huit chez le Selenidium de Melinna et six chez les Selenidium de Terebella et Polymnia, leur torsade moins accentuée, la répartition écologique différente des hôtes (les Melinna palmata forment des colonies importantes dans les vases et les herbiers, les Terebella et Polymnia sont surtout abondantes dans les faciès rocheux) permettent de créer une espèce nouvelle S. mellinae.

G - Selenidiidae parasites des Cirratulidae

Les Cirratulidae sont souvent parasitées par des Grégarines qui ont d'abord été décrites sous le nom de Platicystis (LEGER 1892) puis sous celui de Selenidium (CAULLERY et MESNIL 1899). Il existe actuellement cinq noms S. virgula Caullery et Mesnil 1919, S. cirratuli (R. Lank) Minguzzi 1893, S. plicatum Ray 1930, Ditrypanocystis cirratuli Bart, Denny, Thomasson 1963, S. fallax Mac Gregor et Thomasson 1965 pour définir les différents trophozoïtes observés chez Cirratulus cirratus et Audouinia tentaculata. A ces noms, il faut ajouter une forme de Selenidium en point virgule et une forme libre à 60 stries, chez Cirratulus cirratus (CAULLERY et MESNIL 1899).

L'absence de noms spécifiques pour caractériser les formes décrites par CAULLERY et MESNIL (1899) a entraîné une confusion que la discussion récente sur la nomenclature des Archigrégarines de C. cirratus (COX 1965) n'a pas simplifiée.

Le tableau 4 précise les caractères des différentes Selenidiidae parasites des A. tentaculata et C. cirratus.

Il existe également chez Dodecaceria concharum Oersted, S. echinatum qui est la première espèce de Selenidiidae dont on a observé les spores (CAULLERY et MESNIL 1899).

1 - Selenidiidae de Cirratulus cirratus O.F. Müller

a) Selenidium virgula Caullery et Mesnil 1919

C'est la forme de Selenidium la plus fréquente chez les C. cirratus de Wimereux.

Le trophozoïte contient un noyau ovoïde dont le grand axe est perpendiculaire à celui du trophozoïte. La paroi possède environ 16 bombements longitudinaux séparés par de profondes stries (Fig. 9 h).

Les sporokystes qui doivent être rattachés au S. virgula sont soit sphériques avec un diamètre de 50 μ environ, soit ovoïdes de 40 μ sur 60 μ (Fig. 9 i). Ils contiennent une soixantaine de spores.

La paroi du kyste est mince (1 à 2 μ d'épaisseur environ). Elle est transparente et très déformable, ce qui explique la forme variable du kyste. Les spores matures, sphériques (12 μ de diamètre) renferment quatre sporozoïtes

Caractères	<u>Cirratulus cirratus</u>	<u>Audouinia tentaculata</u>
- Nombre de stries inférieur à 20	- <u>Selenidium virgula</u> C. et Mesnil 1919 (16 stries)	- <u>Selenidium cirratuli</u> (Ray Lenk) Mingazzini (vingtaine de stries)
- Stries saillantes		- <u>Ditrypanocystis cirratuli</u> Burt et Coll. (1963) (paroi ondulante)
- Nombre de stries supérieur à 20	- <u>Selenidium</u> en point virgule C. et Mesnil 1899	- <u>Selenidium fallax</u> Mac Gregor et Thomasson 1965 (cinquantaine de stries)
- Stries peu saillantes	- <u>Selenidium</u> libre à 60 stries C. et Mesnil 1899	
Plis transversaux en accent circonflexe convergent vers l'axe		- <u>Selenidium plicatum</u> Ray 1930

Tableau 4 - Caractères connus des Selenidiidae parasites des Cirratulus cirratus et Audouinia tentaculata.

BBS
LILLE

disposés par couples perpendiculaires, autour d'un reliquat cytoplasmique sphérique de 3,5 μ de diamètre (Fig. 9 j). A l'exception de la taille, les sporokystes et les sporocystes rappellent ceux de S. pendula.

b) Selenidium cometomorpha (Caullery et Mesnil)

Nous avons retrouvé à diverses reprises, ce curieux parasite en forme de point virgule, chez les Cirratulus de la région de Wimereux. Nous en avons fait une étude détaillée sur le vivant qui confirme en partie les observations de CAULLERY et MESNIL (1899) et apporte des précisions supplémentaires.

Le plus jeune stade observé (Pl. IX, fig. a) mesure 42 μ de long sur 21 μ de large. Cette forme massive présente un étranglement qui sépare une région subhémisphérique contenant le noyau, d'une région plus allongée, conique. Le noyau situé dans le "point" chez les jeunes céphalins, contient un gros caryosome sphérique de 10 μ de diamètre pouvant présenter une calotte très opaque.

Sur les céphalins plus âgés on retrouve le même aspect mais la région correspondant à la virgule est nettement allongée et le noyau, comme le signalaient CAULLERY et MESNIL (1899), est maintenant disposé dans la "virgule" au contact "du point" (Pl. IX, fig. c). Les stries absentes sur la surface correspondant au point, sont très nombreuses sur la surface de la "virgule" (Pl. IX, fig. b, d, f). Sur le côté convexe d'un trophozoïte enroulé, les bombements longitudinaux forment une série d'arceaux tandis que ceux situés du côté concave s'étendent régulièrement (Fig. 9 g).

De nombreuses ponctuations semblent être disposées sur les stries. Ces ponctuations représentées dès 1892 par LEGER sur le Platicystis d'Audouinia et interprétées comme des points d'échanges nutritifs doivent probablement correspondre aux différents organites annexés à la paroi, que nous révèle la microscopie électronique (Chapitre III).

L'extrémité caudale de certains trophozoïtes présente un diverticule prolongé par une fine épine atteignant 50 μ de long (Pl. IX, fig. e). Non loin de cet appendice, on peut observer deux traînées claires qui correspondent peut-être à des canalicules.

La présence de cette longue épine pose le problème de l'appartenance de ces trophozoïtes au genre Selenidium. L'existence d'un "point" dépourvu de stries tend également à distinguer ce céphalin du genre Selenidium. Le stade libre ne différencierait d'ailleurs pas du stade céphalin (CAULLERY et MESNIL 1899).

Nous pensons qu'il est nécessaire d'attribuer un nom spécifique à cette Grégarine pour faciliter la désignation de cette forme. Nous lui donnerons le nom de S. cometomorpha, pour évoquer la forme d'une comète ou d'un point virgule.

c) Selenidium filiformis n. sp.

Ce Selenidium (Pl. VIII, fig. g) est abondant, surtout au niveau de l'intestin postérieur. Il correspond à l'une des formes libres décrites par CAULLERY et MESNIL (1899). Il diffère de S. virgula par ses stries peu saillantes et plus nombreuses; d'autre part, son noyau est allongé suivant l'axe du trophozoïte et possède un seul caryosome.

Pour distinguer cette forme du S. virgula à stries saillantes et du S. cometomorpha en point virgule, nous lui donnerons le nom de S. filiformis pour rappeler l'aspect filiforme signalé par CAULLERY et MESNIL (1899).

2 - Selenidiidae d'Audouinia tentaculata Mont.

a) Selenidium cirratuli (Ray ~~et~~ Lank) Mingazzini

Le trophozoïte, caractérisé par une vingtaine de stries profondes, mesure fréquemment 100 à 150 μ de long sur 20 à 30 μ de large. Il possède une région antérieure claire en forme de bouton. Le noyau ovoïde (9 μ x 3 μ) est fréquemment comprimé.

b) Ditrypanocystis cirratuli Burt, Denny, Thomasson.

L'existence de mouvements ondulants qui affectent la région antérieure de certains trophozoïtes a amené BURT et Coll. (1963) à créer un genre nouveau : Ditrypanocystis.

LEGER (1892), CAULLERY et MESNIL (1899) avaient déjà constaté ces mouvements ondulants qu'ils avaient interprétés comme un début de dégénérescence.

En 1962, nous avons observé de tels trophozoïtes à Roscoff et actuellement nous les trouvons régulièrement dans les A. tentaculata du Boulonnais. Ces mouvements existant même chez des individus fixés à l'épithélium intestinal, sont spectaculaires et méritent une étude approfondie. L'interprétation de la dégénérescence est sans doute excessive.

c) Selenidium fallax Mac Gregor et Thomasson

Ces trophozoïtes à stries nombreuses, peuvent atteindre 230 μ de long pour une largeur de 12 μ environ. Le noyau peut prendre une forme cubique ou pyramidale. Il contient un seul caryosome sphérique. L'extrémité antérieure est terminée par un mucron au sommet aplati ou pointu.

3 - Selenidium echinatum parasite de Dodecaceria concharum Oersted

Selenidium echinatum Caullery et Mesnil est un parasite rare du Dodecaceria. A la description précise de CAULLERY et MESNIL (1899), il convient d'ajouter l'existence, dans certains cas, d'une longue épine située à l'une des extrémités, probablement à l'extrémité antérieure (Pl. V, fig. e)

4 - Discussion

Le premier point à retenir est la similitude des deux formes de trophozoïtes, l'une à stries peu nombreuses (moins de vingt) et saillantes, l'autre à stries nombreuses (une trentaine ou unecinquantaine) et peu saillantes, chez les deux hôtes : Audouinia tentaculata et Cirratulus cirratus (tableau 4).

Le problème de la spécificité parasitaire est donc posé, il nous semble toutefois prématuré de vouloir le résoudre. Nous allons essayer de poser les bases qui permettront de préciser la classification de ces Grégarines.

Pour faciliter la nomenclature des espèces de Selenidiidae parasites des Cirratulidae, nous avons proposé respectivement les noms de S. cometomorpha et S. filiformis pour désigner la forme en point virgule et celle filiforme à stries peu saillantes. D'autre part, nous pensons que S. plicatum peut être écarté actuellement de la systématique des Selenidiidae car RAY

(1930) n'a trouvé qu'un seul ver parasité sur 50 Cirratulus examinés et depuis aucun auteur n'a retrouvé cette espèce.

Dans un premier temps, il paraît raisonnable de séparer les Selenidiidae parasites de C. cirratus et A. tentaculata : le biotope de ces deux espèces d'Annélides semble présenter des différences physico-chimiques importantes (RETIERE, communication personnelle). Nous pouvons donc considérer les différentes espèces :

Chez <u>A. tentaculata</u>	{	<u>S. cirratuli</u> : stries saillantes au nombre maximum d'une vingtaine
		<u>S. fallax</u> : stries peu saillantes au nombre d'une cinquantaine
		<u>Ditrypanocystis cirratuli</u> : présence de mouvements ondulants dans la région antérieure
Chez <u>C. cirratus</u>	{	<u>S. virgula</u> : stries saillantes au nombre maximum d'une vingtaine
		<u>S. filiformis</u> n. sp. : stries peu saillantes au nombre d'une trentaine
		<u>S. cometomorpha</u> n. sp. : forme en point virgule

Il convient de remarquer que la présence de stries à trajet rectiligne et de stries délimitant des arceaux chez le même trophozoïte du Selenidium en point virgule, l'existence d'une sorte d'épine à l'extrémité caudale constituent des caractères susceptibles de mettre en cause l'appartenance de ce parasite au genre Selenidium ou d'éclairer la phylogénie de ces Protozoaires.

Un caractère important, commun à tous les Selenidiidae de Cirratulidae est l'existence de mouvements d'enroulement excessivement lents.

H - DISCUSSION GENERALE SUR LE CYCLE DES SELENIDIIDAE

La répartition des Grégarines appartenant au genre Selenidium se limite surtout aux Annélides Polychètes et aux Sipunculien. Les autres genres de la famille des Selenidiidae, Selenocystis Dibb 1938, Meroselenidium Mackinnon et Ray 1933, ne comprennent chacun qu'une seule espèce et leurs caractères sont assez vagues. Dans cette discussion il semble donc nécessaire de considérer les caractères de la famille uniquement à partir du genre Selenidium.

Le problème qu'il faudrait discuter en premier lieu concerne la reproduction asexuée ou schizogonie. Celle-ci, décrite minutieusement chez S. caulleryi (Brasil 1907) a fait l'objet de plusieurs discussions (FANTHAM 1908, RAY 1930, MACKINNON et RAY 1933, GRASSE 1953, WEISER 1955) qui ont entraîné, avec les observations de LEGER sur Ophryocystis (LEGER 1907) et Schizocystis (LEGER 1910), une classification des Grégarines basée sur la schizogonie. Deux classifications sont proposées :

- | | | |
|--|---|---|
| CHEISSIN et POLJANSKY 1963 | { | - Schizogrégarines Léger 1907 : Grégarines faisant de la schizogonie |
| | | - Eugrégarines 1907 : Grégarines sans schizogonie |
| GRASSE 1953 | { | - Archigrégarines : Grégarines à cycle primitif avec schizogonie |
| Comité de Taxonomie de la Société de Protozoology 1964 | | - Eugrégarines : Grégarines sans schizogonie |
| | | - Néogrégarines : Grégarines ayant acquis secondairement la schizogonie |

Comme on le verra plus en détail (Chapitre X), la schizogonie des Selenidiidae est très problématique et il paraît opportun de se demander s'il ne serait pas possible d'établir une nouvelle classification des Grégarines, basée sur des critères autres que la schizogonie.

Parmi les caractères biologiques essentiels du genre Selenidium, nous retiendrons :

- les mouvements des trophozoïtes
- la syzygie

- la gamétogenèse et l'anisogamie
- les sporocystes

Les trophozoïtes inférieurs à 500 μ sont allongés et présentent des mouvements pendulaires ou d'enroulement. Les mouvements pendulaires existent chez l'espèce type S. pendula et d'une façon générale chez les autres Selenidiidae des Spionidae, Serpulidae, Sabellidae et Terebellidae. Les mouvements d'enroulement sont ceux des Selenidiidae des Cirratulidae et des Sabellaridae. Ces mouvements, très différents de ceux de glissement ou de métabolie des autres Grégarines ont amené, dès les premières observations, l'idée de l'existence d'un système contractile, caractérisé par des "myonèmes" (GIARD 1884, CAULLERY et MESNIL 1899, BRASIL 1907, ROSKIN et LEVINSON 1929, RAY 1930, FOWELL 1936 a et 1936 b). L'identification des myonèmes à des systèmes fibrillaires situés à la base des stries (RAY 1930, FOWELL 1936 b) ne peut plus être retenue après une étude ultrastructurale (VIVIER et SCHREVEL 1964 ; 2e et 3e parties). Nous reviendrons au chapitre IX sur le mécanisme des mouvements pendulaires.

Les transformations nucléaires au cours de la syzygie -avec apparition d'une vingtaine au moins de noyaux secondaires dans le noyau primaire, avant l'enkystement- déjà observées chez le Selenidium de Spio martinensis (CAULLERY et MESNIL 1900 a), S. caulleryi (RAY 1930), S. productum (TUZET et ORMIERES 1958) et décrites dans ce travail chez S. pendula, S. spionis, S. sabellariae, S. mercierellae, constituent, selon nous un des caractères fondamentaux qui séparent les Selenidiidae de toutes les autres Grégarines actuellement connues, où les transformations nucléaires se déroulent après l'enkystement.

Pour la détermination générique, ces transformations nucléaires apparaissent plus importantes que le mode d'accouplement. En effet, elles sont présentes chez la plupart des Selenidiidae à syzygie caudale mais aussi chez S. sabellariae où l'accolement est latéral, en position tête-bêche.

Les gamètes et la fécondation se caractérisent par l'anisogamie et la durée brève des phénomènes. A la suite de l'observation des gamètes mâles piriformes, garnis d'un long prolongement flagelliforme mobile, et des gamètes femelles sphériques dépourvus de tout appendice (S. pendula, S. sabellariae, S. hollandei, S. mesnili), il devient évident que l'isogamie sans flagelle

(MACKINNON et RAY 1933 ; REED 1933) ou avec flagelle (DIBB 1938) doit être écartée.

Dans nos conditions d'étude, il ne s'écoule que 3 à 4 heures entre la syzygie et la fin de la fécondation. Souvent l'élaboration des gamètes ne dure qu'une heure environ (S. pendula, S. hollandei et S. sabellariae).

Chez S. pendula, il existe quatre sporozoïtes par sporocyste. Ce résultat est important car il enlève le doute qui restait quant au nombre de sporozoïtes par spore chez l'espèce type (RAY 1930). L'observation des spores de S. echinatum (CAULLERY et MESNIL 1899), S. spionis (RAY 1930 et ce travail), S. mesnili (REED 1933 et ce travail) et celle des spores de S. sabellariae, S. hollandei, S. virgula décrites précédemment, permettent de conclure que le nombre de sporozoïtes par spore, dans le genre Selenidium, est de quatre. Ainsi les spores à huit sporozoïtes, observées chez Selenocystis foliata (DIBB 1938) et certaines spores de S. potamillae (MACKINNON et RAY 1933) constituent, en attendant la confirmation de leur nombre, des cas particuliers. Les spores polyzoïques et la forme des spores de Meroselenidium keilini, décrites par MACKINNON et RAY (1933) paraissent exceptionnelles pour des Selenidiidae et l'on peut se demander s'il ne s'agirait pas d'un autre Sporozoaire.

A ces résultats généraux, nous pouvons ajouter des caractères intéressants, relatifs aux kystes et au nombre de spores par sporokyste. Tous les gamétokystes et sporokystes sont entourés d'une fine coque transparente de 1 à 2 μ d'épaisseur, sauf chez S. mesnili où elle atteint 5 μ . Ils sont généralement ovoïdes et mesurent entre 60 et 140 μ sur 60 à 100 μ , toutefois chez S. hollandei, nous avons des kystes plus petits (35 à 40 μ). Dans tous les cas étudiés, le nombre de spores par sporokyste ne dépasse pas 100 à 150, ce qui est faible en comparaison du nombre de spores par kyste des Lecudinidae, Urosporidae ou Gonosporidae, (chapitre XII).

Nous n'insisterons pas sur les formations réfringentes, décrites dans la région antérieure des trophozoïtes de S. mesnili (ERASTIL 1907 ; RAY 1930) et divers autres Selenidiidae (RAY 1930), colorables en noir par l'hématoxyline de Heindenhein, en rouge par la coloration de Mann (bleu de Toluidine-éosine), et désignées sous le nom de corps chromatiques.

La microscopie électronique viendra préciser la nature de ces organites (Chapitre IV).

Parmi les caractères distinctifs des trophozoïtes, il convient de retenir en dehors des dimensions, l'aspect des bombements longitudinaux et la vitesse des mouvements.

Chez les Selenidiidae des Spionidae, Sabellariidae, Sabellidae, Serpulidae, Cirratulidae, les bombements longitudinaux sont supérieurs à dix et peuvent atteindre la cinquantaine (S. des Cirratulidae), par contre, chez les Selenidiidae des Terebellidae et d'Ampharetidae, ils sont peu nombreux, 6 à 8, larges et rappellent la "mosaïque" LEGER (1892).

Les mouvements des Selenidiidae de Cirratulidae, Serpulidae, Sabellidae, sont lents, par contre ceux des Selenidiidae de Spionidae et de Sabellariidae sont rapides.

Ces différences pourront servir, comme nous le verrons à la fin de ce travail, de bases pour une future classification des Selenidiidae.

CONCLUSION

L'étude des Selenidiidae montre la très grande homogénéité de la reproduction de ces Grégarines, où la syzygie avec transformations nucléaires précédant l'enkystement, l'anisogamie et les spores sont comparables chez la plupart des espèces.

L'étude morphologique fait apparaître des groupes homogènes tels que les Selenidiidae des Spionidae, des Cirratulidae, des Terebellidae. Il paraît intéressant d'entreprendre une étude cytologique pour comprendre la signification de ces différents groupes ; de plus la schizogonie mérite une étude particulière. Aussi, la place des Selenidiidae dans la Systématique des Grégarines ne sera abordée qu'à la fin de ce travail.

II - FAMILLE DES LECUDINIDAE KAMM 1922

Cette famille créée pour les Grégarines non cloisonnées, parasites d'Annélides Polychètes, à région antérieure différenciée en mucron, aux spores ovoïdes à un pôle épaissi (KAMM 1922), a fait l'objet de nombreuses descriptions (tableau 1).

Au genre Lecudina Mingazzini 1891 (= Doliocystis Léger 1892), GRASSE (1953) a ajouté les genres Polyrhabdina, Sycia, Ancorina, Bathia et Ferraria.

Comme nous le verrons par la suite, il est nécessaire de séparer les genres Polyrhabdina et Sycia de la famille des Lecudinidae et de les rassembler comme KAMM (1922) l'avait proposé, dans la famille des Polyrhabdinidae. Le genre Ancorina, caractérisé par sa forme d'ancre, ne présente qu'une seule espèce A. sagittata, parasite de Capitella capitata; les genres Bathia et Ferraria sont mal établis (GRASSE 1953), aussi nous étudierons essentiellement dans ce travail le genre Lecudina.

Le cycle des Grégarines du genre Lecudina est surtout connu par les travaux de GANAPATI et AIYAR (1937); GANAPATI (1946 a et 1946 b); VIVIER, ORMIERES, TUZET (1964). Le tableau 5 résume nos connaissances sur la reproduction sexuée du genre Lecudina.

Cependant, il existe de nombreuses lacunes dans nos connaissances concernant la syzygie et les gamètes. Le mode d'attachement des sporadins au cours de la syzygie est mal connu et aucun dessin précis ne le représente. Les gamètes mâles possèdent un flagelle chez L. ganapatii, L. indica (GANAPATI 1946 a et 1946 b), par contre chez L. brasili, la présence d'un flagelle n'a pas été décrite (GANAPATI et AIYAR 1937).

Nous allons donc préciser le cycle du genre Lecudina à partir de l'espèce L. tuzetae, parasite de N. diversicolor puis nous examinerons différentes espèces parmi les Nereidae, Nephtyidae, Glyceridae, Eunicidae.

Phase de la reproduction sexuée	Espèce	Auteurs
Syzygie et gamétokyste	<u>L. pellucida</u>	VIVIER, TUZET, ORMIERES 1964
	<u>L. brasili</u>	GANAPATI et AIYAR 1937
	<u>L. ganapatii</u>	GANAPATI 1946 a
	<u>L. indica</u>	GANAPATI 1946 b
Gamètes	<u>L. brasili</u>	GANAPATI et AIYAR 1937
	<u>L. ganapatii</u>	GANAPATI 1946 a
	<u>L. indica</u>	GANAPATI 1946 b
Sporokyste et Sporocyste	<u>L. pellucida</u>	VIVIER, TUZET, ORMIERES 1964
	<u>L. brasili</u>	GANAPATI et AIYAR 1937
	<u>L. ganapatii</u>	GANAPATI 1946 a
	<u>L. indica</u>	GANAPATI 1946 b
	<u>L. longissima</u>	HOSHIDE 1958
	<u>L. mammilata</u>	HOSHIDE 1958

Tableau 5 - Bibliographie relative à la reproduction sexuée du genre Lecudina.

A - Lecudinidae parasites des Nereidae

1 - Cycle de Lecudina tuzetae Schrevel 1963, parasite de Nereis diversicolor O.F. Müller

Nereis diversicolor est une Annélide Polychète qui présente de nombreux avantages pour aborder l'étude du genre Lecudina. Sa récolte aisée dans les estuaires et baies vaseuses de la Manche, sa bonne conservation au laboratoire, son taux d'infestation élevé permettent d'obtenir des trophozoïtes à n'importe quelle période de l'année. En plaçant les Annélides dans certaines conditions (Chapitre XI), il est possible d'obtenir des kystes en grande abondance. Ces différentes raisons nous ont souvent amené à utiliser

ce matériel pour l'étude cytochimique ou ultrastructurale du genre Lecudina.

a) Observations

Le Trophozoïte

Les coupes histologiques d'un intestin de ver parasité montrent soit des Grégarines intraépithéliales au niveau du sinus sanguin périintestinal (Pl. X, fig. a) soit des Grégarines extra-tissulaires fixées à l'épithélium ou libres dans la lumière intestinale.

Nous nous attacherons d'abord à caractériser le trophozoïte de L. tuzetae puis à préciser un certain nombre de règles qui nous serviront dans l'étude des autres Lecudinidae.

Aspects des Trophozoïtes

Quand les Nereis sont très jeunes, quelques semaines au plus, il est possible par compression entre lame et lamelle de déceler la présence éventuelle de Grégarines dans l'intestin. Très vite le tégument se pigmente et il faut avoir recours à la dissection fine ou à la dilacération du ver. Avec ce dernier procédé nous obtenons des trophozoïtes de taille variée. Le trophozoïte, souvent dilaté dans sa région moyenne, se rétrécit dans la région postérieure pour constituer une sorte de queue (Pl. X, fig. b). Pour une longueur de 100 à 120 μ , la largeur atteint 30 à 60 μ . Il en résulte un aspect trapu comme chez Lecudina pellucida, espèce type, parasite de Perinereis cultrifera. Dans la Grégarine on distingue une zone ectoplasmique claire, transparente et une zone endoplasmique granuleuse et riche en matières de réserves (Fig. 10). La région antérieure, volumineuse, en forme de cloche, de nature essentiellement ectoplasmique, présente à son sommet une papille plus ou moins développée.

La région moyenne dilatée généralement en forme de poire possède un bourrelet ectoplasmique qui ceinture le trophozoïte (Pl. X, fig. b et d). Ce bourrelet bien visible sur le vivant est très fréquent chez Lecudina tuzetae aussi nous lui accorderons une importance particulière dans la détermination spécifique de cette Grégarine.

La région postérieure se distingue de la région moyenne dans la mesure où elle se rétrécit et s'allonge en une sorte de queue. Sa partie

terminale a un ectoplasme beaucoup plus important formant souvent une petite protubérance.

Le noyau sphérique de 10 μ de diamètre environ, d'aspect clair, se repère plus ou moins facilement selon l'opacité de l'endoplasme. Dans les cas favorables ou après compression, on peut y observer un ou deux petits caryosomes sphériques plus denses. Sa position, souvent médiane au niveau de l'anneau ectoplasmique est toutefois variable : on peut l'observer dans n'importe quelle région de l'endoplasme. Il n'existe cependant pas, comme nous le verrons chez Urospora longissima, de puissants mouvements péristaltiques qui entraînent constamment le noyau. Les trophozoïtes se déplacent par mouvement de glissement ou de translation.

A côté de cette forme qui est la plus fréquente, on observe des variantes plus ou moins accentuées (Fig. 10). La "queue" du trophozoïte peut s'amincir et la région moyenne se gonfler, et inversement elle peut se dilater et se confondre avec la région moyenne. La compression de l'anneau ectoplasmique peut être parfois très accentuée, il en résulte une grande diversité de formes (Fig. 10).

Explication du polymorphisme de Lecudina tuzetae

Deux points méritent de retenir notre attention :

1 - Variations au cours de la croissance.

Les jeunes individus sont généralement allongés ou piriformes (Fig. 10 a et b). La présence d'une région postérieure en forme de queue ou d'une région médiane dilatée peut donc apparaître comme une conséquence de l'enrichissement de l'endoplasme en matières de réserves, au cours de la croissance.

2 - La plasticité est en relation avec les mouvements cytoplasmiques

Nous avons maintenu dans de l'eau de mer des Grégarines isolées et suivi leurs variations morphologiques pendant 48 heures.

Une telle étude montre que la région postérieure possède des mouvements qui entraînent le cytoplasme dans une direction antérieure ou postérieure. Suivant la direction, la "queue" s'estompe (Fig. 10 e) ou au contraire

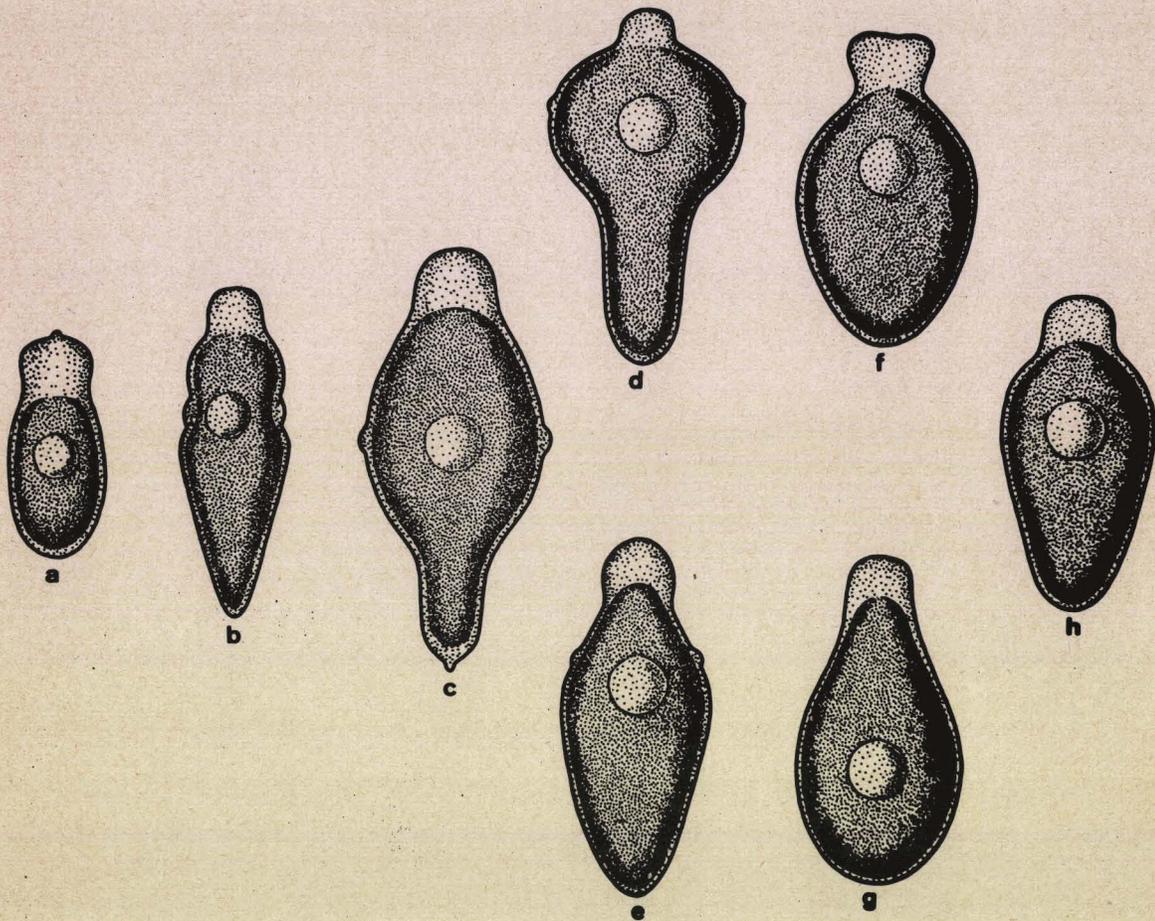


FIGURE 10 - DIFFERENTS ASPECTS DES TROPHOZOITES DE *LECIDINA TUBERCULATA* PARASITE DE *NEVEIS DIVERSICOLOR*.
X 750.

BUS
LILLE

s'allonge (Fig. 10 d), il devient dès lors possible d'expliquer les différentes formes que prennent les trophozoïtes adultes.

Structure du trophozoïte

En faisant éclater la Grégarine par compression, il est possible d'isoler (Pl. X, fig. d) l'enveloppe du trophozoïte, les composants de l'endoplasme, en particulier les grains de paraglycogène. L'enveloppe du trophozoïte montre de fines lignes longitudinales sombres plus ou moins ondulées qui correspondent aux plis épicytaires. Ces derniers tapissent toute la surface de la Grégarine mais n'ont pas tous la même importance. Les images où la Grégarine pivote sur elle-même (Pl. X, fig. c) et les coupes histologiques (Pl. X, fig. e) montrent des plis plus développés. L'existence de plis importants est particulièrement nette au niveau de l'anneau.

Les coupes histologiques, colorées à l'hématoxyline de Heidenhain (Pl. X, fig. f) révèlent une paroi limitée par deux liserés sombres. Au niveau du liseré interne, on décèle des punctuations plus foncées.

Sous la paroi, on distingue une région ectoplasmique peu épaisse dans la région médiane du trophozoïte et une région endoplasmique très développée. L'examen de la région ectoplasmique montre qu'il existe indépendamment des plis épicytaires, des bandes circulaires fortement sidérophiles (Pl. X, fig. g) qui représentent ce que BRASIL (1909) appelle les myonèmes circulaires.

Le noyau est généralement ovoïde avec un ou deux caryosomes noyés dans une masse sidérophile peu dense. Il arrive fréquemment que le caryosome appliqué contre l'enveloppe nucléaire fasse hernie.

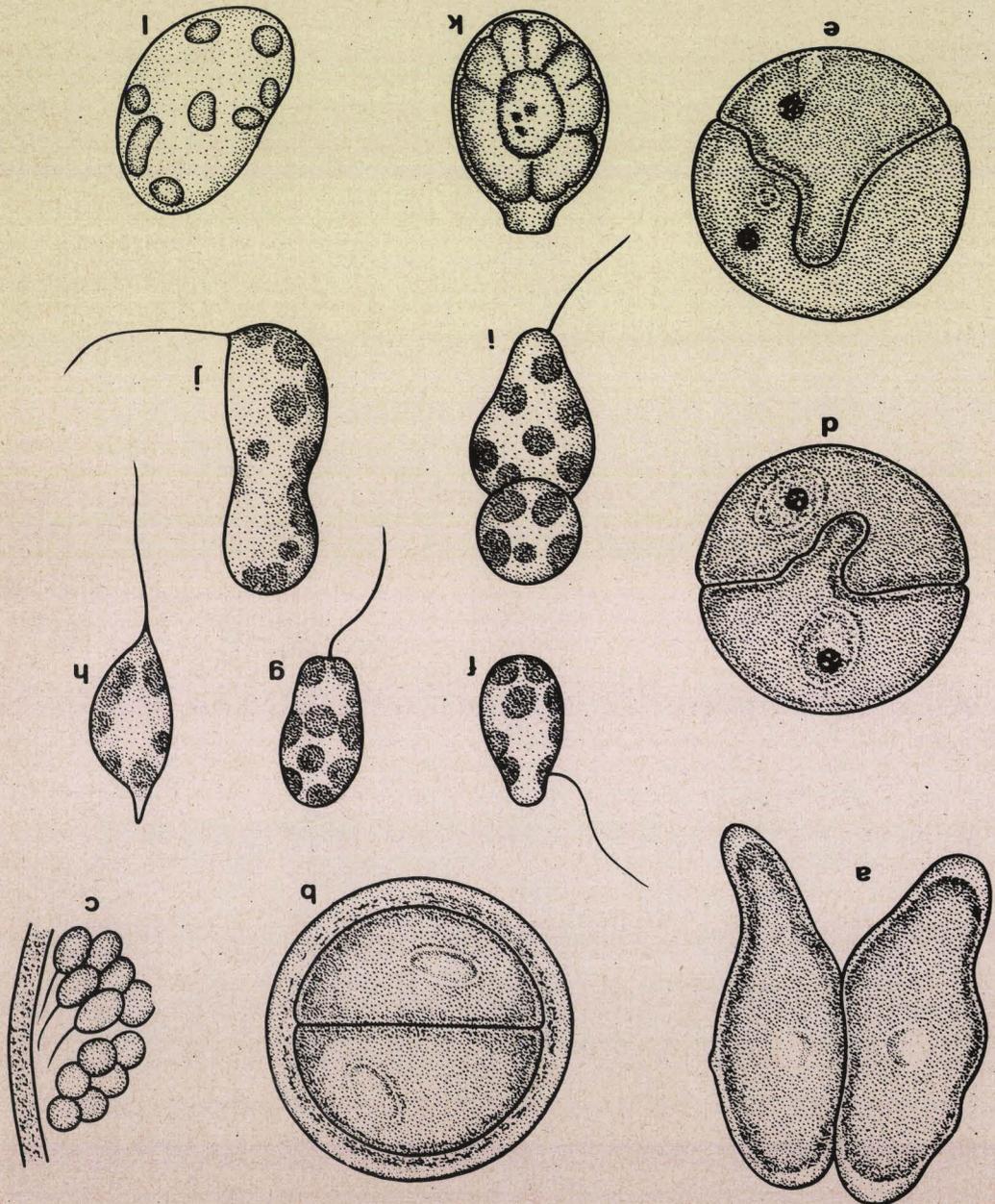
La syzygie et le début de l'enkystement

La syzygie est latérale au début (Fig. 11 a). Les deux sporadins accolés d'abord d'une façon assez lâche au niveau des anneaux ectoplasmiques puis par toute la région moyenne dilatée, se mettent à tourner sur place. Il n'est pas rare d'observer une troisième Grégarine s'accoler aux deux sporadins et les disjoindre. Dans ce cas, les deux Grégarines séparées se réassocient. Il existe donc à ce stade une sorte de tactisme important, probablement en rapport avec la sexualité. L'accolement des conjoints s'accroît et les deux régions antérieures se rapprochent (Pl. XI, fig. a). Les mouvements se poursuivent tandis que les conjoints s'arrondissent. Les deux gros

a, syzyste; b et c, gamétokyste; d et e, transformation du noyau de chaque gamonte, la coque kystique n'est pas représentée; f à h, gamète mâle; i et j, fécondation; k et l, sporocyste.

a à e, X 650.
f à l X 2600.

FIGURE 11 - LECUDINA TUZELIAE.



BAS
LITE

noyaux des sporadins, toujours visibles, sont entraînées par les mouvements de rotation à l'intérieur du jeune gamétokyste (Fig. 11 b). Le sens de rotation change mais la rapidité des mouvements ne permet pas d'en suivre tous les détails.

Dans le cas de syzygie à trois individus, le sporadin surnuméraire s'applique contre le jeune gamétokyste, il est animé de mouvements de rotation mais ceux-ci se font dans le sens opposé de ceux du kyste. Les mouvements de rotation puissants durent au moins une heure et demie puis ils perdent leur vigueur. Au bout de trois à quatre heures, ils sont très lents. La cloison séparant les deux sporadins est nettement visible ; elle prend une forme rappelant un M (Pl. XI, fig. c). L'étude histologique montre que le centre du plan médian de séparation est constitué par la région antérieure de l'un des conjoints (Fig. 11 d).

Le gamétokyste

Le gamétokyste est sphérique, son diamètre est de 100 μ environ soit 90 μ pour le diamètre des gamontes et 10 μ pour l'épaisseur de la paroi.

Nous examinerons en détail la paroi kystique. Son épaisseur est nettement supérieure à celle des kystes de Selenidiidae. A ce stade du gamétokyste, il est possible de décrire trois couches dans la paroi kystique de Lecudina tuzetae (Pl. XI, fig. b).

- la plus interne de 1 μ environ d'épaisseur, accolée aux gamontes.
- la médiane épaisse de 7 à 10 μ , très réfringente, donnant l'impression d'être constituée de lames superposées.
- l'externe, de 10 μ , homogène, très transparente sur laquelle s'agglutinent des débris variés.

Dans les deux noyaux primaires, correspondant à ceux des sporadins, le caryosome devient très colorable. par le glychémalun de Meyer et présente plusieurs petites vacuoles claires (Fig. 11 d).

Les premiers stades, après la disparition du noyau primaire chez L. tuzetae, montrent une grosse sphérule colorable au glychémalun, identique au caryosome précédent, et une masse de taille équivalente, claire, correspondant à un noyau (Fig. 11 e).

A l'intérieur du gamonte, s'effectuent les mitoses progamiques très nombreuses.

Puis à partir de la périphérie des gamontes, se produisent des fissures profondes qui divisent le cytoplasme en îlots. Autour des noyaux qui viennent perler à la surface, s'individualisent les gamètes (Fig. 11 c). Le temps de l'individualisation des gamètes est plus long que chez les Selenidiidae : il faut l'estimer à une vingtaine d'heures. Le nombre de gamètes atteint plusieurs milliers.

Les gamètes, la fécondation

Vingt quatre heures environ après le début de l'enkystement, l'intérieur du kyste est le siège d'une turbulence importante. Dans le copularium, au milieu de petites particules animées de mouvements browniens, s'effectue le brassage des gamètes.

L'écrasement du kyste permet d'étudier avec précision les gamètes. Il existe une anisogamie très nette. Le gamète femelle sphérique mesure 4,5 à 5 μ de diamètre (Fig. 11 i). Il contient un noyau central, clair, sphérique de 2 μ de diamètre. Il renferme une dizaine de gros corpuscules d'aspect verdâtre au microscope optique.

Le gamète mâle (7 μ x 5 μ) généralement piriforme peut prendre des formes arquées (Fig. 11 f, g, h). Du côté conique bat un long prolongement flagelliforme de 10 à 12 μ (Pl. XI, fig. d et e). L'insertion de ce dernier se fait soit par un petit cône très clair, soit au niveau d'une petite dépression. Les mouvements de ce flagelle sont souples mais très lents. Le noyau ovoïde (2,3 μ pour son grand axe) est une masse claire, souvent centrale ou logée dans la partie conique. Du côté opposé au flagelle nous observons un cône clair correspondant au rostre (Fig. 11 h), et dans le cytoplasme, une quinzaine de corpuscules verdâtres.

Les gamètes mâles et femelles s'accolent (Fig. 11 i) puis fusionnent (Fig. 11 j). La fusion se fait toujours par l'extrémité opposée au flagelle, dans la zone correspondant au rostre. Au cours de la fusion et même quand celle-ci est réalisée, le flagelle continue de battre et de faire pivoter le zygote.

La sporogenèse

Le zygote prend une forme ovale. La taille très petite des sporocystes (7 μ environ) ne nous a pas permis de suivre avec précision les phénomènes nucléaires.

La paroi du sporocyste n'est plus constituée que de deux couches. Par compression on peut provoquer la rupture de la coque externe du kyste. On distingue alors très nettement la coque externe de 4 μ d'épaisseur, rigide, correspondant à la couche moyenne du gamétocyste et la fine membrane appliquée contre les spores (Pl. XI, fig. f).

Dans les jeunes sporocystes, le goulot s'individualise à un pôle (Pl. XI, fig. g). Cette individualisation est précoce, d'après nos observations, avant la première mitose métagamique. Tandis que s'élaborent les sporozoïtes, une masse cytoplasmique résiduelle ovale de 3 μ x 7 μ s'édifie au centre du sporocyste (Fig. 11 k).

Le sporocyste mûr, ovoïde (7 μ x 5 μ) présente un petit mamelon de 1 μ de hauteur qui constitue le goulot par où s'échappent les sporozoïtes. Ceux-ci sont au nombre de huit comme le confirment les coupes histologiques (Fig. 11 l). Ils sont disposés autour du reliquat cytoplasmique.

Les sporozoïtes sont des éléments arqués de 7 μ de long sur 1,5 μ de large. Ils renferment un noyau clair situé dans le tiers antérieur.

La sporogenèse dure de 2 à 3 jours au maximum.

b) Discussion

L'étude de Lecudina tuzetae Schrevel, parasite de Nereis diversicolor permet d'apporter des précisions au cycle des Grégarines du genre Lecudina et d'indiquer les difficultés de l'étude de ce genre.

L'accolement des sporadins au cours de la syzygie est latéral au début puis il gagne les régions antérieures. Il diffère donc de celui décrit chez L. ganapatii VIVIER, TUZET et ORMIERES (1964), parasite de Nereis chilkaensis Southern (espèce dénommée L. pellucida par GANAPATI 1946 a), L. indica parasite de Lycastis indica Southern (GANAPATI 1946 b) où l'accolement d'abord frontal devient ensuite latéral.

La danse des gamètes se produit 24 heures après la fin de l'enkystement chez L. tuzetae. Ce délai est donc plus court que chez L. ganapatii où

il est de 48 heures (GANAPATI 1946 a). L'anisogamie est nette.

Les gamètes mâles de L. tuzetae présentent un long prolongement flagelliforme et confirment les observations de GANAPATI (1946 a et b) respectivement sur L. ganapatii et L. indica. Les gamètes femelles sont dépourvus de tout appendice.

La sporogénèse de L. tuzetae dure 2 à 3 jours comme chez L. ganapatii (GANAPATI 1946 a). Les spores ovoïdes possèdent l'épaississement à l'un des pôles, décrit par LEGER (1892), KAMM (1922), GANAPATI et AIYAR (1937), GANAPATI (1946 a et b), VIVIER, TUZET, ORMIERES (1964).

Le nombre restreint de travaux sur la reproduction sexuée des Grégarines du genre Lecudina (tableau 5) par rapport aux nombreuses descriptions de trophozoïte (tableau 1) s'explique par les difficultés de l'obtention des kystes. Ces difficultés sont liées au degré de parasitisme variable des Annélides, à la petite taille des kystes et aux conditions de déclenchement de l'enkystement au laboratoire.

Il est donc fréquent de nommer spécifiquement une Lecudina à partir de la seule observation des trophozoïtes MINGAZZINI (1893), BRASIL (1909), BATHIA et SETNA (1938), GANAPATI (1946 b), ARVY (1952), BOGOLEPOVA (1953), HOSHIDE (1958). Pour la suite de l'étude, en l'absence des stades de reproduction sexuée ou de caractères précis, nous conviendrons de définir chaque Lecudina parasite d'une Annélide Polychète, d'après la forme la plus fréquente des trophozoïtes que nous comparerons aux Lecudina déjà décrites. Si les différences ne sont pas nettes, nous examinerons la biologie des hôtes correspondants. Ces deux types de précautions devraient limiter les erreurs de nomenclature et permettre de décrire certaines espèces présentant un intérêt pour le genre bien que seul le trophozoïte soit connu.

c) Diagnose

Trophozoïte de forme massive avec un bourrelet ectoplasmique médian, atteignant 100 à 120 μ de long pour une largeur de 30 à 60 μ . Plasticité importante du trophozoïte. Syzygie latérale. Kystes sphériques de 100 μ environ de diamètre. Spores ovoïdes de 7 μ de long sur 5 μ de large avec un goulot à un pôle. Huit sporozoïtes. Parasite de l'intestin de Nereis

diversicolor O.F. Müller.

Lieu de récolte : Petit Port de Boulogne, Slack, Petit Fort Philippe, Baie de Lancieux, Aber Roscoff.

2 - La Lecudina parasite de Nereis pelagica L. : son identité probable avec L. pellucida (Koll) Mingazzini

Les Nereis pelagica L. sont abondantes dans le Boulonnais. Leur répartition au Fort de Croy, en face du Laboratoire de Biologie Maritime de Wimereux, se situe au niveau des Laminaires et des Fucus serratus.

a) Observations

Les trophozoïtes (60 à 100 μ x 40 à 60 μ) rencontrés dans l'intestin, en particulier dans la zone située immédiatement sous la trompe, sont petits et présentent la forme soit d'une poire (Fig. 12 a), soit d'une toupie (Fig. 12 b).

On y distingue très nettement une région antérieure ectoplasmique importante avec au sommet une dépression correspondant au mucron. L'endoplasme granuleux contient un noyau sphérique de 10 μ de diamètre avec 2 ou 3 caryosomes sphériques. Nous retrouvons en surface les nombreux plis épicytaires. La forme et les dimensions de cette Grégarine correspondent à celles de Lecudina pellucida (Koll) Ming. parasite de Perinereis cultrifera.

La syzygie s'effectue entre deux sporadins de même taille. Elle est au début franchement latérale (Fig. 12 c), l'accolement se fait sur toute la moitié antérieure des trophozoïtes (Pl. XII, fig. a). Il se produit un frottement des surfaces de contact pendant que le couple tourne sur lui-même. Les deux trophozoïtes se tassent vers leur région antérieure (Fig. 12 d).

Le gamétokyste sphérique mesure 120 μ de diamètre environ. La paroi kystique présente, comme chez L. tuzetae, plusieurs couches (Fig. 12 e). Au début, elle est épaisse et on y distingue une couche externe d'aspect homogène, gélatineuse, de 10 μ d'épaisseur atteignant parfois 20 μ , sur laquelle s'accroissent des débris, puis une couche moyenne très réfringente, plus mince de 4 à 5 μ , enfin une fine membrane appliquée aux gamontes. Nous n'avons pas obtenu la danse des gamètes par contre il nous a été possible de préciser des

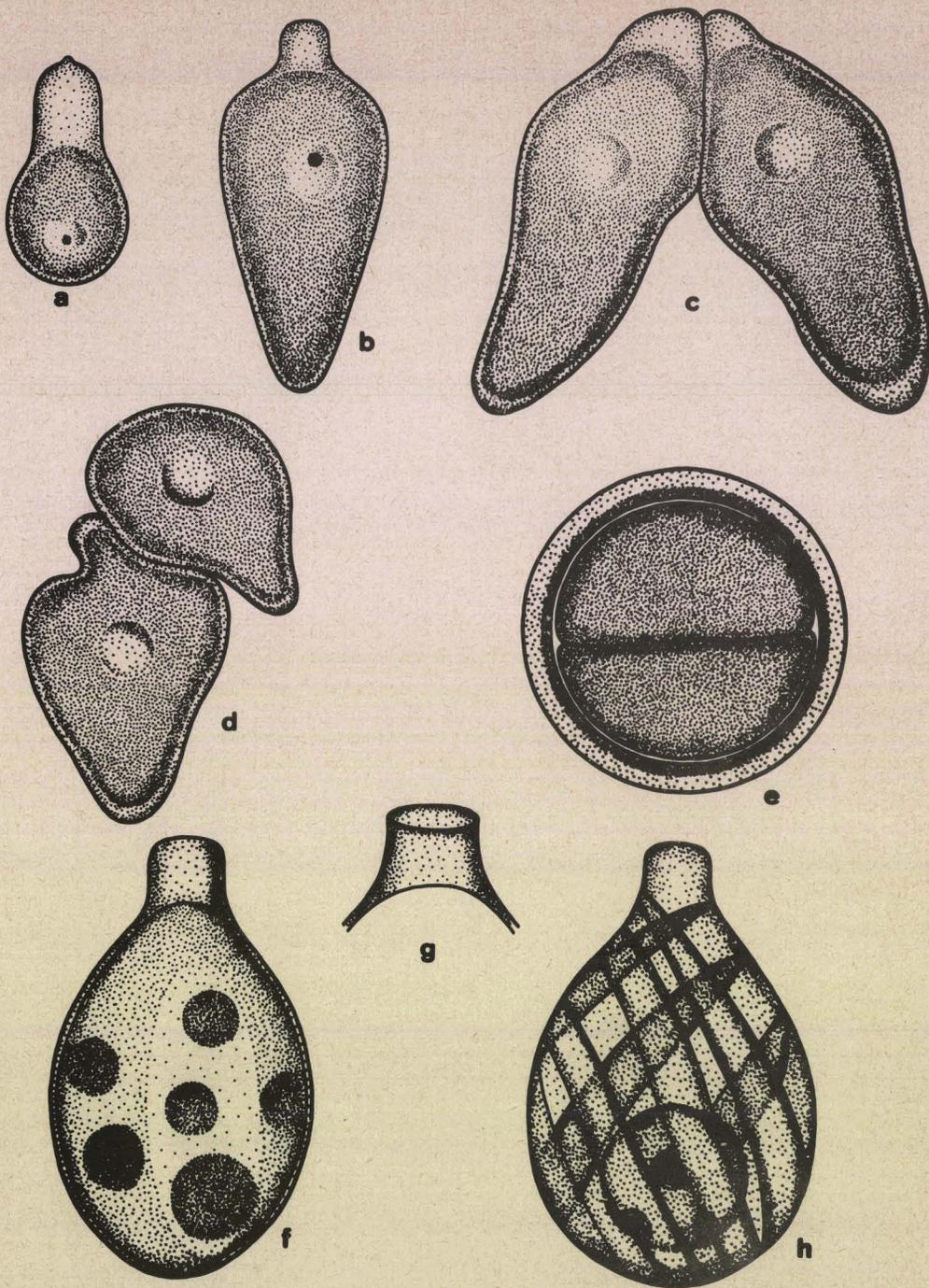


FIGURE 12 - LECUDINA PARASITE DE NERETS PELAGICA.

a, b, trophozoïte ; c et d, syzygie ; e, gamétokyste ; f et h, sporocyste ; g, goulot du sporocyste.

a à e, X 600.

f à h, dessin très agrandi (8000 environ).

points importants de la sporogénèse.

Les jeunes sporocystes présentent déjà leur forme définitive au stade à un seul noyau métagamique (Fig. 12 f). Ils sont ovoïdes avec une extrémité garnie d'un petit mucron qui leur donne un aspect piriforme. Ils mesurent 8 μ de long sur 5,5 μ de large, le goulot antérieur ayant 1,1 μ de long. Ils contiennent en dehors du noyau, repérable par sa transparence, une vingtaine de corpuscules verdâtres sensiblement sphériques de 0,6 à 0,7 μ de diamètre environ (Fig. 12 f).

Entre ce stade et celui des sporocystes mûrs, il s'écoule, dans les conditions du laboratoire ($t^{\circ} = 20^{\circ} C$), trente ~~six~~ heures environ. Le sporocyste mûr possède les mêmes dimensions. Nous avons représenté, à une échelle fort agrandie, un dessin sur le vivant de cette spore (Fig. 12 h). Ceci nous a paru souhaitable car tous les dessins de spores de Lecudina actuellement publiés sont petits et imprécis. La spore mûre contient huit sporozoïtes. En faisant varier la mise au point, il est possible de distinguer huit bandes correspondant aux sporozoïtes disposés autour d'un reliquat cytoplasmique selon un axe oblique par rapport à celui de la spore. Le reliquat sphérique de 2,75 μ de diamètre présente un contenu hétérogène. Au sommet de la spore existe un goulot dont le bord externe est apparemment lisse (Fig. 12 g).

b) Discussion

Au Fort de Croy, il existait au niveau des Algues vertes et des Fucus serratus, parmi les blocs de grès Portlandien supérieur, de très nombreuses Perinereis cultrifera. A la suite de l'hiver rigoureux de 1962-63, ces dernières ont pratiquement toutes été détruites. Les observations précédentes ont été faites en Août 1963 et Septembre 1964 sur des N. pelagica récoltées dans les fentes des rochers, au niveau des Fucus serratus, donc dans une zone qui correspond à la limite inférieure de l'aire de répartition des P. cultrifera.

La Grégarine décrite présente une morphologie comparable à celle de Lecudina pellucida, parasite de Perinereis cultrifera. Il devient dès lors raisonnable de penser, en attendant une vérification expérimentale, que la Grégarine observée est Lecudina pellucida.

3 - Lecudina defretini n. sp. parasite de Nereis irrorata Malmgren.

Les Nereis irrorata de la Pointe aux Oyes (près de Wimereux) ou celles des herbiers à zostères de Penpoull (près de Roscoff) contiennent une Grégarine intestinale grande et massive.

a) Observations

Le trophozoïte allongé présente une dilatation importante dans le tiers antérieur (Pl. XII, fig. b). Il atteint 400 μ pour une largeur de 130 μ au niveau de la dilatation. La région antérieure est indiquée par une protubérance, en forme de mamelon, de nature ectoplasmique.

On distingue toujours les deux régions, l'une ectoplasmique claire, l'autre endoplasmique granuleuse.

Dans l'endoplasme et au niveau de la portion dilatée se trouve le gros noyau.

La portion rétrécie présente souvent des constriction. La surface de la Grégarine est parcourue par de fins plis épicytaires.

b) Discussion

Ce trophozoïte se rattache par son aspect au genre Lecudina; la présence d'une région antérieure dilatée, l'hôte différent, la distinguent des Lecudina connues. Nous l'appellerons : Lecudina defretini en hommage au Professeur R. DEFRETIN qui a étudié la biologie de ce ver et nous a très aimablement indiqué la station du Boulonnais.

c) Diagnose

Trophozoïte avec une région antérieure dilatée, atteignant 400 μ de longueur. Parasite intestinal de Nereis irrorata.

Lieu de récolte : Wimereux (Pointe aux Oyes), Penpoull (Roscoff).

4 - Lecudina pelmatomorpha n. sp. parasite de Perinereis marionii Aud. et M. Edwards

Les P. marionii provenant de la région de Cherbourg sont très souvent parasités par une petite Lecudina (160 μ x 30 à 35 μ).

a) Observations

Le trophozoïte, petit, rappelle la forme d'une semelle (Pl. XII, fig. c et d) et constitue un matériel de choix pour l'étude de l'ectoplasme et de l'endoplasme sur le vivant.

La région antérieure ectoplasmique très développée prend, suivant la pression de l'endoplasme, une forme dilatée ou conique. Au centre de l'endoplasme granuleux, riche en paraglycogène, on remarque le noyau généralement ovoïde mais se déformant à la suite des mouvements de l'endoplasme. Dans le nucléoplasme clair, baignent un ou deux caryosomes sphériques, denses, où l'on peut distinguer des vacuoles plus claires (Pl. XII, fig. e).

La surface de la Grégarine montre de très nombreux plis épicytaires (Pl. XII, fig. d et f) parcourus par des mouvements ondulatoires.

b) Discussion

Par sa petite taille, sa région ectoplasmique antérieure développée, cette Grégarine constitue un matériel remarquable pour l'étude des mouvements des plis épicytaires. Elle se distingue de L. pellucida par son aspect moins piriforme et plus allongé rappelant celui d'une semelle. Pour définir les Grégarines de P. marionii, il nous semble donc raisonnable de créer une espèce nouvelle Lecudina pelmatomorpha.

c) Diagnose

Trophozoïte petit (150 μ x 35 μ) présentant nettement une région ectoplasmique antérieure plus ou moins conique. Parasite intestinal de Perinereis marionii.

5 - Lecudina platynereidis n. sp. parasite de Platynereis massiliensis Moquin-Tendon 1869

Les Platynereis massiliensis récoltés dans les cystoseires du chenal de l'Île Verte (Roscoff) sont fréquemment parasités par une Lecudina qui a fourni des renseignements intéressants sur la syzygie et l'enkystement.

a) Observations

Par compression entre lame et lamelle, il est aisé de vérifier si le ver est parasité ou non. En général, les trophozoïtes allongés et minces (Pl. XIII, fig. a) mesurent entre 250 et 400 μ de longueur pour une largeur de 40 à 60 μ . La région ectoplasmique antérieure présente un étranglement qui délimite une partie globuleuse et une partie évasée qui reposent sur l'endoplasme (Fig. 13 a). La partie globuleuse présente au sommet le mucron où l'on note suivant les périodes, une dépression ou au contraire une évagination sphérique plus ou moins développée (Pl. XIII, fig. b). A une dizaine de microns du sommet, on voit sur les côtés des stries régulières perpendiculaires à l'axe du trophozoïte : les myonèmes circulaires (Fig. 13 b). Ces derniers apparaissent nettement après coloration au vert de méthyle acétique ou au protargol. La région antérieure présente des mouvements qui la font basculer d'un côté puis de l'autre (Pl. XIII, fig. c). L'endoplasme granuleux, riche en grains de paraglycogène, contient un noyau (20 μ x 17 μ) renfermant un ou deux caryosomes sphériques (Pl. XIII, fig. b). Le noyau est très visible chez les jeunes trophozoïtes.

Il arrive de trouver des trophozoïtes plus massifs qui pourraient rappeler les L. pellucida ou L. tuzetae. Nous ne savons pas s'il s'agit de formes appartenant à la croissance de Lecudina platynereidis ou s'il s'agit d'une autre espèce (voir discussion).

La syzygie est frontale (Fig. 13 c et Pl. XIII, fig. d). Elle s'effectue entre des sporadins de taille soit sensiblement identique (par exemple 250 μ environ), soit différente (440 μ pour l'un, 330 μ pour l'autre). Les deux régions antérieures sont intimement accolées (Fig. 13 d). Il est possible de voir un pédoncule terminé par une dilatation globuleuse de l'un des conjoints s'enfoncer dans la région antérieure de l'autre selon un mode d'attache de type "bouton pression" (Pl. XIII, fig. e). Le diverticule globuleux mesure 23 μ à 27 μ sur 13 μ ; le pédoncule a un diamètre de 7 μ environ.

Par rapport à ce système d'attache dont on conçoit l'efficacité, les deux sporadins accomplissent des mouvements rapides. On note tout d'abord des mouvements de flexion des parties caudales (Fig. 13 e) et des mouvements complexes à l'intérieur des Grégarines. Il en résulte un épaississement du

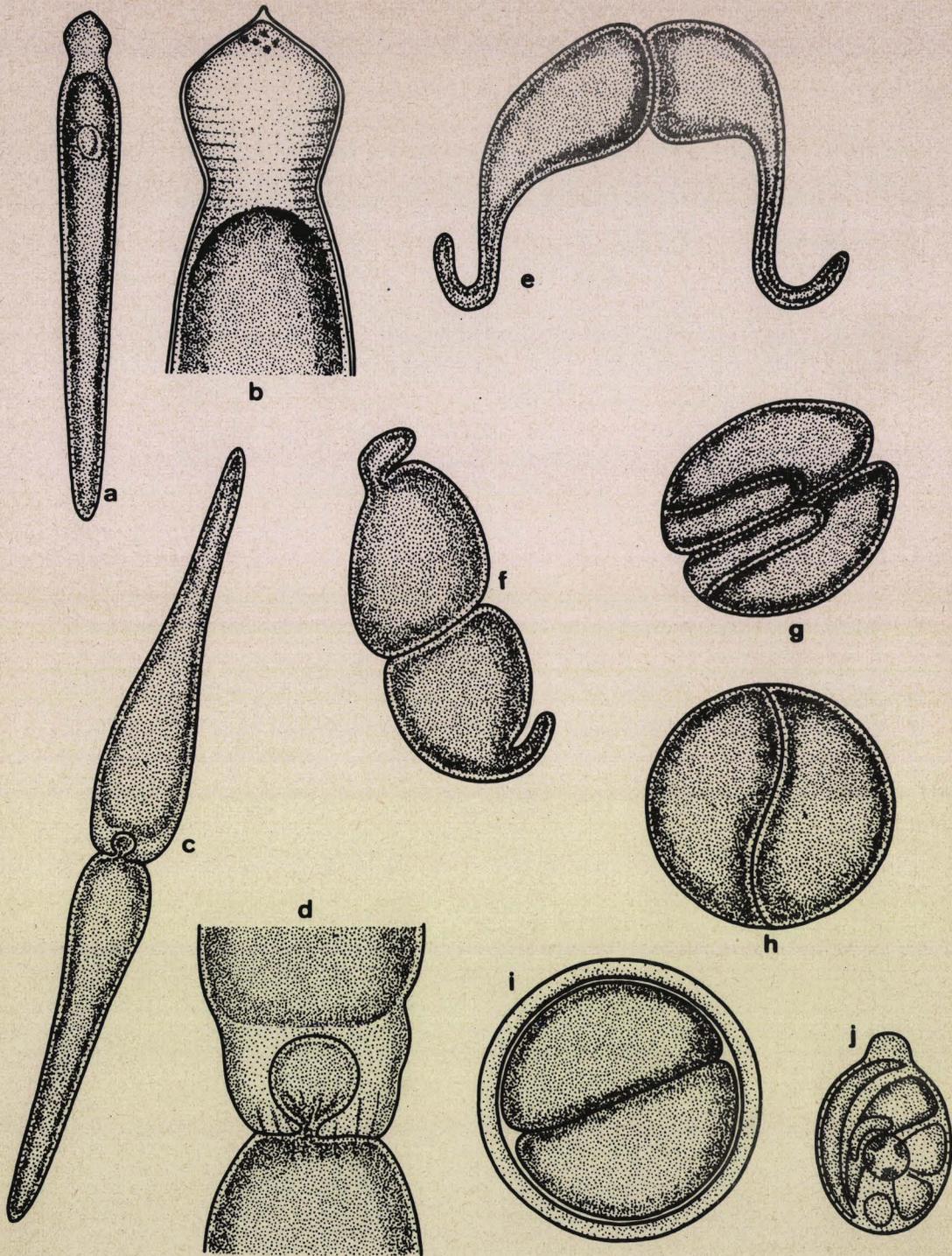


FIGURE 13 - LECUDINA PLATYNEREIDIS.

a, trophozoïte ; b, région antérieure du trophozoïte ; c, syzygie ; d, système d'attache des deux sporadins ; e à h, l'enkystement ; i, gamétokyste ; j, sporocyste.

a, c, e, f, g, h, i, X 250.

b, d, X 750.

j, X 2300.

BUS
LILLE

couple par tassement en direction des régions antérieures (Fig. 13 f). Ce tassement dure environ une heure. Les parties caudales se réduisent, le couple s'arrondit (Fig. 13 g) et un mouvement de rotation analogue à celui observé au cours de l'enkystement de L. tuzetae s'établit.

Au bout d'une heure et demie, on obtient un kyste sphérique où l'on observe les deux gamontes animés de mouvements de rotation opposés (Fig. 13 h). Les mouvements de rotation se poursuivent pendant plusieurs heures. Cinq à six heures après le début de la syzygie, on observe un gamétokyste sphérique où les gamontes de 125 μ de diamètre sont entourés d'une coque épaisse gélatineuse et transparente d'environ 20 μ d'épaisseur. Une dizaine d'heures après, la paroi kystique est surtout constituée d'une couche très réfringente de 5 μ tandis que la couche gélatineuse est réduite et devient difficile à observer. A ce stade (Fig. 13 i), le kyste mesure 130 μ environ (120 μ pour les gamontes, 10 μ pour les deux épaisseurs de coque).

Nous n'avons pas réussi à obtenir la danse des gamètes. Le sporokyste ~~sphérique~~ contient de très nombreuses spores typiques du genre Lecudina. Elles sont ovoïdes avec un épaississement en forme de goulot. Elles mesurent 6,5 à 7 μ de long pour 4 à 4,5 μ de large et possèdent un reliquat cytoplasmique de 1,5 à 2^µ de diamètre (Fig. 13 j).

b) Discussion

Chez Platynereis dumerilii Aud. et M. Edw., il existe également des Grégarines qui présentent deux aspects, l'un allongé, l'autre trapu (J. THEODORIDES, communication personnelle). Dans ce dernier cas, la morphologie rappelle celle de Lecudina pellucida parasite de Perinereis cultrifera.

Dans nos observations chez Platynereis massiliensis, la Grégarine allongée donne des spores caractéristiques du genre Lecudina. La syzygie frontale, du type "bouton-pression", constitue un caractère particulier par rapport à L. pellucida. D'autre part, ses dimensions sont plus grandes que celle de L. krusadiensis, parasite de Platynereis abnormis Horst, décrite par GANAPATI 1946 b en Inde. Nous considérerons cette Grégarine comme espèce nouvelle et nous la nommerons Lecudina platynereidis n.sp. Elle correspond probablement à la forme allongée, trouvée par J. THEODORIDES chez Platynereis dumerilii.

Les Grégarines trapues peuvent représenter soit une autre espèce, soit une forme de croissance de L. platynereidis. L'examen critique des observations de J. THEODORIDES et des nôtres permettra peut-être de résoudre ce problème. P. massiliensis fut considéré pendant longtemps comme une forme de Platynereis dumerilii, il semble donc intéressant de savoir si les parasites sont identiques ou non chez ces deux Annélides.

c) Diagnose

Grégarine intestinale allongée atteignant 450 μ de long. Syzygie frontale avec une association ^{de} type "bouton-pression". Gamétokyste et sporokyste sphériques de 130 μ de diamètre. Spores ovoïdes de 6,5 à 7 μ x 4,5 à 5 μ , présentant un épaississement à l'un des pôles. Parasite intestinal de Platynereis massiliensis.

Lieu de récolte : Chenal Ile Verte (Roscoff).

6 - Lecudina leptonereidis Schrevel 1963 parasite de
Leptonereis glauca Claparède

Avant l'hiver rigoureux 1963-1964, la récolte des Leptonereis glauca à partir de crampons de Laminaires du Fort de Croy à Wimereux était particulièrement facile. Ces Annélides contenaient une Grégarine intestinale que nous avons décrite sous le nom de Lecudina leptonereidis (Schrevel 1963 b). Nous avons également trouvé cette Grégarine à Roscoff, en particulier au cours de pêches de nuit, au-dessus des Laminaires au Rannic en Juillet 1962.

a) Observations

Le trophozoïte allongé peut atteindre 250 μ de longueur pour 60 μ de largeur. La région antérieure claire, ectoplasmique, a une forme conique avec un étranglement plus ou moins net (Pl. XIII, fig. f). Elle peut se déformer en basculant sur le côté (Pl. XIII, fig. g). Ces mouvements de la région antérieure sont indépendants des mouvements de translation du trophozoïte : les deux types pouvant se produire simultanément. La première moitié antérieure de la Grégarine présente souvent un épaississement de la zone périphérique claire qui ne semble pas correspondre à l'ectoplasme mais à la paroi. Dans l'endoplasme de la région terminale du trophozoïte, on note

souvent quelques petites vacuoles claires.

Situé dans la région antérieure, le noyau prend des formes variées (Pl. XIII, fig. ^f et g). Il contient de 1 à 3 caryosomes.

Les sporokystes sont sphériques, toutefois il peut exister une constriction plus ou moins forte au niveau de l'ancien plan de séparation des gamontes. Ils mesurent entre 100 et 130 μ de diamètre. Ils sont limités par une paroi kystique transparente, très réfringente de 3 à 4 μ d'épaisseur, identique à celle des sporokystes de L. tuzetae. A 2 μ environ de cette couche, on trouve les spores ^{maintenues} par une fine membrane qui épouse leur forme.

L'hiver rigoureux de 1962-1963 nous a malheureusement empêché de suivre l'évolution de cette espèce à Wimereux, de sorte que nous n'avons pas réussi à examiner les spores.

b) Discussion

Le rapprochement entre L. platynereidis et L. leptone-reidis peut être envisagé. Cependant, les trophozoïtes de L. leptone-reidis sont plus petits et présentent souvent un épaississement de la paroi que nous n'avons jamais observé chez L. platynereidis. Les Platynereis massiliensis sont surtout récoltés dans les cystoseires, les Leptonereis glauca dans les crampons de Laminaires, à un niveau plus bas. L'absence de Platynereis massiliensis dans le Boulonnais constitue un autre argument pour penser que les deux hôtes ne fréquentent pas le même milieu. Il semble donc raisonnable, dans l'immédiat, de conserver les deux espèces.

c) Diagnose

Trophozoïte allongé atteignant 250 μ de long sur 60 μ de large. Épaississement fréquent de l'épicyte. Gamétokyste sphérique de 100 à 130 μ de diamètre. Parasite intestinal de Leptonereis glauca Clap.
Lieu de récolte : Wimereux, Roscoff (Rannic).

B - Lecudina heterocephala (Ming.) 1893, parasite de Nephtys hombergii
Audouin et M. Edwards

En 1893, MINGAZZINI décrit Ophioïdina heterocephala chez Nephtys scolopendroïdes. La synonymie de Ophioïdina et de Lecudina (CAULLERY et MESNIL, 1914 et KAMM, 1922) celle de N. scolopendroïdes et de N. hombergii

(FAUVEL 1923), nous amènent à appeler Lecudina heterocephala (Ming.), les Grégarines intestinales que nous avons observées à diverses reprises dans les Nephtys hombergii récoltés à Wimereux et à Roscoff.

a) Observations

L. heterocephala constitue pour le genre Lecudina une des espèces les plus intéressantes. Les trophozoïtes sont "gigantesques". Ils sont minces et atteignent jusqu'à 1,5 mm pour une largeur qui n'excède pas 60 μ (Fig. 14 a). Les trophozoïtes rencontrés chez des Nephtys des herbiers de l'Aber de Roscoff présentent en outre une sorte d'articulation qui permet d'identifier un appendice antérieur de 120 à 180 μ de long et 25 à 30 μ de diamètre. Nous allons examiner en détail les trois régions : l'appendice antérieur, "l'articulation", le corps du trophozoïte.

L'appendice antérieur est appliqué contre les cellules intestinales par l'intermédiaire d'un mucron. Le mucron comprend un "bouton adhésif" ou plateau supérieur, circulaire de 10 μ de diamètre ^{qui} repose sur un bourrelet, en forme de bague, constitué par l'épaississement de l'épicyte (Fig. 14 b). Seul est enfoncé le bouton, la bague sert de butée. L'axe de cet appendice présente une zone de cytoplasme clair de 15 μ de long et d'un diamètre de 1,3 à 2 μ qui s'élargit légèrement dans sa partie supérieure, donnant la forme d'un entonnoir à l'ensemble (Fig. 14 c). Le reste de l'appendice comprend une fine couche ectoplasmique périphérique de 0,8 μ d'épaisseur entourant l'endoplasme riche en grains ^{de} paraglycogène.

Sous le mucron apparaît une vingtaine de plis épicytaires (Fig. 14 b). Le nombre de plis augmente rapidement soit par ramification dichotomique, soit par apparition de nouveaux plis entre les anciens. L'épaisseur de l'épicyte est importante et atteint 2,5 μ .

"L'articulation" est la zone de jonction entre l'appendice antérieur mince et le corps du trophozoïte qui s'élargit brusquement (Fig. 14 d). Elle se caractérise par la diminution brutale de l'épaisseur de l'épicyte qui de 2,5 μ au niveau de l'appendice passe à 1 μ dans le corps du trophozoïte (Pl. XIV, fig. a). La couche ectoplasmique sous épicytaire ne subit pas une telle réduction et conserve une épaisseur de 0,8 μ .

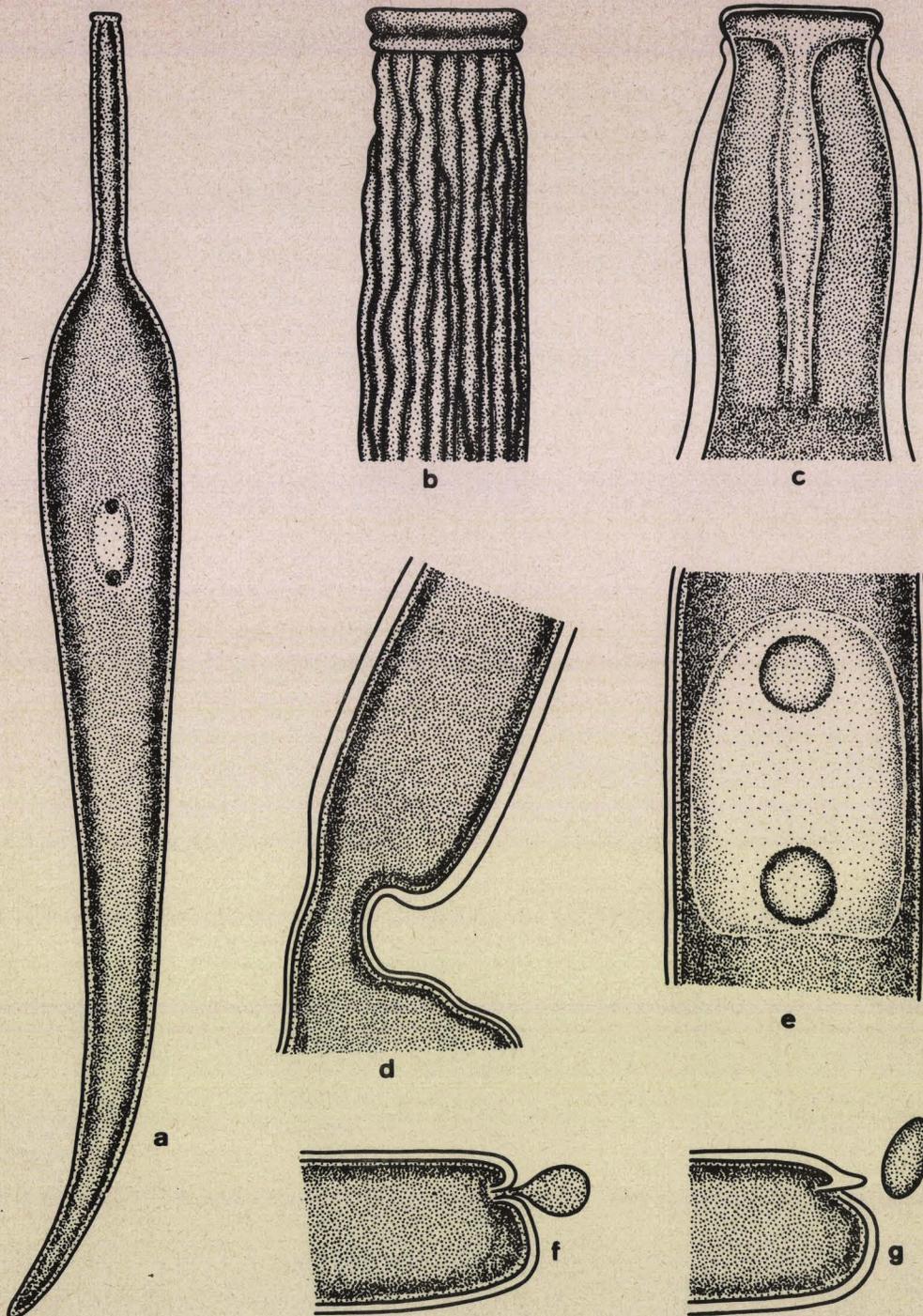


FIGURE 14 - LECUDINA HETEROCEPHALA.

a, trophozoïte ; b et c, mucron et région antérieure ; d, jonction entre l'appendice antérieur et le corps du trophozoïte ("articulation") ; e, noyau ; f et g, extrémité postérieure.

a, X 300 ; b et c, X 2300 ; d à g, X 1200.

Il existe souvent une constriction importante au niveau de cette région. L'articulation permet au corps du trophozoïte de basculer par rapport au pédoncule fixe.

Il arrive que cet appendice antérieur casse, le sommet du trophozoïte est alors arrondi et montre au début la zone d'insertion.

Chez les Nephtys récoltés à Wimereux, nous avons observé des trophozoïtes légèrement plus petits (600 à 700 μ) dont la région antérieure ne présentait pas l'appendice antérieur.

Dans la région moyenne ou dans le tiers antérieur, on observe le noyau. Il est ovale (48 x 40 μ) ou en forme de croissant plus ou moins accentué selon la compression exercée par l'endoplasme (Pl. XIV, fig. b). L'axe du noyau est longitudinal et la compression a lieu dans le sens de cet axe. Le noyau contient généralement deux caryosomes sphériques de 15 μ de diamètre (Fig. 14 e).

Dans l'extrémité postérieure du trophozoïte, l'endoplasme riche en matières de réserves renferme parfois des petites vacuoles. Il nous a été possible d'observer l'expulsion d'un amas granuleux à l'extrémité postérieure du trophozoïte (Fig. 14 f et g). Cet amas, d'abord relié par un petit pédoncule, se détache, montrant nettement les lèvres de la dépression.

Nous avons observé le déplacement de deux grandes Grégarines (l'une de 1500 μ , l'autre^{de} 1700 μ) solidement accolées par leur région antérieure mais nous ne pouvons affirmer qu'il s'agit d'une syzygie car elles ne se sont pas enkystées.

Nous avons récolté un gamétokyste sphérique. Les gamontes de 480 μ étaient entourés par une épaisse paroi kystique de 70 μ . L'ensemble mesurait donc 600 μ environ. Conservé en saumure, il n'a pas évolué.

b) Discussion

La Grégarine observée correspond à la description de L. heterocephala (Ming.) Kamm (MINGAZZINI 1893). La taille gigantesque de cette Grégarine pour le genre Lecudina et d'une façon générale pour les Grégarines intestinales d'Annélides Polychètes, mérite d'être soulignée. L'existence de la particularité morphologique que nous dénommons "articulation" assure une

certaine liberté au trophozoïte tout en permettant la succion de substances nutritives par le mucron (Chapitre VI).

En attendant l'examen des spores qui confirmera définitivement l'appartenance de cette Grégarine au genre Lecudina, il nous paraît logique de conserver le nom de L. heterocephala. Nous ne ferons aucune distinction pour les formes pourvues ou non d'un appendice antérieur, étant donné que la formation et la durée de fonctionnement de ce dernier ne sont pas connues.

c) Diagnose

Grand trophozoïte mince pouvant atteindre 1,5 millimètre. Présence fréquente d'un appendice antérieur. Gamétokyste sphérique atteignant 600 μ de diamètre. Parasite intestinal de Nephtys hombergii.
Lieu de récolte : Wimereux, Roscoff (Aber, Penpoull, St Efflam).

C - Lecudina legeri (Brasil) 1909 parasite de Glycera convoluta
Keférstein et G. alba (Rathke)

BRASIL 1909 décrit une Grégarine dans l'intestin des Glycera convoluta Kef. récoltés à Luc-sur-Mer (Calvados) et précise la rareté de l'infection. Nous avons retrouvé ce parasite à Roscoff.

a) Observations

Les dimensions indiquées par BRASIL (100 μ x 25 μ) nous paraissent petites. On observe fréquemment des individus de 160 μ x 35 μ) mais certains atteignent 400 à 450 μ x 45 à 50 μ . Au sommet de la région antérieure, on distingue souvent une sorte de petit tube, reliquat de l'appareil de fixation décrit par BRASIL (1909). Le noyau ovoïde (25 μ x 15 μ) est disposé à peu près à la moitié de la longueur. Les mouvements de translation et ceux de la région antérieure sont comparables à ceux décrits chez les Lecudina allongées de type L. leptonereidis et L. platynereidis.

Les sporokystes sphériques de 120 μ de diamètre avec une coque kystique réfringente de 6 μ d'épaisseur ont donc des dimensions plus importantes que celles signalées par BRASIL (45 μ). Les sporocystes entourés d'une fine membrane sont ovoïdes (8 à 9 μ x 6,5 à 7 μ) avec un goulot à l'un des pôles.

Ces spores comparables à celles décrites chez les autres Lecudina contiennent 8 sporozoïtes entourant un reliquat cytoplasmique sphérique de 2,7 μ de diamètre.

b) Discussion

En décrivant les sporokystes et les spores, nous complétons la description de BRASIL (1909) et vérifions ainsi l'appartenance de cette Grégarine au genre Lecudina.

La présence de ces Grégarines, chez G. convoluta et G. alba ne peut surprendre car les différences de morphologie et de biotope de ces deux Annélides Polychètes sont minimales (coloration et longueur des branchies).

c) Diagnose

Trophozoïte allongé de 200 μ de long en général mais pouvant mesurer 400 à 450 μ de long sur 50 μ de large. Présence fréquente d'un reliquat d'appareil de fixation sous forme d'un petit tube. Sporokyste sphérique de 120 μ de diamètre environ, avec une paroi kystique réfringente. Spores avec un goulot à l'un des pôles de 8 à 9 μ x 6,5 à 7 μ . Huit sporozoïtes entourant un reliquat cytoplasmique sphérique de 2,7 μ . Parasite intestinal de Glycera convoluta Keff. et Glycera alba Rath.

Lieu de récolte : Roscoff (Sable de l'Aber, Herbiers des Bourguignons, Penpoull).

D - Lecudinidae parasites des Eunicidae

1 - Lecudina elongata (Mingazzini), 1891 parasite de Lumbriconereis impatiens Clap.

Découverte et décrite par MINGAZZINI (1891) sous le nom d'Ophioïdina elongata, cette Grégarine intestinale du Lumbriconereis impatiens Clap. a reçu successivement le nom de Doliocystis elongata (TABBE 1899, BRASIL 1908-09), puis Lecudina elongata (CAULLERY et MESNIL 1914, KAMM 1922). Grâce à l'étude cytologique remarquable de BRASIL (1909) elle a servi jusqu'à l'apparition de la microscopie électronique, pour définir les structures des régions antérieures et corticales des Grégarines Mono et Dicystidées.

Les Lumbriconereis impatiens récoltés avant l'hiver 1962-1963 dans le Boulonnais (Fort de Croy, Wimereux ; Fort de l'Heurt, Portel) étaient toujours intensément parasités. Dans les herbiers de la Baie de Morlaix, les L. impatiens sont régulièrement infestés.

a) Observations

Les stades de croissance de L. elongata décrits par BRASIL (1909) ont été retrouvés (Pl. XIV, fig. c). Le trophozoïte adulte, allongé, cylindrique sauf à l'avant où un léger étranglement délimite une région antérieure plus ou moins dilatée, atteint 500 à 600 μ de longueur pour une largeur de 40 μ environ (Pl. XIV, fig. d). L'extrémité antérieure de nature ectoplasmique montre dans son axe une zone hémisphérique claire apparaissant finement striée après coloration à l'hématoxyline d'Heidenhain tandis que sur la périphérie on distingue des myonèmes circulaires (Pl. XIV, fig. d). Cette zone centrale claire est en relation avec le mucron où fait saillie une vésicule sphérique plus ou moins gonflée. Cet appareil sert à la fixation du parasite, toutefois il ne nous semble pas nécessaire d'accorder à sa forme, une valeur aussi importante que le suggérerait BRASIL (1909). Selon cet auteur, l'appareil de fixation ou mucron serait un bouton chez L. elongata, un filament rhizoïde chez L. legeri, parasite de Glycera convoluta. Il arrive fréquemment que L. elongata enfonce dans l'épithélium intestinal (Pl. XIV, fig. e) un prolongement comparable au filament rhizoïde de L. legeri.

L'ectoplasme développé dans la région antérieure, constitue un manchon de faible épaisseur autour de l'endoplasme granuleux. Au tiers antérieur, on note un noyau de forme variable contenant de 1 à 7 caryosomes plus denses que le nucléoplasme, sur le vivant.

Les gamétokystes sphériques mesurent entre 75 et 130 μ de diamètre. Ils sont entourés par une coque kystique de 10 μ d'épaisseur. L'action du rouge neutre dilué (Pl. XIV, fig. g) de même, la coloration de Mallory (Pl. XIV, fig. h) montrent une différence de coloration entre les deux gamontes, comparable à celle déjà signalée précédemment (LEGER et DUBOSCQ 1909, MULH 1923, JOYET-LAVERGNE 1926, GOHRE 1943).

L'étude histologique des gamétokystes montre parmi les gamètes deux types d'éléments : les uns sensiblement piriformes de $9 \mu \times 6 \mu$, les autres sphériques de 5μ de diamètre. Il est toutefois impossible dans les conditions d'observation, de voir un flagelle.

Les sporokystes mûrs contiennent de nombreuses spores renfermant huit sporozoïtes. Les spores sont ovales avec à l'un des pôles un petit goulot par où se fait la déhiscence. Elles mesurent 7μ sur 5μ et contiennent un reliquat de 3μ de diamètre. Les sporozoïtes allongés sont arqués, et présentent un noyau clair.

b) Discussion

La description des kystes et des spores vient confirmer l'appartenance de cette Grégarine au genre Lecudina Kamm. De ce cycle, nous insisterons sur deux points : le premier concerne l'appareil de fixation, l'autre l'anisogamie.

La détermination spécifique dans le genre Lecudina ne peut être basée sur l'appareil de fixation, contrairement à l'avis de BRASIL (1909) qui lui avait attribué une importance exagérée. L'appareil de fixation de L. elongata peut prendre, en effet, un aspect de filament rhizoïde et devenir comparable, à celui de L. legeri.

Dans l'étude de l'anisogamie, les techniques histologiques (coupes à la paraffine et non frottis) ne constituent pas une méthode sûre pour affirmer l'absence d'un flagelle, elles définissent au plus la forme des gamètes. Leur emploi risque de devenir inintéressant dans l'étude du genre Lecudina pour plusieurs raisons :

- Les observations sur le vivant convenablement menées permettent de définir rapidement et sans aucune ambiguïté l'anisogamie avec gamète mâle flagellé.

- La microscopie électronique constitue une méthode d'investigation qui décèle indéniablement la présence ou l'absence de flagelle. L'enrobage dans les résines époxy reste cependant une difficulté majeure.

- La très belle et minutieuse étude de LEGER (1904) sur les gamètes de Stylocephalus, représente une limite que seule la microscopie électronique peut dépasser.

c) Diagnose

Trophozoïte allongé, cylindrique de 500 à 600 μ de long sur 40 μ de large. Région antérieure présentant souvent l'apparence d'une tête globuleuse. Kystes sphériques de 75 μ à 130 μ de diamètre. Sporocyste ovoïde épaissi à un pôle, 7 μ de long sur 5 μ de large, contenant 8 sporozoïtes et un reliquat cytoplasmique. Parasite intestinal de Lumbriconereis impatiens Claparède.

Lieu de récolte : Boulonnais (Fort de l'Heurt et Fort de Croy). Aber de Roscoff.

2 - Lecudina polymorpha Schrevel (1963) parasite de Lumbriconereis latreilli Aud. et M. Edw.

Les Lumbriconereis latreilli des herbiers de Roscoff sont parasités par une Grégarine intestinale que REICHENOW (1932) avait assimilée à Lecudina elongata. Pour distinguer les formes variées dont certaines n'ont jamais été observées chez L. elongata, il nous a paru nécessaire de créer en 1963 une espèce nouvelle Lecudina polymorpha (Schrevel 1963 b). Nous allons compléter nos observations puis discuter de la validité de cette espèce.

a) Observations

même

Dans un ver, il est possible d'observer plusieurs formes de trophozoïtes. Il existe d'abord des Grégarines que l'on peut qualifier, par rapport aux autres, de petites. Elles mesurent 200 μ de long avec une région antérieure ectoplasmique, conique de 50 μ , prolongée au sommet par un long appendice cylindrique de 35 μ (Fig. 15 c). Cet appendice montre une douzaine de plis épicytaires sur chaque face (Fig. 15 d). L'intérieur de cet appendice est le prolongement de l'ectoplasme de la région conique antérieure (Fig. 15 e). Ce pédoncule n'est pas sans rappeler celui de L. heterocephala.

Dans l'endoplasme on distingue un noyau ovoïde (28 μ x 22 μ) avec deux ou trois caryosomes. A côté de ces trophozoïtes, nous trouvons fréquemment des Grégarines de 500 μ dont la forme résulterait de celle d'une sphère diamétralement coiffée de deux cônes de hauteurs inégales (Fig. 15 a). L'ectoplasme

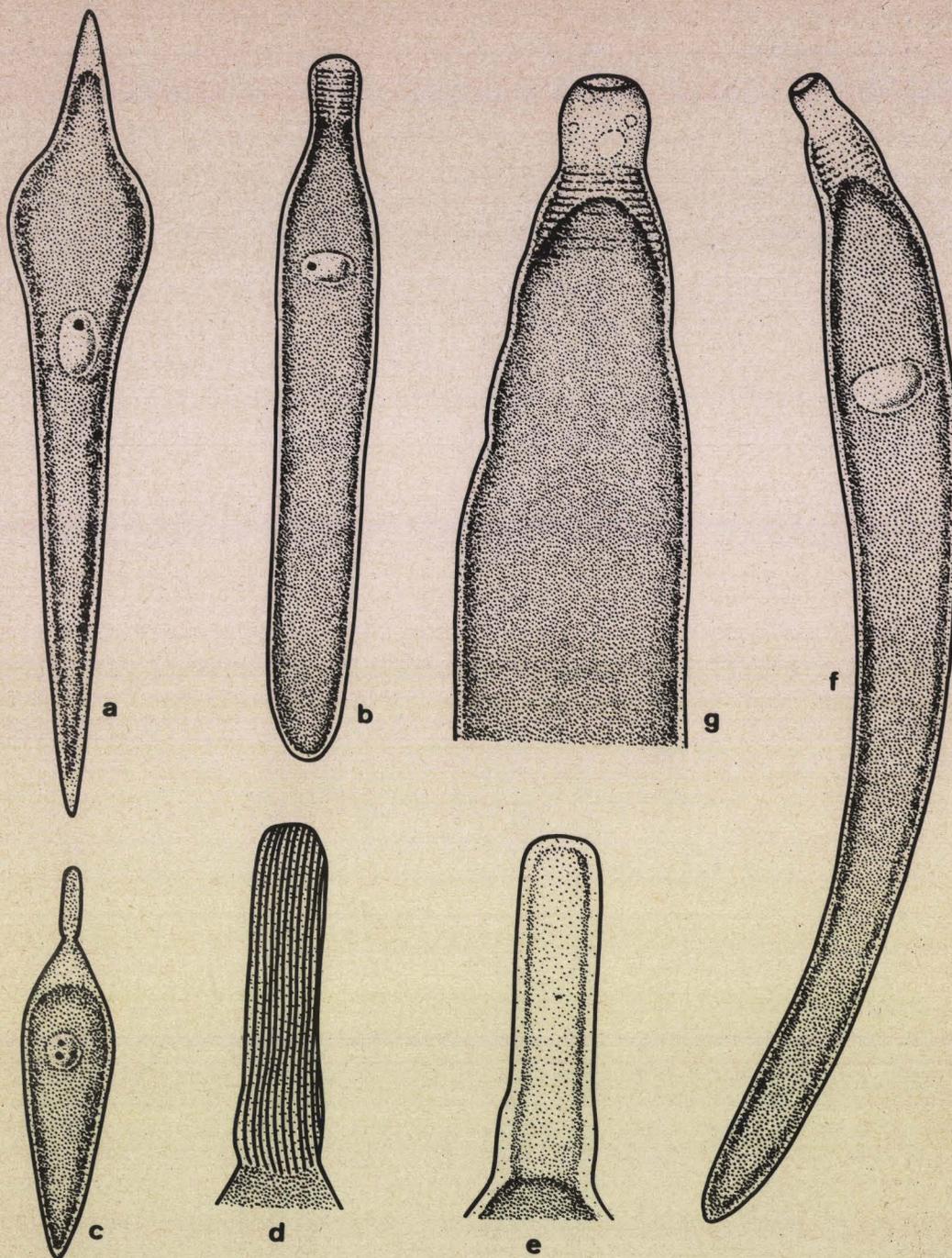


FIGURE 15 - LECUDINIDAE PARASITES D'EUNICIDAE

a, b, c, Lecudina polymorpha ; d et e, détail d'une région antérieure de L. polymorpha ;
 f, Lecudina arabellae ; g, région antérieure de L. arabellae.

a, b, c, f, X 300.

g, X 600.

d et e, X 1500.

BUS
LILLE

est surtout visible au sommet du cône antérieur plus petit. Le noyau ovoïde ($34 \mu \times 28 \mu$) contient un caryosome sphérique de $11,4 \mu$, il se situe dans le cône postérieur plus grand.

Enfin, il existe une dernière forme rappelant L. elongata mais plus massive, avec une dilatation sous la région ectoplasmique antérieure en forme de cloche et une région caudale également élargie (Fig. 15 b).

L'étude histologique montre des stades intraépithéliaux comme chez L. elongata et des trophozoïtes avec la structure classique : myonèmes circulaires, zone sidérophile finement striée correspondant au mucron (Pl. XIV, fig. f). Nous trouvons dans l'endoplasme des plages irrégulières (Pl. XIV, fig. f) dont l'interprétation sera envisagée dans le chapitre de la nutrition (Chapitre VI).

Le gamétokyste sphérique mesure entre 120 et 150 μ . La paroi kystique montre trois couches comme chez L. tuzetae :

- la couche interne, fine appliquée au gamonte ;
- la moyenne de 5 à 6 μ , très réfringente ;
- l'externe de 25 à 30 μ , d'aspect gélatineux, qui se résorberait.

Les sporokystes contiennent de nombreuses spores ovoïdes ($9 \mu \times 7 \mu$) avec un pôle épaissi en goulot. Huit sporozoïtes entourent un reliquat cytoplasmique sphérique de $3,6 \mu$ de diamètre. Les sporozoïtes sont allongés et minces, arqués dans la région antérieure. Ils atteignent 10 à 11 μ de long pour 0,9 à 1 μ de large. Ils oscillent sur eux-mêmes. Certains avancent sporadiquement, en faisant d'amples torsions.

b) Discussion

La validité de L. polymorpha créée, rappelons-le, pour signaler les différents aspects des trophozoïtes rencontrés chez Lumbriconereis latreilli, peut être discutée en fonction de sa ressemblance avec L. elongata (THÉODORIDES, communication personnelle). Nous avons figuré (SCHREVEL, 1963 b) et dans la figure 15 b des trophozoïtes dont l'homologation avec L. elongata est probable. Cependant, il reste le cas des Grégarines aux extrémités coniques très accentuées qui doivent, selon nous, être distinguées de L. elongata. Cela paraît souhaitable car elles se rencontrent régulièrement. Les kystes et

les spores sont très comparables chez les Lecudinidae (seules les dimensions semblent varier et encore essentiellement dans le cas des kystes); il faudrait donc obtenir la zyzygie de L. elongata et celle de L. polymorpha pour savoir s'il faut ou non maintenir les 2 espèces ou créer une variété de L. elongata pour les Grégarines intestinales du Lumbriconereis latreilli.

En attendant des précisions complémentaires aux remarques formulées ci-dessus, nous maintiendrons l'espèce L. polymorpha.

c) Diagnose

Trophozoïtes de formes variées, allongés avec une région antérieure conique reposant sur une zone dilatée atteignant 500 μ de long. Gamétokyste sphérique de 120 à 150 μ . Spores ovoïdes (9 μ x 7 μ) avec un pôle épaissi. Huit sporozoïtes entourant un reliquat cytoplasmique sphérique de 3,6 μ de diamètre. Parasite intestinal de Lumbriconereis latreilli.

Lieu de récolte : Herbiers de la région de Roscoff.

3 - Lecudina arabellae Hoshide 1958 parasite d'Arabella iricolor Montagu

Nous avons décrit cette espèce en 1963 b, sans avoir eu connaissance du travail d'HOSHIDE (1958) dans lequel elle était décrite chez des Arabella iricolor du Japon.

a) Observations

Les Arabella iricolor de Tisaoson (Roscoff) sont parasitées par une grande Grégarine intestinale (Fig. 15 f). Le trophozoïte cylindrique, parfois fusiforme, atteint 700 à 800 μ de longueur pour une largeur de 80 μ à 130 μ . La région antérieure est un gros mamelon de nature ectoplasmique dans lequel on observe de grosses vacuoles claires de plusieurs μ (Fig. 15 g). Le sommet ou mucron est plus ou moins déprimé. Les myonèmes circulaires sont surtout visibles à la périphérie de l'ectoplasme antérieur (Fig. 15 g). L'endoplasme très dense contient, dans le tiers antérieur, un noyau voïde (35 μ x 28 μ) renfermant plusieurs caryosomes colorés par le bleu de Toluidine mais où l'on décèle des zones vacuolaires éosinophiles.

Le gamétokyste sphérique mesure environ 300 μ de diamètre. Il présente une paroi kystique transparente de 25 à 30 μ où l'on distingue, au début, deux couches importantes : l'une gélatineuse externe, l'autre plus réfringente interne. Une troisième membrane très fine entourant les gamontes est difficilement visible.

b) Discussion

La description d'Hoshide (1958) et la nôtre correspondent à la même espèce. Il n'existe pas de problème de systématique car les deux noms proposés sont identiques. Il est intéressant de constater qu'une même espèce de Grégarine, parasitant des Arabella iricolor, de régions géographiques très éloignées (Japon et France), ne présente apparemment pas de différence morphologique.

La taille et l'aspect plus massif de cette Lecudina la distinguent de L. elongata et L. polymorpha.

c) Diagnose

Trophozoïte allongé, cylindrique ou fusiforme, atteignant 700 à 800 μ de long. Gamétokyste sphérique de 300 μ de diamètre. Parasite intestinal d'Arabella iricolor Montagu.

Lieu de récolte : Roscoff (Tisaoson).

E - Discussion générale sur les Lecudinidae

Les Nereidae, Nephtyidae, Glyceridae, Eunicidae sont les hôtes fréquents des Grégarines intestinales du genre Lecudina Mingazzini 1891. Il n'est pas possible, comme chez les Selenidiidae, de dégager des groupes homogènes par famille d'Annélides Polychètes. En effet, il n'existe que deux formes de trophozoïtes, soit massives (L. pellucida, L. tuzetae, L. pelmatomorpha), soit allongées (L. defretini, L. elongata, L. heterocephala). En outre, la vitesse des mouvements de glissement ne présente pas de variation importante.

Les discussions antérieures sur le genre Lecudina (BRASIL 1908, MACKINNON et RAY 1931, GANAPATI 1946 a) ont porté essentiellement sur la nature Monocystidée ou Dicytidée des trophozoïtes. BRASIL (1908) définit

clairement le rôle de l'appareil de fixation qui fonctionne comme une ventouse et ne pénètre pas dans le tissu hôte. Il considère les Lecudina comme des Monocystidées, opinion qu'admettent CAULLERY et MESNIL (1914).

MINCHIN (1912), KAMM (1922), GANAPATI (1946 a) attribuent au genre Lecudina, une place intermédiaire entre les Monocystidées et les Polycystidées. Après l'étude ultrastructurale du mucron des Lecudinidae (Chapitre VI) et celui de l'épimérite de Sycia inopinata, parasite d'Audouinia tentaculata (Chapitre VII), nous préciserons la signification qu'il faut accorder aux termes Monocystidées, Dicytidées et Tricytidées.

La croissance des Lecudinidae semble se faire souvent dans l'épithélium intestinal. L'existence de Grégarines intraépithéliales au niveau du sinus sanguin périintestinal (L. elongata (BRASIL 1908, 1909 et ce travail), L. brasili (GANAPATI et AIYAR 1937), L. ganapatii (GANAPATI 1946 a), L. krusadiensis (GANAPATI 1946 b), L. tuzetae (ce travail)) semble vérifier cette hypothèse.

Nos observations permettent d'apporter quelques précisions à la reproduction sexuée.

La syzygie présente deux types d'accolement selon la forme allongée ou massive des trophozoïtes. Chez L. tuzetae, parasite de N. diversicolor et chez la Grégarine intestinale de N. pelagica identifiée à L. pellucida, espèces trapues, l'accolement d'abord latéral gagne ensuite la région antérieure. Il en résulte un gamétokyste où l'un des gamontes est profondément enfoncé dans le cytoplasme de l'autre. On ne peut donc parler de véritable syzygie frontale comme le font VIVIER, TUZET et ORMIERES (1964) à propos de L. pellucida.

Chez les trophozoïtes allongés, tels L. indica, parasite de Lycastis indica (GANAPATI 1946 b) et L. platynereidis, parasite de Platynereis massiliensis (ce travail), nous avons une syzygie frontale avec dans le second cas, un système d'attache du type bouton-pression.

Cette différence dans le mode d'accolement prendrait une importance particulière si les trophozoïtes trapus et les trophozoïtes allongés représentaient des genres différents.

Les mouvements de rotation des gamontes lors de la formation du gamétokyste, que nous avons décrits en particulier chez L. tuzetae, L. pellucida, L. platynereidis durent 2 à 3 heures et sont analogues à ceux signalés

chez L. ganapatii (GANAPATI 1946 a) et L. indica (GANAPATI 1946 b).

La paroi du gamétokyste comprend deux couches : une couche externe gélatineuse et une couche interne réfringente. Ces couches correspondraient à ce que GRASSE (1953) nomme respectivement épikyste et endokyste. Chez le sporokyste persiste essentiellement la couche réfringente.

L'élaboration des gamètes dans le genre Lecudina est plus longue que chez les Selenidiidae : elle demande 24 heures environ. L'anisogamie est indiscutable chez L. tuzetae. Les gamètes mâles piriformes possèdent un long prolongement flagelliforme mobile. Les gamètes femelles sont sphériques et dépourvus de flagelle. Ces observations jointes à celles de GANAPATI (1946 a et b) chez L. indica et L. ganapatii sont favorables à l'idée d'une anisogamie pour toute la famille des Lecudinidae.

La taille des kystes est variable et dépend des dimensions des trophozoïtes. De 100 μ de diamètre environ chez L. tuzetae, L. pellucida, les kystes atteignent 500 à 600 μ chez L. heterocephala. Les spores de L. tuzetae, L. pellucida, L. legeri, L. elongata, L. polymorpha sont petites, ovoïdes (7 μ x 5 μ) avec un épaississement en forme de goulot à l'un des pôles. Elles sont comparables à celles déjà décrites chez L. brasili, L. indica, L. ganapatii (GANAPATI et ATIYAR 1937, GANAPATI 1946 a et b).

En raison de la grande homogénéité de la reproduction sexuée, la détermination spécifique est complexe.

En comparant les trophozoïtes de forme trapue (L. tuzetae et L. pellucida) et les trophozoïtes de forme allongée (L. elongata, L. heterocephala), nous sommes frappés par la différence de longueur : 100 à 150 μ pour les premières, plus de 500 μ pour les secondes.

Comme la syzygie présente deux types d'accolement, on peut se demander s'il ne s'agirait pas de Grégarines appartenant à deux genres différents. L'argument généralement avancé pour ne pas les distinguer est l'aspect comparable des spores, or leur petite taille ne permet guère une observation aisée. Nous pensons donc qu'une étude ultrastructurale des trophozoïtes, surtout de la région antérieure et l'observation des spores au microscope électronique à balayage "Steréoscan" permettraient de trancher ce problème.

La dénomination spécifique d'une Lecudina doit tenir compte de la morphologie des trophozoïtes, et de l'hôte parasité. Imaginons que nous

utilisons une technique d'observation sur le vivant très limitée dans le temps ou encore une technique qui fixe immédiatement les trophozoïtes dès leur obtention; en dilacérant un tube digestif de Nereis diversicolor, par exemple, nous obtenons 2, 3 ou 5 formes de trophozoïtes ; suivant l'importance que nous accordons à l'aspect du trophozoïte, le nombre d'espèces pourrait varier de 1 à 5. Or, l'étude des stades sexués ne montre aucune différence dans les kystes et spores, par ailleurs, les schémas de la figure 10 expliquant la plasticité de Lecudina tuzetae sont en faveur d'une seule espèce. Cela ne veut pas dire que chez une espèce d'Annélide Polychète, il ne puisse pas exister deux, trois ou cinq espèces de Grégarines intestinales -Audouinia tentaculata prouve qu'il peut en exister au moins trois- mais nous pensons que dans le cas du genre Lecudina, il n'est pas raisonnable de dénombrer chez un même ver, plusieurs espèces en se basant uniquement sur les aspects des trophozoïtes fixés.

Aller à l'encontre de cette règle, c'est aboutir à la création d'une multitude d'espèces qui, nous en sommes convaincus, risquent dans un avenir plus ou moins proche, d'être supprimées.

F. - Conclusion

La grande homogénéité de la reproduction sexuée rend délicate la détermination spécifique dans le genre Lecudina. En dehors de certains caractères bien définis chez les trophozoïtes, il faut pour établir des espèces nouvelles, avoir recours aux critères relatifs à la forme, aux dimensions des trophozoïtes et à l'écologie des hôtes. Comme nous le verrons au chapitre XII, il convient d'accorder pour l'étude des Lecudinidae, une grande importance à la spécificité parasitaire.

CHAPITRE II

GREGARINES COELOMIQUES

Les Grégarines coelomiques connues chez les Annélides Polychètes appartiennent aux genres Urospora Schneider 1875, Gonospora Schneider 1875, Pterospora Labbé et Racovitza 1897, Paragonospora Lang 1954, Diplauxis Vivier, Tuzet et Ormières 1964. Parmi ces différents genres, seuls les deux premiers présentent plusieurs espèces qui peuvent être rassemblées dans les familles des Urosporidae Léger 1892 et Gonosporidae Léger 1892. La distinction entre ces deux familles est basée essentiellement sur les spores. Elles sont ovoïdes et possèdent un goulot à l'un des pôles. L'autre pôle est régulièrement arrondi chez les Gonosporidae, garni d'un filament chez les Urosporidae. Ces deux familles sont également bien représentées chez d'autres Invertébrés (Echinodermes : CHANGEUX 1961 ; Mollusques : TREGOUBOFF 1918, TUZET 1931).

Pour l'historique détaillé, nous renvoyons le lecteur pour le genre Gonospora à PIXELL-GOODRICH (1916), TREGOUBOFF (1918), SCHREVEL (1964) pour le genre Urospora à CHANGEUX (1961).

La présence d'une queue aux spores de Gonospora longissima Caullery et Mesnil a entraîné la discussion de la position systématique de ce parasite SCHREVEL (1965).

L'existence de deux espèces de Gonospora : G. terebellae (Koll) Schneider 1875, et G. varia Léger 1892, chez les Audouinia a été discutée précédemment (SCHREVEL 1964 a). Nous allons préciser dans ce travail les caractères et la position systématique de G. varia.

Les particularités biologiques intéressantes des Gonosporidae parasites d'Arenicola ecaudata, en particulier le développement de G. arenicola sur la paroi des néphridies (CUNNINGHAM 1907) et de G. minchini dans les ovocytes (GOODRICH et PIXELL-GOODRICH 1921) nous ont amené à revoir ces parasites.

I - FAMILLE DES UROSPORIDAE

A - Urospora lagidis De St Joseph parasite de Pectinaria koreni
Malmgren

Signalée par DE SAINT JOSEPH (1898), cette Grégarine a fait l'objet d'études histologiques d'une part sur la gamétogenèse (BRASIL 1905) et d'autre part sur la réduction chromatique (NAVILLE 1927). Nous nous contenterons de rappeler les caractères importants du trophozoïte et des spores d'Urospora lagidis.

Les trophozoïtes observés dans le coelome des Pectinaires de la Digue Carnot (Boulogne) sont animés de puissants et rapides mouvements péristaltiques. L'endoplasme souvent dense ne permet pas de voir le noyau sauf sur de jeunes trophozoïtes. La région antérieure du trophozoïte est nettement indiquée par un gros mamelon conique qui repose sur une zone endoplasmique élargie (Pl. XV, fig. a). Elle contraste avec l'extrémité postérieure plus effilée.

Les kystes prélevés dans le coelome contiennent de très nombreuses spores ovoïdes, garnies à l'un des pôles d'un goulot, à l'autre d'une longue queue qui a servi à la distinction générique (Pl. XV, fig. b). Les spores mesurent 18 μ de longueur sur 12 μ de largeur avec une queue de 30 μ au moins. Le goulot ressemble à une couronne claire dont les bords externes sombres rappellent des épines (Pl. XV, fig. c). Le sommet de la couronne semble être lisse. Les spores contiennent huit sporozoïtes dont une des extrémités est dirigée vers le goulot. On peut distinguer un important reliquat cytoplasmique sphérique de 6 μ à 7 μ de diamètre.

B - Urospora longissima (Caullery et Mesnil 1898), parasite de
Dodecaceria caulleryi Dehorne

CAULLERY et MESNIL (1898) avaient été amenés après une minutieuse étude morphologique et biologique, à distinguer trois formes A, B, C chez les Dodecaceria concharum Oersted du Cap de la Hague. Ils y avaient décrit deux Grégarines : l'une intestinale, Selenidium echinatum, l'autre coelomique, Gonospora longissima. Cette dernière possède deux particularités biologiques :

d'une part elle parasite constamment et uniquement la forme B, d'autre part elle présente, selon eux, une reproduction asexuée ou schizogonie. DEHORNE (1933) à la suite de l'observation de la schizométabolisme chez les Dodecaceria concharum forme B du Boulonnais, crée pour cette forme une nouvelle espèce : Dodecaceria caulleryi.

Nous allons reprendre la description du cycle de ^{ces} Grégarines coelomiques car dans l'étude de CAULLERY et MESNIL (1898), il existe peu de dessins concernant ces parasites.

1 - Trophozoïte

Adultes, les trophozoïtes sont allongés et parcourus par de violents mouvements péristaltiques. La longueur peut atteindre trois ou quatre millimètres, la largeur est relativement faible, 50 à 60 μ . Les ondes péristaltiques provoquent des mouvements de flux et de reflux du cytoplasme qui entraînent le noyau. Ce dernier, normalement ovoïde (60 μ) se déforme au niveau des rétrécissements et prend une forme d'haltère. L'unique caryosome sphérique de 20 μ présente la même plasticité. La paroi du trophozoïte peut être ou non couverte de cellules amiboïdes (Fig. 16 a, b, c). La présence de ces cellules est surtout observée pendant l'hiver (Décembre-Janvier), lorsque les Dodecaceria sont bourrés d'éléocytes. Les trophozoïtes ont alors des mouvements plus faibles et certains sont même immobiles.

Les jeunes trophozoïtes de 100 à 200 μ sont immobiles et présentent une région antérieure dépourvue d'endoplasme (Fig. 16 b et c) rappelant celle des Lecudinidae, L'endoplasme apparaît très clair. Sur certains trophozoïtes, on distingue des cellules ou éléments amiboïdes différents des éléocytes collés à la paroi (Fig. 16 a).

2 - Syzygie et gamétokyste

Quant l'Annélide entre en phase d'épitoque, on observe de nombreuses syzygies. La syzygie frontale s'effectue entre des sporadins longs d'un millimètre au moins (Fig. 16 d, e). Ils sont parcourus de mouvements comparables à ceux des trophozoïtes. Les noyaux entraînés dans l'endoplasme voyagent dans toute la moitié antérieure des sporadins. Quand les conjoints sont

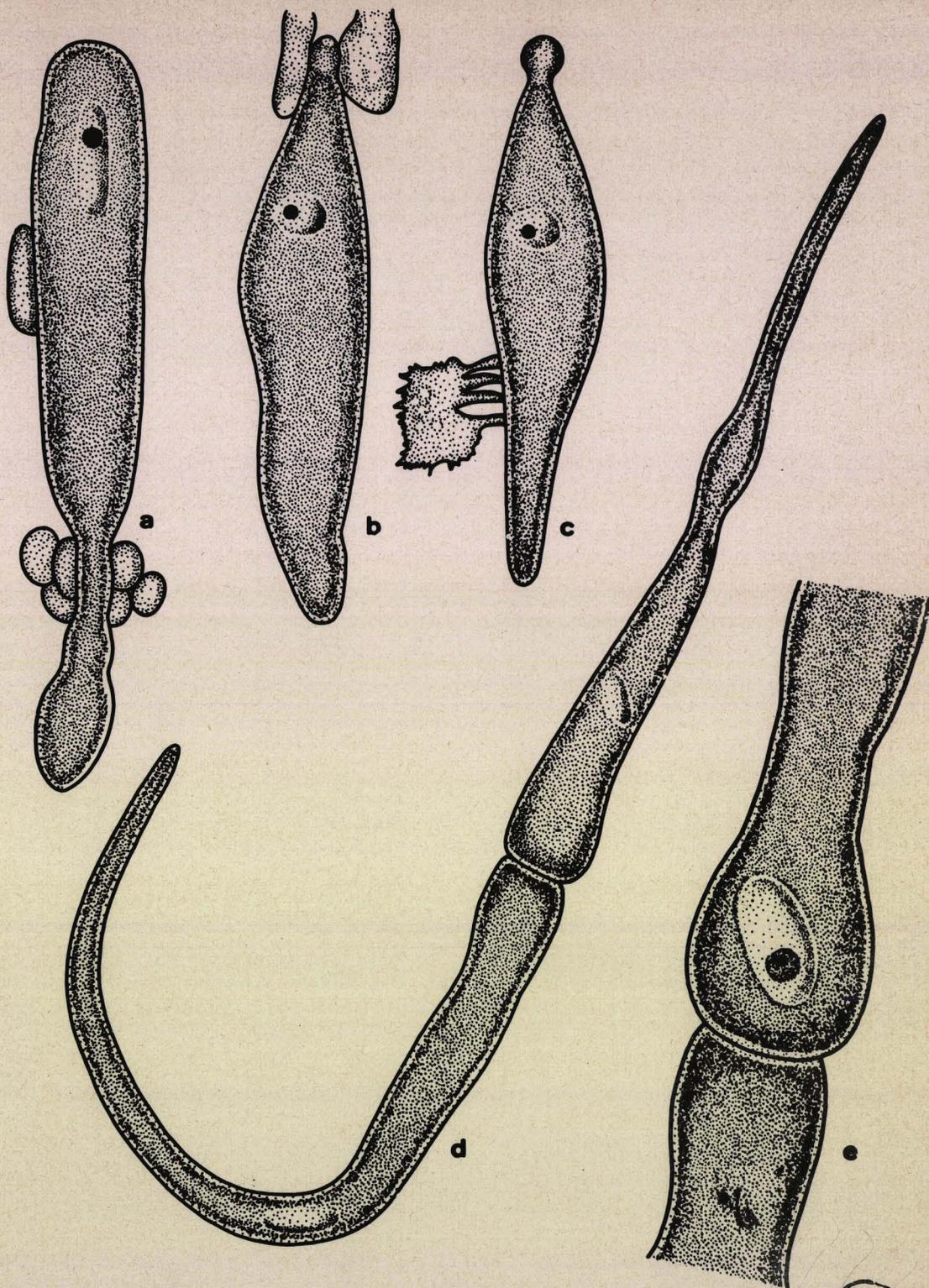


FIGURE 16 - *UROSPORA LONGISSIMA*.

a, b, c, trophozofite ; d, syzygie ; e, observation de la zone d'accolement des sporadins sur le vivant.

X 250.

BUS
1916

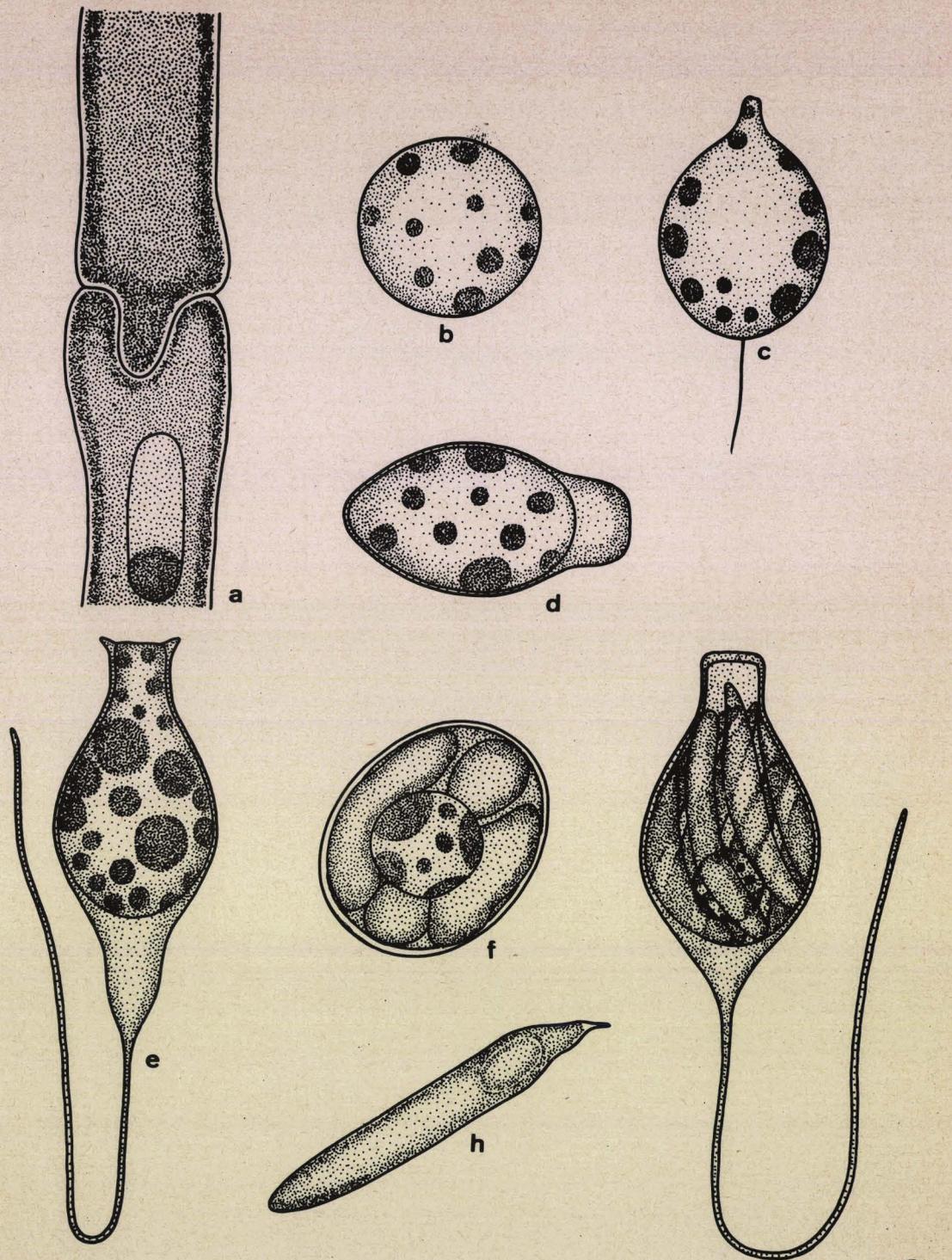
étirés ou après une coloration au carmin acétique, on aperçoit nettement la zone de soudure (Fig. 17 a). L'une des Grégarines possède une protubérance en doigt de gant de 30μ de long sur 20μ de large, enfoncée dans le cytoplasme antérieur de l'autre ; ce genre d'attache rappelle celui de type "bouton-pression" rencontré chez L. platynereidis et permet des tractions puissantes de la part des deux sporadins. Les kystes volumineux sont sphériques ou ovoïdes (Pl. XV, fig. d). Ils mesurent 450μ au moins. Sur leur paroi riche en granules brunâtres et tapissée d'un réseau de fibres plus ou moins entrelacées, s'accrochent des amas d'amibocytes.

Dans chaque gamonte, le cytoplasme se découpe en flots dans lesquels les noyaux viennent se placer en surface (Pl. XV, fig. e). On aboutit à un stade de perlage des gamètes particulièrement net. Les Grégarines et les kystes sont expulsés par les néphridies des Dodecaceria épitoques (Pl. XV, fig. f) en même temps que les produits génitaux de l'hôte (Pl. XV, fig. g).

3 - Gamètes

Les gamètes d'Urospora et Gonospora ne sont connus que d'après les travaux de BRASIL (1905) et TREGOUBOFF (1918). Ce sont des études histologiques certes excellentes mais insuffisantes pour déceler avec certitude la présence ou l'absence d'un flagelle. Dans le cas des Urosporidae, il est très difficile de suivre l'évolution des gamétokystes car la corrélation plus ou moins étroite entre l'apparition des kystes coelomiques et la maturation des produits génitaux (Chapitre XI), oblige à effectuer les observations à la période adéquate de l'année, d'autre part la paroi des kystes ne présente ni la transparence ni l'état de propreté des kystes de Grégarines intestinales.

Nous avons observé une seule fois des éléments qui pouvaient correspondre à des gamètes. Ils provenaient d'un kyste expulsé par un Dodecaceria épitoque récolté au Cap Gris-Nez. On pouvait distinguer des éléments sphériques (Fig. 17 b) de $7,7 \mu$ de diamètre avec une zone centrale claire sphérique de 5 à $5,5 \mu$ de diamètre, correspondant à la zone nucléaire et un cytoplasme garni de corpuscules sphériques, d'aspect verdâtre au microscope optique. Ces éléments devaient correspondre aux gamètes femelles. Une autre catégorie d'éléments subsphériques (Fig. 17 c) de $8,2 \mu$ de diamètre présentait un petit cône de cytoplasme analogue au rostre décrit par BRASIL (1905)



BUS
LILLE

FIGURE 17 - UROSPORA LONGISSIMA.

a, zone d'accrolement de la syzygie après coloration ; b et c, éléments pouvant correspondre à des gamètes ; d et e, sporocyste ; f et g, sporocyste mature ; h, sporozoïte.

a, X 250.

b à g, X 2300

chez le gamète mâle d'Urospora lagidis et TREGOUBOFF (1918) chez celui de Gonospora testiculi. Parmi les corpuscules verdâtres du cytoplasme, on distinguait le noyau clair de forme ovoïde. Au pôle opposé au rostre s'insérait un court filament de $4,4 \mu$ de long. Ce filament était immobile. L'identité de ces éléments à des gamètes mâles peut être retenue pour deux raisons :

- on peut observer fréquemment chez d'autres Grégarines (Lecudina tuzetae par exemple) des gamètes mâles dont le flagelle est immobile.

- les dimensions de ces éléments sont inférieures aux jeunes sporocystes et ces derniers présentent rapidement un long filament.

4 - Sporocystes

Nous avons signalé précédemment SCHREVEL (1965) la grande différence entre la description des sporocystes de CAULLERY et MESNIL (1898) et la nôtre. Au lieu de trouver un aspect "piriforme" et "à pointe mousse" nous avons observé à l'un des pôles un goulot, et à l'autre un très long filament (Pl. XV, fig. h, i).

L'exospore, au niveau du goulot, forme une couronne où il est difficile de distinguer avec certitude la présence de petites dents identiques à celles de Gonospora varia. Il est intéressant de noter qu'une telle couronne, surtout visible sur les bords externes du goulot, donne l'aspect de deux épines comme dans le cas d'Urospora lagidis. Au pôle opposé, l'exospore large à sa base s'amincit progressivement puis se continue en une longue queue pouvant atteindre 90 à 100μ , difficile à observer sauf au microscope en contraste interférentiel ou en contraste de phase.

L'apparition du filament caudal semble être précoce. Dès le début de la sporogenèse on peut distinguer autour du zygote plus ou moins piriforme de $9 \mu \times 7,7 \mu$, une fine coque qui se dilate au pôle arrondi soit en une large proéminence de 4 à $5 \mu \times 4 \mu$, rappelant la forme d'un bouchon (Fig. 17 d), soit en un long cône prolongé déjà par le filament de 12 à 20μ . L'apparition du goulot se fait pendant la même période et très vite la spore présente sa forme définitive (Fig. 17 e). Le cytoplasme renferme des sphérules de taille variable.

Les spores mûres (Fig. 17 g) piriformes de 12 μ de longueur pour 7,5 μ de largeur, mesures faites à la limite de l'endospore, possèdent comme nous venons de le signaler d'une part un goulot et d'autre part un long filament de 90 à 100 μ . Elles contiennent huit sporozoïtes et un reliquat cytoplasmique sphérique de 3 à 4 μ de diamètre, aux nombreux corpuscules verdâtres (Fig. 17 f et g). Les sporozoïtes appliqués contre la paroi sont disposés régulièrement et obliquement. Ils entourent le reliquat cytoplasmique avec l'une des extrémités engagée dans le goulot.

La déhiscence de la spore se fait par le goulot. Les sporozoïtes mesurent 12 μ de longueur sur 1,2 μ de largeur. Leur extrémité antérieure présente un petit mucron hyalin. L'extrémité postérieure est arrondie. Le noyau ovoïde est disposé au tiers antérieur du sporozoïte (Fig. 17 h).

5 - Diagnose. Urospora longissima (Caullery et Mesnil) Schrevel

Trophozoïte très allongé en forme de filaments sinueux atteignant 2 à 4 millimètres. Mouvements péristaltiques puissants. Syzygie frontale. Kyste sphérique ou ovoïde de 450 μ au moins. Anisogamie avec existence probable d'un gamète mâle flagellé. Spores piriformes de 12 μ à 8 μ avec un goulot hyalin à l'un des pôles, un long filament de 90 à 100 μ à l'autre. 8 sporozoïtes entourant un reliquat cytoplasmique.

II - FAMILIE DES GONOSPORIDAE

A - Cycle de Gonospora varia Léger 1892 parasite d'Audouinia tentaculata Mont.

La position des gonades permet de diviser le corps de l'Audouinia tentaculata adulte en trois régions : les régions antérieure et postérieure non sexuées, la région moyenne sexuée. Le coelome, ainsi divisé, renferme respectivement dans sa région moyenne, des Grégarines allongées (Fig. 18 a, b) et dans sa région postérieure, des Grégarines piriformes (Fig. 18 f). Nous examinerons successivement l'évolution des Grégarines allongées et la signification des Grégarines piriformes.

1 - Evolution des Grégarines allongées

a) Trophozoïte

Les Grégarines allongées (Fig. 18 a, b) atteignent fréquemment le millimètre ; leur largeur est voisine de 60 μ . Le sommet antérieur constitue un mamelon de nature ectoplasmique atteignant 30 μ de hauteur. Il peut correspondre à un mucron ou à une zone de nutrition préférentielle. La microscopie électronique devrait nous en apporter la réponse. La région antérieure légèrement dilatée a une forme arrondie, la région postérieure s'effile progressivement. Le noyau situé souvent près du mucron est généralement sphérique et mesure 45 μ de diamètre environ chez un trophozoïte adulte. Il se déforme à l'occasion des mouvements endoplasmiques et prend une forme parallélépipédique. Dans le nucléoplasme clair, on distingue un gros caryosome sphérique de 13 à 16 μ de diamètre. L'aspect du caryosome est variable ; on peut y distinguer des vacuoles petites et nombreuses, ou une seule grande vacuole.

Les Grégarines sont immobiles toutefois elles peuvent se déformer et présenter des constriction : dans ce dernier cas, l'ampleur des mouvements n'est pas comparable à celle des mouvements péristaltiques d'Urospora.

Lorsque les produits génitaux de l'hôte se différencient et mûrissent, les Gonospora de la région moyenne entrent en gamogonie et en sporogonie (HENTSCHEL 1926 ; VIVIER, SCHREVEL, HENNERE 1962).

b) Syzygie

Lors de la syzygie, les deux conjoints s'accolent par les faces latérales de leurs régions antérieures dilatées, selon une disposition tête-bêche ou au contraire de même sens (Fig. 18 c, d, e). Les mamelons antérieurs ne constituent pas la zone de soudure. Les dimensions des couples sont variables (tableau 6) et font apparaître la possibilité d'une légère différence de taille entre les deux sporadins.

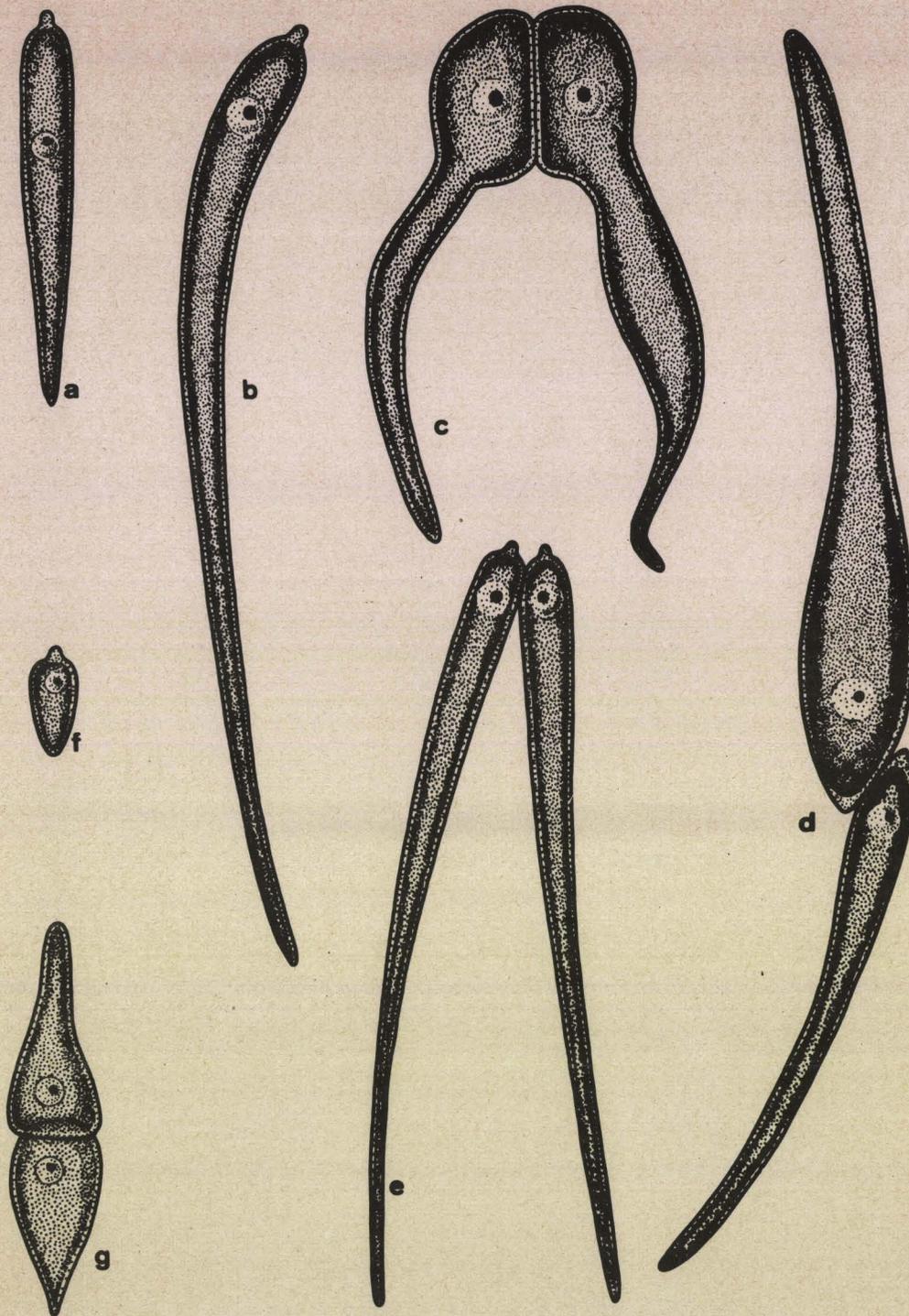


FIGURE 18 - GONOSPORA VARIA.

a, b, trophozoïte allongé ; c, d, e, syzygie issue de trophozoïtes allongés ; f, trophozoïte piriforme ; g, association frontale de trophozoïtes piriformes.
X 150.

BUS
LILLE

1 - Evolution des Grégarines allongées

a) Trophozoïte

Les Grégarines allongées (Fig. 18 a, b) atteignent fréquemment le millimètre ; leur largeur est voisine de 60 μ . Le sommet antérieur constitue un mamelon de nature ectoplasmique atteignant 30 μ de hauteur. Il peut correspondre à un mucron ou à une zone de nutrition préférentielle. La microscopie électronique devrait nous en apporter la réponse. La région antérieure légèrement dilatée a une forme arrondie, la région postérieure s'effile progressivement. Le noyau situé souvent près du mucron est généralement sphérique et mesure 45 μ de diamètre environ chez un trophozoïte adulte. Il se déforme à l'occasion des mouvements endoplasmiques et prend une forme parallélépipédique. Dans le nucléoplasme clair, on distingue un gros caryosome sphérique de 13 à 16 μ de diamètre. L'aspect du caryosome est variable ; on peut y distinguer des vacuoles petites et nombreuses, ou une seule grande vacuole.

Les Grégarines sont immobiles toutefois elles peuvent se déformer et présenter des constriction : dans ce dernier cas, l'ampleur des mouvements n'est pas comparable à celle des mouvements péristaltiques d'Urospora.

Lorsque les produits génitaux de l'hôte se différencient et mûrissent, les Gonospora de la région moyenne entrent en gamogonie et en sporogonie (HENTSCHEL 1926 ; VIVIER, SCHREVEL, HENNERE 1962).

b) Syzygie

Lors de la syzygie, les deux conjoints s'accolent par les faces latérales de leurs régions antérieures dilatées, selon une disposition tête-bêche ou au contraire de même sens (Fig. 18 c, d, e). Les mamelons antérieurs ne constituent pas la zone de soudure. Les dimensions des couples sont variables (tableau 6) et font apparaître la possibilité d'une légère différence de taille entre les deux sporadins.

Dimensions		:	:	:	
Couple		:	Longueur	:	Largeur
Couple 1	a	:	935 μ	:	81 μ
	b	:	891 μ	:	80 μ
Couple 2	a	:	924 μ	:	91 μ
	b	:	847 μ	:	105 μ
Couple 3	a	:	660 μ	:	82 μ
	b	:	500 μ	:	82 μ
Couple 4	a	:	680 μ	:	770 μ
	b	:	60 μ	:	121 μ
Couple 5	a	:	660 μ	:	99 μ
	b	:	715 μ	:	85 μ

Tableau 6 - Dimensions de 5 syzygies prélevées sur des hôtes mâles et femelles. La largeur maximum correspond à celle de l'extrémité antérieure élargie. Les sporadins de chaque couple sont désignés par les lettres a et b.

c) Gamétokyste et gamètes

Les gamétokystes sont sphériques. Leur diamètre est de 300 μ environ. En examinant les tailles maximales des kystes prélevés chez des Audouinia tentaculata de Roscoff et de Wimereux, nous n'avons jamais trouvé des kystes de 800 μ comme le signalait BRASIL (1905). La paroi des jeunes gamétokystes prélevés sur des vers en début de maturation génitale, est transparente et montre une série de strates (Pl. XVI, fig. b). Elle mesure 15 μ environ d'épaisseur. Chez le sporokyste, la paroi est plus mince et présente un aspect rappelant celui des Urospora (Pl. XVI, fig. a).

Les gamontes présentent une différence de coloration nette au P.A.S. qui doit traduire une différence de richesse en paraglycogène. Les noyaux dans chaque gamonte présentent parfois des différences de taille. Les divisions

peuvent être plus rapides dans l'un des gamontes.

L'étude des gamètes est délicate. Nous avons observé deux types d'éléments, les uns sphériques correspondant sans doute aux gamètes femelles, les autres correspondant peut être aux gamètes mâles sont piriformes et terminés par un prolongement effilé (Pl. XVI, fig. c). Nous n'avons pas réussi à les examiner au moment de la fécondation, aussi pour l'anisogamie, apportons nous les mêmes réserves que pour Urospora longissima.

d) Sporocyste

Le sporoblaste présente un noyau au pôle postérieur arrondi (Pl. XVI, fig. d). La sporogenèse a fait l'objet d'une étude détaillée (SCHREVEL 1964) et ne sera pas abordée dans ce travail.

Les sporocystes mûrs (13 à 15 μ x 6,5 μ) ont un aspect caractéristique (BRASIL 1905, SCHREVEL 1964). Ils sont régulièrement arrondis à l'un des pôles et garnis à l'autre d'une couronne de petites dents hyalines.

Les transformations cytologiques durant la gamétogenèse et la sporogenèse s'accompagnent d'une diminution de volume du matériel contenu dans les kystes. Ainsi les gamétokystes sont à l'origine entièrement occupés par le cytoplasme des gamontes tandis que les sporokystes ne possèdent qu'un amas unique de sporocystes dans un seul hémisphère.

La déhiscence du sporokyste se fait par simple déchirure de l'enveloppe. La libération des huit sporozoïtes s'effectue par le goulot du sporocyste et laisse dans la spore le reliquat cytoplasmique de 5 μ de diamètre. En résumé, les caractères de la Gonospora varia Léger de la zone moyenne sexuée de l'Audouinia tentaculata peuvent se définir par un trophozoïte allongé pouvant dépasser le millimètre, une syzygie latérale, des kystes sphériques de 300 μ de diamètre, des spores à pôles dissemblables : l'un arrondi, l'autre garni d'une couronne de fines dents hyalines.

2 - Signification des Grégarines piriformes

Les Gonospora varia Léger, massives et piriformes (Fig. 18 f) ou encore en "toupie" LEGER (1892) sont localisées dans la partie postérieure de l'Annélide. Leur longueur dépasse rarement 350 μ , leur largeur est souvent

moitié de la longueur. Les trophozoïtes, surtout lorsqu'ils sont petits (60 μ) ont un petit mucron qui n'est pas sans rappeler celui des Grégarines allongées de la région moyenne. Le noyau sphérique renferme également un volumineux caryosome.

Les petites Grégarines piriformes sont souvent accolées par leur région antérieure (Fig. 18 g). Ces associations fragiles sont très nombreuses. Faut-il les considérer comme de véritables syzygies ? A cette question, il convient de faire trois remarques. La première concerne les dimensions des individus accolés. Comme dans le cas des syzygies latérales des Grégarines allongées de la région moyenne, il apparaît une légère différence concernant les dimensions. La seconde se rapporte à la taille des associations : le tableau 7 n'est pas un relevé biométrique établi selon les règles des méthodes statistiques mais il fait néanmoins apparaître, avec des résultats supplémentaires non figurés dans le tableau , la possibilité d'une croissance par couple de Grégarines. Notons que les petits couples sont plus nombreux en Novembre-Décembre qu'en Avril-Juillet. La troisième et dernière remarque est l'existence fréquente d'associations à trois individus de dimensions égales, ou au contraire de deux petits individus fixés sur un gros individu. Ces associations à trois se font toujours par les régions antérieures larges. L'interprétation de deux types de Grégarines, l'un allongé à syzygie latérale, l'autre massif à syzygie frontale est délicate. LEGER (1892) en donnant le nom d'espèce varia aux Gonospora coelomiques d'Audouinia a probablement voulu évoquer la coexistence des deux types de trophozoïtes.

Date de l'observation	Dimensions		Longueur	Largeur
	Couple			
Avril 62 Wimereux	1	a	157 μ	71 μ
		b	157 μ	57 μ
	2	a	106 μ	62 μ
		b	83 μ	71 μ
Août 62 Roscoff	3	a	250 μ	235 μ
		b	200 μ	100 μ
	4	a	250 μ	135 μ
		b	200 μ	100 μ
Oct. 62 Wimereux	5	a	242 μ	140 μ
		b	256 μ	114 μ
Déc. 62 Wimereux	6	a	65 μ	35 μ
		b	60 μ	40 μ
	7	a	49 μ	49 μ
		b	42 μ	49 μ

Tableau 7 - Dimensions de sept associations frontales de la région coelomique postérieure provenant d'Audouinia récoltées à des périodes et lieux différents. Les trophozoïtes de chaque couple sont désignés par les lettres a et b.

3 - Position systématique de *Gonospora varia* Léger 1892

SCHNEIDER (1875) définit les caractères du genre Gonospora à partir de l'espèce Gonospora terebellae (Kolliker), parasite d'Audouinia lamarckii et des Terebelles".

Dans un travail antérieur (SCHREVEL 1964a), nous avons développé les

arguments qui amenaient à considérer G. varia Léger 1892 et Gonospora terebellae (Koll.) ~~Schneider~~, chez Audouinia tentaculata (Mont.), comme une seule et même Grégarine. Bien que le nom Gonospora terebellae (Koll.) Schneider 1875 soit antérieur à G. varia Léger 1892 nous avons conservé Gonospora varia Léger car les caractères des spores établis par l'auteur ont été vérifiés (BRASIL 1905, SCHREVEL 1964a), à l'inverse de ceux de G. terebellae. Par ailleurs, il semble impropre de réserver le terme de terebellae pour un parasite de Cirratulien d'autant que la présence d'une Gonospora chez les Terebellidae des côtes françaises reste à prouver. Ce choix est conforme à l'article 24 du Code International de Nomenclature Zoologique adapté par le XVe Congrès de Zoologie.

Il nous semble donc raisonnable de considérer les caractères du genre Gonospora Schneider 1875 comme ceux de l'espèce Gonospora varia Léger 1892.

B - Les Gonosporides parasites d'Arenicola ecaudata Jonhston

Au cours de séjours à Roscoff en 1964 et 1965, nous avons rencontré Gonospora arenicolae Cunningham et Gonospora minchini Goodrich et Pixell-Goodrich dans le coelome d'Arenicola ecaudata. Nous allons préciser certains points.

1 - Gonospora arenicolae (Cunningham) 1907

Cette Grégarine est fixée à la paroi des néphridies (Pl. XVI, fig. f) par un mamelon antérieur légèrement déprimé au sommet qui rappelle le mucron des Lecudinidae. On y distingue nettement l'ectoplasme clair garni de petits granules. L'endoplasme, contrairement aux Gonospora examinées précédemment, contient de nombreuses plages et d'innombrables corpuscules denses (Pl. XVI, fig. e). Ces corpuscules denses provoquent l'opacité de l'endoplasme (Pl. XVI, fig. f) ; sur les jeunes trophozoïtes (Pl. XVI, fig. g) ils sont peu nombreux, ce qui fait ressortir très nettement les grandes plages claires. Le noyau sphérique contient plusieurs caryosomes sombres. Ce trophozoïte mérite d'être étudié au microscope électronique pour sa région antérieure fixée aux parois des néphridies et les grandes plages claires endoplasmiques.

Les trophozoïtes atteignent 1,5 mm de long et ne présentent aucun mouvement apparent. D'après nos observations, il ne semble pas que la syzygie soit essentiellement frontale comme le décrit CUNNINGHAM (1907). Certaines associations sont latérales en disposition tête-bêche comme chez Gonospora varia. On peut également observer des associations à trois individus (Pl. XVII, fig. a).

Un autre point, qui mérite d'être souligné, concerne les spores. Les spores ovoïdes présentent un pôle arrondi et l'autre muni d'un goulot très net, comme le souligne CUNNINGHAM (1907), de sorte que la représentation de la spore de Gonospora arenicolae faite par ROBINSON (1910) ne peut servir de référence.

2 - Gonospora minchini Goodrich et Pixell-Goodrich 1921

Cette Grégarine très particulière s'attaque aux ovocytes. Les ovocytes parasités se reconnaissent facilement à cause de l'extrémité postérieure conique du parasite qui fait saillie (Pl. XVII, fig. b).

Le cytoplasme de la Grégarine, opaque, contraste avec celui de l'ovocyte où d'importantes plages claires hétérogènes traduisent la désorganisation produite par le parasite.

La première observation fait d'ailleurs penser à l'extrusion du cytoplasme ovocytaire. Le trophozoïte comprend une partie globuleuse dans l'ovocyte qui se prolonge par une extrémité conique externe. L'étude histologique permet d'observer le parasite avec son noyau ovoïde à un ou plusieurs caryosomes (Pl. XVII, fig. c). Dans le cytoplasme il existe des amas de granules (Pl. XVII, fig. d).

Le noyau de l'ovocyte, de forme irrégulière, présente un aspect très clair (Pl. XVII, fig. c et e).

Si l'étude histologique appuie la nature grégarinienne du parasite, il demeure un doute que seule la microscopie électronique peut dissiper.

La reproduction sexuée est difficile à établir. L'existence, chez les mêmes vers, de G. minchini et G. arenicolae rend difficile l'attribution des kystes à l'une ou à l'autre espèce de Gonospora. En s'adressant à des Annélides mâles, on peut résoudre le cas de G. arenicolae, par contre celui de G. minchini est plus délicat.

Il nous est arrivé d'observer la syzygie d'individus trapus (Pl. XVII, fig. f) correspondant probablement à G. minchini. L'accolement était latéral et différait de celui frontal décrit par GOOCRICH et PIXELL-GOODRICH (1921). La description et la figuration laconiques des auteurs anglo-saxons rappellent leur description de la syzygie de Gonospora glycerae, mais font admettre avec une réserve certaine l'association frontale.

III - DISCUSSION ET CONCLUSION

Nous allons envisager la comparaison des caractères des Grégarines appartenant aux genres Gonospora et Urospora, parasites d'A. Polychètes (Tabl. 8). Le problème d'une révision générale des familles des Gonosporidae et Urosporidae ne sera pas envisagé car il nécessiterait des observations complémentaires chez les Grégarines des Holothuries, Echinodermes, Mollusques, Sipunculien et Némertes.

Les trophozoïtes sont généralement de grande taille: 1 à 1,5 mm pour Gonospora varia, Gonospora arenicolae, 2 à 4 mm pour Urospora longissima. La région antérieure montre, dans les deux genres, un mamelon dont il serait intéressant de préciser le rôle. Les mouvements sont très différents. Les Urospora (Urospora lagidis et Urospora longissima) sont parcourues par des mouvements péristaltiques puissants et rapides qui contrastent avec l'immobilité ou les faibles mouvements des Gonospora (G. varia, G. arenicolae, G. minchini).

La syzygie est frontale chez Urospora longissima tandis qu'elle est généralement latérale chez G. varia, latérale ou frontale chez G. arenicolae (CUNNINGHAM 1907 et ce travail). Le mode d'association latéral ou frontal dans le genre Gonospora est probablement secondaire. Le découpage des gamontes est nettement plus prononcé dans le genre Urospora que dans le genre Gonospora (BRASIL 1905 et ce travail).

Dans les exemples étudiés, la possibilité d'une anisogamie avec flagelle doit être retenue. Les descriptions des gamètes mâles dépourvus de flagelle BRASIL (1909), TREGOUBOFF (1918) doivent être reconsidérées et ne peuvent, pour l'instant, servir de référence précise comme on le fait couramment

(GRASSE 1953; DOGIEL, POLJANSKY et CHEISSIN 1963).

Les spores représentent incontestablement le critère le plus commode pour distinguer les Grégarines appartenant aux genres Urospora et Gonospora. Ainsi la description d'une queue aux spores de la Grégarine coelomique de Dodecaceria caulleryi, appelée jusqu'alors Gonospora longissima a provoqué la nécessité d'une révision systématique (SCHREVEL 1964a).

Les autres données du cycle (mouvements des trophozoïtes, gamétogénèse) sont comparables à ^{celles} d'Urospora lagidis. Il est donc nécessaire de l'appeler dorénavant Urospora longissima (Caullery et Mesnil) Schrevel.

L'intérêt des Grégarines coelomiques, parasites d'Annélides Polychètes et en particulier celui des genres Urospora et Gonospora réside surtout dans les rapports des trophozoïtes avec les éléments coelomiques attaqués : ovocytes pour G. minchini, néphridies pour G. arenicolae, éléocytes pour Urospora longissima. De même l'existence de deux types-allongé et trapu- chez les G. varia, selon la localisation dans le coelome d'Audouinia tentaculata, vient confirmer l'intérêt des recherches ultrastructurales et autoradiographiques pour la compréhension de la biologie des Grégarines en général.

La corrélation entre le cycle des Grégarines coelomiques et leur hôte (chapitre XI) montre en outre l'intérêt de l'étude expérimentale du déterminisme de l'enkystement.

Genres	: UROSPORA	: GONOSPORA
Trophozoïte:	Mouvements péristaltiques	: Immobiles
Syzygie	: Frontale	: Latérale ou frontale
Gamétogenèse:	Gamontes très découpés	: Gamontes faiblement découpés
Gamètes	: Anisogamie avec possibilité : de flagelle chez le gamète mâle	: Anisogamie avec possibilité : de flagelle chez le gamète mâle
Spores	: Ovoïde avec un pôle garni d'un : long filament et l'autre avec : un goulot. 8 sporozoïtes	: Ovoïde avec un pôle arrondi et : un goulot à l'autre. 8 sporo- : zoïtes
Habitat	: Coelome d'Annélides Polychètes, : Holothuries, Némertes	: Coelome d'Annélides Polychètes, : Mollusques



Tableau 8 - Comparaison des caractères des genres Urospora Schneider 1875 et Gonospora Schneider 1875.

CONCLUSION LA PREMIERE PARTIE

L'étude des cycles des Grégarines, parasites d'Annélides Polychètes, appartenant aux familles des Selenidiidae, Lecudinidae, Urosporidae et Gonosporidae, permet déjà de montrer les caractères très particuliers des Selenidiidae par rapport aux autres Grégarines.

Les Selenidiidae possèdent des trophozoïtes exécutant des mouvements pendulaires et d'enroulement, des modifications nucléaires précédant l'enkystement, des spores à quatre sporozoïtes.

Ces trois caractères ne se retrouvent pas dans les trois autres familles où :

- les trophozoïtes ont des mouvements de glissement chez les Lecudinidae, des mouvements péristaltiques chez les Urosporidae, et sont immobiles chez les Gonosporidae.

- la première mitose progamique a lieu après l'enkystement

- les spores ont huit sporozoïtes

Par ces caractères, il est clair que la position systématique des Selenidiidae doit être différente de celle des Lecudinidae, Urosporidae et Gonosporidae. Cependant à partir de ces résultats, il n'est pas possible d'inclure les Selenidiidae dans l'ordre des Schizogrégarines, défini par LEGER 1907 ou dans l'ordre des Archigrégarines, défini par GRASSE 1953 : la schizogonie, critère fondamental de ces ordres, n'ayant pas été démontrée. Par contre, les Lecudinidae, Urosporidae, Gonosporidae sont des Eugrégarines LEGER 1907 c'est à dire des Grégarines dont la reproduction est assurée uniquement par une gamogonie.

Les résultats montrent en outre une anisogamie, indiscutable avec gamètes mâles flagellés chez les Selenidiidae et Lecudinidae, probable chez les Urosporidae et Gonosporidae.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE CYTOLOGIQUE DES GREGARINES
PARASITES L'ANNELIDES POLYCHETES

Nous allons comparer l'ultrastructure de huit espèces de Grégarines parasites d'Annélides Polychètes (Tableau 9) de façon à dégager les caractères fondamentaux de leur organisation cytologique. Pour identifier plus facilement les glucides et les acides nucléiques, nous avons utilisé diverses colorations cytochimiques.

Habitat de la Grégarine	Genre	Espèce	Hôte
Intestin	<u>Selenidium</u>	<u>S. pendula</u>	<u>Nerine cirratulus</u>
		<u>S. hollandei</u>	<u>Sabellaria alveolata</u>
		<u>S. fallax</u>	<u>Audouinia tentaculata</u>
		<u>S. virgula</u>	<u>Cirratulus cirratus</u>
		<u>S. filiformis</u>	<u>Cirratulus cirratus</u>
	<u>Lecudina</u>	<u>L. tuzetae</u>	<u>Nereis diversicolor</u>
	<u>Sycia</u>	<u>S. inopinata</u>	<u>Audouinia tentaculata</u>
Coelome	<u>Urospora</u>	<u>U. longissima</u>	<u>Dodecaceria caulleryi</u>

Tableau 9 : Liste des trophozoïtes étudiés en microscopie électronique.

L'examen au microscope électronique d'un trophozoïte, coupé transversalement et à un niveau médian, montre de l'extérieur vers l'intérieur trois régions (Pl. XVIII, Pl. XXII) .

1 - La région corticale.

Elle comprend essentiellement la paroi à laquelle sont associées diverses formations caractéristiques et une région cytoplasmique étroite, généralement de 1 à 3 μ , l'ectoplasme.

2 - Le cytoplasme profond ou endoplasme.

Cette région sous-jacente à la précédente se distingue par la présence du paraglycogène.

3 - Le noyau et la région périnucléaire.

Dans la région nucléaire, il faut considérer le cytoplasme périphérique et le noyau proprement dit (enveloppe nucléaire, nucléoplasme, caryosome).

Nous allons comparer ces trois régions chez les Selenidiidae, les Lecudinidae, les Urosporidae.

CHAPITRE III

ETUDE DE LA REGION CORTICALE: DES GREGARINES PARASITES D'ANNELIDES POLYCHETES

L'épaisseur de la région corticale est de quelques microns sauf au niveau de la région antérieure où elle se développe considérablement (surtout chez les Lecudinidae) et à un degré moindre dans l'extrémité caudale. Dans ce chapitre, nous considérerons principalement la région moyenne du trophozoïte.

I - MORPHOLOGIE DE LA REGION CORTICALE CHEZ LES DIFFERENTS TROPHOZOÏTES.

A - Observations

L'examen de l'ultrastructure des Selenidiidae et des autres Grégarines fait ressortir une très nette différence quant à la constitution ou l'architecture de la région corticale.

Sur les sections transversales, la périphérie de la Grégarine est limitée par des bombements, plus ou moins accentués dans le genre Selenidium, par des plis nombreux, de longueur variable, dans les genres Lecudina et Sycia, par des plis irréguliers et complexes dans le genre Urospora.

1. Les Selenidiidae.

Selenidium hollandei, biconvexe en coupe transversale, possède sur chaque face huit bombements longitudinaux peu prononcés, séparés par autant de sillons (Pl. XVIII). Au fond de ces derniers, il existe diverses formations en rapport avec la paroi tandis qu'au niveau des bombements, nous distinguons plusieurs assises de fibres disposées longitudinalement, parallèles entre elles et parallèles à la surface.

En dessous de ces systèmes fibrillaires, épais de 0,25 μ environ, se situe un réseau mitochondrial très développé. L'épaisseur totale de la zone corticale chez cette espèce est de 2 μ environ.

Chez Selenidium pendula, la section est subcirculaire (Pl. XIX). Les bombements longitudinaux sont plus accentués et plus nombreux (une trentaine environ) que chez S. hollandei. Nous retrouvons la même disposition mais la couche mitochondriale est moins régulière et la paroi présente des ondulations ou plis secondaires.

Chez Audouinia tentaculata, S. fallax présente une section circulaire avec une cinquantaine de bombements importants (Pl. XX, fig. a).

Chez les Selenidiidae de Cirratulus cirratus, nous avons soit des sections biconvexes d'une quinzaine de bombements peu prononcés correspondant à S. virgula (Pl. XXI, fig. a), soit des sections avec bombements plus accentués, au nombre de plusieurs dizaines représentant S. filiformis (Pl. XXI, fig. b).

2. Les Eugrégarines.

a) Les Lecudinidae

Chez les Lecudinidae, la paroi forme une série de plis longitudinaux, couramment appelés plis épicytaires, disposés sur toute la périphérie de la Grégarine (Pl. XXII). Cette disposition est celle des Eugrégarines intestinales (GRASSE et THEODORIDES 1959, BEAMS et Coll. 1959, VIVIER 1968, DEVAUCHELLES 1968). Les plis atteignent 2 à 3 μ de hauteur chez Lecudina tuzetae. Ils sont limités par une paroi de structure comparable à celle des Selenidiidae. A la base des plis, nous avons souvent une assise régulière appelée basale qui ceinture plus ou moins complètement le trophozoïte. Sous cette basale, se situe une zone cytoplasmique d'environ 1,5 à 2 μ où nous distinguons, comme chez L. pellucida (VIVIER 1968), des fibres tubulaires, des mitochondries et des ribosomes.

b) Sycia inopinata

Chez Sycia inopinata, comme la microscopie photonique nous le montrait déjà, les plis sont beaucoup plus hauts que chez L. tuzetae. Ils peuvent atteindre 5 à 6 μ et sont souvent bifides (Pl. XXIII). Alors que les plis de L. tuzetae ne contenaient aucun organite bien individualisé, ceux de S. inopinata renferment couramment des corpuscules plus ou moins ovoïdes, alignés et répartis à l'intérieur du pli. A la base des plis, de nombreuses fibres sont visibles. L'ectoplasme contient des corpuscules comparables à ceux rencontrés dans les plis.



c) Urospora longissima

Les coupes montrent de longues bandes longitudinales aux contours très irréguliers délimitant de nombreuses anses (Pl. XXIV). La très grande plasticité de cette Grégarine, liée à la puissance des mouvements péristaltiques, permet de ne pas s'étonner de ce nouvel agencement. La préservation de l'ectoplasme est délicate avec les fixations à base de glutaraldéhyde et nous obtenons souvent des décollements importants dans cette région. La fixation osmique semble mieux préserver l'ultrastructure et permet de voir, en plus des organismes associés à la paroi, de nombreuses mitochondries.

B - Discussion : Notion d'épicyte

Dans le cas des Selenidiidae, la paroi est directement en contact avec le cytoplasme périphérique riche en ribosomes. Par contre, chez Lecudina tuzetae ou Sycia inopinata, le cytoplasme des plis est différent de celui ceinturant l'endoplasme. Pour préciser la constitution du cytoplasme cortical des trophozoïtes, il est commode d'introduire la notion d'épicyte.

L'épicyte définit l'architecture de la surface du trophozoïte ou l'ornementation superficielle des Grégarines. Les différents motifs de cette architecture (bombements, plis...), réalisés par la paroi et le cytoplasme adhérent, sont sensiblement constants pour un genre donné.

L'épicyte permet de préciser dans l'ectoplasme deux régions dont le développement varie selon les Grégarines. Il s'agit d'une part, du cytoplasme épicytaire ou cytoplasme compris dans les motifs de la surface, d'autre part du cytoplasme sous-épicytaire situé entre le précédent et l'endoplasme. La distinction entre cytoplasme épicytaire et cytoplasme sous-épicytaire varie selon les genres. Elle est nette chez L. tuzetae et d'une façon générale chez les Eugrégarines. Elle est mal définie chez les Selenidiidae où dans de nombreux cas il n'existe aucune différence.

Pris dans le sens que nous venons de définir, la notion d'épicyte est très souple. Elle montre la diversification des régions corticales chez les Grégarines, qui contraste avec la régularité de celles des autres Sporozoaires.

L'organisation corticale en bombements longitudinaux chez les Selenidiidae, en plis épicytaires chez les Eugrégarines, fait déjà apparaître une nette différence entre ces deux groupes de Grégarines.

II - LA PAROI ET SES DERIVES

Dans tous les cas étudiés, la paroi des Grégarines possède la même organisation ultrastructurale.

A - Observations

1. La paroi.

a) Constitution

La paroi mesure 650 Å environ. Elle est formée de trois membranes unitaires tripartites ou "unit-membrane" de ROBERTSON (Pl. XX, fig. b, Pl. XXV, Pl. XXVI fig. a). Chacune de ces membranes est composée de deux feuillets sombres de 25 Å entourant une zone centrale claire. L'épaisseur de chaque membrane est de 75 à 80 Å.

La membrane externe forme une enveloppe continue. Elle est séparée des deux membranes internes plus ou moins accolées par un espace clair de 300 à 350 Å. L'accolement des deux membranes internes, plus ou moins net, montre soit quatre feuillets, soit trois feuillets (le feuillet médian étant alors plus épais). Pour éviter de préciser constamment le nombre de feuillets de ces deux membranes, nous les désignerons par système membranaire interne de la paroi.

Cette structure particulière de la paroi que nous avons, les premiers, signalée chez les Grégarines (VIVIER et SCHREVEL 1964) peut être considérée comme générale chez de nombreux Sporozoaires (VIVIER et Coll. 1965; VIVIER 1968).

b) La membrane externe et son revêtement

- Les évaginations de la membrane externe

Les différentes membranes constitutives de la paroi sont généralement parallèles mais il arrive, comme chez Sycia inopinata (Pl. XXIII) et Lecudina tuzetae (Pl. XXVII fig. a), que la membrane externe forme des évaginations indépendantes.

Les hernies de la membrane externe présentent une zone centrale sombre. L'abondance de sphérules, d'aspect comparable à ces hernies, entre les plis épicytaires (Pl. XXVIII) et dans les zones épicytaires d'affrontement au cours de la syzygie (DESPORTES 1966, DEVAUCHELLES 1968) pourrait s'expliquer facilement, comme le suggèrent de nombreuses images, par un phénomène de bourgeonnement de la membrane externe de la paroi (Pl. XXVII fig. a, Pl. XXIX fig. b).

- Le revêtement

Le feuillet de la membrane externe, en contact avec l'extérieur, est tapissé d'un fin feutrage.

Ce feutrage est particulièrement net chez Lecudina tuzetae (Pl. XXVII fig. b et Pl. XXVIII) où les plis épicytaires sont comblés par un réseau de fins filaments osmiophiles, rappelant celui des mucopolysaccharides ou des polysaccharides tapissant les épithéliums des tractus digestifs (THIERY 1967). Par ailleurs, l'ectoplasme contient de nombreuses masses présentant le même aspect ultrastructural et qui seraient peut-être à l'origine de ce revêtement. On pourrait certes écarter le problème, en rapportant l'origine de cette substance au mucus de l'intestin de l'hôte, mais il faudrait expliquer pourquoi elle est localisée entre les plis et ne s'étend pas en amas à leur sommet.

Ce revêtement est à rapprocher de celui décrit chez les Coccidies (VIVIER et HENNERE 1965) ou chez l'amibe Thecamoeba terricola (FAURE-FREMIET et ANDRE 1968).

Ces arguments, associés au fait qu'un séjour dans le bleu Alcian à 1 % de Selenidium hollandei semble faire apparaître un réseau de filaments enchevêtrés (étude en cours), sont en faveur de l'existence d'un revêtement polysaccharidique ("Glycocalix", selon BENNET 1963).

c) Les plis épicytaires

Nous examinerons les plis épicytaires de L. tuzetae et S. inopinata. Leur ultrastructure est sensiblement comparable à celle décrite par VIVIER (1968) chez L. pellucida.

Comme cet auteur, on peut distinguer au sommet du pli, en section transversale (Pl. XXIX fig. a) :

- un système de denticulations à la surface du système membranaire interne de la paroi,

- une série de ponctuations disposées en deux rangées, l'une au contact du système membranaire interne, l'autre dans le cytoplasme épicytaire.

L'identification de ces denticulations et ponctuations à un système de fibrilles est délicate. Des coupes tangentielles (Pl. XXIX fig. b), laissent supposer que les lignes parallèles sombres disposées dans le sens longitudinal des plis épicytaires correspondent au système des denticulations : le plan de coupe oblique montre la disparition progressive des membranes internes de la paroi.

Si le cytoplasme épicytaire de L. tuzetae, comme celui de L. pellucida (VIVIER 1968), se trouve dépourvu de toute inclusion (Pl. XXVIII et Pl. XXIX fig. a), celui de S. inopinata montre une série de corpuscules sphériques ou ovoïdes (Pl. XXIII) d'environ 0,2 à 0,3 μ identiques à ceux rencontrés dans le cytoplasme sous-épicytaire périphérique et probablement constitués de mucopolysaccharides : la coloration au bleu Alcian est très nette dans ces régions. La présence d'organites cellulaires dans les plis épicytaires n'est pas une exception chez les Eugrégarines : dans les plis épicytaires de Monocystis herculea existent de nombreux ribosomes et mitochondries (VINCKIER et VIVIER 1968).

A la base des plis existe, sur de nombreuses coupes de L. tuzetae (Pl. XXVII fig. b et Pl. XXIX fig. a), une couche dense de 200 Å environ, tangentielle au système membranaire interne de la paroi et appelée "basale". Sur des L. tuzetae ultracentrifugées in vivo à 130 000 g pendant 1 heure, il est possible de provoquer un glissement du cytoplasme sous-épicytaire et de saisir plus facilement l'ultrastructure de cette lame basale (Pl. XXIX fig. d). Il pourrait s'agir d'un réseau de fibres disposées dans le sens transversal. Le développement de cette lame basale est difficile à préciser : certaines zones de L. tuzetae en sont dépourvues (Pl. XXVIII). Chez S. inopinata, sa présence n'a pu être établie avec certitude (Pl. XXIII, Pl. XXVI fig. b et c).

2. Les formations en relation avec la paroi

Depuis l'étude de S. hollandei (VIVIER et SCHREVEL 1964) nous savons qu'il existe des formations plus ou moins directement associées à la paroi. Leurs relations avec cette dernière permettent de définir 4 catégories principales.

a) Vésicules ouvertes en surface.

Ce type de vésicule comprend essentiellement les formations résultant de l'invagination de la membrane externe de la paroi. Le système membranaire interne de la paroi est interrompu. Ces vésicules sont localisées au fond des sillons chez les Selenidiidae (Pl. XXX fig. a et c), entre les plis épicytaires chez les Lecudinidae (voir VIVIER 1968). Elles comprennent un goulot (0,1 μ de long, 500 Å de large chez S. hollandei) légèrement évasé au sommet et une vésicule sphérique (de 0,3 μ de diamètre chez S. hollandei). Ces vésicules apparaissent souvent remplies d'une substance astructurée. A la périphérie de ces vésicules et dans le cytoplasme, nous observons une zone plus dense

qui peut correspondre soit à la dissolution des membranes internes de la paroi, soit à la diffusion d'une substance. La coupe transversale du goulot de ces vésicules montre un orifice clair entouré de plusieurs cercles sombres correspondant aux membranes de la paroi (Pl. XXIX fig. c). La ressemblance de ces vésicules avec celles de pinocytose que nous avons envisagée dès 1964 (VIVIER et SCHREVEL) sera discutée à propos de la nutrition (Chapitre VI).

b) Vésicules appendues au système membranaire interne de la paroi.

Parmi les vésicules limitées par une membrane et en relation avec la paroi, nous pouvons distinguer des vésicules allongées et des vésicules sphériques.

α) Vésicules allongées

Ce sont des vésicules, longues de 1μ environ et d'un diamètre de $0,1$ à $0,2\mu$, que nous avons rencontrées surtout chez S. hollandei (voir VIVIER et SCHREVEL 1964).

β) Vésicules sphériques ou subsphériques

Si les vésicules allongées sont plutôt rares, les vésicules sphériques ou subsphériques sont très fréquentes aussi bien chez les Selenidiidae que chez les Lecuriniidae.

L'observation de ces vésicules sphériques nous amène à distinguer deux cas :

- vésicules à structures emboîtées,
- vésicules à contenu dense.

- Vésicules à structures emboîtées

Ces vésicules sont généralement les plus nombreuses (Pl. XXX). Autour d'une masse centrale de 800 à 1000 \AA de diamètre, de faible densité et sensiblement sphérique, que l'on pourrait considérer comme un nodule central, vient s'enrouler un système concentrique de membranes (Pl. XXX fig. b et d). Ces structures sont logées dans une vacuole au contenu clair. La dimension de ces vésicules atteint $0,5$ à $0,8\mu$ de diamètre. Elles sont dans de nombreux cas rattachées au système membranaire interne de la paroi. L'insertion semble se réaliser à partir de la membrane interne par un pédoncule de $0,1\mu$ de long, ayant une forme de tronc de cône (Pl. XXX fig. d). Ce pédoncule est

constitué par une masse dense en rapport avec la lamelle la plus externe du système concentrique. Si ce dernier système montre souvent une structure de membrane tripartite (Pl. XXX fig. c), dans quelques cas, il semble formé d'une bande opaque astructurée (Pl. XXX fig. d).

Sur certaines coupes, ne passant pas par l'axe de ces structures, le pédoncule n'est pas visible, toutefois les nombreuses observations de pédoncules permettent de penser qu'il s'agit d'une formation constante.

Il convient d'insister sur le fait que chez S. hollandei, ces vésicules sont souvent en contact avec des systèmes ergastoplasmiques (Pl. XXX fig. b) ou des vacuoles dérivant des dictyosomes (Pl. XXX fig. d).

La description que nous venons de faire chez S. hollandei correspond à ce que nous avons appelé vésicules avec structures myéliniques (VIVIER et SCHREVEL 1964).

Chez S. pendula, le nombre de ces vésicules à structures emboîtées semble être plus faible et par ailleurs elles peuvent présenter des variantes qui nous amènent à examiner l'autre catégorie de vésicules.

- Vésicules à contenu dense

Ces vésicules ressemblent aux précédentes par leur aspect et leur rapport avec la paroi, mais différent par leur contenu. Ainsi chez S. pendula il est fréquent d'observer une sorte de gros élément sombre en forme de S (Pl. XXXI fig. c).

Chez S. filiformis, on observe des vésicules contenant une masse sphérique fortement osmiophile, hétérogène, où la structure à lamelles emboîtées ne peut être nettement décelable (Pl. XXXI fig. d et e).

c) Formations en rapport avec l'interruption du système membranaire interne de la paroi.

Nous insisterons sur les corpuscules denses, ovoïdes, logés dans les orifices du système membranaire interne de la paroi.

Chez S. hollandei, il existe en effet de nombreux cas où des granules ovoïdes, limités par un liseré plus sombre, sont en relation avec des orifices du système membranaire interne de la paroi (Pl. XXX fig. a, Pl. XXXI fig. d). Leur grand axe (0,2 à 0,5 μ) est disposé perpendiculairement à la paroi et le sommet du grain est coiffé par un élément qui se présente en coupe sous la forme

de deux lames disposées selon un V dont la pointe est ouverte et dirigée vers l'extérieur (Pl. XXX fig. a et c). Comme nous l'avons précisé précédemment (VIVIER et SCHREVEL 1964), les coupes tangentielles à la paroi montrent que ces lames apparaissent comme des parenthèses simples ou doubles, placées perpendiculairement à l'axe du sillon (Pl. XXXI fig. a). Cette disposition explique leur absence sur les coupes transversales de la Grégarine, passant par le sommet des granules.

Il existe des accumulations d'une dizaine de ces granules vers certains points des sillons de S. hollandei (Pl. XXXI fig. b). Des granules identiques peuvent être également observés chez les Lecudinidae, en particulier chez L. pellucida (VIVIER 1968).

B - Discussion

Chez les huit espèces, la paroi montre une organisation ultrastructurale correspondant au schéma établi à partir de l'étude de S. hollandei (VIVIER et SCHREVEL 1964). L'existence d'une membrane unitaire tripartite externe, séparée par une couche claire de 300 à 350 Å, d'un système membranaire interne comprenant deux autres membranes tripartites a été étendu à la plupart des Sporozoaires (VIVIER et Coll. 1965). Cette organisation ultrastructurale de la paroi amène au moins deux questions :

- Quelle est la véritable membrane plasmique ?
- Quel est le rôle du système membranaire interne ?

L'existence d'invaginations de la membrane externe en vésicules de type vésicules de pinocytose, permet de penser que la membrane externe est la membrane plasmique. L'interruption du système membranaire interne de la paroi permettant, soit la formation d'invaginations rappelant les vésicules de pinocytose, soit l'extrusion de masses cytoplasmiques à l'extrémité postérieure des mérozoïtes de S. hollandei (SCHREVEL 1968c) suggère l'idée que le système membranaire interne de la paroi contribue au maintien de la forme des Sporozoaires.

A partir du moment où la membrane externe est considérée comme une membrane plasmique, susceptible de répondre à des inductions de pinocytose, il devient nécessaire de souligner que les trois membranes unitaires tripartites de la paroi ne traduisent qu'un aspect morphologique.

La forte opacité des membranes internes par rapport à celle de la membrane externe correspond probablement à une différence de constitution. Il est fréquent que les auteurs étudiant les Sporozoaires parlent de deux membranes à propos de la paroi : la membrane externe ("outer membrane") et la membrane interne ("inner membrane") plus épaisse (SCHOLTYSECK et PIEKARSKI 1965 ; AIKAWA et Coll. 1966 ; SHEFFIELD 1966 ; SHEFFIELD et HAMMOND 1966 ; HEPLER et Coll. 1967).

Dans certains cas (MAC GREGOR et THOMASSON 1965 ; REGER 1967 ; E. PORCHET-HENNERE 1967), on ne distingue au niveau du système membranaire interne que cinq feuillets ("pentalaminar membrane") selon REGER 1967. Cette disposition provient sans doute de l'accolement des deux membranes internes comme le suggère VIVIER (1968).

Il semble évident, après l'étude des conditions de fixation chez les Plasmodium gallinaceum (TERZAKIS 1968) que la préservation de l'ultrastructure des membranes internes est variable. La fixation à la glutaraldéhyde que nous utilisons est favorable à la mise en évidence des deux membranes trilamellaires ou tripartites internes de la paroi.

A côté des problèmes relatifs à la constitution de la paroi des Sporozoaires, se posent les problèmes de son élaboration et de la signification de ses dérivés.

L'élaboration du système membranaire interne de la paroi est précoce.

Chez les très jeunes trophozoïtes et les sporozoïtes, cette structure existe. Les modalités de cette élaboration nous échappent complètement. La participation de grains denses au renouvellement de la couche de 300 à 350 Å séparant la membrane externe du système membranaire interne de la paroi peut être envisagée.

Les différents types de vésicules appendues à la paroi ainsi que les invaginations de la surface externe représentent soit des entrées de matériel soit au contraire des sorties. L'interprétation de ces structures sera examinée à propos de la nutrition (Chapitre VI), elle a déjà fait l'objet de plusieurs discussions (VIVIER, SCHREVEL 1964 ; VIVIER 1968 ; SCHREVEL 1968_a).

III - LE CYTOPLASME CORTICAL

Nous venons de voir que la paroi peut présenter des ornements très variées mais sensiblement constantes pour une espèce donnée. Par ailleurs, nous avons associé à cette étude les formations qui étaient directement en rapport avec la paroi. Nous allons examiner maintenant le cytoplasme cortical compris entre la paroi et l'endoplasme.

Il comprend des systèmes fibrillaires et différents organites cellulaires.

A - Les systèmes fibrillaires

Les systèmes fibrillaires, très fréquents dans le cytoplasme cortical, présentent un développement et un agencement différents selon les familles de Grégarines. Chez les Selenidiidae, nous trouvons, contrairement aux différentes espèces d'Eugrégarines dont l'ultrastructure est connue actuellement, une organisation d'éléments solidaires et définis à laquelle il est possible d'attribuer le terme de "myonème" (VIVIER et SCHREVEL 1964). Nous allons donc envisager séparément le cas des Selenidiidae et celui des Lecudinidae.

1. Les myonèmes

Nous avons précisé dans notre premier travail (VIVIER et SCHREVEL 1964) que, contrairement à l'opinion admise à la suite des travaux de RAY (1930), FOWELL (1936 b), les "myonèmes" ne correspondaient pas aux stries mais devaient s'identifier aux systèmes fibrillaires situés sous les bombements longitudinaux. Cette localisation des myonèmes établie chez S. hollandei, peut être étendue aux différents Selenidiidae examinés.

Il convient de préciser d'abord la constitution puis le développement des "myonèmes" chez les différentes espèces.

a) Eléments constitutifs du "myonème"

Les myonèmes des Selenidiidae sont constitués par un ensemble de fibrilles tubulaires longitudinales (Pl. XXXII).

En coupe transversale, chaque fibre est entourée d'une zone claire limitée par un liseré sombre de forme hexagonale (Pl. XXXII fig. b, Pl. XXXIII fig. a).

Dans les différents cas examinés, S. hollandei (Pl. XXXIII fig. a), S. fallax (Pl. XX fig. b), chaque fibre se présente, en coupe transversale, sous la forme d'un anneau de 300-330 Å de diamètre. La paroi de 70 à 80 Å d'épaisseur très dense aux électrons entoure une région centrale de 160 Å de diamètre, d'aspect clair et homogène. Comme nous l'avons signalé, certaines coupes laissent supposer la présence d'une sous-structure fibrillaire (VIVIER et SCHREVEL 1964); toutefois, la réalité d'une telle organisation rappelant celle des fibres tubulaires de flagelle (ANDRE et THIERY 1963, PEASE 1963) n'est pas encore prouvée, dans notre cas.

L'hexagone délimité par le liseré sombre mesure 600 à 650 Å (Pl. XXXII fig. b). Dans le liseré il est possible de distinguer des points plus denses (Pl. XXXII fig. b).

Les coupes longitudinales et obliques réalisées sur S. hollandei (Pl. XXXIII fig. b et c) et S. filiformis (Pl. XXXIV fig. b) montrent que les fibres sont très longues. Entre leurs axes séparés généralement de 700 à 800 Å existe une bande longitudinale sinueuse de 80 Å environ d'épaisseur, correspondant à la position du système hexagonal. Ce système hexagonal peut correspondre à l'éventualité suivante :

- l'hexagone entourant les fibres longitudinales est un artefact (image de rétraction due à la fixation),

- l'hexagone n'est pas un artefact. Dans ce cas, on peut se demander s'il correspond ou non à un dispositif en rapport avec la mobilité (Chapitre IX).

b) Développement des myonèmes chez les différents Selenidiidae

Les fibres tubulaires, chacune entourée de son système hexagonal, sont disposées régulièrement en couches sous la paroi des bombements longitudinaux mais le nombre de couches et le nombre de fibres varient selon les myonèmes des différents Selenidium. Chez S. hollandei existent au moins deux assises de fibres tubulaires. Le nombre de fibres par couche est variable. Il se situe généralement autour de 20 à 30 pour la première assise avec très peu d'espace entre les fibres (Pl. XXXII fig. b). La deuxième assise est très irrégulière, il existe des espaces importants dépourvus de tubules. Dans cette assise, il est fréquent d'observer des amas de deux, trois ou quatre fibres qui sont ou non à un même niveau (Pl. XXXIII fig. a). Il serait donc possible de

parler de troisième, voire de quatrième assise, en fait cela nous paraît superflu.

Chez S. fallax, le problème est quelque peu identique (Pl. XX fig. b). Dans le bombement longitudinal, ici plus accentué que chez S. hollandei, existe en périphérie, sous la paroi, une rangée d'une vingtaine de fibres tubulaires parallèles et au centre quelques fibres éparses.

Chez S. pendula, la disposition rappelle celle de S. hollandei, les plis sont plus ou moins accentués et il existe au moins deux assises de fibres tubulaires (Pl. XXXIV a).

2. Les systèmes fibrillaires chez les Eugrégarines

Chez la plupart des Eugrégarines dont l'ultrastructure est connue, il est rare de rencontrer un système fibrillaire nettement défini rappelant les myonèmes des Selenidiidae. Parmi les systèmes fibrillaires en relation avec la région corticale des Grégarines étudiées, nous pouvons distinguer trois catégories :

a) les systèmes fibrillaires constituant des mucrons ou appareil de fixation des Lecudina,

b) le système fibrillaire situé à la base de l'épimérite de Sycia,

c) les systèmes fibrillaires de la zone corticale périphérique des Eugrégarines.

a) Les systèmes fibrillaires des mucrons de Lecudina

Nous nous bornerons à signaler l'existence d'une multitude de fines fibrilles de 60 à 70 Å de diamètre, disposées en faisceaux dans les mucrons de Lecudina pellucida (SCHREVEL et VIVIER 1966) et de L. tuzetae (Pl. LVI et Pl. LVIII). Il semble assez logique d'attribuer à ces fines fibrilles, une participation dans les mouvements des mucrons et d'admettre un rôle contractile.

b) Le système fibrillaire situé à la base de l'épimérite de Sycia inopinata

A la base de l'épimérite de Sycia inopinata (Pl. LXXI et Pl. LXXIII), existe, comme nous le verrons en détail au chapitre VII, un dispositif annulaire fortement osmiophile, constitué d'un enchevêtrement complexe d'éléments fibrillaires, de 125 Å de diamètre, donnant un aspect spongieux à cet anneau.

c) Les systèmes fibrillaires de la zone corticale périphérique des Eugrégarines

Nous distinguerons le cas de L. tuzetae de celui de S. inopinata.

Lecudina tuzetae

Souvent nous avons des fibres tubulaires isolées comme chez L. pellucida (VIVIER 1968). Le diamètre de ces fibres est de 300 Å. Sur nos photographies, il semble que l'on assiste dans quelques cas à un début d'organisation des systèmes fibrillaires. Sur des coupes perpendiculaires au plan longitudinal des plis épicytaires, il est possible de distinguer des paquets de 0,4 µ environ, constitués d'éléments fibrillaires (Pl. XXXV fig. b). Ces paquets alternent avec des zones riches en organites cytoplasmiques classiques.

Sycia inopinata

Chez S. inopinata, nous avons des systèmes fibrillaires nettement individualisés à la base des plis épicytaires (Pl. XXIII et Pl. XXVI fig. b et c). Il semble exister deux types d'organisation : d'une part de fines fibres de 150 Å d'épaisseur, au nombre de 5 à 8, espacées de 300 Å environ, qui unissent la base des plis épicytaires en formant une sorte de système annulaire et perpendiculaire à l'axe des plis, d'autre part des paquets de fibres partant de la base des plis et ayant une position plus oblique que celles du système précédent. Il n'est cependant pas exclu que toutes ces fibres appartiennent à un même système unissant la base des plis et ceinturant le trophozoïte.

B - Les organites cytoplasmiques

Nous étudierons ici, non pas les organites cytoplasmiques en tant que tels, mais leur répartition dans les différentes espèces étudiées. En dehors des organites associés à la paroi, décrits précédemment, nous trouvons un cytoplasme différent non seulement entre famille et genre différents mais également entre espèces d'une même famille. Nous allons donc comparer les différents types.

1. Organites cytoplasmiques dans la zone corticale des Selenidiidae

Il existe une différence fondamentale entre S. hollandei et S. pendula d'une part, et les Selenidiidae des Cirratulidae d'autre part.

a) S. hollandei et S. pendula

Chez S. hollandei (Pl. XVIII et Pl. XXXII fig. a), immédiatement sous le système fibrillaire périphérique, se place un niveau mitochondrial (VIVIER et SCHREVEL 1964). Ce niveau mitochondrial est caractérisé par un véritable réseau avec de multiples constriction, protubérances et ramifications. Cette véritable ceinture mitochondriale est interrompue par quelques corps denses (= toxonèmes, rhoptries) et, au niveau des sillons, par les organites associés à la paroi.

Chez S. pendula, nous retrouvons des mitochondries sous la strate fibrillaire mais leur développement est moindre (Pl. XIX). Souvent nous avons des mitochondries isolées et le réseau décrit précédemment est nettement moins développé. Les mitochondries sont entraînées dans les bombements longitudinaux accentués (Pl. XIX). Dans cette zone, il est fréquent d'observer des corps denses et des polysomes (Pl. XXXIV fig. a).

b) Cas des Selenidiidae des Cirratulidae

Chez les Selenidiidae des Cirratulidae, la zone cytoplasmique est totalement différente. Sous les myonèmes, nous trouvons immédiatement parmi les ribosomes, les grains de paraglycogène et les enclaves de réserve; il n'existe plus de niveau mitochondrial (Pl. XX et Pl. XXI fig. a).

Les grains de paraglycogène peuvent pénétrer à l'intérieur de l'épicyte et dans ce cas l'ectoplasme est particulièrement réduit.

2. Les organites cytoplasmiques chez les Eugrégarines

L'organisation du cytoplasme cortical de Lecudina tuzetae présente de nombreux points intéressants aussi allons-nous l'examiner séparément du cas de Sycia inopinata.

a) Cas de L. tuzetae

- Cytoplasme cortical de la région médiane du trophozoïte.

Les mitochondries sont présentes (Pl. XXVIII). Elles sont généralement petites, tantôt sphériques, tantôt allongées. Elles ne semblent guère dépasser 0,5 μ .

L'ergastoplasme et les dictyosomes prennent ici un développement considérable (Pl. XXXV fig. a et Pl. XXXVI). On peut suivre des lames ergastoplasmiques, bosselées sur 3 à 4 μ (Pl. XXXVI fig. a). Dans des dilatations ergastoplasmiques et des dictyosomes il est possible de déceler de nombreux filaments enchevêtrés comparables à ceux recouvrant la paroi (Pl. XXXVI fig. b).

Parmi les lames ergastoplasmiques, nous distinguons de nombreux grains denses ovoïdes de 0,35 μ x 0,30 μ (Pl. XXXVI fig. a). Ces grains denses se montrent limités par une fine membrane et leur opacité permet de distinguer des grains clairs et des grains sombres. Certains grains sont entourés de lamelles qui se disposent concentriquement. Cette disposition rappelle certaines vésicules à structure emboîtée (Pl. XXXVI fig. b).

Pour être complet, il faut souligner la présence de gros grains de 0,8 μ (Pl. XXXVI fig. a) probablement de nature lipidique (voir chapitre IV). Le développement de l'ergastoplasme et des dictyosomes suggère une activité métabolique intense du cytoplasme cortical de L. tuzetae. L'emploi des précurseurs radioactifs viendra confirmer cette hypothèse (Ch. VIII).

- Cytoplasme cortical dans la région antérieure du trophozoïte.

Dans la région antérieure de L. tuzetae se trouve une grande zone dépourvue de paraglycogène que nous avons appelée en microscopie photonique : ectoplasme antérieur (Pl. XXXVII fig. b.). La section transversale montre à la périphérie, sous la paroi, une zone de 1,5 à 2 μ constituée par de grandes vésicules au contour irrégulier, contenant de très nombreuses sections de fins filaments (Pl. XXXVII fig. a.). En-dessous de cette zone, des structures lamellaires s'enfoncent en se rétrécissant. A leur extrémité, nous trouvons de vastes anses constituées de lames ergastoplasmiques englobant un territoire riche en ribosomes.

b) Cas de Sycia inopinata

Chez S. inopinata, le cytoplasme cortical contient de nombreux ribosomes. D'après nos photographies, il n'a pas été possible de déceler de mitochondries. Il existe d'importantes vacuoles irrégulières et de nombreux globules denses généralement ovoïdes. Ces globules s'engouffrent dans les plis épicytaires (Pl. XXIII) et constituent en particulier au niveau du

protomérite, des amas d'une densité surprenante (Pl. LXX figa). La nature mucopolysaccharidique de ces éléments est probable car le Bleu Alcian associé ou non au PAS, colore fortement la périphérie des trophozoïtes.

C - Discussion

Nous considérerons d'une part la comparaison des systèmes fibrillaires, d'autre part la spécialisation métabolique de la région corticale.

- Comparaison des systèmes fibrillaires

Le rôle physiologique des différents systèmes fibrillaires que nous avons décrits, sera examiné en détail à propos de l'étude des mouvements (Ch. IX). Nous nous bornerons à considérer la répartition de ces systèmes dans les différents groupes de Grégarines et d'une façon plus générale chez les Sporozoaires et les autres Protozoaires.

La comparaison des systèmes fibrillaires montre qu'il existe une différence fondamentale entre les Selenidiidae et les Eugrégarines. Parmi les Grégarines dont l'ultrastructure est connue actuellement, les Selenidiidae sont les seules à posséder un système de fibres tubulaires sous-cuticulaires, organisé et développé.

L'existence de fibres tubulaires sous-cuticulaires est très fréquente chez les Flagellés (MIGNOT 1966), chez les Ciliés (GRAIN 1966). L'originalité des fibres des Selenidiidae réside dans le fait qu'elles sont logées, après fixation à la glutaraldéhyde, dans des systèmes hexagonaux et qu'elles sont très grosses. Les fibres tubulaires des Protozoaires ont un diamètre compris en général entre 120 et 280 Å et souvent voisin de 200 à 250 Å. Avec leur diamètre de 300 Å - 330 Å, les fibres des Selenidiidae sont avec les fibres pharyngiennes de Peranema (ROTH 1959), parmi les plus grosses.

Chez les Eugrégarines, la disposition des fibres tubulaires dans le cytoplasme cortical est moins précise comme en témoignent L. pellucida (VIVIER 1968) L. tuzetae, S. inopinata, U. longissima, par contre dans les régions antérieures existent des systèmes fibrillaires bien organisés : mucron des Lecudinidae, anneau situé à la base de l'épimérite de Sycia inopinata. Ces structures ne semblent pas avoir d'équivalence chez les Tricystidées actuellement décrites (DESSPORTES 1967 ; DEVAUCHELLES 1968).

La microscopie électronique permet de définir à partir des structures fibrillaires, des groupes systématiques et d'apprécier plus facilement le degré de parenté entre les différents genres.

Ainsi la présence de fibres tubulaires sous-cuticulaires constitue un caractère commun des Selenidiidae observées et une différence fondamentale avec les Eugrégarines.

- Notion de spécialisation métabolique de la région corticale

A la notion purement morphologique de l'épicyte définissant l'architecture ou l'ornementation de la surface des Grégarines, il nous semble nécessaire d'ajouter celle de la spécialisation métabolique de la région corticale.

L'ectoplasme réduit chez les Selenidiidae est surtout constitué de systèmes fibrillaires et de mitochondries. Par contre chez les Eugrégarines, en particulier les Lecudinidae, l'ectoplasme est beaucoup plus développé et le cytoplasme sous-épicytaire contient en grande abondance ribosomes, systèmes ergastoplasmiques et dictyosomes. Cette différence d'organisation ultrastructurale suggère l'idée que l'activité métabolique de la région corticale n'est pas la même dans toutes les familles de Grégarines.

Pour mieux comprendre cette notion de spécialisation métabolique, il convient d'examiner les constituants du cytoplasme profond ou endoplasme et certains aspects de la physiologie cellulaire.

IV - CONCLUSION

L'étude ultrastructurale de la région corticale des Grégarines appartenant aux genres Selenidium, Lecudina, Sycia et Urospora, montre une organisation identique de la paroi avec trois membranes tripartites et permet de dégager deux notions : l'épicyte et la spécialisation métabolique de la région corticale.

L'épicyte, notion purement morphologique, souligne la diversification des régions corticales des Grégarines par rapport à celles des autres

Sporozoaires. La variété de l'architecture corticale chez les Grégarines étudiées mérite d'être retenue dans la systématique pour fixer en particulier les rapports entre les diverses familles.

L'organisation ultrastructurale différente des régions corticales de ces Grégarines amène l'hypothèse d'une spécialisation métabolique des régions corticales, hypothèse que nous essaierons de résoudre dans la suite de ce travail.

CHAPITRE IV

LES ORGANITES CYTOPLASMIQUES - L'ENDOPLASME

Les organites cytoplasmiques et les inclusions de réserve sont abondants et variés chez les Grégarines. Leur présence et leur développement varient selon les genres et les espèces. Nous allons envisager les différents cas à partir des huit espèces étudiées précédemment.

I - LES MITOCHONDRIES

Les mitochondries des Grégarines parasites ^{d'A. Polychètes} présentent des modifications très intéressantes en rapport avec leur mode de vie. Dans une étude antérieure (VIVIER et SCHREVEL 1966) nous avons décrit les mitochondries de S. hollandei. En reprenant cette description, nous étendrons nos observations aux Selenidiidae et aux Eugrégarines.

A - Selenidiidae

1 - Espèces au système mitochondrial développé

a) Selenidium hollandei

Nous avons souligné précédemment l'existence d'une zone mitochondriale développée située sous le système fibrillaire périphérique (Pl. XVIII et Pl. XXXII, fig. a) ; il existe cependant de rares mitochondries dans le cytoplasme profond.

Les mitochondries de S. hollandei se distinguent de celles de la plupart des Protozoaires par le fait que la membrane interne forme des vésicules ampoulées ne rappelant que de très loin les crêtes ou les tubules des mitochondries (Pl. XXXII, Pl. XXXVIII, fig. a). Ces vésicules ampoulées ont une longueur variable se situant généralement aux environs de 1000 Å, avec un diamètre de 600 à 700 Å dans la partie la plus large. Le pédoncule rétréci a un diamètre approximativement égal à celui de l'espace intermembranaire périphérique soit 150 à 200 Å.

Le volume de la matrice mitochondriale est nettement plus élevé que celui des vésicules. Ces dernières, disposées à la périphérie, présentent généralement une opacité plus forte que celle de la matrice ou de l'espace intermembranaire avec lequel elles communiquent. Cette opacité provient probablement de la présence de l'une des parois de la vésicule dans l'épaisseur de la coupe.

Il existe chez les mitochondries de S. hollandei des variations ultrastructurales qui sont essentiellement :

- ramification des mitochondries aboutissant à la formation d'un véritable réseau (Pl. XXXVIII, fig. b).
- apparition de crêtes incurvées dessinant des arceaux. (Pl. XXXVIII, fig. d).
- agglomération de plusieurs mitochondries (Pl. XXXVIII, fig. c).

Il convient de remarquer que les figures myéliniques intramitochondriales que nous avons signalées précédemment (VIVIER et SCHREVEL 1966) résultent peut-être de modifications consécutives à la fixation à la glutaraldéhyde (CURGY 1968).

b) S. pendula

La répartition des mitochondries de S. pendula diffère de celle de S. hollandei par deux points ; d'une part, le système périphérique est moins développé (Pl. XXXIX, fig. a), d'autre part, les mitochondries sont abondantes dans le cytoplasme profond (Pl. XIX).

L'ultrastructure, par contre, est comparable (Pl. XXXIX, fig. b). Il existe cependant une particularité que nous avons retrouvée à de nombreuses reprises chez cette espèce. Il s'agit de l'existence de mitochondries dont la matrice dilatée contient une substance fortement opaque (Pl. XXXIX, fig. a et c) atteignant 0,7 μ , au contour irrégulier. La nature de cette substance nous échappe. Sa texture est très finement granulaire. On peut remarquer que la coloration de cette masse semble identique à celle des grains intracisternaux (SCHREVEL 1966 b). Il serait possible d'invoquer un artéfact de fixation toutefois PORCHET-HENNERE (1967, 1969) a signalé l'existence de masses identiques dans certaines mitochondries de Coelotropha durchoni. La présence de ces mitochondries modifiées est fréquente : il est souvent possible d'en distinguer deux ou trois dans une même section.

2 - Espèces au système mitochondrial réduit

Chez les Selenidiidae parasites de Cirratuliens, le système mitochondrial se réduit particulièrement. Dans de très nombreux cas, aussi bien chez S. filiformis (Pl. XL, fig. a) que chez S. fallax (Pl. XL, fig. b et c), il n'existe pas ou peu de mitochondries. Quand elles sont présentes, elles sont disposées plutôt dans l'axe du trophozoïte et leur ultrastructure est très particulière. Il s'agit, dans la plupart des cas, d'un sac à double paroi (Pl. XL, fig. b et c). Ces mitochondries souvent arrondies, en forme de ballon, peuvent être identifiées dans la mesure où certaines coupes montrent une ou deux vésicules ampoulées (Pl. XL, fig. a). L'espace intermembranaire est de 150 Å. La matrice est souvent plus opaque que l'espace intermembranaire.

B - Eugrégarines

Les mitochondries des Eugrégarines sont généralement petites et allongées (0,5 µ chez L. tuzetae) (Pl. XXVIII, Pl. XXXV fig. a, Pl. XXXVI) ; 0,5 à 1 µ chez U. longissima (Pl. XXIV).

L'organisation interne est comparable à celle de S. hollandei. La disparition des mitochondries typiques peut être observée chez S. inopinata (Pl. XXIII, Pl. LXXIV fig. b), Eugrégarine cohabitant avec les Selenidiidae.

C - Discussion

La membrane interne de la mitochondrie ne constitue pas des tubules comme c'est le cas chez de nombreux Ciliés (ANDRE in LENHINGER 1964, GRAIN 1966), Euglénomonadines (MIGNOT 1966), mais des vésicules en forme d'ampoule. Cette ultrastructure se retrouve chez les Dinoflagellés (DODGE et CRAWFORD 1968) mais dans ce cas le nombre de vésicules est nettement plus important que chez S. hollandei et S. pendula.

La structure des mitochondries de Grégarines est sans doute en relation avec le mode de vie. La comparaison des mitochondries de S. hollandei, S. pendula avec celles des Cirratulidae montre que :

1°) le développement du réseau mitochondrial va de pair avec la mobilité des parasites :

S. hollandei et S. pendula, espèces à mouvements rapides et puissants ont un réseau mitochondrial développé.

Les Selenidiidae des Cirratulidae, espèces à mouvements lents et de faible ampleur, ont un système mitochondrial réduit.

2°) La vie en anaérobiose entraînerait la perte des vésicules internes.

Cette hypothèse exposée à propos des mitochondries de S. hollandei (VIVIER et SCHREVEL 1966) a été étendue par VIVIER (1966) à partir de la comparaison des mitochondries de Ciliés libres (Spirostomum), de Grégarines parasites (S. hollandei) et d'hyperparasites (Metchnikovella hovassei, parasite de la Grégarine Lecudina pellucida). Si cette notion paraît être établie sur des exemples extrêmes, il convient de souligner l'intérêt que présente la comparaison envisagée.

Dans la même famille de parasites, on observe de nombreuses mitochondries avec des vésicules ampoulées abondantes chez S. hollandei et S. pendula, de rares mitochondries réduites à de simples sacs à double membrane, souvent dépourvues de vésicules internes chez les Selenidiidae des Cirratulidae. Or les Cirratuliens habitent une vase putride, très riche en matières organiques (GEORGE 1964), les Nerines et Hermelles, au contraire, sont localisées dans des sables plus ou moins coquilliers, bien oxygénés et propres (RULLIER 1959, AMOUREUX 1966, VOVELLE 1966). On imagine volontiers que la teneur en oxygène dans l'intestin des Cirratuliens est plus faible que dans celui des Hermelles et Nerines, malheureusement il n'existe aucun travail consacré à ce sujet.

En attendant la connaissance de ces teneurs en oxygène, il nous semble que la comparaison des conditions existant dans la lumière intestinale des Sabellaria et Nerine d'une part et des Cirratulidae d'autre part, permettra d'expliquer les modifications mitochondriales signalées précédemment et de vérifier l'hypothèse selon laquelle la vie en anaérobiose provoquerait la perte des structures internes des mitochondries.

II - ENCLAVES GLUCIDIQUES : PARAGLYCOGENE ET MUCOPOLYSACCHARIDES

Il existe chez les Grégarines étudiées, trois types principaux d'enclaves. Ce sont :

1°) des grains, de taille variable selon les espèces, se colorant

en noir après double fixation et double coloration, en clair après simple fixation et simple coloration au plomb (VIVIER et SCHREVEL 1966). Il s'agit des grains de paraglycogène.

2°) de gros granules sphériques ou ovoïdes, à contour régulier après fixation aldéhydique, à contour bosselé après fixation osmique. Ces enclaves ont été considérées de nature lipidique (VIVIER et SCHREVEL 1966).

3°) des granules, souvent plus petits que les précédents, constitués de fins réseaux de filaments enchevêtrés, plus ou moins visibles selon les espèces (Pl. XLV, fig. c). Ces granules sont probablement à rattacher aux mucopolysaccharides.

Ces différentes enclaves seront étudiées sous l'angle ultrastructural et cytochimique.

A - Le paraglycogène

Les Grégarines contiennent une substance glucidique caractéristique appelée soit paraglycogène (BUTSCHLI 1885) soit zocamylon (MAUPAS 1886), le premier terme étant le plus usité.

Par sa coloration rouge brun à l'iode, elle s'apparente au glycogène, par son aspect en sphérule ou ovoïde, présentant le phénomène de la croix noire en lumière polarisée (MAUPAS 1886), elle se rapproche de l'amidon. Les caractérisations cytochimiques (PATILLO W.H. et BECKER E.R. 1955, CHEISSIN 1959, NATH et DUTTA 1962) basées sur la technique P.A.S. n'ont jamais été l'objet d'une étude approfondie quant à la spécificité des techniques. Nous appliquerons chez S. hollandei et L. tuzetae, les différentes techniques cytochimiques spécifiques du glycogène. Nous ajouterons une investigation ultrastructurale basée sur la technique Thiocarbohydrazide - Protéinate d'Argent (technique Seligman modifiée par THIERY 1967) et accompagnée de divers types de digestions enzymatiques. Nous discuterons ces résultats avec les données biochimiques récentes de RILEY et Coll. (1968) identifiant le polysaccharide de réserve d'Eimeria tenella à une amylopectine et non au glycogène.

1 - Aspect du paraglycogène

Sur le vivant, le paraglycogène se présente sous forme de grains très réfringents (Pl. X, fig. d), réfringence que nous retrouvons également sur les coupes semi-fines de Grégarines.

La microscopie électronique permet de fixer avec précision la forme et la taille des grains.

Les grains de paraglycogène des Selenidiidae sont généralement ovoïdes plus ou moins fusiformes, de petite taille. La longueur est comprise entre 0,3 μ et 0,6 μ , pour une largeur de 0,15 à 0,20 μ (Pl. XVIII).

Chez les Eugrégarines, les grains sont souvent réniformes **mais** il existe des zones plus ou moins bosselées donnant des formes très variées. Chez L. tuzetae, les grains atteignent 1,5 à 2 μ de long pour une largeur de 1 μ (Pl. XXII et Pl. XLV, fig. c). Chez S. inopinata, ils sont un peu plus petits atteignant 0,8 μ à 1 μ de long sur 0,3 μ de large (Pl. XXIII).

Comme nous l'avons précisé, les techniques d'inclusion et de coloration en microscopie électronique modifient l'opacité des grains. Les simples fixations, suivies de coloration au plomb, donnent des grains blancs, les doubles fixations et coloration, des grains noirs. Notons que la coloration par l'acétate d'uranyle 5 % pendant 30 minutes sur des inclusions ayant subi la double fixation donnent des grains clairs. Dans les différents cas le grain de paraglycogène présente toujours une zone périphérique plus sombre.

Avec ces techniques, il n'est pas possible de préciser un arrangement ou une structure interne.

2 - Caractères cytochimiques du paraglycogène

Le caractère cytochimique fondamental du paraglycogène est sa coloration par le lugol dilué, à froid. Cette coloration est franche tandis que dans de nombreux cas (foie par exemple), la même coloration ne provoque pas de coloration nette du glycogène (GUHA 1962).

La réactivité du paraglycogène avec la technique P.A.S. est bien connue. Toutefois, cette technique libère les groupements 1-2 glycol ou vic-glycol des polysaccharides mais également d'autres radicaux non spécifiques (LISON 1960).

Pour distinguer avec plus de précision le paraglycogène dans les sections de Grégarines, nous avons envisagé des techniques plus spécifiques du glycogène (techniques de Bauer et P.A.S.-dimédon), associées à des digestions par la salive, l' α amylase et la β amylase à 37° C ; les contrôles étant effectués par de l'eau distillée à même température. Pour vérifier la solubilité du paraglycogène à chaud nous avons traité des lames par de l'eau distillée à 60° C pendant 1 heure.

Les résultats consignés dans les deux tableaux 10 et 11 montrent que la technique P.A.S. seule ne permet pas de distinguer nettement les colorations dues au paraglycogène et aux mucopolysaccharides. Par contre, l'utilisation de techniques plus spécifiques tel le Bauer ou le P.A.S.-dimédon permet de connaître avec exactitude les colorations dues au paraglycogène. Le paraglycogène est digéré après l'action à 37° de la salive et l' α amylase. Après ^{un} passage d'une heure dans de l'eau à 60° C, une forte coloration persiste, montrant que la solubilité du paraglycogène est incomplète et faible pour une période de temps aussi limitée.

3 - Mise en évidence d'un arrangement ultrastructural après la technique T.C.H. Protéinate d'Argent (selon Thiéry 1967)

La technique T.C.H. Protéinate d'Argent met en évidence avec une bonne spécificité, le glycogène et les radicaux 1-2 glycol ou vic-glycol (THIÉRY 1967). Elle présente un double avantage chez les Grégarines, tout d'abord elle montre une organisation interne du grain de paraglycogène ensuite elle détecte, avec beaucoup d'exactitude, les effets ultrastructuraux des digestions enzymatiques. Nous l'avons étudiée particulièrement sur S. hollandei.

a) Aspect du grain de paraglycogène après la technique T.C.H. Protéinate d'Argent

Après l'action du T.C.H. pendant 30 à 45 minutes, le protéinate d'Argent met en évidence de nombreuses particules fortement opaques, au niveau des grains de paraglycogène (Pl. XLI). Ces particules, arrondies ou lenticulaires mesurent entre 80 à 130 Å. Leur répartition amène deux remarques :

Conditions Colorations	Coloration normale	α amylase 1 H 37° C	β amylase 1 H 37° C	Salive 30 min 37° C	H ₂ O 1 H 37° C	H ₂ O 1 H 60° C
	PAS	+++	(+)	++	(+)	+++
BAUER	+++	-	+++	-	+++	+++
PAS dimédon	+++	-	+++	-	+++	+++

Tableau 10 - Résultats des techniques utilisées pour l'étude cytochimique du paraglycogène.

Cas de *S. hellandei*. Convention : +++ très forte coloration ; ++ forte coloration ; + faible coloration ; - absence de coloration ; les parenthèses indiquent les résultats douteux.

Conditions Colorations et Zones observées	Coloration normale	α amylase 1 H 37° C	β amylase 1 H 37° C	Salive 30 min 37° C	H ₂ O 1 H 37° C	H ₂ O 1 H 60° C
	PAS	ectoplasme	+++	++	++	+ (+)
endoplasme		+++	(+)	++	+	++
BAUER	ectoplasme	(+)	-	-	-	-
	endoplasme	++	(+)	+ (+)	-	+++
PAS-dimédon	ectoplasme	+	-	-	-	-
	endoplasme	+++	-	++ (+)	-	+++

Tableau 11 - Colorations des *Lecudina tuzetae* après les techniques utilisées pour la mise en évidence du paraglycogène. Convention : +++ très forte coloration ; ++ forte coloration ; + : faible coloration ; - absence de coloration ; les parenthèses indiquent les résultats douteux.

- la densité au centre du grain de paraglycogène est nettement plus faible (Pl. XLI, fig. a) ; ceci peut expliquer la coloration périphérique plus sombre, obtenue par les techniques classiques.

Les coupes superficielles montrent que les grains sont limités par de nombreuses particules séparées par des espaces clairs (Pl. XLI, fig. a). Cette disposition rejette l'existence d'une membrane autour du grain.

Il est fréquent d'observer que le cytoplasme entourant les grains présente des amas irréguliers de particules qui peuvent être considérés soit comme la libération de particules soit au contraire comme des particules néo-formées qui vont participer à la croissance du grain de paraglycogène (Pl. XLI, fig. b et c).

La finesse et la sensibilité de cette technique capable de déceler des quantités infimes de réserve glucidique ont été confirmées par l'étude ultrastructurale de l'effet des digestions enzymatiques.

b) Effets ultrastructuraux de l'action de l' α amylase et de la trypsine

Dans le but d'étudier les enclaves de S. hollandei, nous avons effectué des digestions enzymatiques avec de l' α amylase (B.D.H. α amylase, bacterial source, 60 units par mg), de la trypsine (Difco, Trypsine 1 : 250) et de la salive.

- Essais sur le vivant

Au cours d'essais préliminaires, nous avons placé des S. hollandei vivants dans des solutions à 1 % α amylase dans de l'eau de mer à 37° C pendant 1 heure et 3 heures, et dans de la salive à 37° C. La préservation des ultrastructures était généralement mauvaise, en particulier, après l'action de la salive. Dans le cas de l'action de l' α amylase pendant 1 heure, la digestion du paraglycogène était faible, seul le centre des grains était attaqué; la conservation des organites tels les mitochondries, dictyosomes n'était pas bonne (Pl. XLII, fig. a). Après une action de 3 heures, la conservation cytoplasmique était franchement mauvaise, les grains de paraglycogène se concentraient en des plages importantes (Pl. XLII, fig. b) et présentaient une perte sensible d'opacité.

Ces essais sur le vivant, peu satisfaisants furent abandonnés.

- Essais enzymatiques après une courte préfixation

Après une préfixation de 30 minutes à la glutaraldéhyde tampon phosphate suivie d'un rinçage dans le tampon, les blocs furent soumis à des solutions d' α amylase et de trypsine selon les conditions suivantes :

Expériences :

- 1 - α amylase 1 % eau de mer 37° C : 3 heures
- 2 - Trypsine 0,1 % eau de mer 37° C : 3 heures
- 3 - Trypsine 0,1 % eau de mer 37° C : 6 heures
- 4 - Trypsine 0,1 % eau de mer 37° C : 1 heure puis α amylase 1 % eau de mer 37° C : 1 heure.

- Action de α amylase

Contrairement aux essais sur le vivant, l'action de l' α amylase pendant 3 heures (expérience 1), sur des blocs ayant subi une courte préfixation, conservait convenablement le cytoplasme tandis que tous les grains de paraglycogène étaient digérés (Pl. XLII, fig. c). La vérification par la technique T.C.H.-Protéinate d'Argent ne montre en effet que quelques infimes traces de paraglycogène sous la forme de quelques particules (Pl. XLIII). Les images prouvent par ailleurs qu'il n'existe aucune membrane, ni paroi autour du grain de paraglycogène (Pl. XLIII, fig. b). La digestion enzymatique ne semble avoir porté essentiellement sinon uniquement que sur les grains de paraglycogène.

- Action de la trypsine

L'action de la trypsine est particulièrement intéressante car elle permet d'assister à la réduction et à la dissociation du paraglycogène.

Expérience 2 :

Après une action de 3 heures par la trypsine à 0,1 % on assiste à une attaque des grains de paraglycogène (Pl. XLIV, fig. a). On peut remarquer toute une progression dans la dissociation des grains. Certains grains ne sont pratiquement pas touchés, certains montrent une digestion centrale (Pl. XLIV, fig. b), d'autres une dissociation comparable à un éclatement, parfois il ne

reste que quelques trames polysaccharidiques (Pl. XLIV, fig. c) et enfin il y a digestion totale (Pl. XLIV, fig. a).

De cette expérience, on peut déduire des renseignements intéressants sur l'organisation du grain de paraglycogène. Tout d'abord, la région centrale du grain semble être très fragile. Compte tenu des observations sans action enzymatique, on est en droit de penser que le degré de cohésion est plus faible dans la région centrale du grain de paraglycogène.

Une autre remarque importante concerne l'association des différentes particules mises en évidence par la technique T.C.H. protéinate d'Argent. Sur les nombreuses photographies, les particules opaques de 80 à 130 Å sont disposées selon des filaments ou chaînettes ramifiées. Certaines images (Pl. XLIV, fig. c et fig. d) semblent indiquer une disposition radiaire ou parallèle de ces filaments.

Expérience 3 :

Si le temps d'action de la trypsine est porté à 6 heures, on assiste à la disparition du paraglycogène. Les images obtenues (Pl. XLV, fig. a) sont comparables à celles de l'expérience n° 1. Remarquons que la disparition du paraglycogène provient sans doute de la solubilité des grains en solution aqueuse chaude plutôt que d'une action enzymatique.

- Action successive de la trypsine et de l' α amylase

L'expérience n° 4 montre le rôle de l' α amylase dans la digestion du paraglycogène. Après 1 h de trypsine suivie de 1 h α amylase, les grains sont, pour la plupart digérés (Pl. XLV, fig. b). L'action de la trypsine seule pendant 3 heures ne parvient pas à donner un tel résultat. Notons que dans l'espace clair de certains grains digérés, il est possible d'observer de fins résidus filamenteux.

Ainsi à l'aide de la technique T.C.H. Protéinate d'Argent (THIERY 1967) associée à des digestions enzymatiques, il est possible de mettre en évidence des sous-unités dans le grain de paraglycogène.

B - Les mucopolysaccharides

1 - Aspects cytochimiques

Le tableau 11 montre chez Lecudina tuzetae la persistance de la coloration P.A.S. au niveau de l'ectoplasme même après action de l' α amylase et de la salive.

Par contre, avec les techniques spécifiques du glycogène, il n'existe pas de coloration nette. On peut donc penser à l'existence de mucopolysaccharides d'autant plus que le Bleu Alcian à pH 2,3 montre une réaction bleue à la périphérie de la Grégarine. Cette technique associée au P.A.S. (procédé Vialli) indique également la présence de mucopolysaccharides dans l'endoplasme, parmi les grains de paraglycogène.

La mise en évidence des mucopolysaccharides chez S. hollandei est plus difficile. Il est fréquent d'observer, le long des sillons, des points bleus après la technique de Bleu Alcian. . .

2 - Aspect ultrastructural

Compte tenu de l'intensité de la réaction au Bleu Alcian chez L. tuzetae, il semble raisonnable d'identifier les mucopolysaccharides aux granules denses et aux vésicules plus ou moins ovoïdes de la région corticale (Pl. XXXVI, fig. b) et du cytoplasme profond (Pl. XLV, fig. c). Les vésicules corticales mesurent jusqu'à 0,4 μ de long sur 0,30 μ de large. Elles se trouvent remplies d'un réseau de fins filaments présentant de nombreuses densifications opaques. Il faut également identifier à des mucopolysaccharides, les nombreuses vésicules et plages atteignant 0,8 μ de long, situées entre les grains de paraglycogène et présentant un aspect comparable aux vésicules corticales (Pl. XLV, fig. c). Chez Sycia inopinata, les réactions cytochimiques amènent à considérer les nombreuses petites vésicules sphériques (Pl. XXIII, et Pl. IXX fig^a) denses et remplies d'un réseau de filaments, comme des mucopolysaccharides.

L'identification des mucopolysaccharides chez S. hollandei est peut être plus délicate. Ils semblent correspondre aux granules denses disposés dans les interruptions du système membranaire interne (Pl. XXX, fig. a et Pl. XXXI, fig. b) et aux différentes vésicules situées au pôle apical des dictyosomes

qui sont par ailleurs situés souvent près de la paroi (Pl. XLIX, fig. c).

C - Les enclaves lipidiques

D'une façon générale, il existe chez les Grégarines parasites d'Annélides Polychètes, d'importants granules ovoïdes ou sphériques à contour régulier (Pl. XVIII, Pl. XX fig. a, Pl. XXXI fig. d) après fixation à la glutaraldéhyde, à contour bosselé après fixation osmique (Pl. XXIV et Pl. XXVIII). Ces granules que nous avons décrits chez S. hollandei (VIVIER, SCHREVEL 1966) sont très abondants. Chez toutes les Selenidiidae examinées, la taille des granules ($1,5 \mu \times 1 \mu$) est supérieure à celles des grains de paraglycogène. Chez les Lecudina tuzetae et Sycia inopinata, la différence de taille est moins apparente.

La forte opacité et les formes irrégulières après les fixations osmiques sont celles des lipides observés avec les techniques classiques utilisées chez les Métazoaires. La mise en évidence sur des S. hollandei in toto (Pl. XLV, fig. d) et sur des coupes semi-fines de S. filiformis, de gros granules fortement colorables par le noir Soudan B, permettent d'assimiler ces enclaves à des lipides. Notons que la coloration de ces enclaves après double fixation et double coloration reste généralement claire.

D - Discussion sur les enclaves

Il convient de distinguer les trois types d'enclaves. La première question est de savoir s'il faut ou non identifier le paraglycogène ou zooamylon au glycogène ou à l'amidon. En fait, la coloration brun pourpre à l'iode limite essentiellement le problème à son identification au glycogène.

Du point de vue purement cytochimique, nous avons montré que le paraglycogène se colorait par les techniques du glycogène. Les digestions enzymatiques par la salive et l' α amylase sont identiques à celles obtenues avec le glycogène. Toutefois les caractères de non solubilité à froid et sa coloration par l'iode, font qu'il est difficile d'identifier le paraglycogène à un glycogène.

L'application de la technique T.C.H. Protéinate d'Argent met en évidence de nombreuses sous-unités ou particules. Ces particules mesurent dans le cas de S. hollandei entre 80 \AA et 130 \AA .

Les traitements enzymatiques, en particulier après 3 heures de tryp-sine 0,1 % dans l'eau de mer, sur les blocs ayant subi une courte préfixation glutaraldéhydrique montrent que ces particules sont reliées par de fins fila-ments donnant un aspect de chaînette moniliforme au système.

La mise en évidence de ces filaments dont certains seraient en posi-tion parallèle ou radiaire est intéressante, on peut se demander s'il n'existe pas un rapport entre cette organisation ultrastructurale et la disposition des molécules ou macromolécules qui entrent dans la constitution du grain. Le fait que les grains de paraglycogène donnent une croix noire en lumière polarisée (MAUPAS 1886) signifie que les molécules ou les macromolécules constitutives du grain sont disposées d'une façon radiaire ou en couches concentriques.

Ces filaments et le nombre plus élevé de particules situées à la périphérie, qu'au centre du grain, permettent d'expliquer que le degré de cohésion est plus faible au centre qu'à la périphérie du grain. Cette diffé-rence de cohésion entre le centre et la périphérie semble être vérifiée par le fait que la digestion du grain commence généralement par le centre. De plus il faut signaler l'absence de membrane autour des grains de paraglycogène.

Les particules, mises en évidence par la technique T.C.H.-Protéinate d'Argent, semblent caractéristiques du paraglycogène mais posent le problème de l'existence d'unités polysaccharidiques définies. Si cette hypothèse était juste elle laisserait entrevoir une élaboration du grain par juxtaposition de ces particules. Dans le cas du glycogène, il est admis que ce dernier est syn-thétisé dans le cytoplasme. Dans le cas des Grégarines il n'est absolument pas nécessaire d'envisager la participation d'organites cellulaires (mitochondries par exemple E. PORCHET-HENNERE 1967) dans l'élaboration du paraglycogène. Pour nous l'élaboration du paraglycogène est assurée par le système ribosomal. Dans la zone de contact avec le grain, la présence d'amas de particules réagissant à la technique de THIERY semble indiquer que l'élaboration tout comme la disso-ciation du grain doit se faire progressivement. Enfin notons que le grain de paraglycogène ne présente pas l'aspect des particules α et β du glycogène, définies par DROCHMANS (1962).

Du point de vue cytochimique et ultrastructural, il apparaît diffi-cile d'identifier le paraglycogène à un véritable glycogène. Les travaux de RILEY et Coll. (1968) sur le paraglycogène d'Eimeria montrent que

ce glucide est une amylopectine : les chaînes glucosidiques comprendraient 20 glucoses. D'après SWANSON et CORI¹⁹⁴⁸), la coloration à l'iode dépendrait de la longueur des chaînes glucosidiques. La coloration brun-pourpre du paraglycogène correspondrait à des longueurs de chaînes comprises entre 13 et 21 glucoses. Les fins résidus qui subsistent dans l'espace clair des grains digérés sont de nature filamenteuse, cette observation est en faveur de la nature amylopectinique du paraglycogène (DROCHMANS, communication personnelle).

Il nous paraît tout à fait logique que le paraglycogène ne soit plus considéré comme un glycogène, il doit être considéré comme une amylopectine.

Pour enlever toute ambiguïté, il nous paraît nécessaire de substituer au terme de paraglycogène, celui d'amylopectine pour désigner les réserves glucidiques des Sporozoaires se présentant sous la forme de grains. La mise en évidence de particules et de structures filamenteuses au niveau des grains de paraglycogène permet d'envisager des conceptions nouvelles sur la structure, la formation, et l'utilisation de cette substance polysaccharidique.

Dans le cas des Sporozoaires, l'accumulation de grains de réserve polysaccharidique permettrait aux parasites de régulariser leur métabolisme en fonction des apports nutritionnels variables.

La présence d'enclaves mucopolysaccharidiques correspond très vraisemblablement à un stockage en prévision de la formation de la coque kystique au cours de la reproduction. Elle pourrait, peut être, participer au renouvellement de certaines parties de la paroi ou de son revêtement.

La signification des lipides chez les trophozoïtes est très complexe. Leur grande abondance et surtout la taille des grains, chez toutes les espèces, ne nous permet pas d'avancer d'interprétation sur leur signification. Leur élaboration reste énigmatique. Notons que leur présence chez les Selenidiidae des Cirratulidae, où le cytoplasme comprend surtout des ribosomes, laisse penser que leur élaboration ne nécessite pas un système complexe. Par ailleurs, se pose le problème du passage des éléments constitutifs de ces lipides de l'hôte dans le parasite.

III - CORPS DENSES ANTERIEURS (= TOXONEMES = RHOPTRIES = PAIRED ORGANELLES)

Dans la région antérieure des Sporozoïtes et Mérozoïtes ont été décrits sous divers noms, des organites caractéristiques de ces stades : toxonèmes, sarconèmes, lankesterellonèmes, "convoluted tubules" etc..., leurs définitions, lien de parenté ou homologues restent dans l'ensemble confus, Pour désigner ces organites dans les trophozoïtes de S. hollandei, nous avons utilisé le nom de corps denses antérieurs (SCHREVEL 1968 a).

A - Description des corps denses antérieurs

1 - Chez les Selenidiidae

Les corps denses antérieurs correspondent très vraisemblablement aux corps chromatiques décrits par RAY (1930) dans la région antérieure de divers Selenidiidae.

a) Selenidium hollandei

Grâce à l'examen d'un nombre important de préparations, il nous est arrivé, dans quelques rares cas, d'obtenir une section importante des corps denses antérieurs.

Le corps dense antérieur est une sorte de sac cylindrique, atteignant 3,3 μ de long pour 2,5 μ de diamètre environ, qui présente un pédoncule de 0,6 μ (Pl. XLVI, fig. a). Sous la membrane ondulée, on peut distinguer d'abord une zone corticale grise de 170 Å environ puis une zone centrale à limite rectiligne et d'opacité variable (Pl. XLVI, fig. b). L'existence de ces deux zones est particulièrement nette sur les préparations très contrastées. Le pédoncule présente également ces deux zones.

Les sections de corps denses antérieurs sont très nombreuses (Pl. XLVI, fig. b) et le terme de "paired organelles" qui, par définition, désigne deux organites ne peut être retenu pour le Selenidium hollandei. Ils côtoient sur une très grande longueur aussi bien les grandes vacuoles digestives à vésicules (Pl. LXII) que les grandes vacuoles à systèmes lamellaires (Pl. XLVII, fig. b). L'examen de nos photographies ne nous a pas permis de montrer leur pénétration à l'intérieur du conoïde. La possibilité d'un point d'émergence différent du conoïde n'est toutefois pas à rejeter. En effet, il existe

un canal s'abouchant au moins aux membranes internes ; il est en relation avec une formation (Pl. LXI , fig. a) rappelant l'organisation du corps dense antérieur.

b) Selenidium pendula

On rencontre fréquemment dans les sections de S. pendula, des amas d'organites identiques aux corps denses antérieurs de S. hollandei (Pl. XLVI, fig. c). Leur organisation est analogue. On retrouve des sacs allongés, de section cylindrique (Pl. XLVI, fig. c), possédant une membrane ici nettement ondulée, les deux zones corticales de 180 Å environ, et une zone centrale de 0,80 µ plus opaque. Les dimensions de ces éléments, 0,5 µ de long pour 1 µ de diamètre, sont plus petites que celles de S. hollandei mais ce caractère paraît secondaire car nous n'avons pas observé suffisamment de sections de cette Grégarine à diverses époques de son cycle.

c) Selenidiidae de Cirratulidae

Contrairement aux exemples précédents, ces Grégarines ne semblent pas présenter un système de corps denses antérieurs développé.

2 - Lecudinidae

Dans l'étude de la région antérieure de L. pellucida et L. tuzetae, nous décrivons et parmi les vacuoles et les systèmes membranaires, l'existence de nombreuses formations tubulaires ou claviformes, de 1 à 2 µ, de structure comparable aux corps denses de Selenidiidae (Pl. LVI et Pl. LVIII).

3 - Sycia inopinata

Nous n'avons pas observé de corps denses antérieurs dans cette Grégarine.

B - Mise en évidence de la phosphatase acide au niveau des corps denses antérieurs

L'application de la technique de Gomori relative à la mise en évidence des phosphatases acides, donne une réaction franchement positive au niveau des corps denses antérieurs (Pl. XLVII, fig. a). La phosphatase acide est surtout abondante dans la zone centrale (Pl. XLVII, fig. c). Les séries témoins ont une réaction négative au niveau des corps denses antérieurs (Pl. XLVII, fig. b).

La présence d'hydrolase dans les corps denses antérieurs nous amène à discuter la signification de ces organites dans les trophozoïtes que nous avons examinés mais aussi dans les mérozoïtes et sporozoïtes où ils ont été mis en évidence.

C - Discussion

Dans la région antérieure de nombreux sporozoïtes et mérozoïtes, il existe deux ou plusieurs organites allongés tubulaires ou claviformes dont le pédoncule traverse le conoïde. Ces organites ont reçu à l'origine le nom de toxonèmes chez les Toxoplasmes (GUSTAFSON et Coll. 1954). LUDVIK (1958) trouve en outre chez Sarcocystis, de nombreux corps denses qu'il appelle sarconèmes. GARNHAM et Coll. (1960-1961-1963) signalé^{nt} chez divers Plasmodium la présence de structures toujours au nombre de deux, les "paired organelles", ils propose^{nt} par ailleurs (GARNHAM et Coll. 1963) le nom de "convoluted tubule" pour désigner les toxonèmes et sarconèmes. A partir de ce moment, une certaine confusion existe pour désigner les organites correspondant aux toxonèmes et sarconèmes et d'autres termes sont proposés : soit "tubes contournés" (HENNERE 1967), "dense bodies" (AIKAWA et Coll. 1966 et 1967, HEPLER et Coll. 1967) pour les "convoluted tubules" soit rhoptries (SENAUD 1965, 1967) pour les toxonèmes et "paired organelles". Quel que soit le nom de ces organites, la plupart des auteurs semble se rallier à l'hypothèse de GARNHAM (1963) selon laquelle les toxonèmes ("paired organelles" ou rhoptries) contiendraient les enzymes protéolytiques qui faciliteraient la pénétration du sporozoïte ou mérozoïte dans le cellule hôte, ce processus serait d'ailleurs associé à l'action du conoïde. D'autre part, pour certains, les sarconèmes seraient une sorte d'armature déformable (SENAUD 1967) ou élastique (CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA 1965).

L'examen de nos images ne nous permet pas de distinguer sans équivoque les éléments correspondants aux "toxonèmes" et aux sarconèmes. Les seuls critères morphologiques utilisés jusqu'à présent, ne nous paraissent pas suffisamment précis à cause de leur trop grande dépendance des techniques d'inclusion et de coloration. Nous pensons que les techniques de cytochimie ultrastructurale devraient seules permettre de démontrer l'existence éventuelle de ces deux catégories d'éléments ; cela nous paraît indispensable, car si les "toxonèmes" et "sarconèmes" avaient présenté une différence morphologique incontestable,

certain auteurs tels que SCHONTYSECK et PIKARSKI (1965), ou CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA (1965), n'auraient pas désigné les uns à la place des autres. Ces raisons ajoutées à celle de ne pas vouloir étendre la confusion actuelle aux Grégarines, nous amènent à utiliser le terme général de corps denses antérieurs. Les caractères morphologiques de ces corps denses antérieurs correspondent à ceux des toxonèmes.

La présence d'une réaction phosphatase acide positive nous amène à identifier ces corps denses antérieurs à des corps lytiques au rôle comparable à celui des lysosomes. Le rôle de ces formations sera envisagé à propos de la nutrition.

IV - SYSTEME RIBOSOMAL. ERGASTOPLASME. DICTYOSOMES.

Si les Grégarines contiennent de très nombreux ribosomes, le développement et le rôle du système ergastoplasmique est très variable. Les résultats morphologiques (ZEIGEL et DALTON 1962, FRIEND 1965, OVSTRACHT 1967) autoradiographiques (CARO et PALADE 1964, DROZ 1967, NEUTRA et LEBLOND 1966 a et 1966 b), biochimiques (SIEKEWITZ et PALADE 1958, 1960, JAMIESON et PALADE 1967 a, 1967 b, 1968 a, 1968 b) soulignent les rapports entre l'ergastoplasme, les dictyosomes et les grains de sécrétion. Nous ^{considérons} donc les rapports entre ces constituants cellulaires chez les Selenidiidae, chez les Eugrégarines et plus particulièrement chez Lecudina tuzetae.

A - Selenidiidae

Dans un travail antérieur (VIVIER et SCHREVEL 1966), nous avons décrit les grains intracisternaux de l'ergastoplasme de S. hollandei et leurs rapports avec les dictyosomes. Certaines observations faites depuis, nous amènent à reconsidérer le problème. Si les grains intracisternaux sont également présents chez S. pendula (SCHREVEL 1966 b), il n'en est pas de même chez tous les Selenidiidae. C'est ainsi que les Selenidiidae de Cirratulidae en sont dépourvus. Nous examinerons les différents cas.

1 - Selenidium hollandei et S. pendula

Le problème est pratiquement identique dans les deux espèces, nous nous intéresserons donc à l'étude détaillée de S. hollandei.

a) Ergastoplasme et cisternes ergastoplasmique

L'ergastoplasme de S. hollandei n'est pas constitué par des longues lames entourant un espace étroit comme c'est le cas de nombreuses cellules sécrétrices mais par de grandes vésicules bosselées, limitées par une membrane, garnies irrégulièrement de ribosomes. Ces grandes vésicules closes constituant un véritable système vacuolaire, contiennent des grains intercisternaux fortement opaques, de forme sphérique, ovoïde ou en fuseau mais toujours régulière, et une substance diffuse mais moins opaque que les grains (Pl. XLVIII). La taille de ces granules est souvent comprise entre 0,5 et 1 μ .

Le nombre de grains est variable. Certaines sections de l'ergastoplasme montrent un seul grain, mais il s'agit très vraisemblablement d'une coupe transversale d'une cisternes contenant plusieurs grains. En effet les coupes longitudinales nous montrent jusqu'à une dizaine de grains (Pl. XLVIII, fig. a). Par ailleurs dans la gelée, il est possible de voir des zones plus foncées (Pl. XLVIII, fig. b) et de nombreux petits amas de formes irrégulières et d'opacité intermédiaire entre les grains et la gelée. Dans ces mêmes sections on peut noter plusieurs baguettes sombres atteignant 0,6 μ de long sur 500 Å de large. A la périphérie de ces cisternes ergastoplasmiques, nous trouvons d'abondants amas de ribosomes, parfois associés en polysomes. (Pl. XLVIII fig. c)

Les cisternes ergastoplasmiques représentent un volume important du trophozoïte. Elles sont en rapport avec des dictyosomes ; les zones de contact avec les dictyosomes sont peu développées : le volume des cisternes ergastoplasmiques est nettement plus important que celui des dictyosomes.

b) Appareil de Golgi

Les dictyosomes de S. hollandei sont disséminés dans tout le cytoplasme. Dans l'étude antérieure de S. hollandei (VIVIER et SCHREVEL 1966) nous avons insisté sur la polarité extrêmement nette du dictyosome et sa liaison constante avec l'ergastoplasme, toutefois il ne nous

a pas été possible de préciser le sens de fonctionnement du dictyosome, ni la nature et la destinée des produits transités. A partir d'images nouvelles, nous pouvons préciser un certain nombre de points.

La membrane de la cisterne ergastoplasmique en contact avec le dictyosome montre une disparition des ribosomes et détermine le pôle basal. Cette membrane agranulaire émet de petites vésicules sphériques atteignant 800 à 900 Å (Pl. XLVIII, fig. c ; Pl. XLIX, fig. b et c). Ces vésicules sont remplies de la substance diffuse intracisternale mais celle-ci apparaît ^{plus} dense. La première rangée de saccules golgiens (Pl. XLVIII fig. c, Pl. XLIX) est constituée par de grosses vésicules de 500 Å d'épaisseur, d'aspect généralement clair. Les bords latéraux des saccules sont distants d'environ 1 μ . Puis nous avons un empilement allant jusqu'à 8 ou 9 saccules plus ou moins bosselés, ayant généralement un contenu très clair. Dans ces saccules, il est possible de voir des vésicules pédonculées en rapport avec la paroi des saccules, remplies d'une substance plus opaque (Pl. XLIX, fig. d). Au pôle apical, il est fréquent de constater un gonflement du saccule et la présence d'une substance grise diffuse (Pl. XLIX, fig. a et b). Cette substance est comparable à celle des grosses vésicules disposées à l'apex et sur les côtés des dictyosomes atteignant 0,4 μ (Pl. XLIX, fig. c).

2 - Selenidiidae des Cirratulidae

Chez les Selenidiidae de Cirratulidae, le système ergastoplasmique et les dictyosomes sont nettement moins développés. Il n'existe pas de grains intracisternaux. De place en place, le reticulum endoplasmique de S. cirratulus se dilate et montre de nombreuses vésicules de 1000 Å environ (Pl. L, fig. a). Ces images pourraient rappeler un dictyosome.

B - Eugrégarines : étude de Lecudina tuzetae

Le système ergastoplasmique et l'appareil de Golgi sont particulièrement importants chez Lecudina tuzetae et présentent des caractères différents de ceux de S. hollandei.

1 - Ergastoplasme

Contrairement à ce que nous avons observé jusqu'à présent, il existe de longues lames ergastoplasmiques de 3 à 4 μ , aussi bien dans le cytoplasme cortical (Pl. XXXVI, fig. a) que dans l'endoplasme (Pl. L, fig. b). L'ergastoplasme ne contient jamais de grains intracisternaux.

Les lames ergastoplasmiques, souvent associées par 2 ou 3, sont légèrement bosselées et dessinent des boucles plus ou moins développées (Pl. XXXVI, fig. a et Pl. L; fig. b).

Certaines sections montrent un enroulement de lames entourant des vésicules (Pl. L, fig. c). Près des lames et anses ergastoplasmiques, on rencontre des grains d'amylopectine et des grains opaques que nous avons considérés comme des mucopolysaccharides.

La répartition de ces lames ergastoplasmiques et celle des vésicules de mucopolysaccharides montrent qu'il n'existe pas pour ces constituants une limite nette entre le cytoplasme cortical et l'endoplasme.

2 - Les dictyosomes

Nous retrouvons la polarité indiscutable des dictyosomes. Au pôle basal les cisternes ergastoplasmiques émettent une série de vésicules qui viennent se jeter dans le premier saccule golgien. Les saccules sont au nombre de 7 ou 8. Ces saccules limités par une membrane contiennent une substance constituée d'un fin réseau analogue à celui des vésicules mucopolysaccharidiques (Pl. XXXVI, fig. b et Pl. LI, fig. b). Au pôle apical, on voit souvent de grosses vésicules probablement remplies de mucopolysaccharides. De temps en temps, on peut noter un empilement de 7 à 8 saccules gonflés atteignant 1 μ sur 0,3 μ à 0,4 μ (Pl. LI, fig. b).

Ces différents aspects témoignent d'une relation entre ergastoplasme, dictyosomes et vésicules mucopolysaccharidiques.

C - Discussion

Nous devons distinguer deux cas :

- Selenidium hollandei et S. pendula où les dictyosomes sont en rapport avec des cisternes ergastoplasmiques contenant des grains.

- Lecudina tuzetae, où les dictyosomes sont en rapport avec des cisternes ergastoplasmiques dépourvues de grains.

1 - Interprétation sur le rôle de l'ergastoplasme, les dictyosomes chez Selenidium hollandei

Les cisternes ergastoplasmiques de S. hollandei contiennent deux substances: des grains denses et une substance diffuse. Deux hypothèses peuvent se présenter :

- les grains et la substance diffuse sont les mêmes substances correspondant à deux états de condensation
- les grains et la substance diffuse sont deux éléments ayant des destinées différentes.

a) Destinée de la substance diffuse intracisternale

Nos observations permettent de préciser la destinée de l'une des substances. Nous avons signalé l'émission de vésicules denses de la face ergastoplasmique dans l'espace compris entre celle-ci et la première rangée de saccules. Par confluence ces saccules viennent constituer la première rangée de saccules golgiens. Au fur et à mesure de leur formation les saccules se déplacent vers le pôle apical. Au pôle proximal, les extrémités dilatées des saccules contiennent une substance comparable à celle de la cisterne ergastoplasmique et aux vésicules situées à la périphérie des dictyosomes.

Les études autoradiographiques (CARO et PALADE 1964, DROZ 1967), biochimiques (SIEKEWITCH et PALADE 1960, JAMIESON et PALADE 1967 a, 1967 b, 1968 a, 1968 b) ont démontré le passage de matériel du réticulum vers l'appareil de Golgi. NEUTRA et LEBLOND (1966 a et b) ont montré par autoradiographie que les premiers sites de marquage des protéines étaient dans l'ergastoplasme tandis que ceux des glucides étaient les dictyosomes. Lors de la production de mucopolysaccharides, l'appareil de Golgi servirait donc à brancher les glucides sur les protéines, ce que montre également la cytochimie ultrastructurale (THIERY 1968).

En se basant sur ces travaux, il est logique de penser que d'une part les grains intracisternaux sont produits par les ribosomes associés aux membranes, d'autre part que le sens de fonctionnement des dictyosomes chez

Selenidium hollandei se fait du pôle basal vers le pôle apical. L'appareil de Golgi chez S. hollandei servirait donc à extraire la substance diffuse des cisternes ergastoplasmiques pour produire des vésicules de type mucopolysaccharidique...

b) Destinée des grains intracisternaux

L'explication précédente ne tient absolument pas compte de la nature et du rôle des grains intracisternaux. Leur destinée se pose donc.

Dans la première hypothèse, où la substance diffuse et le grain constitueraient une même substance et en considérant que l'appareil de Golgi servirait à produire des mucopolysaccharides en pompant la gelée, il faudrait admettre que le grain intracisternal se dissocierait pour donner la substance diffuse.

Dans la seconde hypothèse, où les grains intracisternaux et la substance diffuse intracisternale auraient une destinée différente, l'utilisation des grains offre deux possibilités :

- les grains intracisternaux serviraient à l'élaboration des corps denses antérieurs. Ces derniers sont les seuls organites qui présentent, avec les techniques classiques, la même coloration que les grains intracisternaux.

- les grains intracisternaux seraient du matériel stocké en vue d'une utilisation ultérieure par exemple au moment de la reproduction. Ce stockage pourrait correspondre au blocage momentané des synthèses protéiques. Nous savons en effet que le transport intracellulaire et la synthèse des protéines sont deux processus qui peuvent être séparés (JAMIESON et PALADE 1968 a).

2 - Rôle des cisternes ergastoplasmiques et de l'appareil de Golgi chez Lecudina tuzetae

Le problème est plus simple chez L. tuzetae dans la mesure où les grains intracisternaux n'existent pas. Les cisternes ergastoplasmiques gonflées contiennent un réseau de filaments enchevêtrés. A la surface de ces lames, nous avons des bourgeonnements de petites vésicules dont le contenu plus dense laisse supposer une concentration de matériel. La superposition de plusieurs saccules golgiens remplis d'une substance comparable aux vésicules de

mucopolysaccharides constitue un argument très favorable au fonctionnement du Golgi du pôle basal vers le pôle apical. Les nombreux dictyosomes placés le long des cisternes ergastoplasmiques laissent supposer que nous avons un stade d'élaboration actif.

V - LES DIFFERENCIATIONS ENDOPLASMIQUES

Par différenciation endoplasmique, nous désignerons les changements dans la répartition des enclaves glucidiques et lipidiques. Dans les exemples étudiés, nous pouvons ainsi distinguer la zone de séparation entre "protomérite" et "deutomérite" de Sycia inopinata et le "canal de Fowell" de Selenidium pendula.

A - Observations

1 - Zone de séparation entre deutomérite et protomérite chez Sycia inopinata

Chez Sycia inopinata, la séparation est constituée par un cytoplasme présentant le même aspect que celui de la zone corticale. On y distingue particulièrement des vacuoles irrégulières atteignant $0,8 \mu$, vides de toutes inclusions^{et} des vésicules de nature mucopolysaccharidique (Pl. LXXIV)

2 - Zone vacuolaire axiale de Selenidium pendula

Les coupes transversales de S. pendula montrent que les régions axiale et périnucléaire ont un aspect vacuolaire (Pl. LII, fig. a). Cette organisation ultrastructurale explique la zone claire axiale observée in vivo chez différents Selenidiidae (Chapitre I). A une distance de $1,5 \mu$ du noyau, il semble exister des paquets de fibrilles de 80 \AA de diamètre qui marquent la limite de la zone vacuolaire avec l'endoplasme riche en enclaves diverses (Pl. LII, fig. b).

B - Discussion

Ces deux types de différenciations, zone de séparation des protomérite et deutomérite, chez Sycia, zone vacuolaire axiale de S. pendula, se ressemblent dans la mesure où le cytoplasme est riche en vacuoles mais leur

signification est différente.

La zone de séparation entre deutomérite et protomérite n'est pas comparable au septum fibrillaire séparant les régions correspondantes chez les Tricystidées d'Arthropodes (GRASSE et THEODORIDES 1959, BEAMS et Coll. 1959, REGER 1967, DEVAUCHELLES 1968) et pose le problème de savoir s'il faut ou non considérer Sycia comme une Tricystidée. Ce problème sera développé à propos de la croissance de Sycia inopinata (Chapitre VIII).

La zone axiale vacuolaire de S. pendula peut représenter un dispositif assurant la répartition et l'utilisation rapides des substances absorbées. S'il en était ainsi, la polarité apico-basale des Selenidiidae caractérisées par la spécialisation de la région antérieure dans la nutrition (SCHREVEL 1968 a) se trouverait renforcée.

VI - CONCLUSION

Le paraglycogène, réserve glucidique se présentant sous la forme de grains ovoïdes ou réniformes chez les Grégarines étudiées, est l'inclusion cytoplasmique de référence : sa présence constante permet de définir l'endoplasme comme la zone cytoplasmique contenant le paraglycogène.

Notre étude ultrastructurale et cytochimique est favorable à la nature amylopectinique du paraglycogène et se trouve en accord avec les travaux biochimiques de RYLEY et Coll. (1968). L'organisation ultrastructurale mise en évidence permet d'envisager de nouvelles hypothèses de travail sur cette réserve glucidique.

Les autres organites cytoplasmiques ont une importance variable selon les genres et les espèces :

- les mitochondries possèdent des vésicules ampoulées peu nombreuses. Une réduction du système mitochondrial peut être observée chez certaines espèces. Cette réduction peut être mise en rapport avec l'anaérobiose conformément à l'hypothèse énoncée précédemment (VIVIER et SCHREVEL 1966, VIVIER 1966).

- les corps denses antérieurs sont abondants chez certaines Selenidiidae et Lecudinidae ; par contre ils ne semblent pas être présents chez Sycia et les Selenidiidae des Cirratulidae. La mise en évidence d'une activité phosphatasique acide positive permet d'envisager un rôle physiologique de ces organites, comparable à celui des lysosomes.

- l'étude de S. hollandei et S. pendula montre le rôle de stockage des cisternes ergastoplasmiques. Chez L. tuzetae et les autres Grégarines étudiées, les cisternes ergastoplasmiques sont moins développées et dépourvues de grains. Cependant chez toutes ces espèces, la polarité des dictyosomes est nette.

CHAPITRE V

LE NOYAU ET LA REGION PERINUCLEAIRE

Le noyau des Grégarines présente des particularités intéressantes : il rappelle à de nombreux égards les vésicules germinatives d'ovocytes. Pendant longtemps, l'interprétation de l'enveloppe nucléaire est restée confuse. Pour BEAMS et Coll. (1957), l'enveloppe nucléaire de Gregarina melanophi comprend deux membranes de 80 Å, séparées par un espace de 120 Å et percées de pores ayant 500 Å environ de diamètre. Elle se trouve doublée intérieurement d'un réseau fibro-granulaire de 900 Å. GRASSE et THEODORIDES (1957-1959) considèrent la membrane nucléaire de divers Stylocephalides comme simple, continue, non perforée et garnie intérieurement d'une couche fibreuse délimitant des mailles. L'étude de S. hollandei (VIVIER, SCHREVEL 1964 ; VIVIER 1967) a montré que l'enveloppe des Grégarines est comparable chez tous les Sporozoaires aux données classiques des Métazoaires. L'étude de Lecudina pellucida (VIVIER 1967) précise, par ailleurs, l'existence d'une couche opaque accolée à la membrane interne, sur la face nucléoplasmique.

Nous allons décrire les principaux aspects des noyaux rencontrés chez les Grégarines parasites d'Annélides Polychètes, en comparant diverses espèces appartenant aux Selenidiidae et Eugregarinidae.

I - NOYAU

A - Aspects sur le vivant

Le noyau, comme nous l'avons vu dans la première partie, est une masse claire sur le vivant qui présente un ou plusieurs corps plus opaques appelés caryosomes.

La taille des noyaux est généralement importante (10 µ à 60 µ). L'étude des mouvements (Chap. IX) montre par ailleurs l'extrême plasticité du noyau et des caryosomes, en particulier chez Urospora longissima.

Les caryosomes sphériques atteignent 10 µ de diamètre et présentent souvent des zones d'opacité différentes (Pl. IX fig. a). Leur nombre est variable : généralement un seul dans les genres Urospora et Selenidium, plusieurs chez les Lecudinidae.

B - Aspects chimiques

La mise en évidence des acides nucléiques oblige à rappeler l'aspect du noyau des mérozoïtes puis à distinguer parmi les trophozoïtes adultes, les groupes des Selenidiidae et des Eugrégarines.

1. Noyau des mérozoïtes

Chez les mérozoïtes de S. hollandei, le noyau ovoïde (de $3 \mu \times 2 \mu$ environ) présente de gros amas accolés à l'enveloppe nucléaire (Fig. 3j), fortement colorables par le vert de méthyle acétique et le glychémalun de Meyer. Les techniques de Feulgen et du vert de méthyle pyronine colorent respectivement ces masses en rouge et en vert. Ces amas collés à la paroi nucléaire sont donc riches en ADN. La mise en évidence de l'ARN, en particulier par la technique de Brachet, est plus délicate car la coloration verte de l'ADN prédomine.

2. Noyau des trophozoïtes

a) Eugrégarines

Chez les Eugrégarines, nous savons que les caryosomes se colorent fortement en pourpre après le vert de méthyle pyronine. La digestion par de la RNase 0,1 % 1 h à 37°, suivie de la même technique de coloration, provoque la disparition de la coloration pourpre. Les caryosomes possèdent donc une masse importante d'ARN.

Le Feulgen, technique spécifique de l'ADN, ne donne aucune coloration franche. Certes, on peut observer une coloration rose plus ou moins douteuse au niveau du caryosome mais cela n'est pas suffisamment démonstratif pour parler d'une accumulation d'ADN au niveau du caryosome. De même, le nucléoplasme n'est pas franchement coloré. La technique vert de méthyle pyronine n'apporte pas de renseignements supplémentaires.

b) Selenidiidae

Chez les Selenidiidae le problème est peut-être plus simple. La coloration in toto de noyaux de S. hollandei, S. pendula, S. echinatum, Solenocystis foliata, Selenidiidae de Cirratulidae, par une solution de vert de méthyle acétique à 1 %, montre en dehors de la coloration du caryosome nettement individualisé, un réseau de filaments enchevêtrés constituant une masse

importante au centre du noyau. Cette masse s'observe également sur des coupes histologiques (Pl. LIII a).

Noyaux Colorations	Selenidium		Hôte
	Caryosome	Masse nucléoplasmique	Chromatine des noyaux des cellules intestinales
Feulgen	-	++	++++
Vert de méthyle Pyronine	rouge	vert ++	vert +++++
Ribonucléase 0,1 % 1 h. à 37° C Bleu de toluidine pH = 4,6	-	++	++++
Ribonucléase 0,1 % 1 h., 37° C, Gallocyanine	-	++	+++

Tableau 12 : Coloration des noyaux de S. hollandei et de son hôte après utilisation des techniques de mise en évidence des acides nucléiques.

Les réactions cytochimiques effectuées sur cette formation nucléaire chez S. hollandei (Tableau 12) montrent une coloration positive avec les techniques de mise en évidence de l'ADN. Notons que l'intensité de coloration est toujours nettement inférieure à celle des noyaux des cellules intestinales de l'hôte. D'autre part, la coloration des noyaux n'est pas constante chez tous les trophozoïtes.

C - Ultrastructure du noyau

Nous distinguerons d'une part l'enveloppe nucléaire, d'autre part le nucléoplasme et les caryosomes.

1. L'enveloppe nucléaire

a) Cas des mérozoïtes de *S. hollandei*

Chez les mérozoïtes de *S. hollandei*, l'enveloppe nucléaire est formée par deux membranes délimitant un espace périnucléaire généralement dilaté (Pl. LIII fig. a; Pl. LXXXII). La membrane externe est en relation avec les lames ergastoplasmiques ; le nombre de "pores" est très faible.

b) Cas des trophozoïtes des Selenidiidae

La constitution de l'enveloppe nucléaire des trophozoïtes de Sporozoaires a fait l'objet d'un travail approfondi (VIVIER 1967). Nous ne reviendrons pas sur le schéma ultrastructural proposé, nous nous intéresserons surtout à la couche opaque qui tapisse l'enveloppe nucléaire.

L'enveloppe nucléaire de *S. pendula* (Pl. LII fig. b et Pl. LV fig. a) et de *S. fallax* (Pl. LIV fig. a) présente comme celle de *S. hollandei* (Pl. LIII fig. b et c) deux membranes percées de "pores" comprenant un anneau où l'on distingue souvent huit sous unités et un élément central (Pl. LIV fig. b).

Chez *S. fallax*, il existe une couche opaque d'environ 700 Å qui tapisse la membrane interne de l'enveloppe nucléaire (Pl. LIV fig. a). Cette couche a un aspect plutôt fibrillaire. L'observation d'une couche analogue chez *S. hollandei* est plus délicate en raison de sa plus faible épaisseur (300 à 400 Å) mais semble néanmoins très fréquente (Pl. LIII fig. c). Chez *S. pendula*, la disposition est comparable à celle de *S. hollandei*. Remarquons que cette couche opaque est surtout visible après fixation à la glutaraldéhyde.

2. Le caryosome et le nucléoplasme

Le caryosome est une masse opaque composée d'une zone granulaire et d'une zone fibrillaire (Pl. LIII b et LIII d). Cette ultrastructure rappelle celle des nucléoles des cellules de Vertébrés (voir DAY 1968, W. BERNHARDT et N. GRANEOLAN 1968).

La zone granulaire périphérique est composée de granules de ribonucléoprotéines. Ces granules de RNP, opaques, ont un diamètre de 100 à 150 Å. Il est fréquent d'observer des travées sinueuses de granules entourant des régions nucléoplasmiques plus claires (Pl. LIII fig. b).

Dans la zone fibrillaire centrale, compacte, il est difficile d'observer nettement les fines fibrilles, par contre on y distingue souvent une sorte d'anneau de 500 Å de largeur sur 0,8 µ de longueur, entouré de très fines fibrilles (Pl. LIII fig. d).

La distinction entre la zone granulaire et la zone fibrillaire a pu être montrée assez nettement après ultracentrifugation in vivo d'une Lecudina tuzetae à 100 000 g pendant 1 h. (Pl. LIV fig. c).

Le nucléoplasme est composé d'agglutinations plus ou moins compactes de filaments dans lesquelles il est difficile de repérer des structures bien définies.

II - LA ZONE PERIPHERIQUE CYTOPLASMIQUE

A - Selenidiidae

Chez les Selenidiidae le noyau est entouré d'un cytoplasme clair sur le vivant qui présente une ultrastructure intéressante.

Chez Selenidium hollandei, le cytoplasme périnucléaire est une zone de 0,3µ, constituée par un réseau lâche de filaments (Pl. LIII fig. b). Son rôle pourrait-être la régularisation des échanges nucléoplasmiques ou celui de soutien du noyau au cours des mouvements du trophozoïte.

Autour de cette zone, nous avons des vacuoles de taille variable, atteignant 0,5 µ, mêlées aux inclusions endoplasmiques classiques.

Chez S. pendula, la disposition est comparable (Pl. LII fig. b et Pl. LV fig. a), toutefois le nombre de membranes limitant les vacuoles est variable. Il existe d'une part des grandes vacuoles ovoïdes à quatre membranes et d'autre part des vacuoles à une seule membrane contenant des inclusions plus ou moins opaques. Ces dernières sont les plus fréquentes.

Les vacuoles à plusieurs membranes ont déjà été signalées chez les Coccidies : Eucoccidium dinophili (BARDELE 1966), Coelotropha durchoni (VIVIER et HENNERE, ¹⁹⁶⁵ PORCHET-HENNERE 1969). Elles dériveraient du noyau pour le premier, peut-être des mitochondries pour les seconds.

B - Sycia inopinata

A la périphérie du noyau, on rencontre régulièrement des corps ovoïdes de 0,3 à 0,4 μ , fortement opaques, contenant plusieurs dizaines de vésicules de 500 Å environ (Pl. LV fig. b). Ces formations rappellent les corps multivésiculaires.

III - DISCUSSION

Parmi les problèmes que pose l'étude du noyau des Sporozoaires, nous retiendrons celui de son évolution au cours de la croissance.

L'enveloppe nucléaire des mérozoïtes présente peu de "pores" et l'espace périnucléaire se trouve en relation avec l'ergastoplasme. Chez le trophozoïte adulte, l'enveloppe nucléaire possède de très nombreux "pores".

Parallèlement à ces modifications, les amas chromatiniens appliqués contre l'enveloppe nucléaire des mérozoïtes disparaissent et posent le problème de la localisation de l'ADN chez le trophozoïte.

Trois hypothèses peuvent être avancées :

- 1) L'ADN est localisé dans la couche opaque sous-jacente à l'enveloppe nucléaire.

FAWCETT (1966), PATRIZI et POGER (1967) ont décrit une lamelle dense accolée à la face interne de la membrane nucléaire interne chez diverses cellules d'Invertébrés et de Vertébrés, sous les noms respectifs de "fibrous lamina" et de "Zonula Nucleum Limitans".

Cette lame a été retrouvée chez diverses cellules conjonctives et réticulo-endothéliales par KALIFAT et Coll. (1967) et diverses cellules humaines (MAZANEC 1967). La fonction et le rôle de cette structure ne sont pas connus. Pour FAWCETT (1966) et MAZANEC (1967) il s'agirait de scléroprotéines ayant une fonction de soutien. A la suite d'injections d'or colloïdal dans Amoeba proteus, FELDHERR (1968) pense à un rôle de régulation des échanges nucléoplasmiques.

L'épaisseur de la couche dense sous-jacente à la paroi des divers noyaux de Grégarines a une valeur comparable, de l'ordre de 400 à 600 Å. Celle de L. pellucida (VIVIER 1967) serait un peu plus épaisse (900 Å environ). Toutefois l'épaisseur de cette couche, particulièrement nette après la fixation glutaraldéhyde-osmium, dépendrait du fixateur mais aussi du type cellulaire (KALIFAT et Coll. 1967).

La couche dense des Sporozoaires pourrait correspondre à cette structure ou au contraire au reste de la chromatine marginale des sporozoïtes. Il semble toutefois d'après PATRIZI et POGER (1967) que la Zonula Nucleum Limitans est distincte de la chromatine marginale. La présence de l'ADN dans cette zone est donc très problématique.

2) L'ADN est localisé dans les caryosomes

Il est couramment admis chez les Sporozoaires que la chromatine des mérozoïtes est incorporée dans un volumineux nucléole (JAMESON 1920, WESCHENFELDER 1938).

Les faibles colorations au Feulgen des caryosomes observés chez différentes Eugrégarines, sont trop peu démonstratives pour affirmer l'existence d'ADN, cependant la présence d'ADN dans les nucléoles est un fait suffisamment établi (GRANBOULAN N. et GRANBOULAN P. 1964, 1965; CHARRET 1968) pour penser qu'il est présent dans le caryosome des Grégarines. Le problème est de savoir si tout l'ADN est "pompe" par le caryosome au cours de la croissance.

3) L'ADN est localisé dans le nucléoplasme

La présence d'ADN dans le nucléoplasme des Selenidiidae, révélée par les tests cytochimiques, n'a pas encore été vérifiée en microscopie électronique. Les amas opaques ne permettent pas une observation aisée de fibrilles d'ADN.

Par contre chez les Eugrégarines le problème reste entier : l'absence de coloration des noyaux d'Eugrégarines après la technique de Feulgen rappelle les résultats semblables observés dans les noyaux d'ovocytes de Batraciens, noyaux dont la teneur en ADN est élevée (voir BRACHET 1965).

La mise en évidence de protéines stables (Chapitre VIII) au niveau des noyaux de L. tuzetae, doit nous rappeler que les complexes ADN-histones sont susceptibles d'être présents et abondants chez les Grégarines : l'absence de coloration au Feulgen est peut-être liée aux difficultés d'hydrolyse de l'ADN.

Si les résultats sont négatifs pour l'instant, l'apparition de colorations différentielles de l'ARN et de l'ADN en microscopie électronique (BERNHARDT 1968), le développement des connaissances sur les protéines basiques associées à l'ADN (BLOCH 1966), permettent de penser que la localisation de l'ADN dans le noyau des Sporozoaires pourra être résolue prochainement.

III - CONCLUSION

Le noyau des Grégarines possède une ultrastructure classique. Toutefois, une couche dense de 400 à 900 Å d'épaisseur tapisse la membrane interne de l'enveloppe nucléaire des Selenidiidae. Elle peut être comparée à la couche décrite sous le nom de "fibrous lamina" et de "Zonula Nucleum Limitans" respectivement par FAWCETT (1966) et PATRIZI et POGER (1967).

La localisation de l'ADN est délicate à préciser dans les noyaux de Grégarines. Les renseignements sont encore fragmentaires. Dans le cas des Selenidiidae, il existe une masse nucléoplasmique, différente du caryosome, se colorant par les techniques de mise en évidence de l'ADN.

CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE

La position systématique particulière des Selenidiidae par rapport aux Eugrégarines, mise en évidence à la suite de l'étude biologique, se trouve renforcée par l'étude cytologique. Cette étude permet en outre de montrer les caractères généraux et particuliers des Grégarines étudiées.

Les figures 19, 20, 21, 22 résument l'organisation ultrastructurale de S. hollandei, S. pendula, S. fallax et Lecudina tuzetae.

L'épicyte des Selenidiidae est constitué par des bombements longitudinaux ; par contre, l'épicyte des Lecudinidae et Sycia présente de très nombreux plis réguliers et àigus ; chez Urospora les plis sont irréguliers et complexes. Les caractères ultrastructuraux des régions corticales confirment cette différence. Les Selenidiidae sont les seules Grégarines actuellement connues, où il existe un système fibrillaire sous pelliculaire développé et organisé. Chez les Lecudinidae, la région corticale possède un système ergastoplasmique développé et de nombreux dictyosomes, les fibres sont généralement isolées.

La différence entre les Selenidiidae et les Eugrégarines est surtout nette pour les régions corticales, l'endoplasme et les organites cytoplasmiques présentent en effet de nombreux caractères communs :

- la paroi possède la même ultrastructure chez toutes les Grégarines étudiées.

- les mitochondries des Grégarines ont une structure particulière et présentent des modifications avec le mode de vie parasitaire.

- le paraglycogène est la réserve glucidique la plus répandue. Notons que la technique T.C.H.-Proteinate d'Ag (THIERY 1967) associée à des traitements enzymatiques permettent de montrer une organisation ultrastructurale nouvelle du paraglycogène, susceptible d'expliquer la structure, l'élaboration et l'utilisation de cette réserve glucidique.

- les dictyosomes sont nombreux chez les Grégarines et possèdent une polarité très nette :

la face basale est en relation constante avec l'ergastoplasme par l'intermédiaire de petites vésicules, la face apicale montre des dilatations

BAS
LITE

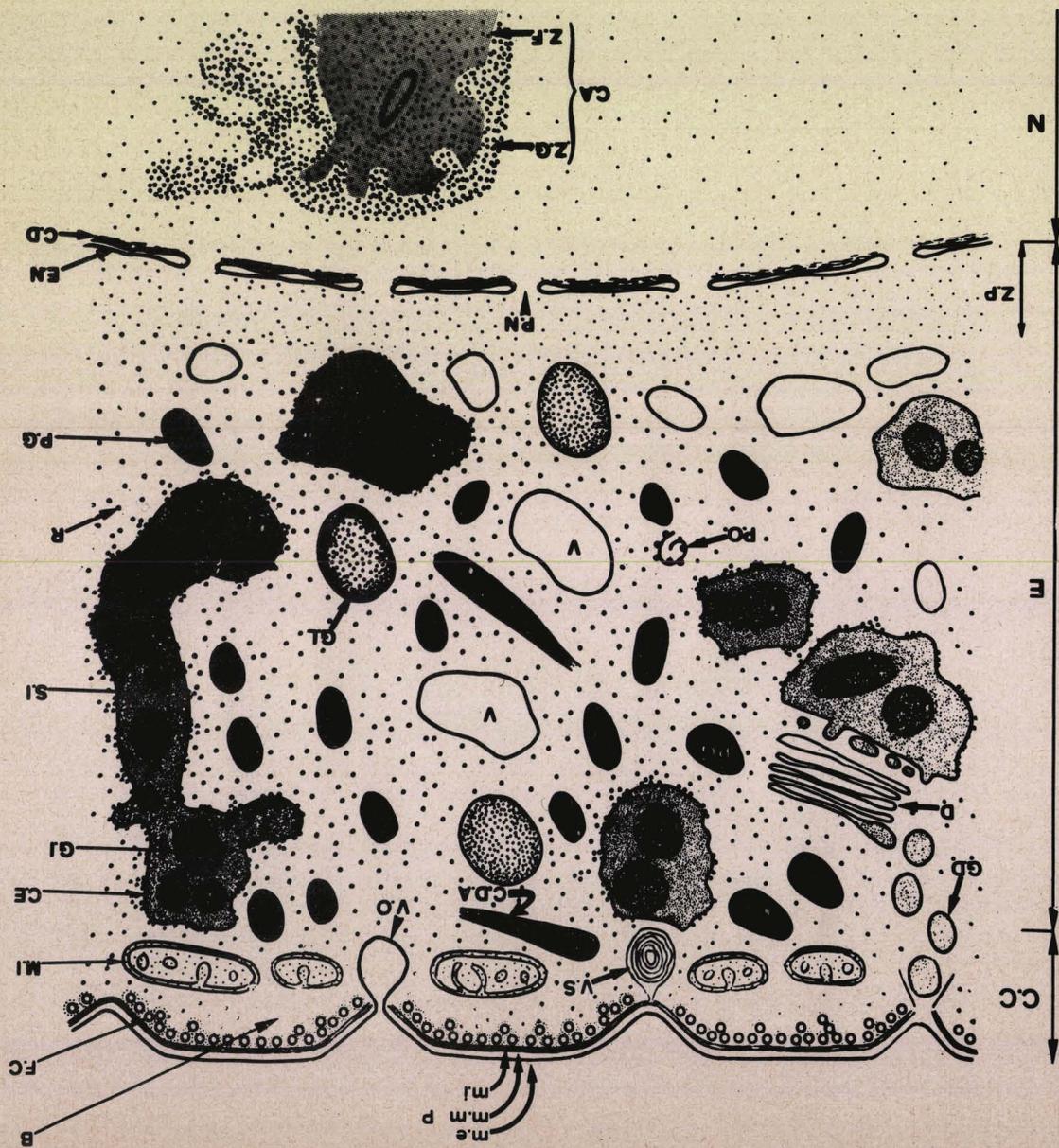


FIGURE 19 - ORGANISATION ULTRASTRUCTURALE DE SELAGINIUM HOLLANDEI.
 B., bombement longitudinal ; C.A., carposome ; C.C., cytoplasme cortical ; C.D., couche
 dense ; C.D.A., corps dense antérieur ; C.E., cisternes ergastoplasmiques ; D., dictyosome ;
 E., endoplasme ; E.N., enveloppe nucléaire ; F.C., fibre sous cuticulaire ; G.D., grain
 dense ; G.I., grain intracuticulaire ; G.L., globe lipidique ; M.I., mitochondrie ; M., noyau ; P.,
 paroi ; P.G., paraglycogène ; P.N., "pore" nucléaire ; P.O., polysome ; R., ribosome ;
 S.I., substance diffuse intracuticulaire ; V., vacuole ; V.O., vésicule ouverte en
 surface ; V.S., vésicule à structures embolées ; Z.F., zone fibrillaire ; Z.G., zone
 granulaire ; Z.P., zone périnucléaire.

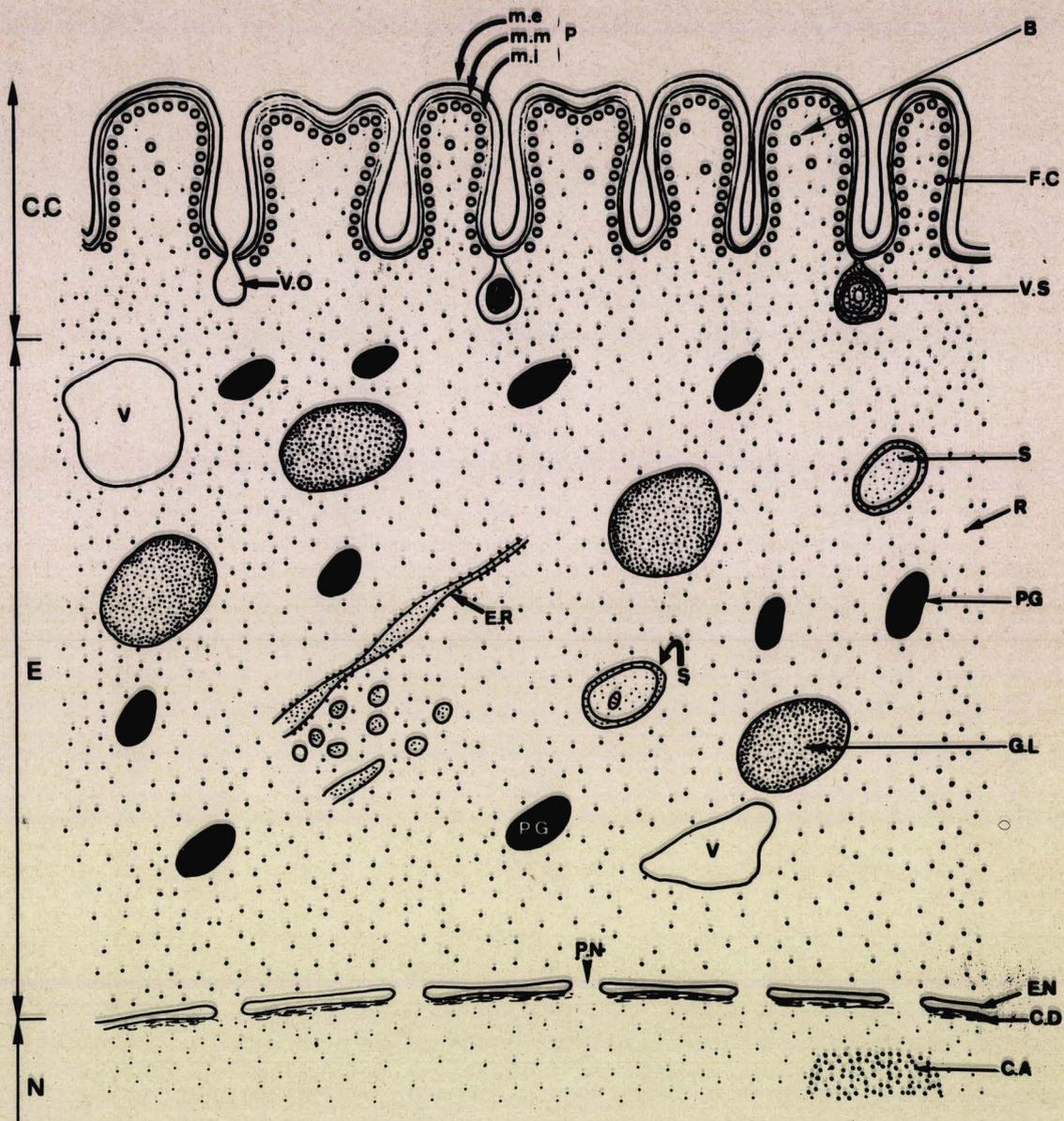


FIGURE 21 - ORGANISATION ULTRASTRUCTURALE DE SELENIIDIUM FALLAX.

B., bombement longitudinal ; C.A., caryosome ; C.C., cytoplasme cortical ; C.D., couche dense ; E., endoplasme ; E.N., enveloppe nucléaire ; E.R., ergastoplasme ; F.C., fibre sous cuticulaire ; G.L., globule lipidique ; m.e., membrane externe ; m.i., membrane interne ; m.m., membrane moyenne ; N., noyau ; P., paroi ; P.G., paralyogène ; P.N., "pore" nucléaire ; R., ribosome ; S., sac à double paroi devant correspondre à une mitochondrie ; V., vacuole ; V.O., vésicule ouverte en surface ; V.S., vésicule à structures emboîtées.

BYS
LILLE

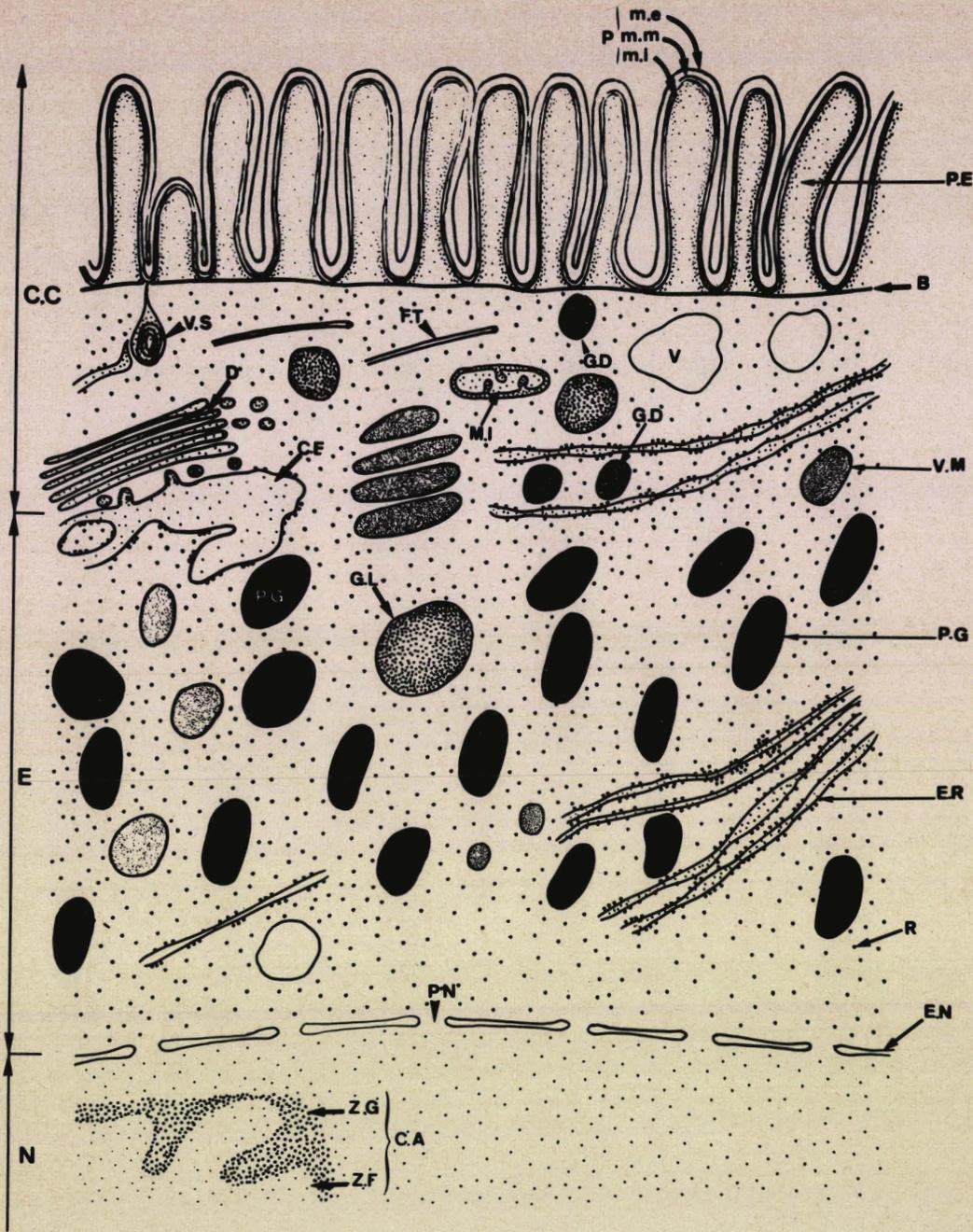


FIGURE 22 - ORGANISATION ULTRASTRUCTURALE DE *LECUDINA TUZETAE*.

B., basale ; C.A., caryosome ; C.C., cytoplasme cortical ; D., dictyosome ; E., endoplasme ; E.N., enveloppe nucléaire ; E.R., ergastoplasme ; F.T., fibre tubulaire ; G.D., grain dense cortical ; G.L., globule lipidique ; m.e., membrane externe ; m.i., membrane interne ; m.m., membrane moyenne ; M.I., mitochondrie ; N., noyau ; P., paroi ; P.E., pli épicytaire ; P.G., paraglycogène ; P.N., "pore" nucléaire ; R., ribosome ; R.P., revêtement de la paroi ; V., vacuole ; V.M., vésicule de type mucopolysaccharidique ; V.S., vésicule à structures emboîtées ; Z.F., zone fibrillaire ; Z.G., zone granulaire.

BUS
LILLE

qui expliqueraient la présence de vésicules, probablement mucopolysaccharidiques, au sommet des dictyosomes.

A côté de ces caractères généraux, il convient d'insister sur certains organites.

Les corps denses antérieurs (= toxonèmes = rhoptries) abondants chez de nombreux Selenidiidae et Lecudinidae ont une ultrastructure identique. Chez S. hollandei, la technique de Gomori met en évidence une activité phosphatase acide positive. Ces organites ne semblent pas constants chez toutes les Grégarines : les Sycia adultes n'en présentent apparemment pas.

L'ergastoplasme a un développement variable. Il est particulièrement important chez S. hollandei et S. pendula où l'on note dans les cisternes, l'accumulation d'une gelée diffuse et de grains denses. Chez L. tuzetae, les cisternes ergastoplasmiques sont moins développées et ne contiennent pas de grains. Chez les Selenidiidae des Cirratulidae, les ribosomes sont nombreux, par contre, il n'existe pas de cisternes ergastoplasmiques.

TROISIEME PARTIE

ETUDE PHYSIOLOGIQUE DES GREGARINES
PARASITES D'ANNELIDES POLYCHETES

CHAPITRE VI

LA NUTRITION

On admettait couramment (voir GRASSE 1953) que les Grégarines se nourrissaient par osmotrophie pour la plupart, par phagotrophie dans quelques cas (LEGER et DUBOSCQ 1902, 1904 ; TUZET et LOUBATIERES 1946; LOUBATIERES 1955).

La microscopie électronique a apporté, tour à tour, des arguments en faveur de ces deux hypothèses. D'une part GRASSE et THEODORIDES (1959) en montrant le développement considérable de l'épicyte de divers Stylocephalidae, voient dans cette augmentation de surface un argument en faveur de l'osmotrophie, d'autre part VIVIER et SCHREVEL (1964) montrent chez Selenidium hollandei, des invaginations de la paroi, comparables aux vésicules de pinocytose.

Ces dernières années, la nutrition des Grégarines a fait l'objet de plusieurs travaux (VIVIER et SCHREVEL 1964, VIVIER et Coll. 1964, CORBEL 1965 et 1966, SCHREVEL et VIVIER 1965 et 1966, REGER 1967, VIVIER 1968, SCHREVEL 1968 a).

Chez les Grégarines intestinales, les substances nutritives peuvent être absorbées soit par la région antérieure (mucron ou épimérite) soit par la paroi. Nous examinerons le cas des genres Lecudina et Selenidium. De plus, il nous paraît nécessaire de rechercher l'existence d'un mécanisme susceptible de transformer le tissu hôte en aliments assimilables par la Grégarine.

I - ARGUMENTS FAVORABLES A L'HYPOTHESE DE L'ABSORPTION PAR LE MUCRON : ETUDE DES MUCRONS DE LECUDINIDAE

A - Observations

1 - Existence d'une zone axiale claire dans la région antérieure de L. heterocephala

Nous avons signalé dans le chapitre I, l'existence sous le mucron de L. heterocephala, d'une zone axiale claire qui atteint plusieurs dizaines de μ et s'enfonce dans l'endoplasme (Fig. 14 c). Cette zone peut correspondre à une région de transit.

2 - Présence dans les trophozoïtes de *L. polymorpha*, de vacuoles présentant les affinités tinctoriales du sinus sanguin intestinal

De nombreuses vacuoles de taille variable sont présentes dans l'endoplasme de *L. polymorpha*. Elles n'ont pas de localisation précise, toutefois elles sont plus abondantes dans la région axiale.

L'origine sanguine de ces vacuoles peut être envisagée car, avec les techniques histologiques classiques, elles présentent une coloration identique à celle du sinus sanguin intestinal ; de plus, dans l'épithélium intestinal, des traînées issues de ce sinus convergent vers le mucron de la Grégarine (Pl. XIV, fig. f).

3 - Organisation de la région antérieure des Grégarines du genre *Lecudina* : cas de *L. pellucida* et *L. tuzetae*

a) Microscopie photonique

Sur le vivant, le mucron des *Lecudina* se présente sous la forme d'une ventouse plus ou moins rétractée. Les colorations spécifiques du paraglycogène et des ribonucléines montrent une absence totale de ces constituants au niveau des mucrons (SCHREVEL et VIVIER 1965).

b) Ultrastructure des mucrons de *Lecudina*

Sur une vue d'ensemble, nous distinguons successivement dans la région antérieure de *Lecudina* (Pl. LVI) :

- en avant, le mucron fixé à l'épithélium intestinal
- en arrière, la région ectoplasmique antérieure comprenant de nombreuses membranes, inclusions opaques et vacuoles.

Aucune cloison ne sépare ni le mucron du reste de la Grégarine, ni l'ectoplasme antérieur de l'endoplasme. Les plis épicytaires commencent à apparaître sous le mucron.

Constitution du mucron

- La paroi

La zone de contact du mucron avec la cellule épithéliale est fortement opaque aux électrons, ce qui rend difficile l'étude de sa

morphologie. Néanmoins, nous pouvons distinguer (Pl. LVII, fig. a), au milieu d'une couche granuleuse sombre qui mesure au total environ 1100 Å, plusieurs feuillets ; en allant de la cellule vers le parasite, ce sont : une première lame sombre de 40 Å d'épaisseur, une zone claire de 100 Å, une seconde lame très sombre de 250 Å, une seconde zone claire de 180 Å, une troisième lame sombre, plus granuleuse, de 80 Å. Il est probable que cet ensemble constitue un amalgame de la membrane propre de la cellule parasitée et des membranes périphériques de la Grégarine.

- Les fibrilles

L'intérieur du mucron (Pl. LVI et Pl. LVIII, fig. a) est occupé par une multitude de fines fibrilles, d'un diamètre de 60 - 70 Å ; elles sont plus ou moins groupées en faisceaux dont les trajets vont de l'extrémité antérieure du mucron vers l'ectoplasme sous-jacent. Les coupes proches du plan sagittal médian montrent que la région centrale possède moins de fibrilles (Pl. LVIII) ; il est probable que l'axe du mucron est dépourvu de fibrilles, ce qui expliquerait les évaginations fréquentes de l'ectoplasme antérieur au sommet du mucron.

- Les traînées infiltrantes

Dans certains cas, il est possible de voir une alternance de zones claires et de zones opaques, allongées dans le sens de la Grégarine (Pl. LVII, fig. b).

Les zones opaques apparaissent comme des traînées de substance qui s'enfoncent profondément dans l'ectoplasme et semblent ensuite se fragmenter. Les zones claires ressemblent à des boyaux vacuolaires plus ou moins boursoufflés et sont en relation avec l'ectoplasme. Dans ce dernier, nous distinguons nettement de nombreux corps denses antérieurs et des fibres de 220 Å environ d'épaisseur.

4 - Action du mucron sur l'épithélium intestinal

La zone de l'épithélium intestinal en contact avec le mucron mérite de retenir l'attention. Le mucron est en effet surmonté par une zone souvent conique où le cytoplasme des cellules épithéliales est profondément

modifié (Pl. LVII, fig. a ; Pl. LVIII, fig. a).

L'examen de cette région montre dans le cytoplasme dense, des mitochondries et diverses vésicules. Vers le sommet, nous observons les organites cellulaires encore peu modifiés et des vésicules à lamelles emboîtées, du type des vacuoles résiduelles (Pl. LVII, fig. a). Ces vésicules englobent des masses très opaques parfois de grande taille (Pl. LVIII, fig. a). Vers la base du cône, les vésicules sont petites et on distingue des traînées rectilignes de matériel dense qui convergent vers le mucron (Pl. LVIII).

Il existe donc une évolution dans la cellule hôte attaquée : les transformations cytoplasmiques sont de plus en plus accentuées au fur et à mesure que l'on s'approche du mucron.

B - Discussion : rôle du mucron des Lecudinidae

Nous savons depuis BRASIL (1909), que le mucron des Lecudinidae fonctionne comme une ventouse. Ce rôle oblige à admettre l'existence d'un système contractile. La contractilité du mucron de Lecudina pellucida comme celui de L. tuzetae semble devoir être imputée aux paquets de fines fibrilles de 60 à 70 Å, disposées en faisceaux qui s'enfoncent dans l'ectoplasme en s'entrecroisant.

Ces fibrilles sont semblables à celles décrites dans les myonèmes de Périptriches (FAURE ¹⁹⁶² FREMIET et col. et entrent dans la catégorie des microfibrilles, définies par DE PUYTORAC (1965), constitutives de certains systèmes contractiles.

Le mucron paraît capable d'absorber des substances provenant de l'épithélium intestinal de l'hôte. La présence d'une substance opaque identique dans le mucron et dans la cellule attaquée, de part et d'autre de la paroi de séparation et les longues traînées simulant une infiltration de matériel nous paraissent des arguments très suggestifs de cette absorption. La présence de traînées infiltrantes dans l'épithélium intestinal surmontant L. pellucida explique sans doute les prolongements rhizoïdes décrits chez les mucrons de Lecudina legeri (BRASIL 1909) et les épimérites de Polyrhabdina spionis (CAULLERY et MESNIL 1914, MACKINNON et RAY 1931).

En résumé, ces résultats amènent à penser que le mucron des Lecudinidae joue en plus de son rôle de fixation, celui de suçoir et qu'il provoque

une digestion de l'épithélium intestinal hôte, en émettant ou en servant de relai à des enzymes issues de la région antérieure de la Grégarine.

Ces conclusions faites sur les mucrons de Lecudinidae, favorables à l'hypothèse de la nutrition par la région antérieure, ont reçu une vérification chez les Selenidiidae que nous allons examiner maintenant.

II - DEMONSTRATION DE LA NUTRITION PAR LA REGION ANTERIEURE : ETUDE DU MUCRON DES SELENIDIIDAE

Nous avons signalé à diverses reprises (Chapitre I), l'existence d'une grande vacuole dans le mucron des Selenidium. La signification de cette vacuole a pu être établie par l'étude ultrastructurale.

A - Ultrastructure du mucron de S. hollandei

Le mucron de S. hollandei se caractérise surtout par la présence de grandes vacuoles et d'un organe particulier correspondant au conoïde (Pl. LIX). La paroi et les fibres tubulaires de la région antérieure de S. hollandei (Pl. LX, fig. a) sont comparables à celles de la région moyenne décrite au chapitre III.

1 - Le conoïde

Des coupes transversales (Pl. LX, fig. b) et longitudinales à différents niveaux (Pl. LXI) montrent que le conoïde est formé par la superposition de six anneaux, peut être sept, délimitant un volume en tronc de cône de 250 μ de hauteur et dont le sommet est disposé du côté de l'épithélium intestinal.

Le diamètre de l'anneau apical est de 350 μ environ, celui de l'anneau distal de 430 μ . Quand les coupes sont bien perpendiculaires, chaque anneau a une section circulaire de 250 Å de diamètre et montre une zone centrale plus claire (Pl. LXI, fig. a) ce qui fait penser à des fibres tubulaires. Entre les différents anneaux espacés de 80 Å environ, il semble exister une liaison : celle-ci rappelle les différentes lames microfibrillaires unissant les fibres tubulaires de l'axostyle de certains Flagellés (GIBBONS et CLEVELAND 1964) ou

les némadesmes d'Euglénomonadines (MIGNOT 1966) ou encore de différents Ciliés (DE PUYTORAC 1965, GRAIN 1966).

Cette organisation confère une certaine souplesse au conoïde et lorsque ce dernier est légèrement comprimé, il n'est plus possible de distinguer les différents anneaux : la section est alors indiquée par une bande opaque (Pl. LXI, fig. a), aspect le plus couramment observé chez les sporozoïtes et mérozoïtes de Sporozoaires (GARNHAM et Cc11. 1962, LUDVIK 1958, SCHOLTYSECK et PIEKARSKI 1965, CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA 1965, SHEFFIELD et HAMMOND 1966, STEHBENS 1966).

Le conoïde est entouré par un fin rideau que l'on distingue sur les coupes transversales (Pl. LX, fig. b) et longitudinales (Pl. LXI, fig. b), de 80 Å d'épaisseur. Ce rideau, situé à 200 Å du conoïde, présente l'aspect des microfibrilles décrites autour du conoïde de Sarcocystis tenella (SENAUD 1967).

La présence d'anneaux polaires est difficile à préciser, cependant certaines sections (Pl. LXI, fig. a) permettent de supposer qu'il en existe deux ou trois.

2 - Vacuoles digestives

Dans la région antérieure du Selenidium on observe de grandes vacuoles en relation avec l'extérieur par un pédoncule qui traverse le conoïde. Elles atteignent 3 à 4 µ de long sur 1,6 µ de large et sont limitées par une membrane de type unitaire (Pl. LXI, fig. a).

Selon le contenu de ces vacuoles, on distinguera :

- des vacuoles à petites vésicules sphériques
- des vacuoles à formations lamellaires

- Vacuoles à petites vésicules sphériques

Les nombreuses vésicules ovoïdes, faiblement opaques, de dimensions variables allant jusqu'à 0,15 µ proviennent de l'épithélium intestinal (Pl. IX fig. b, Pl. LXI fig. a, Pl. LXII).

- Vacuoles à formations lamellaires

Il est possible d'observer de très nombreuses lamelles plus ou moins emboîtées qui seraient peut être un arrangement secondaire consécutif à la fixation (Pl. XLVII, fig. b).

A la périphérie des vacuoles, existe une multitude de microvésicules (Pl. LXII, Pl. LXI fig. b) dont les relations avec la paroi vacuolaire permettent de dire qu'il s'agit de microvésicules de pinocytose. Par ailleurs, les grandes vacuoles se fragmentent en vacuoles plus petites (Pl. IX, fig. b).

Les relations de ces vacuoles avec l'épithélium intestinal de l'hôte, la présence de vésicules opaques dans les vacuoles et de microvésicules de pinocytose permettent d'affirmer qu'il s'agit de vacuoles digestives.

B - Discussion : rôle du mucron chez les Selenidiidae

L'observation au microscope optique de grandes vacuoles de 4 μ entourées de vésicules plus petites au niveau du mucron de S. pendula et par ailleurs, l'observation ultrastructurale de vacuoles importantes chez S. hollandei, en relation avec l'épithélium intestinal par l'intermédiaire du conoïde, constituent une preuve indiscutable de la nutrition par la région antérieure.

1 - Rôle du conoïde chez Selenidium hollandei

La présence du conoïde, organe caractéristique de la plupart des mérozoïtes de Sporozoaires, au niveau du mucron de S. hollandei mérite une analyse précise.

Le conoïde est un organe typique de la région antérieure des Toxoplasmes et Sarcosporidies (GUFTASON et Coll. 1954; LUDVIK 1958, 1960, 1963; SENAUD et DE PUYTORAC 1962, 1964; SENAUD 1965, 1967; SIMPSON 1966; SHEFFIELD 1966). Sa présence a été retrouvée chez les sporozoïtes de Lankesterellidae (GARNHAM et Coll. 1962, GARNHAM 1963, LUDVIK 1963, STEHBENS 1966), lors des premiers stades du développement chez des Coccidies (PORCHET-HENNERE 1967), les mérozoïtes de Lankesterellidae (LAINSON et Coll. 1967, GARNHAM et Coll. 1962, GARNHAM 1963, VANDERBERG et Coll. 1967), d'Eimeriidae (MOSSEVITCH et CHEISSIN 1961, SCHOLTYSECK et PIEKARSKI 1965, CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA 1965, SHEFFIELD et HAMMOND 1966), de Plasmodium (AIKAWA et Coll. 1967, HEPLER et Coll. 1967). Il serait absent chez les sporozoïtes de Plasmodium (GARNHAM et Coll. 1961, 1962, 1963; GARNHAM 1963) et chez Theileria parva (BUTTNER 1967). Pour la plupart de ces auteurs, le conoïde est un élément situé dans la région

antérieure, en forme de tronc de cône, circonscrit par un ou plusieurs anneaux polaires, qui permet la pénétration du parasite dans la cellule hôte.

Nos études permettent de préciser la fonction du conoïde. Tous les travaux précédents se rapportent aux sporozoïtes ou mérozoïtes c'est à dire aux stades initiaux de la croissance du parasite qui sont chez les espèces étudiées, logés à l'intérieur des tissus soit sanguin (Plasmodium) soit intestinal (Eimeria intestinalis, E. bovis), soit musculaire (Sarcocystis tenella). Il est donc logique de penser, à propos de ces exemples, que le conoïde joue un rôle lors de la pénétration du parasite dans la cellule ou tissu hôte. Toutefois, SHEFFIELD (1966) montre chez Besnoitia jellosoni, une vacuole en contact avec l'extérieur qui traverse le conoïde par une structure en tube. SHEFFIELD attire l'attention sur le fait que la nutrition pourrait se faire par cette région. Nos images viennent confirmer cette hypothèse. Toutes les vacuoles possédant une relation avec le milieu extérieur, passent par le conoïde.

Chez le Selenidium, le conoïde constitué par une superposition de 6 à 7 fibres reliées entre elles et entourées d'un système probablement microfibrillaire doit jouer un rôle de sphincter et provoquer la pénétration du matériel de l'hôte dans le trophozoïte. Il constitue un véritable cytotome. Cette organisation rappelle le système des fibres tubulaires entourant le canal des vacuoles pulsatiles des Ciliés et dont le rôle contractile a été envisagé plusieurs fois (RUDZINSKA 1958, SCHNEIDER 1960, ELLIOT et BAK 1964). On peut donc penser que le conoïde est contractile à la fois dans le sens vertical et dans le sens horizontal par le jeu respectif des grosses fibres de 250 Å et du système microfibrillaire ou par le jeu unique du système microfibrillaire, les fibres jouant alors le rôle de soutien.

2 - Importance de la nutrition par le mucron de S. hollandei

Le nombre et l'importance des vacuoles dans la région antérieure du Selenidium suggère que leur formation est continue et importante. Une fois formées au niveau du conoïde, elles se détachent et migrent dans le trophozoïte.

La vitesse de formation des vacuoles digestives chez le Selenidium n'est pas connue, aussi est-il difficile d'établir le degré d'assimilation des substances ingérées. La digestion des substances absorbées se fait selon un

processus de micropinocytose. Ce phénomène a été envisagé à propos des vacuoles digestives d'Amibe (ROTH 1960, MULLER et ROHLICH 1961) et démontré chez Epistylis anastatica, les Vorticelles et Campanella umbellaria (FAVARD et CARASSO 1963, 1964) à l'aide de traceurs opaques.

Le schéma que nous venons d'établir à partir des vacuoles digestives issues de la région antérieure de Selenidium correspond aux données actuelles de la nutrition chez les Protozoaires et nous pensons que de nombreux Sporozoaires utilisent un tel processus ; en effet, dans de nombreux cas, il est possible de voir des vacuoles digestives importantes dans les mérozoïtes (SHEFFIELD 1966, AIKAWA et Coll. 1967, p. 267) dont la formation au niveau du conoïde est probable.

III - ROLE DE LA REGION ANTERIEURE DES SELENIDIUM ET LECUDINA DANS LA NUTRITION

Nous avons décrit, dans le chapitre IV, les corps denses antérieurs, organites dans lesquels il est possible de détecter une activité phosphatasique acide. Il convient maintenant de préciser leur localisation et leurs rapports avec les autres organites cellulaires :

A - Corps denses antérieurs

- Chez S. hollandei, les corps denses antérieurs sont des sacs importants (jusqu'à 4 μ de long) disposés longitudinalement. Leur pédoncule est dirigé vers l'apex du trophozoïte. Sous le mucron, en position latérale, existe une sorte de conduit de 250 Å de large qui semble correspondre au prolongement des pédoncules. Ce conduit est en relation avec le système membranaire interne de la paroi mais se trouve recouvert par la membrane externe (Pl. LXI, fig. a).

Les corps denses antérieurs côtoient les grandes vacuoles (Pl. LXII). Dans certains cas, ils semblent être directement en relation avec les vacuoles digestives. Au-dessus du mucron, la cellule intestinale attaquée présente une accumulation de substances dissociées. Comme chez les Lecudina, la destruction est de plus en plus nette à mesure que l'on s'approche du mucron (Pl. LXIII).

- Chez les Lecudina, les corps denses antérieurs mesurent de 0,1 à 0,2 μ d'épaisseur, atteignant 1 à 2 μ de long.

B - Discussion : rôle des corps denses antérieurs

L'étude des Grégarines intestinales, en particulier celle de S. hollandei, montre que l'absorption de substances nutritives par le mucron est importante. Il faut maintenant examiner le mécanisme qui rend l'épithélium intestinal assimilable par la Grégarine.

Le tissu hôte situé au dessus des mucrons de L. pellucida, L. tuzetae et Selenidium hollandei montre une accumulation d'organites cellulaires d'autant plus modifiés qu'ils sont proches du mucron. Cette destruction progressive des structures cellulaires doit s'expliquer par l'intervention d'enzymes issues de la région antérieure. Ce mécanisme est très probable car nous savons que la pénétration des Toxoplasma gondii dans des cellules Hela est en relation avec l'intervention d'enzymes lytiques (NORBY et LYCKE 1967).

Les corps denses antérieurs, ayant une activité phosphatasique positive, ^{acide} représentent probablement les organites sécréteurs de ces enzymes.

Le rôle envisagé pour les corps denses antérieurs est renforcé par le fait que des Grégarines intestinales telles Sycia inopinata (Chapitre VII) ou diverses Gregarina parasites de Tenebrio molitor (DEVAUCHELLES 1968) dépourvus de ces organites ne provoquent pas de destruction importante de l'épithélium intestinal.

La libération d'enzymes lytiques amène à rechercher le point d'émergence des corps denses antérieurs. La pénétration de ces organites dans le conoïde a été décrit chez Toxoplasma gondii et Sarcocystis tenella (SENAUD 1966) chez diverses Eimeria (CHEISSIN et SNIGIREVSKAYA 1965, SHEFFIELD 1966, COLLEY 1967), Plasmodium (AIKAWA 1966), Besnoitia (SHEFFIELD 1966).

Chez les trophozoïtes étudiés (Selenidium et Lecudina) on peut concevoir un mécanisme différent. Le conoïde en agissant comme sphincter chez S. hollandei provoque la formation de vacuoles digestives. Dans le cas où les corps denses antérieurs déboucheraient dans le conoïde, il faudrait admettre un fonctionnement cyclique du conoïde : il expulserait les enzymes lytiques et il absorberait le matériel assimilable à des périodes différentes.

En fait, nous pensons que le mécanisme serait plus simple. La présence d'un canal s'abouchant aux membranes internes de la paroi et en rapport avec les corps denses antérieurs chez S. hollandei peut représenter le point d'émergence des corps denses antérieurs. Certaines images de la base des mucrons de Lecudina semblent confirmer cette conception (Pl. LVIII, fig. b). Dans un tel mécanisme, l'action lytique de la région antérieure et la pénétration de substances assimilables dans le mucron pourraient se faire simultanément.

L'intervention des corps denses antérieurs dans la digestion intracellulaire peut également être envisagée à cause de leur richesse en phosphatase acide et de leur accollement avec les vacuoles digestives.

IV- NUTRITION PAR LA SURFACE

Nous venons de voir que la région antérieure des Lecudinidae et des Selenidiidae est une voie importante de la nutrition. Toutefois, de nombreux auteurs n'ont accordé que peu d'attention à ce mode d'alimentation et l'idée d'une nutrition par la surface reste encore^{la} plus souvent admise.

Nous avons montré chez S. hollandei que cette voie pouvait être envisagée (VIVIER et SCHREVEL 1964). Récemment VIVIER (1968) a proposé un schéma de la nutrition à partir de la paroi chez L. pellucida. Nous essaierons de préciser les modalités de cette nutrition. Ceci nous conduira à examiner la paroi et ses différents organites, les essais expérimentaux d'alimentation et la localisation de vacuoles à activité phosphatase acide positive.

Lecudina semblent confirmer cette conception (Pl. LVIII, fig. b). Dans un tel mécanisme,

A - Paroi et organites périphériques de Selenidium hollandei

Nous avons vu précédemment (Chapitre III) au niveau des sillons, quatre sortes d'organites : les invaginations de la membrane externe, les vésicules à structure myélinique, les balles osmiophiles, et les vésicules allongées. Les balles osmiophiles et les vésicules allongées dérivant des dictyosomes ou de l'ergastoplasme peuvent être écartées car elles ne présentent pas de contact direct avec l'extérieur. Par contre, les invaginations de la membrane externe avec interruption des membranes internes et les vésicules à structures emboîtées sont plus intéressantes.

Nous venons de voir que la région antérieure des Lecudinidae et des Selenidiidae est une voie importante de la nutrition. Toutefois, de nombreux auteurs n'ont accordé que peu d'attention à ce mode d'alimentation et l'idée d'une nutrition par la surface reste encore^{la} plus souvent admise.

Nous avons montré chez S. hollandei que cette voie pouvait être envisagée (VIVIER et SCHREVEL 1964). Récemment VIVIER (1968) a proposé un schéma de la nutrition à partir de la paroi chez L. pellucida. Nous essaierons de préciser les modalités de cette nutrition. Ceci nous conduira à examiner

Les invaginations de la membrane rappellent les vésicules de pinocytose. Elles comprennent une vésicule sphérique de $0,3 \mu$ de diamètre, reliée à l'extérieur par un goulot cylindrique (Pl. XXX, fig. c). Les membranes internes de la paroi sont interrompues et constituent un orifice sensiblement circulaire ou micropore (Pl. XXIX, fig. c). A la périphérie de ces vésicules, nous avons une zone plus dense rappelant soit une dissolution des membranes internes, soit une diffusion de substance. Les vésicules à lamelles emboîtées sont abondantes dans les sillons et surtout dans la région antérieure. On peut y rattacher les vésicules à deux membranes opaques, espacées de 200 \AA .

B - Essais d'analyse expérimentale

Dans cette étude nous avons essayé de savoir

- 1) si la diffusion de substances à travers la paroi était possible,
- 2) si des substances opaques aux électrons pouvaient être absorbées par un mécanisme de phagocytose,
- 3) comment se répartissaient les phosphatases acides, enzymes dont l'activité en rapport avec la digestion intracellulaire a été avancée de nombreuses fois.

1 - Action du Rouge Neutre sur *S. hollandei*

L'emploi du Rouge Neutre dilué au $1/10000$ dans de l'eau de mer, fait apparaître, au bout de quelques minutes, des grains rouges dans les trophozoïtes et mérozoïtes. L'effet du Rouge Neutre peut durer longtemps. Si un Sabellaria est placé pendant 24 heures dans une solution d'eau de mer colorée au Rouge neutre ($1/10000$) puis transféré dans de l'eau de mer normale, 15 jours après, les grains sont toujours colorés mais la coloration est souvent bleu foncé.

L'observation au microscope électronique de *S. hollandei* permet de voir des accumulations de Rouge Neutre dans les vacuoles (Pl. LXIV, fig. a et c), les dictyosomes (Pl. LXIV, fig. c) et au voisinage des lipides (Pl. LXIV, fig. b). Les vésicules à structures emboîtées sont particulièrement hypertrophiées à la suite d'un séjour prolongé.

L'affinité du Rouge Neutre pour les vacuoles digestives chez les Ciliés, pour l'appareil de Golgi des Sporozoaires (JOYET - LAVERGNE 1926,

DANIELS 1938), pour les lipides et peut-être pour les lysosomes (MULLER et Coll. 1962 ; ROSENBAUM et WITTNER 1962) représente ici un aspect secondaire.

Le Rouge Neutre, colorant basique de faible poids moléculaire (288 environ), pénètre par diffusion (voir discussion MULLER et Coll. 1962). Cette hypothèse admise par de nombreux auteurs, nous laisse penser que chez les Grégarines, le mécanisme est analogue : de petites molécules pénétreraient par diffusion chez les Grégarines.

2 - Action du Thorotrast

Les Sabellaria sont immergés de quelques heures à 48 heures dans de l'eau de mer contenant de 4 % à 16 % de Thorotrast (Fellows Testagar, Détroit). Cette technique comparable à celle utilisée par FAVARD et CARASSO (1963 et 1964) pour l'étude des Pérित्रiches, ne nous a pas donné de résultats démonstratifs. Aucune image montrant une accumulation de Thorotrast dans les vésicules de type pinocytotique n'a été obtenue. Nous pensons que l'emploi du Thorotrast à de faibles concentrations pendant des temps plus longs (plusieurs semaines) et surtout l'adjonction d'une substance inductrice de pinocytose devraient permettre d'éclaircir ce problème.

3 - Vacuoles à réaction phosphatase acide positive

La réaction de mise en évidence de la phosphatase acide (technique de Gomori) montre la présence de plusieurs grandes vacuoles ovales de 0,5 μ de long sur 0,3 μ de large, vides après les techniques d'inclusions mais qui présentent à leur périphérie une réaction positive (Pl. LXV).

La réaction semble localisée au cytoplasme bordant la vacuole. La limite de la vacuole est irrégulière et présente de nombreuses hernies à réaction positive (Pl. LXV, fig. b). Certaines vacuoles ont une réaction plus accentuée que d'autres (Pl. LXV, fig. c).

C - Discussion

Ces résultats permettent de dégager un certain nombre de faits concernant la nutrition par la surface.

Les vésicules sphériques de 500 Å de diamètre avec un pédoncule de 1.000 Å sont des invaginations de la membrane externe ressemblant à des vésicules de pinocytose.

Les résultats de RUDZINSKA et Coll. (1957, 1959, 1960, 1961, 1962, 1965) de FLETCHER et MAEGRAITH (1962), COX et VICKERMAN (1966), AIKAWA et Coll. (1966, 1967), HEPLER et Coll. (1967) ont montré sur différents Plasmodium au stade érythrocytaire, une nutrition par phagotrophie : le matériel sanguin peut être observé à l'intérieur du parasite.

Par contre, tous les travaux décrivant des invaginations de la membrane externe rappelant des vésicules de pinocytose (VIVIER et SCHREVEL 1964, HEPLER et Coll. 1967, VIVIER 1968) n'ont jamais constitué des preuves d'un tel mode de nutrition : ces vésicules dépourvues de matériel dense ne peuvent être repérées à l'intérieur du parasite. Cependant, les idées semblent se préciser. Pour VIVIER (1968) ces formations se transformeraient en vésicules résiduelles à structure myélinique par adjonction de membranes de type du réticulum endoplasmique ; pour SHEFFIELD (1967), HAMMOND et Coll. (1967), BUTTNER (1968), les vésicules s'allongeraient et pourraient être libérées dans le cytoplasme sous forme de vacuoles selon un processus qui rappelle les observations de RUDZINSKA et Coll. citées précédemment et se rapproche des mécanismes de pinocytose actuellement connus.

L'emploi de traceurs opaques, utilisés chez divers protozoaires, (STEINERT et NOVIKOFF 1960, FAVARD et CARASSO 1963 et 1964) s'impose pour élucider ce problème. En effet, les invaginations de la membrane externe peuvent représenter soit des entrées soit des sorties de matériel.

L'emploi du Rouge Neutre en solution diluée montre que la diffusion de petites molécules existe chez les Grégarines. Les résultats ne permettent toutefois pas de préciser si la diffusion se fait par toute la surface, au niveau des sillons ou uniquement par des vésicules de type pinocytotique. Il convient de rappeler que l'emploi de précurseurs radioactifs dans l'exploration de la nutrition (CORBEL 1965-1966) permet de savoir si la substance est synthétisée par le trophozoïte ; ainsi les interprétations de cet auteur sur l'incorporation de Cystéine ^{35}S , Methionine ^{35}S , Glucose ^{14}C par Grégarina garnhami méritent d'être vérifiées : l'absence de marquage dans l'épimérite ne constitue pas une preuve de sa non participation à l'incorporation des

acides aminés soufrés injectés dans l'hémolymphe de l'hôte.

V - CONCLUSION

Pour la première fois chez les Grégarines, il est démontré que la nutrition par la région antérieure existe (Fig.23).

Chez Selenidium hollandei, parasite de Sabellaria alveolata, le mucron présente à son apex, le conoïde. Le conoïde semble fonctionner comme un sphincter et à son niveau se forment d'importantes vacuoles digestives. Dans ce cas très précis, il s'agit d'un réel cytostome ; les vacuoles migrent dans le cytoplasme tandis que s'établit à leur périphérie une intense micropinocytose. Ce mécanisme s'apparente à celui mis en évidence chez les Ciliés, en particulier les Pérित्रiches (FAVARD et CARASSO 1964).

Chez les Lecudina, le mucron constitué d'une multitude de microfibrilles possède très probablement un rôle identique. La présence de corps denses antérieurs (toxonomes = paired organelles = rhoptries), caractérisés par une activité phosphatasique acide positive permet d'expliquer :

- 1) la lyse de l'épithélium intestinal par la région antérieure
- 2) la digestion intracellulaire du matériel absorbé.

La nutrition par la surface doit probablement exister selon un processus de pinocytose ou d'osmotrophie. Toutefois, il est impossible dans l'état actuel des recherches de préciser l'importance de cette voie. Chez S. hollandei, les essais d'analyse expérimentale apportent des arguments favorables aussi bien à la diffusion qu'à la pinocytose.

L'importance des vacuoles digestives chez S. hollandei, des infiltrations de matériel chez L. pellucida, l'abondance des corps denses antérieurs, la puissante action lytique des mucrons permettent de penser que la nutrition par la région antérieure constitue, chez les trophozoïtes, la voie d'alimentation la plus importante.

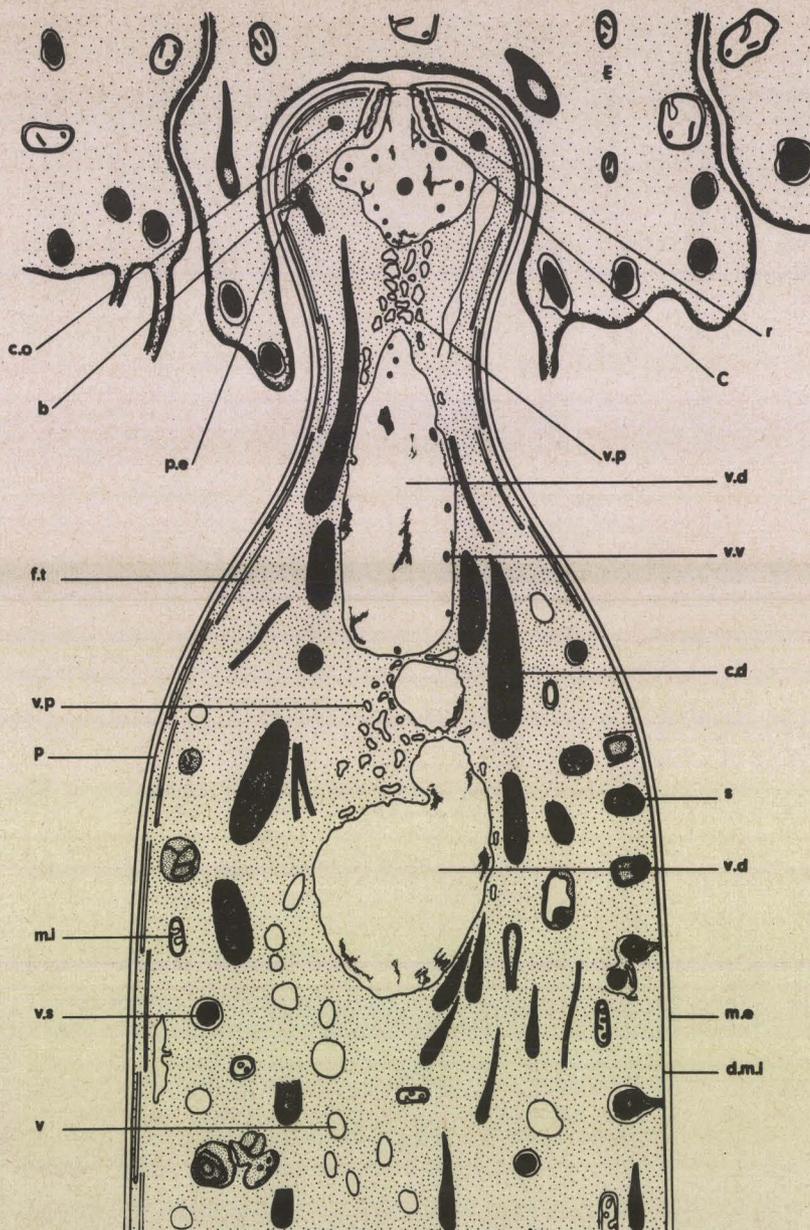


FIGURE 23 Reconstitution de la région antérieure du *Selenidium*. Les vacuoles digestives (v.d.) se forment à l'apex du trophozoïte, au niveau du conoïde (C.); elles se détachent et migrent postérieurement. Leur périphérie présente de très nombreuses vésicules de pinocytose (v.p.). Certains corps denses antérieurs (c.d.) sont accolés aux vacuoles digestives.

Abréviations: C., conoïde; c.d., corps denses antérieurs (= toxonèmes, « paired organelles », rhoptries); c.o., corps opaques; E., épithélium intestinal du *Sabellaria*; f.t., fibres tubulaires; m.e., membrane externe de la paroi; d.m.i., double membrane interne de la paroi; m.i., mitochondrie; P, paroi; p.e., pertuis; r., rideau micro-fibrillaire du conoïde; s., structures emboîtées; v., vacuoles vides de toute inclusion; v.d., vacuole digestive; v.p., vésicules de pinocytose; v.s., vacuole à sphérule; v.v., vésicules de la vacuole digestive.

BUS
LILLE

CHAPITRE VII

CROISSANCE

Sycia inopinata est la seule Grégarine intestinale, parasite d'Annélides Polychètes, qui présente un aspect de Tricystidée. L'existence d'un épimérite en forme de gland qui disparaît en fin de croissance, d'un protomérite en forme de tronc de cône, d'un deutomérite globuleux, nous a amené à examiner sa croissance de façon à connaître les modalités d'apparition des différentes régions. Par croissance, nous considérons l'évolution du sporozoïte ou jeune trophozoïte en sporadin ou trophozoïte capable d'entreprendre sa reproduction sexuée.

I - PRINCIPALES ETAPES DE LA CROISSANCE DE S. INOPINATA

En se basant sur la présence et le développement de l'épimérite, la position du noyau, l'apparition de la zone intermédiaire, on peut définir cinq phases dans la croissance de Sycia inopinata.

A - Début de la croissance

Ce stade correspond à l'évolution du sporozoïte en un jeune trophozoïte de 17 à 18 μ . Dès les plus jeunes stades observés en microscopie photomicroscopique (5,4 μ environ de long), l'épimérite est déjà globuleux et développé (5,4 μ de large x 3,5 μ de long). Le noyau (4 μ x 2,7 μ) est logé dans l'épimérite selon un axe perpendiculaire à celui du trophozoïte. Par la suite, le noyau va basculer et s'engager dans le "corps" de la Grégarine.

Les colorations cytochimiques montrent une très forte coloration rouge après la coloration de Brachet (vert de méthyle pyronine), par contre aucune coloration n'est décelée après le P.A.S. ou le P.A.S. dimédon. Ces résultats se trouvent vérifiés par la microscopie électronique : le cytoplasme montre une extrême abondance en ribosomes et l'absence de grains de paraglycogène.

L'ultrastructure d'un trophozoïte à la fin de ce stade (environ 18 μ) apporte des précisions supplémentaires sur l'organisation des parasites.

L'épimérite globuleux est limité par une paroi régulière et dès ce stade, on note à la base une sorte de bague marquant la limite de pénétration du parasite dans l'épithélium intestinal. A l'intérieur de cette bague, on décèle quelques éléments filiformes enchevêtrés (Pl. LXVI, fig. c) et plusieurs taches osmiophiles irrégulières de 700 Å. Ces taches sont soit alignées à une distance de 0,18 μ de la paroi, soit éparpillées dans la bague (Pl. LXVI, fig. a et c).

Le noyau de 8 μ de long sur 7 μ de large (Pl. LXVI, fig. a) est situé presque en totalité dans l'épimérite, il est limité par une double enveloppe où la membrane externe à la différence de l'interne est hérissée de ribosomes (Pl. LXVI, fig. c). A l'intérieur du nucléoplasme, on distingue le caryosome et de nombreux filaments enchevêtrés correspondant à la chromatine. Les plis épicytaires (Pl. LXVI, fig. a) apparaissent sous la bague et recouvrent le "corps" de la Grégarine. Aucune cloison ne sépare l'épimérite du reste de la Grégarine. Parmi les nombreux ribosomes disposés souvent sous forme de petites chaînettes, on note de nombreuses vacuoles de type ergastoplasmique de 0,3 μ environ, quelques vacuoles beaucoup plus irrégulières, atteignant 1 μ , l'absence totale de mitochondries et surtout la présence dans l'épimérite de nombreux éléments de nature lipidique (Pl. LXVI). Ces éléments d'environ 0,5 μ , très osmiophiles, de contour irrégulier (Pl. LXVI, fig. b) présentent un aspect comparable aux plages lipidiques beaucoup plus grandes (1,3 μ x 0,7 μ) situées dans l'épithélium intestinal (Pl. LXVI, fig. a). Les lipides de l'épithélium intestinal semblent se dissocier sur leur périphérie en un réseau de filaments. Comme il existe dans le trophozoïte de nombreuses plages lipidiques, un liseré fortement osmiophile à 160 Å de la paroi et plusieurs petites plages de 700 Å au niveau de la bague, on peut envisager le fait que les lipides des jeunes Sycia proviendraient de l'épithélium intestinal de l'Audouinia : les lipides des cellules intestinales traverseraient la paroi sous forme diffuse et seraient remaniés pour constituer les gros amas lipidiques du parasite.

Remarquons qu'aucun organite ressemblant aux corps denses antérieurs des Lecudina et Selenidium n'est visible.

B - Passage du noyau dans le "corps" du trophozoïte

Ce stade (30 μ de long x 20 μ de large) se situe après la pénétration du noyau dans le "corps" du trophozoïte et avant l'apparition de la zone intermédiaire correspondant au protomérite. Le passage du noyau dans le "corps" du trophozoïte est variable, tantôt précoce vers 18 - 20 μ , tantôt plus tardif vers 30 μ . L'épimérite atteint sa taille maximale (14 μ x 14 μ). La différence cytochimique avec le stade précédent est l'apparition de réactions P.A.S. et P.A.S. dimédon positives dans l'épimérite.

L'ultrastructure de l'épimérite d'un trophozoïte de 26 μ de long (Pl. LXVII) montre comme dans le cas précédent, une très grande abondance de ribosomes, de vacuoles, mais en plus un certain nombre de formations :

- quelques corpuscules opaques de 0,3 à 0,5 μ de long sur 0,15 μ de large, disposés plutôt vers la périphérie de l'épimérite : ce sont les grains de paraglycogène.
- des systèmes lamellaires situés également à la périphérie
- quelques dictyosomes

A la jonction de l'épimérite et du corps du trophozoïte, nous notons l'existence de deux formations de section sensiblement circulaire de 1,2 μ de diamètre environ, accolées à la paroi en arrière de la bague de butée mentionnée plus haut. La présence de ces formations sur toutes les coupes nous amène à penser qu'il s'agit d'un anneau. Nous préciserons plus loin son ultrastructure.

La partie supérieure du "corps" de la Grégarine est occupée par le noyau de 10 μ sur 8,5 μ avec sa double enveloppe. Dans la partie inférieure, existent une plage riche en grains de paraglycogène de dimension et d'aspect comparables à ceux de l'épimérite, et des grains clairs de section circulaire de 0,3 à 0,4 μ . A la périphérie de cette plage et vers l'extérieur, on trouve une série de dictyosomes ; le reste du cytoplasme est occupé par de nombreux ribosomes et vacuoles claires.

C - Apparition de la zone intermédiaire correspondant au protomérite et au développement maximum de la phase "Tricystidée" de S. inopinata

Le trophozoïte s'élargit dans sa partie caudale et présente son allure typique de "Tricystidé" (Pl. LXVIII, fig. a). Le paraglycogène mis en évidence par le P.A.S. dimédon est abondant dans l'épimérite et le protomérite, surtout au niveau de leur jonction.

Au microscope photonique, la cuticule est particulièrement développée au niveau du protomérite; elle semble absente à l'extrémité du deutomérite : peut être existe-t-il un pore d'excrétion comparable à celui des schizozoïtes (chapitre IX).

En microscopie électronique, nous distinguerons l'apparition du protomérite et le stade correspondant au développement maximum de la phase "Tricystidée."

1 - Apparition de la zone intermédiaire

A un stade à peine plus évolué que le précédent (trophozoïte de 32 μ environ), apparaissent de nombreuses et grandes vacuoles à la base de l'épimérite et dans la portion supérieure du "corps" du trophozoïte (Pl. LXVIII, fig. a et b; Pl. LXIX fig. b).

Les vacuoles à contour irrégulier, atteignent 1 μ de long. Elles apparaissent souvent vides avec les techniques d'inclusion utilisées. Certaines d'entre elles contiennent des corpuscules opaques de 1000 Å souvent accolés par deux ou trois. Entre les vacuoles, parmi les nombreux ribosomes, nous trouvons des grains de paraglycogène plus ou moins réniformes et parfois bosselés (Pl. LXVIII, fig. b ; Pl. LXVIII, fig. c).

En coupe transversale, la paroi de l'épimérite apparaît comme un liseré de 400 Å d'épaisseur, souvent grisâtre, avec de place en place une bande noire (Pl. LXIX, fig. a). Sous cette paroi, s'observe un espace clair de 600 Å puis généralement des systèmes lamellaires. Les lamelles (Pl. LXIX, fig. a) semblent s'invaginer pour constituer de nombreuses formations irrégulières, à membranes emboîtées, de 0,2 à 0,3 μ , entourant une masse hétérogène légèrement sombre. A ces systèmes lamellaires, sont accolées des masses lipidiques irrégulières et osmiophiles dont les dimensions varient de 0,2 à 0,6 μ .

En dessous des systèmes lamellaires, le fond cytoplasmique est constitué d'une multitude de ribosomes associés en polysomes. De place en place (Pl. LXIX, fig. a) nous trouvons des dictyosomes aux saccules bosselés présentant latéralement des vésicules légèrement opaques.

2 - Développement maximum de la phase Tricystidée

Au sommet de l'épimérite, apparaît une superposition d'une vingtaine de lames de type reticulum endoplasmique : certaines communiquent entre elles (Pl. LXX, fig. b) d'autres ressemblent à des dictyosomes (Pl. LXX, fig. c).

Dans l'épimérite et le protomérite existent de très grandes vacuoles claires (Pl. LXX, fig. a). Au sommet et à la périphérie de l'ectoplasme du protomérite et au niveau de la bague de l'épimérite s'observent une multitude de corpuscules représentant probablement des mucopolysaccharides (Pl. LXX, fig. a).

La bague toujours très développée sera examinée au stade suivant.

D - Fin de la phase "Tricystidée" et chute du trophozoïte dans la lumière intestinale

Ce stade débute vers 50 μ et se caractérise par le flétrissement de l'épimérite (Pl. LXVIII, fig. b). Les derniers stades de Sycia fixés à l'épithélium intestinal mesurent 70 μ environ. L'ultrastructure montre toujours une très grande vacuolisation de l'épimérite. Les vacuoles sont allongées dans le sens apico-basal de la Grégarine et sont en continuité avec le reticulum endoplasmique (Pl. LXXI, fig. a). Entre les vacuoles, les ribosomes sont toujours nombreux mais les grains de paraglycogène sont peu nombreux, ce qui explique l'absence de coloration de l'épimérite par le P.A.S. dimédon.

Le sommet de l'épimérite s'est digité (Pl. LXXII, fig. a). De plus il est occupé par une masse importante constituée par une multitude de canaux enchevêtrés rappelant le reticulum endoplasmique. Ce réseau pourrait résulter du développement des empilements des lames du reticulum endoplasmique décrites au stade précédent.

Entre cette masse et la paroi, on observe des systèmes lamellaires

sinueux (Pl. LXXII, fig. b) et de nombreuses masses ovoïdes faiblement opaques (Pl. LXXII, fig. c).

Nous allons étudier l'anneau situé à la base de l'épimérite que nous avons signalé aux stades précédents. Constitué de quelques fibres au début de la croissance, cet anneau devient vite très développé. Les coupes perpendiculaires à cet anneau montrent de nombreuses bandes plus ou moins convergentes vers la paroi (Pl. LXXI, fig. a). Les coupes tangentielles précisent la présence d'éléments fibrillaires de 125 \AA d'épaisseur (Pl. LXXI, fig. b) et montrent que l'anneau disposé au sommet du protomérite est fixé par des prolongements fibrillaires à la bague de l'épimérite (Pl. LXXIII). Le système d'attache comprend un ^{ensemble} de fibres dirigées vers la base de la bague (Pl. LXXIII, fig. a) et un autre groupe de fibres orientées vers le sommet de la bague (Pl. LXXIII, fig. b). L'aspect spongieux et très dense de cet anneau rappelle le septum de Pixinia balani (REGER 1967). Entre cet anneau et la paroi, on peut remarquer parfois un élément qui en coupe, mesure $2,7 \mu$ de long au moins sur 600 \AA de large (Pl. LXXI, fig. a). L'épaisseur de l'anneau est de 1μ environ.

E - Le sporadin

Les trophozoïtes adultes libres dans la lumière intestinale mesurent environ 90μ . L'épimérite a totalement disparu. Le deutomérite est surmonté par le protomérite dont le sommet est maintenant arrondi (Pl. LXXIV, fig. a). Il existe une bande claire à la limite du protomérite et du deutomérite (Pl. LXXIV, fig. b).

Dans cette zone cytoplasmique de $2,5 \mu$ d'épaisseur, le microscope électronique démontre qu'il n'existe pas de septum d'aspect fibrillaire comme chez les Tricystidées d'Insectes (GRASSE et THEODORIDES 1959, DEVAUCHELLES 1968).

Nous savons que la séparation a la même constitution que l'ectoplasme (chapitre IV). On y trouve de nombreuses vacuoles irrégulières et vésicules de nature probablement mucopolysaccharidique. Le paraglycogène est abondamment réparti dans le protomérite et le deutomérite. Ces deux régions n'ont pas de grande différence quant à la nature des organites. On pourrait noter peut être une plus grande abondance de dictyosomes dans le sommet du deutomérite.

II - DISCUSSION

Nous considérerons d'abord la croissance de S. inopinata puis celle des autres Grégarines intestinales, enfin nous envisagerons les notions de Grégarine "Tricystidée", "Dicystidée" et "Monocystidée".

L'étude de la croissance de S. inopinata permet de dégager plusieurs problèmes :

- La vacuolisation de la région antérieure
- Le rôle des ribosomes et l'apparition du paraglycogène
- L'absence de mitochondries
- L'origine des lipides
- Le rôle de l'anneau situé à la base de l'épimérite.

L'existence et la polarité apico-basale des vacuoles suggèrent que, des substances issues de l'épithélium intestinal seraient entraînées vers la région postérieure du parasite par l'intermédiaire de ce système : la présence dans les vacuoles, de petits corpuscules noirs, d'opacité comparable aux grains envacuolisés de l'épithélium intestinal (Pl. LXVIII, fig. c et Pl. LXII, fig. a) pourrait constituer un argument en faveur de cette hypothèse.

La présence de très nombreux ribosomes, agencés comme nous l'avons vu en polysomes, est l'indice d'un anabolisme intense.

Les grains de paraglycogène, décelés aussi bien par la cytochimie que par la microscopie électronique, apparaissent dans l'épimérite lorsque le trophozoïte atteint la taille de 18 à 20 μ . Or à ce stade, le cytoplasme dans l'épimérite contient essentiellement des ribosomes. Il devient dès lors logique de penser que le système ribosomal produit l'équipement enzymatique nécessaire à la synthèse du paraglycogène. Ceci n'est pas un fait isolé car les jeunes Grégarina (DEVAUCHELLES 1968) ont une structure identique.

L'absence de mitochondries, sans doute liée à l'anaérobiose (chapitre III) fait admettre que la dégradation du paraglycogène par un processus de fermentation constitue la source d'énergie pour les jeunes Sycia.

Les lipides sont très abondants chez les jeunes trophozoïtes, et ils proviennent probablement des lipides de l'épithélium intestinal de l'hôte.

Le flétrissement de l'épimérite, accompagné d'une très forte vacuolisation, traduit la diminution de son rôle au cours de la croissance. Il joue un rôle déterminant dans le début de la croissance, il disparaît quand

le trophozoïte atteint 60 ou 70 μ . La disparition de l'épimérite conduit à deux conclusions :

- l'anneau situé à la base de l'épimérite doit jouer le rôle de sphincter et éviter le déversement du cytoplasme à l'extérieur de la Grégarine.

- la croissance du trophozoïte se poursuivant (le sporadin devient très gros et atteint la taille de 90 μ), la nutrition doit être assurée par la paroi. Ainsi, l'épimérite de *Sycia inopinata*, par la richesse en ribosomes, par le système de vacuoles facilitant le transit et l'utilisation de substances, est le siège d'un métabolisme intense et joue un rôle capital dans la croissance de la jeune Grégarine.

La comparaison de *S. inopinata* avec les autres Grégarines est intéressante. En effet, chez les jeunes *Sycia*, les corps denses antérieurs ne sont pas visibles. *S. inopinata* ressemblerait aux Grégarina du *Tenebrio molitor* (DEVAUCHELLES 1968) mais se distinguerait du genre *Stylocephalus* (DESSPORTES 1967) et des autres Grégarines étudiées dans ce travail (*S. hollandei*, *S. pendula* et les Lecudinidae) où ces organites sont présents. Corrélativement à l'absence de corps denses antérieurs, la destruction de l'épithélium intestinal de l'hôte est faible (chapitre VI).

Il est fréquent de distinguer parmi les Grégarines, trois types : Monocystidée, Dicystidée, Tricystidée selon le degré de cloisonnement. Les Grégarines sont dites Monocystidées quand il n'y a pas de cloisonnement, Tricystidées quand on peut distinguer trois segments : épimérite, protomérite et deutomérite. Les Dicystidées représentent un terme intermédiaire, dont la définition reste vague. Pour certains, les Dicystidées auraient une région antérieure spécialisée dans la fixation qui tendrait à se séparer du reste de la cellule. Cette définition est ambiguë et l'on ne voit pas la limite entre les Monocystidées où le mucron peut servir soit à la pénétration, soit à la fixation et les Dicystidées comme le genre *Lecudina* où les fonctions du mucron sont identiques. De plus chez certaines Monocystidées, le mucron prend un développement considérable comme chez les *Rhynchocystis* (HESSE 1909).

Nous pensons que le terme de Monocystidée doit s'appliquer d'une façon générale à toute Grégarine qui possède un mucron.

Par conséquent, le mucron des Selenidiidae ne doit pas être distingué de celui des Lecudinidae ni de celui des Monocystidées. Il est vraisemblable

que, dans tous les cas, le mucron représente un organe de fixation et probablement un organe de succion.

Les Grégarines Polycystidées, par opposition au Monocystidées sont celles qui possèdent un véritable épimérite nettement individualisé. Les Tricystidées ont les trois segments typiques (épimérite, protomérite, deutomérite) où les segments deutomérite et protomérite sont séparés par un septum fibrillaire ou constitué de matériel dense comme celui décrit par GRASSE et THEODORIDES (1959), REGER (1967), DEVAUCHELLES (1968). Par contre, chez les Dicystidées il n'existe pas de véritable septum, simplement, dans certains cas, une différenciation cytoplasmique de même nature que l'ectoplasme.

Sycia inopinata représenterait donc une Dicystidée. Les Polyrhabdiniidae constitueraient également des Dicystidées (étude ultrastructurale en cours) comme l'ont déjà proposé CAULLERY et MESNIL (1914), MACKINNON et RAY (1931).

III - CONCLUSION

La croissance de Sycia inopinata, Grégarine intestinale d'A. tentaculata, permet de suivre l'évolution de l'épimérite et l'apparition d'une zone intermédiaire comparable à un protomérite.

La destruction de l'épithélium intestinal d'A. tentaculata à la suite de la fixation ^{de} S. inopinata est faible en comparaison de celle observée chez les Annélides parasitées par les Lecudinidae et Selenidiidae. Parallèlement, on note l'absence de corps denses antérieurs dans le jeune parasite.

L'étude de la croissance de S. inopinata permet en outre de préciser les termes de Monocystidée, Dicystidée et Tricystidée.

CHAPITRE VIII

METABOLISME

Nous nous sommes essentiellement intéressés à la synthèse des ribonucléines et des protéines et à la recherche de l'activité phosphorylasique.

I - ETUDE AUTORADIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DES RIBONUCLEINES ET PROTEINES

L'emploi de précurseurs radioactifs chez les Grégarines est resté limité. Seul, CORBEL (1965, 1966) a utilisé la méthionine ^{35}S , la cystéine ^{35}S et le glucose ^{14}C , pour étude de la nutrition de Gregarina garnhami Canning, parasite de Locusta migratoria.

Nous avons étudié l'importance et la cinétique de la synthèse des ribonucléines et des protéines par les trophozoïtes de Lecudina tuzetae, parasite de N. diversicolor, au moyen de l'Uridine ^3H et la L. Leucine ^3H .

Les premiers résultats ont été exposés récemment (SCHREVEL et DHAINAUT 1968).

A - Matériel et méthodes

Les Nereis diversicolor ont été récoltées au mois d'Octobre 1966 à l'embouchure de la Slack, près du laboratoire de Biologie maritime de Wimereux.

L'Uridine ^3H (3,7 Ci/mM) et la L. Leucine ^3H (50 - 200 mCi/mM) proviennent du C.E.A.

Les vers dont l'état de maturité génitale est déterminé par ponction coelomique, sont répartis au hasard dans des séries de 4 individus. Ils sont maintenus à jeun et à 20° C pendant quelques jours puis ils reçoivent dans ces conditions, une dose unique de 20 μC de précurseur, par injection intracoelomique.

Les séries à l'Uridine ^3H ont été fixées au Carnoy au bout de 1 h, 3 h, 6 h, 12 h, et 48 h ; celles à la Leucine ^3H au bout de 30 mn, 1 h, 3 h, 6 h, 12 h, 48 h, 4 j et 8 j.

Les coupes de 6 μ d'épaisseur sont recouvertes de l'émulsion gel Ilford K5 ou I4 selon la technique de FICQ (1961). Après une exposition de 4 jours, les lames sont révélées au D19b Kodak et colorées au rouge solide picroindigocarmin.

Pour les séries à l'Uridine, nous avons fait sur une lame de chaque série, un test à la ribonucléase (0,1 %, 1 h, à 37° C) à titre de témoin avant le coulage de l'émulsion.

B - Etude cinétique de la synthèse des ribonucléines de Lecudina tuzetae

L'exposé concerne essentiellement les stades intraépithéliaux qui sont, du fait de leur position près du sinus sanguin périintestinal, dans des conditions plus stables vis-à-vis du précurseur que les trophozoïtes de la lumière intestinale.

1 - Résultats

a) Sites de marquage en fonction du temps d'incorporation

- 1 heure après l'injection d'Uridine ^3H

Les trophozoïtes à ce stade montrent un marquage soit nul (Pl. LXXV, fig. a) soit limité au caryosome et au nucléoplasme (Pl. LXXV, fig. c). Le cytoplasme ne présente aucun site de synthèse.

Certains noyaux de l'épithélium intestinal, proches de la Grégarine incorporent très fortement l'Uridine ^3H : il s'agit sans doute, d'une réaction de l'hôte à la présence du parasite (Pl. LXXV, fig. b).

- 3 heures après l'injection d'Uridine ^3H

Les résultats sont très comparables à ceux obtenus après une heure (Pl. LXXV, fig. d et e). On pourrait dans certains cas, voir un début de marquage cytoplasmique (Pl. LXXV, fig. e).

- 6 heures après l'injection d'Uridine ^3H

A partir de six heures, le marquage cytoplasmique existe dans un nombre important de trophozoïtes (Pl. LXXV, fig. f) ; toutefois on peut noter une fluctuation importante de ce marquage en fonction de la taille

des parasites (Pl. LXXV, fig. g) : le cytoplasme des petits individus a une densité de grains nettement plus importante que celui des grands.

Le marquage nucléaire aussi bien au niveau des caryosomes uniques ou doubles que du nucléoplasme, est très important. La disparité des marquages nucléaire et cytoplasmique reste parfois très nette (Pl. LXXV, fig. h).

- 12 heures après l'injection d'Uridine ^3H

Les résultats sont comparables à ceux de six heures.

- 24 heures après l'injection d'Uridine ^3H

A cette période, les noyaux sont encore intensément marqués (Pl. LXXV, fig. i, j, k). D'autre part la zone ectoplasmique semble présenter un marquage plus abondant que la zone endoplasmique (Pl. LXXV, fig. i). Le problème de la précision de la technique autoradiographique nous amène à nous demander si ce marquage ectoplasmique bien que régulier, ne serait pas provoqué en partie par le cytoplasme intestinal entourant le parasite.

- 48 heures après l'injection d'Uridine ^3H

Les noyaux et plus particulièrement les caryosomes montrent une baisse importante de marquage. Le marquage ectoplasmique, par contre persiste.

b) Contrôle par la RNase

Nous avons traité les coupes à la RNase afin de vérifier si l'Uridine ^3H avait bien été incorporée dans des ribonucléines et non dans un autre composé comme le suggèrent les résultats obtenus chez Entamoeba histolytica et Bacterioides sp. (SHARMA et Coll. 1967) à la suite d'incorporation d'Uridine ^3H .

Après ce traitement, le marquage a disparu dans la plupart des lames, aussi bien au niveau de la Grégarine que de l'épithélium intestinal (une seule lame de la série à 6 heures, présentait un aspect douteux). Il semble donc logique d'imputer le marquage observé à l'incorporation de l'Uridine ^3H dans la biosynthèse des ribonucléines.

c) Tableau récapitulatif

En prenant des périodes éloignées, 1 heure, 6 heures, 24 heures et 48 heures, il est possible de dégager les grandes lignes de l'évolution des sites de marquage des ribonucléines chez Lecudina tuzetae (tableau 13 d'après SCHREVEL et DHAINAUT 1968).

	Caryosome	Suc nucléaire	Ectoplasme	Endoplasme
1 h	++	++	-	-
6 h	+++	+++	++	++
24 h	++	+++	++	++
48 h	<u>++</u>	++	++	+

Tableau 13 - Répartition du marquage chez L. tuzetae à la suite d'une injection unique d'Uridine ³H chez Nereis diversicolor

Convention : +++ marquage très abondant
 ++ marquage abondant
 + marquage faible
 - marquage absent

Pour le nucléoplasme et les caryosomes, le marquage débute dès la première heure, présente un maximum vers la 6ème heure et semble diminuer assez nettement dans le cas des caryosomes vers la 48ème heure. Le marquage cytoplasmique apparaît très nettement à la 6ème heure mais présente une intensité variable qui paraît en rapport avec la taille des trophozoïtes. Vers la 24ème heure, il semble s'établir un marquage de la zone périphérique correspondant à l'ectoplasme.

2 - Discussion

Les résultats obtenus sur les stades intraépithéliaux de L. tuzetae sont comparables à ceux obtenus par DHAINAUT (1964) sur les ovocytes de l'hôte. Il est difficile d'établir une cinétique précise du marquage car la taille du parasite et le métabolisme de l'hôte semblent l'influencer d'une façon importante. En effet, il nous apparaît hors de doute que les trophozoïtes au début de leur croissance possèdent un métabolisme nettement plus intense que les stades avancés chargés de leurs matériaux de réserve (paraglycogène, mucopolysaccharides en particulier) dont certains seront nécessaires à la reproduction.

En prenant des temps éloignés, il est possible de donner un schéma où le marquage caryosomal et nucléaire apparaît avant celui du cytoplasme. Ces résultats rejoignent ceux trouvés chez Amoeba et Acetabularia où le marquage nucléaire précède celui du cytoplasme (ce dernier n'apparaissant qu'une heure après chez Amoeba et 3 heures après chez Acetabularia). Il nous est impossible de préciser le turn-over des ribonucléines car dans la technique utilisée, on ne peut réaliser des expériences de démarquage. La culture ou la survie in vitro devrait permettre à condition qu'elle ne modifie pas profondément le métabolisme de la Grégarine, une étude plus poussée de ce problème. Après 24 heures, nous avons attiré l'attention sur le fait qu'il existait une ceinture de ribonucléines marquées correspondant à la zone ectoplasmique. Un problème se pose : le marquage observé correspond-t-il à la synthèse de ribonucléines par la Grégarine ou au contraire par l'épithélium intestinal?

La première hypothèse paraît, à première vue, la plus vraisemblable mais il n'est pas impossible que des ribonucléines d'origine exogène soient absorbées par la Grégarine non pas sous forme d'osmose ou de diffusion, mais par phagotrophie au niveau de la surface et peut-être, bien que cela soit moins probable, au niveau du mucron (Pl. LXXV, fig.k.).

Ainsi dans le cas des parasites intestinaux, il semble nécessaire de garder une certaine réserve sur l'interprétation des marquages consécutifs à l'incorporation des produits radioactifs, car en plus des problèmes cellulaires, se posent ceux des échanges avec l'hôte.

C - Etude cinétique de la synthèse des protéines de Lecudina tuzetae

Les résultats porteront encore sur les stades intraépithéliaux. Toutefois nous avons obtenu un certain nombre de préparations sur les Grégarines libres dont les résultats sont comparables à ceux des stades intraépithéliaux.

1 - Résultats

a) Les sites de marquage à la Leucine ^3H en fonction du temps

- 30 minutes après l'injection

Seul l'épithélium intestinal de l'hôte commence à se marquer (Pl. LXXVI, fig. a).

- 1 heure après l'injection

Les trophozoïtes situés au niveau du sinus sanguin montrent un marquage du caryosome (Pl. LXXVI, fig. b). Le nucléoplasme et le cytoplasme se marquent d'une façon très diffuse (Pl. LXXVI, fig. c).

- 3 heures après l'injection

L'épithélium intestinal se marque de façon intense, de même le caryosome et le nucléoplasme de la Grégarine (Pl. LXXVI, fig. d). Le cytoplasme commence à se marquer, en particulier dans la zone ectoplasmique. La vacuole intracaryosomale claire montre un marquage tandis que la zone sombre en est dépourvue (Pl. LXXVI, fig. e).

- 6 heures après l'injection

Les Grégarines ont un marquage nucléaire (caryosome et nucléoplasme) très important (Pl. LXXVI, fig. f), de même l'ectoplasme (Pl. LXXVI, fig. g). L'endoplasme présente un marquage diffus. Les jeunes trophozoïtes ont un marquage ectoplasmique plus accentué que ceux en fin de croissance (Pl. LXXVI, fig. g).

- 12 heures et 24 heures après l'injection

Les sites de marquage sont identiques à ceux de 6 heures : le marquage de l'ectoplasme est intense (Pl. LXXVI, fig. h).

- 48 heures après l'injection

Le nucléoplasme reste fortement marqué; on peut noter dans certains cas une diminution de marquage au niveau du caryosome. Par ailleurs, le marquage cytoplasmique se réduit mais la différence entre les régions ectoplasmique et endoplasmique reste nette. Afin de vérifier la stabilité du marquage, nous avons fixé des séries 4 jours et 8 jours après une injection unique de Leucine ^3H .

- 4 jours et 8 jours après l'injection

Le marquage du nucléoplasme persiste au bout de 8 jours (Pl. LXXVI, fig. i et j). Les caryosomes montrent d'une façon très générale, une baisse considérable de marquage (Pl. LXXVI, fig. i et j). Le marquage cytoplasmique est devenu faible et on a l'impression que ce n'est plus l'ectoplasme qui est marqué mais la zone de l'épithélium intestinal entourant la Grégarine.

b) Tableau récapitulatif de la synthèse protéique chez L. tuzetae après injection de Leucine ^3H

Comme pour l'Uridine ^3H , en prenant des temps suffisamment éloignés, il est possible d'établir la cinétique du marquage à la Leucine ^3H chez L. tuzetae (voir tableau 14 d'après SCHREVEL et A. DHAINAUT 1968).

	Caryosome	Suc nucléaire	Ectoplasme	Endoplasme
1 h	++	+	+	-
6 h	+++	+++	+++	+
24 h	+++	+++	+++	+
8 j	+	+++	++	<u>+</u>

Tableau 14 - Répartition du marquage de L. tuzetae à la suite d'une injection de Leucine ^3H chez Nereis diversicolor.

Convention : +++ marquage très abondant
 ++ marquage abondant
 + marquage faible
 - marquage absent

De ce tableau il ressort que le marquage nucléaire débute dès la 1^{ère} heure dans les caryosomes et peut-être plus faiblement dans le nucléoplasme. Ce marquage du nucléoplasme s'accroît rapidement (vers la 6^{ème} heure) et persiste au delà de huit jours. Le marquage du caryosome présente une diminution à partir de la 48^{ème} heure et vers 8 jours, il peut avoir disparu.

Le marquage du cytoplasme montre une disparité nette entre l'ectoplasme et l'endoplasme, ce qui confirme la différence de constitution mise en évidence au microscope électronique (Chapitre III).

2 - DISCUSSION

L'utilisation de la Leucine ^3H montre que la synthèse protéique est intense au niveau du caryosome et de la zone ectoplasmique. Le fait qui nous paraît le plus important est la grande stabilité des protéines marquées du nucléoplasme par rapport à celles du caryosome et de l'ectoplasme.

Il convient donc de se demander quelle est la signification de ces protéines.

L'existence de protéines stables au niveau du noyau a été démontrée chez les Amibes (GOLDSTEIN 1963, PRESCOTT 1963). Ces résultats obtenus avec les différents acides aminés radioactifs utilisés, suggèrent à ces auteurs que les protéines seraient du groupe des histones.

D'autres travaux ont montré respectivement que :

- 1) La synthèse des histones avait lieu dans le noyau (REID et COLE 1964)
- 2) Le nucléole et la chromatine périnucléaire sont les sites les plus actifs d'incorporation de lysine ^3H (MATTINGLY 1963).
- 3) Le nucléole doit être le site de la biosynthèse des histones (BIRNSTIEL et FLAMM 1964).

Nos résultats montrent qu'il existe d'une part des protéines nucléaires stables 8 jours après l'injection d'une dose unique de $20\mu\text{C}$ de Leucine ^3H et d'autre part que le caryosome est l'un des sites de synthèse les plus actifs au début de l'expérience. On est donc en droit d'établir une comparaison entre les protéines nucléaires stables des Amibes et celles des Grégarines. Il est évident que l'identification à des histones, de nos protéines nucléaires marquées à la Leucine ^3H , mérite des vérifications avec des acides aminés basiques marqués, précurseurs radioactifs des histones (Arginine ^3H et Histidine ^3H).

L'existence probable de protéines stables est intéressante car elle permettrait de suivre la destinée de ces protéines au cours de l'enkystement. On peut faire les mêmes remarques pour la Leucine ^3H que celles faites pour l'Uridine ^3H . S'agit-il d'une synthèse réalisée par la Grégarine ou au contraire par l'intestin de l'hôte, les protéines étant ensuite absorbées par le parasite ? L'élimination éventuelle de protéines marquées, de la Grégarine dans l'hôte, peut également se poser car après 8 jours, nous avons obtenu une zone marquée qui semblait appartenir au tissu hôte. L'extrême richesse de l'ectoplasme en mucopolysaccharides acides pourrait expliquer cette élimination : le rôle des mucopolysaccharides de l'ectoplasme est encore mal connu et bien que leur intervention dans l'élaboration de la paroi kystique paraisse l'explication la plus raisonnable, il n'est pas exclu qu'un autre rôle existe au niveau de la paroi.

II - MISE EN EVIDENCE D'UNE ACTIVITE PHOSPHORYLASIQUE CHEZ IECUDINA TUZETAE ET SELENIDIUM HOLLANDEI

Les études cytochimiques et ultrastructurales de la réserve glucidique se présentant sous forme de grains (Chapitre IV), associées aux travaux biochimiques (RYLEY 1968) nous ont montré que le paraglycogène devait être considéré comme de l'amylopectine. Le problème qui nous intéresse maintenant est de connaître les voies de synthèse et de dégradation de cette réserve glucidique.

Chez les Protozoaires, la conversion entre les polysaccharides de réserve de type polysaccharides simples et le glucose phosphorylé (glucose-1-Phosphate) peut être envisagée selon deux voies, d'une part l'activité phosphorylasique et d'autre part l'activité glycogène synthétasique (UDPG-GT).

Nous avons abordé cette étude par la mise en évidence de l'activité phosphorylasique chez la Grégarine intestinale L. tuzetae (SCHREVEL et FOUQUET 1968). Nous reprendrons ces résultats en les étendant en partie à S. hollandei.

A - Matériel et méthodes

Des Nereis diversicolor et Sabellaria alveolata maintenues à jeun, à la température de 4° C ou 22° C pour les premières, à 4° C pour les secondes sont disséqués. Les tronçons intestinaux parasités sont congelés et coupés au cryostat. La phosphorylase (forme active et forme totale : active + inactive) a été mise en évidence selon la technique de GUHA et WEGMANN (1959) et la même adaptée pour l'autoradiographie (1966). L'incubation dans les deux cas a été de 30 minutes à 37° C.

Pour L. tuzetae, nous avons complété cette investigation cytochimique, par la méthode autoradiographique, en utilisant du glucose-1-phosphate ¹⁴C, Calbiochem (activité spécifique, 10,3 mC/mM). Les témoins sont incubés dans le milieu dépourvu de glucose-1-P ¹⁴C.

Les coupes ont été recouvertes avec l'émulsion K5 Ilford. Après une exposition de 4 à 11 jours, les lames révélées au D 19b Kodak sont colorées au rouge solide-picroindigocarmin. Une coloration au Lugol a également été réalisée.

B - Mise en évidence de la phosphorylase par le Lugol dilué chez S. hollandei et L. tuzetae

D'une façon très générale, les Grégarines montrent une réaction positive aussi bien dans le cas de la phosphorylase totale que dans le cas de la phosphorylase active. La coloration brune violette, parfois violette, semble s'étendre à tout le Selenidium sauf au niveau du noyau (Pl. LXXVII, fig. a), tandis que chez Lecudina tuzetae elle correspond à l'endoplasme du trophozoïte, délimité par l'aire de distribution du paraglycogène (Pl. LXXVII, fig. d b et c).

Elle contraste par son intensité (Pl. LXXVII, fig. e) avec celle plus ou moins franche que manifeste normalement le paraglycogène avec le lugol, sur les coupes témoins (Pl. LXXVII). Les muscles et la muqueuse intestinale de l'hôte ne présentent pas de coloration dans les séries témoins ; leur réaction positive dans les cas de phosphorylase totale et phosphorylase active constitue un procédé de contrôle efficace.

En raison de la variabilité de coloration par le Lugol, chez les Grégarines témoins, il nous a paru indispensable d'utiliser la méthode autoradiographique.

C - Démonstration de l'activité phosphorylasique chez L. tuzetae par voie autoradiographique

Les résultats obtenus après un temps d'exposition de 4 jours au moins, de 8 à 10 jours de préférence, confirment les résultats que la méthode cytochimique laissait entrevoir.

Les Lecudina libres ou intraépithéliales, incubées en présence de Glucose-1-Phosphate ^{14}C , montrent un marquage intense qui est localisé essentiellement à l'endoplasme (Pl. LXXVII, fig. e et f). Les témoins ne présentent aucune trace d'incorporation (Pl. LXXVII, fig. g).

On peut estimer que toutes les Grégarines sont marquées; il n'existe donc pas de différence, sur le plan qualitatif, entre les résultats obtenus avec la phosphorylase totale et la phosphorylase active.

Comme les résultats cytochimiques le montraient, il existe apparemment (Pl. LXXVII, fig. h, i et j), une différence de marquage selon la taille

des trophozoïtes. Les petits individus incorporent nettement plus que les grands. En raison de ce résultat, nous n'avons pas entrepris d'étude quantitative de la phosphorylase totale et de la phosphorylase active.

Entre les séries à 4 ° C et 22° C, il n'a pas été possible de distinguer, pour les mêmes raisons, une différence sensible d'incorporation.

D - Discussion

La présence de fluorure de sodium dans le milieu d'incubation inhibe l'action de la phosphoglucomutase (COWGILL et CORI 1955) et celle de l'enzyme inactivatrice (phosphorylase-phosphatase) de la phosphorylase (WOSILAIT et SUTHERLAND 1956 et KELIER et CORI 1955). Il semble donc raisonnable d'imputer l'incorporation de glucose-1-phosphate ¹⁴C à l'activité phosphorylasique de la Grégarine. Comme l'étude ultrastructurale l'a montré (Chapitre IV), l'endoplasme de L. tuzetae est constitué de grains de paraglycogène et de mucopolysaccharides, il paraît logique d'associer l'activité phosphorylasique à la synthèse in vitro de paraglycogène, aucune trace de glycogène ni sous la forme α ni sous la forme β , n'est observée dans l'endoplasme.

La mise en évidence de la phosphorylase a été faite chez divers Protozoaires : Polytomella coeca (BEBBINGTON et Coll. 1952), Isotricha et Dasytricha (MOULD et THOMAS 1958). De nombreuses observations sur les plantes et les animaux sont en faveur d'une action de la phosphorylase dans le sens de la dégradation du polysaccharide, toutefois l'intervention de la phosphorylase dans la synthèse in vivo du glycogène est néanmoins possible (voir GUHA 1962). Dans de nombreux cas, la synthèse polysaccharidique se fait par les réactions uridinediphosphoglucose (UDPG). La démonstration de l'utilisation de l'UDPG a été faite chez les Protozoaires par la mise en évidence de l'UDPG pyrophosphorylase chez Euglena gracilis (HURLBERT et RITTENBERG 1962).

Ainsi dans le cas des Grégarines, la conversion entre polysaccharide et glucose phosphorylé emprunte donc la voie de la phosphorylase. Il serait intéressant de vérifier la seconde voie synthétasique à partir de l'UDPG.

III - CONCLUSION

L'étude, d'une part de l'incorporation de précurseurs radioactifs des ribonucléines et des protéines, d'autre part de la localisation de l'activité phosphorylasique, permet de montrer la différence d'activité métabolique entre l'ectoplasme et l'endoplasme. Elle est en accord avec la différence d'organisation ultrastructurale observée aux chapitres III et IV. L'ectoplasme, riche en ergastoplasme et dictyosomes, montre une forte incorporation de Leucine ^3H et une faible activité phosphorylasique. L'endoplasme, abondamment pourvu en grains de paraglycogène, incorpore peu la Leucine ^3H , par contre l'activité phosphorylasique y est particulièrement intense.

CHAPITRE IX

MOUVEMENTS DES TROPHOZOITES : DIFFERENTS TYPES, ANALYSE DES MOUVEMENTS PENDULAIRES ET D'ENROULEMENT DES SELENIDIIDAE

Les Grégarines, parasites d'Annélides Polychètes présentent des mouvements que l'on peut répartir selon trois types essentiels :

- 1) Mouvements péristaltiques
- 2) Mouvements de glissement ou de translation
- 3) Mouvements pendulaires et d'enroulement

Certains genres, tel Gonospora, sont immobiles.

Nous allons résumer rapidement les trois types de mouvements et discuter le mécanisme des mouvements pendulaires et d'enroulement.

I - OBSERVATIONS

A - Mouvements péristaltiques

Urospora longissima, parasite de Dodecaceria caulleryi, fournit un magnifique exemple des mouvements péristaltiques.

Le trophozoïte est parcouru par des ondes puissantes que l'on peut observer, à la loupe binoculaire, à travers le tégument de l'Annélide.

Les ondes se propagent tout le long du parasite. Elles entraînent les organites cytoplasmiques et le noyau selon des mouvements de flux et de reflux. La rapidité des ondes est très variable.

Les mouvements péristaltiques sont actifs en Juillet-Août, période correspondant à la reproduction des Grégarines. En Novembre-Décembre, ils sont assez lents, on note d'ailleurs pendant cette période, la fixation de nombreuses cellules coelomiques sur la paroi de la Grégarine.

La plasticité du noyau est remarquable. Elle se manifeste par les déformations et les étranglements qu'il subit au cours du passage à travers les anneaux de constriction. Le caryosome sphérique possède une plasticité

comparable à celle du noyau et prend des formes d'haltère au niveau de l'étranglement.

B - Mouvements de glissement ou de translation

Les Grégarines de la famille des Lecudinidae sont fixées à l'épithélium intestinal pendant une longue période de leur cycle. Libérées, elles présentent un mouvement de glissement.

Ce glissement chez Lecudina tuzetae est soit régulier, soit entrecoupé de phases d'immobilité de courte durée (quelques secondes). La trajectoire de la Grégarine est rectiligne. Quand le trophozoïte vient buter contre un obstacle (bulle d'air, cale de vaseline de la préparation) la partie latérale de la région antérieure s'aplatit légèrement, la Grégarine modifie sa direction, et reprend son glissement rectiligne.

De temps en temps, la Grégarine s'arrête et la région antérieure se plie progressivement, bascule vers l'arrière, puis se détend pour reprendre sa position initiale.

La comparaison des mouvements de glissement de L. tuzetae avec de ceux des Grégarina polymorpha parasite du Tenebrio molitor montre que les périodes de repos sont plus longues chez les secondes. Les Lecudiniidae parasites d'Annélides Polychètes sont donc particulièrement favorables à l'étude de ce type de mouvement.

L'examen à l'immersion et en contraste de phase, montre que certains plis sont soumis à des ondulations (voir en particulier Lecudina pelmatomorpha) et d'autres au contraire sont pratiquement rectilignes.

C - Mouvements pendulaires et d'enroulement

Ce type de mouvement est celui des Grégarines intestinales du genre Selenidium.

Selenidium pendula, fixé par sa région antérieure à l'intestin, effectue rythmiquement des mouvements de balancier qui font basculer la région postérieure d'un côté puis de l'autre. Détachée de l'intestin, la région antérieure est entraînée également et nous pouvons observer différentes images en S, ou en arc. Ce type de mouvement est donc pendulaire.

Chez divers Selenidium (S. sabellariae, S. virgula), il existe des mouvements d'enroulement. La région postérieure se replie et l'extrémité caudale se place au niveau du noyau. Les régions moyennes et antérieures s'enroulent en direction de l'extrémité caudale qui devient le centre d'une hélice. Puis, le trophozoïte se déroule et le mécanisme recommence. Chez S. sabellariae, les mouvements sont très rapides et s'accompagnent de brusques et violentes détentes. Chez S. virgula au contraire, on assiste à des mouvements extrêmement lents.

D - Modifications du type de mouvement selon la période du cycle

Diplauxis hatti Viv. Tuz. Orm. montre au début de sa croissance, des mouvements pendulaires tandis qu'à l'approche de la gamétogenèse, les mouvements sont de type péristaltique.

II - DISCUSSION

Les mouvements de glissement ayant fait l'objet d'une étude récente chez L. pellucida (VIVIER 1968), nous aborderons uniquement le mécanisme des mouvements pendulaires et d'enroulement.

A - Recherche du mécanisme des mouvements des Selenidiidae

Nous avons décrit chez les Selenidiidae (Chapitre III) un système fibrillaire organisé sous la paroi : chaque fibre tubulaire est entourée d'une zone claire limitée par un réseau hexagonal sombre. Comme il s'agit du seul système fibrillaire développé, il faut envisager son rôle dans les mouvements pendulaires et d'enroulement.

1 - Rôle du système fibrillaire sous-cuticulaire chez les Selenidiidae

Il semble exister une relation entre le nombre de fibres tubulaires et l'activité de la Grégarine. Le nombre de fibres tubulaires est plus important chez les espèces actives que chez les espèces à mouvements lents.

On peut donc avoir l'éventualité suivante :

- Le système fibrillaire sous-cuticulaire est responsable des mouvements. Selon cette hypothèse, plus la Grégarine est active, plus son système fibrillaire est développé. La microcinématographie permet de suivre au cours des mouvements, la progression d'ondes au niveau des bandes longitudinales correspondant aux systèmes fibrillaires sous-cuticulaires ; ce qui montre la souplesse des fibres tubulaires. Au cours des mouvements, il ne semble pas exister de raccourcissement très important de la Grégarine : le système fibrillaire aurait un rôle plutôt élastique que contractile.

- Le système fibrillaire sous-cuticulaire à un rôle de soutien.

Dans cette hypothèse, le système fibrillaire sous-cuticulaire n'a pas un rôle actif dans les mouvements, mais assure un rôle de soutien ou de protection. Il correspondrait à une sorte de "cytosquelette". La relation entre le nombre de fibres et l'activité s'expliquerait aussi facilement que dans le cas précédent : plus les mouvements sont vifs, plus le système de soutien doit être développé.

Concernant ces hypothèses, il faut se rappeler que la zone cytoplasmique claire, limitée par un réseau hexagonal autour de chaque fibre tubulaire, est peut être un indice important pour connaître la signification de ce système fibrillaire.

2 - Le problème énergétique

L'étude comparée des Selenidiidae permet de faire ressortir une différence importante dans la répartition du réseau mitochondrial (Chapitre IV).

La présence d'un réseau mitochondrial développé sous les systèmes fibrillaires sous-cuticulaires de S. pendula et surtout S. hollandei, vient appuyer l'hypothèse de la participation du réseau fibrillaire périphérique dans les mouvements pendulaires et d'enroulement. Les mitochondries, libérant l'énergie nécessaire aux mouvements, sont placées à proximité des systèmes fibrillaires.

Par contre dans le cas des Selenidiidae de Cirratulidae, le faible développement mitochondrial suggère l'hypothèse que l'énergie provient d'un système basé sur la fermentation des réserves de paraglycogène. Ce système expliquerait la plus faible activité des Selenidiidae de Cirratulidae.

B - Comparaison avec les systèmes fibrillaires sous-cuticulaires des autres Protozoaires

La comparaison de nos résultats ne peut être faite avec les Ciliés qui présentent de nombreux systèmes fibrillaires. Par contre, elle devient très intéressante avec les Flagellés. MIGNOT (1966) décrit, sous la cuticule des Euglénomonadines, des fibres tubulaires et des fibres transverses avec des vésicules. Cet auteur montre que le nombre de tubules n'est pas fonction de la métabolie. Les espèces très métaboliques possèdent peu de fibres tubulaires sous cuticulaires, par contre les espèces qui ne se déforment pas en possèdent beaucoup.

Pour cet auteur, les fibres sous-cuticulaires des Euglénomonadines, auraient un rôle de soutien et les fibres transverses correspondraient aux véritables myonèmes.

Dans notre cas, les résultats semblent montrer une relation entre l'importance des mouvements pendulaires et d'enroulement et le développement des systèmes fibrillaires et mitochondrial. Il est donc nécessaire d'effectuer des recherches supplémentaires pour connaître la signification de ces systèmes fibrillaires sous-cuticulaires.

III - CONCLUSION

Les mouvements pendulaires et d'enroulement montrent la complexité de l'analyse du mécanisme. Si le développement du système fibrillaire et du réseau mitochondrial en fonction de la puissance et de l'activité des Grégarines, obligent à penser à leur intervention active dans les mouvements, on ne peut rejeter un rôle de soutien des fibres sous-cuticulaires. En dehors du fait que la souplesse des fibres tubulaires est indiscutable, le rôle de contraction ou d'élasticité n'est pas établi.

La comparaison avec les Euglénomonadines montre que nos résultats diffèrent quant à la relation entre l'activité et le nombre de fibres.

Les techniques classiques d'observation ultrastructurale ne permettent pas de dégager avec certitude le rôle des microtubules des Selenidiidae.

Il nous paraît nécessaire de préciser dans les investigations futures, la nature cytochimique des fibres par des traitements enzymatiques, par l'action de la température et des composés chimiques tels que la colchicine, comme l'ont fait ANDERSON et ANDRE (1968), BENHKE et FEHRER (1967) sur diverses fibres tubulaires d'Invertébrés ; à ces techniques portant essentiellement sur la nature des fibres, il convient d'associer les techniques de pharmacodynamie ou d'enzymologie ultrastructurales susceptibles d'éclairer les mécanismes des mouvements pendulaires.

L'existence d'un seul système fibrillaire nettement défini chez les Selenidiidae fait ressortir les perspectives intéressantes qu'offrent ces différentes techniques.

CHAPITRE X

LE PROBLEME DE LA SCHIZOGONIE CHEZ LES SELENIDIIDAE

La reproduction asexuée ou schizogonie sert de caractère de base pour la classification des Grégarines. Les Grégarines de la famille des Selenidiidae présentent des stades qui ont été interprétés comme ceux d'une schizogonie (CAULLERY et MESNIL 1901, BRASIL 1907, LEGER et DUBOSCQ 1917, RAY 1930 a).

Tous les travaux relatifs à la schizogonie chez les Grégarines parasites d'Annélides Polychètes sont basés sur la description de barillets de 7 à 8 μ composés d'une dizaine, au moins, de schizozoïtes.

Pendant longtemps, nous n'avons pas eu d'arguments suffisamment solides pour admettre la schizogonie dans les cas signalés précédemment, jusqu'au jour où nous avons rencontré régulièrement et abondamment les "kystes à mérozoïtes" dans l'intestin de Sabellaria alveolata. Ces kystes, signalés par DEHORNE (1930 et 1931) chez Sabellaria spinulosa, ne représentaient pas pour cet auteur un Sporozoaire en état de schizogonie mais "des expansions à un ou plusieurs noyaux du plasmode installé à la base de l'épithélium". Dans un travail préliminaire (SCHREVEL 1968 b) nous avons démontré que ces kystes représentaient un stade d'évolution d'un Sporozoaire, probablement celui du Selenidium hollandei. Nous avons précisé par ailleurs l'existence d'un pore d'excrétion au pôle postérieur des mérozoïtes. Nous allons compléter nos observations sur ces kystes et discuter leur signification par rapport à la schizogonie.

I - "KYSTES A MEROZOITES" RENCONTRES DANS L'INTESTIN POSTERIEUR DE SABELLARIA ALVEOLATA

A - Description en microscopie optique

L'intestin postérieur de Sabellaria alveolata présente fréquemment au niveau du sinus sanguin compris entre l'épithélium et la basale (Pl. LXXVIII, fig. a) d'importantes masses ovales. Ces masses atteignant 60 à 70 μ de long

sur 25 μ de large, correspondent aux kystes à mérozoïtes de DEHORNE (1930, 1931). Elles contiennent au moins une soixantaine d'éléments uninucléés qui présentent, surtout dans la région postérieure, une réaction positive après la coloration P.A.S. (Pl. LXXVIII, fig. b).

Les différentes techniques cytochimiques (tableau 15) permettent d'identifier cette substance au paraglycogène.

Conditions	Coloration normale		α amylase	β amylase
	1 % H ₂ O, 1 H, 37° C	1 % H ₂ O, 1 H, 37° C	1 % H ₂ O, 1 H, 37° C	H ₂ O, 1 H, 37° C
BAUER	+	-	+	+
PAS dimédon	+	-	+	+

Tableau 15 - Etude cytochimique du paraglycogène des mérozoïtes de S. hollandei.

En écrasant l'extrémité caudale de Sabellaria alveolata, il est fréquent de libérer de nombreux éléments uninucléés qui correspondent à des mérozoïtes. Un certain nombre de faits penche en faveur de schizozoïtes : ils ne sont entourés par aucune coque. Ils sont plus petits que les sporozoïtes : ils mesurent généralement 6,3 μ de long sur 3,6 μ de large. Les sporozoïtes atteignent souvent 12 μ de long sur 4 à 5 μ de large.

L'examen de nombreuses coupes de Sabellaria alveolata suggère l'existence de stades plurinucléés comparables à certains stades décrits par BRASIL (1907). De nombreux mérozoïtes montrent en avant du noyau un grain chromatique fortement coloré par le glychemalun de MEYER, identique à celui signalé par BRASIL (1907) chez S. caulleryi.

B - Observations ultrastructurales

Sur une vue d'ensemble (Pl. LXXIX), on peut distinguer au moins dix mérozoïtes libres dans un kyste intraépithélial de l'intestin de Sabellaria

alveolata. Une membrane plus ou moins plissée sépare le kyste de l'intestin. Ce dernier présente une zone très vacuolaire au contact du kyste. Nous allons décrire les différents constituants des mérozoïtes.

1 - Paroi et fibres sous-cuticulaires

La paroi du mérozoïte est composée par trois membranes de type unitaire (Pl. LXXXVIII, fig. b) comme celle du trophozoïte (chapitre III). Notons toutefois que les membranes internes sont souvent accolées et il est difficile de distinguer nettement les 3 membranes.

Sous la paroi à environ 100 Å, existent des fibres tubulaires (Pl. LXXX, fig. a et b). Elles ont 300 Å de diamètre. L'espace entre deux fibres varie de 0,2 µ à 0,45 µ. Nous n'avons pas obtenu de coupe rigoureusement transversale permettant de déterminer le nombre de fibres. En supposant que ces dernières soient réparties régulièrement, on devrait obtenir une vingtaine de fibres au maximum.

2 - Conoïde

Le conoïde est une formation caractéristique de la région antérieure de nombreux mérozoïtes (Chapitre VI). Il a la forme d'un tronc de cône dont le diamètre apical serait de 200µ, le diamètre basal de 290µ (Pl. LXXXI, fig. b), la hauteur de 100 à 130µ. La paroi fortement osmiophile mesure 280 Å. A l'intérieur de ce conoïde pénètrent des corps denses antérieurs que l'on peut distinguer sur les coupes transversales (Pl. LXXXI, fig. a).

3 - Les organites caractéristiques des mérozoïtes

Entre le conoïde et le noyau, nous trouvons différentes sections d'organites osmiophiles que l'on peut diviser d'après leur morphologie en trois catégories.

a) Corps denses antérieurs (= Toxonèmes, rhoptries, paired organelles)

Ce sont des formations allongées au nombre de trois au



moins, ce qui rend impropre le terme de paired organelles. Elles présentent une région dilatée de 250 à 340 μ d'épaisseur et un pédoncule plus mince qui se dirige vers la région antérieure (Pl. LXXXI, fig. c). Sur certaines images, on peut estimer à 4 μ au moins la longueur de ces corps.

b) Corps claviformes

Ce sont des organites de section ovale, denses, plus petits que les précédents (0,16 à 0,20 μ de long sur 0,10 μ de large). Leur nombre est très important et ils ont fréquemment une disposition rayonnée rappelant des formations pétaloïdes (Pl. LXXXI, fig. d).

c) Le cristalloïde

Il s'agit d'une plage hexagonale ou rectangulaire, constituée d'éléments osmiophiles ayant une forme subsphérique de 350 à 450 Å de diamètre, disposés régulièrement selon des bandes (Pl. LXXX, fig. c). Cet arrangement rappelle une disposition cristalline ou paracristalline. Les dimensions de ces plages sont variables et vont de 0,4 μ sur 0,56 μ jusqu'à 0,8 μ sur 0,73 μ (Pl. LXXI, fig. d).

Les éléments constitutifs de ces formations rappellent les corps claviformes précédents. Ce cristalloïde est toujours placé entre le noyau et l'apex du mérozoïte.

4 - Les mitochondries - "Le sac body".

L'ultrastructure rappelle celle décrite chez les trophozoïtes de S. hollandei (Chapitre IV) toutefois, il faut remarquer que le nombre de vésicules ampoulées issues de la membrane interne est nettement plus important (Pl. LXXXII, fig. b). Les mitochondries, en nombre limité, sont généralement de grande taille (0,8 μ de long au moins).

En contact plus ou moins étroit, avec le pôle antérieur du noyau (celui disposé en direction du conoïde) nous avons une ou plusieurs mitochondries arrondies et une formation qui a reçu le nom de "sac body" (Pl. LXXXII, fig. a). Il s'agit d'une grande vésicule, souvent allongée et aplatie, atteignant 0,8 à 0,9 μ , limitée par plusieurs membranes. Certaines images

montrent des vésicules de la membrane interne rappelant celle des mitochondries (Pl. LXXXII, fig. d).

Entre la paroi nucléaire et ce corps, nous observons souvent une masse osmiophile de $0,3 \mu$ sur $0,15 \mu$ présentant le même aspect que la chromatine nucléaire (Pl. LXXXII, fig. c). Ce corps n'a pas reçu d'interprétation (SHEFFIELD 1966). Nos photographies peuvent suggérer un rapport avec les mitochondries et le noyau. Il est vraisemblable que ce corps correspond au grain chromatique observé en microscopie optique.

5 - L'ergastoplasme - Les enclaves de réserve

Les ribosomes sont abondants. L'ergastoplasme constitue de larges canaux de 500 à 600 \AA de diamètre (Pl. LXXXIII, fig. a et b). Par contre, les dictyosomes sont très rares.

Parmi les enclaves, nous distinguons des grains de paraglycogène (Pl. LXXX, fig. a) dont le nombre est variable. La présence d'enclaves lipidiques est plus délicate à préciser car les sections opaques des corps denses antérieurs et des corps claviformes ne permettent pas une distinction valable.

6 - Les vacuoles résiduelles et l'élimination des déchets

Entre les mérozoïtes existent des masses cytoplasmiques plus ou moins ovoïdes de $600 \text{ m}\mu$ sur $500 \text{ m}\mu$, pouvant atteindre 1μ environ (Pl. LXXVIII fig. d) et limitées par une membrane de type unitaire. Elles sont riches en ribosomes, ergastoplasme et vacuoles à sphérules plus ou moins denses.

On peut établir une relation entre ces masses et les hernies cytoplasmiques observées au pôle postérieur du mérozoïte.

Du côté opposé au conoïde (Pl. LXXVIII fig. c), il est fréquent d'observer différents types de proéminences ou d'évaginations cytoplasmiques plus ou moins accentuées. Toutes les hernies cytoplasmiques sont limitées par la membrane externe de la paroi tandis que les systèmes membranaires internes s'interrompent sur une distance moyenne de $200 \text{ m}\mu$ à $300 \text{ m}\mu$ (Pl. LXXXIII). D'après l'examen de nombreux clichés, l'orifice délimité par

les feuillettes internes de la paroi, devrait être circulaire. A l'intérieur de la hernie, nous avons tous les éléments rencontrés dans les masses cytoplasmiques résiduelles situées entre les mérozoïtes, en particulier les vacuoles à sphérules plus ou moins opaques. A la base, nous avons souvent de longues lames ergastoplasmiques (Pl. LXXXIII, fig. a et b). Comme de nombreuses images le suggèrent (Pl. LXXXIII, fig. c et d), il semble raisonnable d'interpréter les masses cytoplasmiques résiduelles situées entre les mérozoïtes comme le résultat du détachement des hernies cytoplasmiques observées au pôle postérieur du mérozoïte, et de considérer comme une zone d'excrétion ou d'élimination, le pore délimité par les feuillettes internes de la paroi.

7 - Le noyau

Pour la description du noyau de ces mérozoïtes, nous renvoyons le lecteur au chapitre V.

II - CAS DES MEROZOITES ISOLES

Dans quelques cas, nous avons trouvé des mérozoïtes libres dans l'épithélium intestinal. La cellule attaquée présente une zone vacuolaire autour du parasite mais aucune coque kystique n'est observée.

III - DISCUSSION

La schizogonie chez les Selenidiidae a été envisagée la première fois chez le "Selenidium à un seul myonème de Scolecopsis fuliginosa par CAULLERY et MESNIL (1901). Dans un travail très minutieux, BRASIL (1907) décrit chez S. caulleryi parasite de Protula tubularia, la croissance d'un sporozoïte en une masse uninucléée intraépithéliale qui donne naissance par multiplication schizogonique, à de très nombreux mérozoïtes. LEGER et DUBOSCQ (1917) envisagent un processus analogue pour le Selenidium metchnikovi parasite de Glossobalanus minutus. Les observations de RAY (1930a) sur la schizogonie de Selenidium, n'apportent pas de renseignements complémentaires aux résultats de BRASIL (1907).

La découverte en grande abondance des kystes à mérozoïtes dans l'épithélium intestinal de Sabellaria alveolata, l'intensité des infestations par S. hollandei, obligent à envisager l'existence d'une schizogonie.

Il existe un certain nombre d'arguments en faveur de la schizogonie

1 - Sabellaria alveolata est toujours et intensément parasité par S. hollandei. Nous n'avons jamais observé de Coccidies, donc il est raisonnable de relier les kystes à mérozoïtes aux S. hollandei.

2 - La localisation des kystes au niveau du sinus sanguin entre la basale et les noyaux des cellules épithéliales ne peut s'expliquer facilement qu'en admettant une multiplication schizogonique. En effet dans le cas où le kyste résulterait d'une évolution sexuée, il faudrait qu'il soit absorbé par l'épithélium intestinal.

L'existence d'une reproduction schizogonique chez les Selenidiidae ne pourra être résolue que par l'expérimentation : la culture in vitro constitue l'une des techniques les plus indiquées pour la démonstration de ce phénomène.

IV - CONCLUSION

Les excellentes études histologiques de BRASIL (1907), LEGER et DUBOSCQ (1917), nos résultats concernant S. hollandei sont très favorables à la thèse d'une multiplication schizogonique chez les Selenidiidae mais ne constituent pas pour autant des preuves. La classification des Selenidiidae dans l'ordre soit des Schizogrégarines (LEGER 1907), soit des Archigrégari-nes (GRASSE 1953) basée sur la schizogonie ne peut être retenue pour l'instant et sera discutée au terme de ce travail.

CHAPITRE XI

FACTEURS CONTROLANT LA REPRODUCTION DES GREGARINES PARASITES D'ANNELIDES POLYCHETES

Le cycle biologique des Grégarines coelomiques d'Annélides Polychètes est souvent parallèle à celui de la maturation génitale des hôtes. De telles corrélations ont été signalées pour Urospora longissima, parasite de Dodecaceria caulleryi, (CAULLERY et MESNIL 1898) Gonospora varia, parasite d'Audouinia tentaculata, (BRASIL 1905 ; HENTSCHEL 1926), Gonospora (Kalpidorhynchus) arenicolae, parasite d'Arenicola ecaudata (CUNNINGHAM 1907 ; HENTSCHEL 1930). Une démonstration expérimentale a pu être faite pour Diplauxis hatti Viv. Tuz. Orm. parasite de Perinereis cultrifera (DURCHON et VIVIER 1961, 1964) et a permis de montrer le contrôle du complexe cérébral de l'hôte sur la gamogonie de la Grégarine. Comme l'a démontré DURCHON (1952, 1957), le déclenchement expérimental de la maturation génitale peut être provoqué chez les Nereidae par l'ablation du prostomium, chez les Syllidae, par l'ablation du proventricule. Chez les autres Annélides Polychètes, le mécanisme de maturation génitale est mal connu, aussi est-il délicat d'entreprendre une étude expérimentale sur le déterminisme de l'enkystement des autres Grégarines coelomiques. Nous allons toutefois rappeler le cas d'Urospora longissima car son hôte, Dodecaceria caulleryi présente une épitoquie (CAULLERY et MESNIL 1898) et une multiplication asexuée appelée schizométabolie (DEHORNE 1933).

Le problème de la corrélation éventuelle entre le cycle des Grégarines intestinales et celui de leur hôte est plus complexe. Dans un travail récent (SCHREVEL, OGER, WISSOCQ 1968) nous avons abordé l'étude des facteurs influençant le cycle des Grégarines intestinales de Syllis amica. Nous résumerons les principales conclusions de ce travail puis nous étudierons les facteurs contrôlant l'enkystement de Lecudina tuzetae, parasite de Nereis diversicolor.

I - CORRELATION ENTRE LE CYCLE D'UROSPORA LONGISSIMA ET CELUI DE SON HÔTE,
DODECACERIA CAULLERYI

Nous savons depuis CAULLERY et MESNIL (1898) qu'Urospora longissima se reproduit quand l'hôte devient épitoque. Nous avons pu vérifier à diverses reprises (Août, Septembre 1963, Août 1964, Juillet 1966) l'exactitude de ce fait sur des individus récoltés soit au Fort de l'Heurt (Portel) soit au Cap Gris-Nez.

La schizométabolie ne provoque aucune réaction d'enkystement. Pour DEHORNE (1933) les schizozoïtes ne contiennent pas de Grégarines. Cette dernière affirmation semble excessive car les observations de MARCEL (Communication personnelle) et les nôtres nous ont montré, souvent, la présence de grosses Urospora dans les jeunes schizozoïtes.

II - ETUDE DES FACTEURS D'ENKYSTEMENT CHEZ LES GREGARINES INTESTINALES

L'étude expérimentale d'une corrélation entre le cycle du parasite et celui de l'hôte exige deux conditions, d'une part la sexualisation de l'Annélide doit pouvoir être provoquée expérimentalement, d'autre part le taux et le degré d'infestation doivent être relativement élevés. Syllis amica et Nereis diversicolor répondent à ces deux conditions.

Très vite les premières recherches ont fait apparaître deux difficultés :

1°) Alors que Diplauxis hattii effectue son cycle en plusieurs semaines dans le coelome de Ferineris cultrifera et qu'il est possible de suivre régulièrement cette évolution par ponction coelomique, chez les Annélides étudiées, les kystes ^{intestinaux} sont rejetés avec les excréments dans les quelques heures qui suivent la syzygie.

2°) A cause de la variabilité du taux d'infestation des vers, la répartition au hasard est insuffisante pour homogénéiser correctement les séries expérimentales.

Ces difficultés nous ont obligé à rechercher des solutions expérimentales et statistiques dans l'étude sur S. amica et à considérer certains facteurs susceptibles, dans la nature, de contrôler l'enkystement des L. tuzetae parasites de N. diversicolor. Nous examinerons successivement les deux problèmes.

A - Rappel des résultats sur les Grégarines intestinales de Syllis amica.*

1. Position du problème

Dans l'étude quantitative de la production des kystes des Grégarines intestinales de S. amica en fonction de la température et de l'activité sexuelle de l'hôte, nous avons considéré deux paramètres :

- Le paramètre TS caractérisant la sexualisation du ver, indique le temps nécessaire au ver pour présenter les premiers signes de sexualisation.

- Le paramètre caractérisant le cycle du parasite, peut se traduire soit par le nombre total de kystes (méthode d'ajustement) soit par le rapport $\frac{ki}{K}$ (nombre de kystes fournis pendant une période donnée, k_i , sur le nombre total de kystes éliminés, K) mesurant la vitesse d'élimination des kystes. Nous avons utilisé dans ce dernier cas, le TK 50, temps nécessaire au ver pour produire la moitié de ses kystes.

Les S. amica ont été soumis à trois traitements au sens statistique :

- 2 traitements contrôlés (opération et température)
- 1 traitement aléatoire : sexualisation ou immaturité.

2. Résultats

a) Méthode d'ajustement :

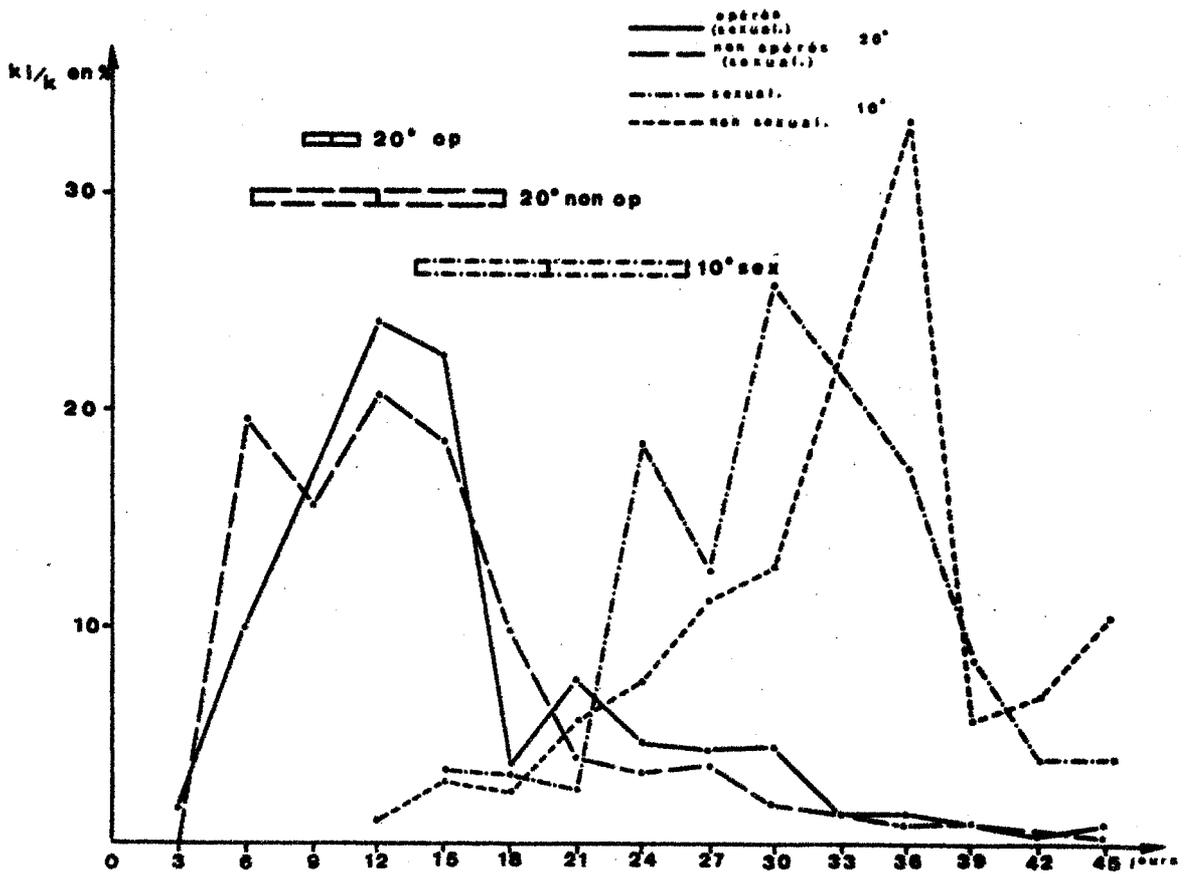
La méthode d'ajustement permet de montrer qu'il n'y a pas de différence entre les 4 séries-20°C opérés et non opérés, 10°C sexués et non sexués- quant au nombre de kystes produits : chaque ver a son stock potentiel de kystes (il s'agit d'Eugrégarines : pas de schizogonie).

b) Vitesse d'élimination des kystes :

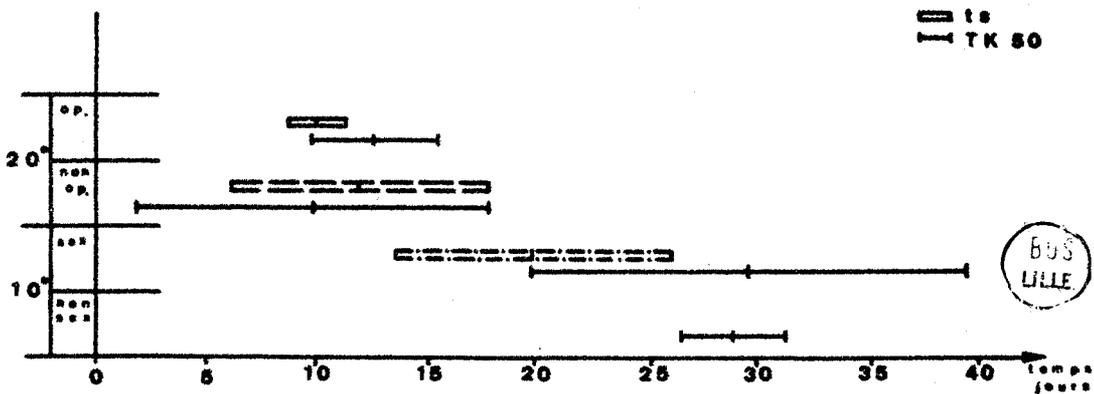
Le graphique (1) montre que la vitesse d'élimination est rapide et brutale à 20°C, lente et progressive à 10°C. Le TK 50 à 10°C est trois fois plus grand qu'à 20°C.

c) Comparaison des indices: TS et TK 50 moyens sont indiqués pour chaque série avec leur intervalle de confiance à 95 % (graphique 2).

* Pour le détail de cette étude, nous renvoyons le lecteur à l'article original (SCHREVEL, OGER et WISSOCQ 1968).



GRAPHIQUE n° 1 — Production des kystes dans le temps et temps de sexualisation (Ts et intervalle de confiance à 95%).



GRAPHIQUE n° 2 — Valeur moyenne et intervalle de confiance à 95% pour le temps de sexualisation t_s et le TK 50 dans les quatre séries expérimentales.

Parallèlement une analyse de variance a été effectuée. Ces résultats montrent qu'il existe :

- Une différence significative entre les séries 20°C et 10°C pour TS et TK 50.

- Pas de différence :

- 1) à 20°C entre opérés et non opérés pour Ts et TK 50 (la température de 20°C ne permet pas de différencier les deux phénomènes : sexualisation expérimentale et sexualisation naturelle.
- 2) à 10°C entre sexualisés et non sexualisés quant à la vitesse d'élimination des kystes. Ceci semblerait indiquer que la sexualisation des vers n'a pas d'effet sur la gamétogenèse du parasite.

Les deux phénomènes, sexualisation du ver et gamétogenèse chez le parasite semblent être parallèles mais indépendants : si on étudie la relation entre TS et TK 50 pour chaque ver, on ne met pas en évidence de liaison significative.

B - Etude de certains facteurs intervenant dans l'enkystement de *L. tuzetae*, parasite de *N. diversicolor*.

Dans ce chapitre, nous envisagerons les facteurs âge, maturation génitale, saison, température, susceptibles d'intervenir dans l'enkystement de *L. tuzetae* parasite de *N. diversicolor*. Ces différents facteurs ont, dans un premier temps, été analysés à partir d'échantillons de *N. diversicolor* récoltés dans le Boulonnais à diverses périodes, puis grâce à ces conclusions nous avons abordé une étude expérimentale du facteur température et de quelques aspects du facteur endocrine (ablation du prostomium).

L'âge des Nereidae peut se définir à partir de l'estimation du degré de maturation des produits génitaux (HERPIN 1925, DURCHON 1952), déterminé dans le cas des femelles par la taille des ovocytes. Par ailleurs, nous savons que la sex-ratio de *N. diversicolor* est de 1 mâle pour 7 femelles environ (HERPIN, 1925). Il est donc possible d'envisager la production des kystes de *L. tuzetae* en fonction de la taille ovocytaire principalement et de considérer par ailleurs les fluctuations du parasitisme par rapport à la maturité du ver.

1. Etude du parasitisme et de l'enkystement de L. tuzetae à partir de plusieurs populations de N. diversicolor.

a) Conditions d'étude

Nous avons étudié trois échantillons de N. diversicolor.

1er échantillon : 140 N. diversicolor récoltées en Septembre 1964 dans le Petit-Port de Boulogne.

2ème échantillon : 199 N. diversicolor, récoltées en Février 1965 dans le Petit-Port de Boulogne.

3ème échantillon : 110 N. diversicolor récoltées en Septembre 1966 dans un milieu saumâtre (embouchure de la Slack).

La température de l'eau de mer était respectivement de 18°C environ pour les récoltes de Septembre, de 4°C environ pour la récolte de Février.

Après la récolte, les vers sont isolés en boîte de Pétri, maintenus à la température du laboratoire et le décompte des kystes est effectué tous les trois jours pendant une période de 9 jours environ, 15 jours au maximum. Après chaque observation, le ver est placé dans une nouvelle boîte de Pétri.

Afin de connaître le parasitisme et l'enkystement de ces 3 échantillons, à leur époque de récolte, il importe de ne pas prolonger la période d'observation, sinon d'autres facteurs tels que la température, le jeûne, pourraient modifier considérablement la production des kystes.

b) Etude du parasitisme et de l'enkystement en fonction de l'état génital

α) Comparaison du taux de parasitisme chez les vers sexués et asexués.

La question est de savoir s'il existe une différence entre le nombre de vers parasités parmi les Annélides sexuées et asexuées.

VERS	non parasités	parasités	TOTAL
asexués	4 (1,85)	47 (49,15)	51
sexués	0 (2,15)	59 (56,85)	59
TOTAL	4	106	110

Tableau 16 : Nombre de N. diversicolor parasitées chez les asexués et les sexués (Septembre 1966)

Deux des effectifs théoriques étant inférieurs à 5 (tableau 16), nous utiliserons le X^2 selon Yates ce qui nous donne un X^2_c calculé, $X^2_c = 3,78$. Le X^2_c est inférieur au $X^2_{0,05}$ 1 d.d.l. (3,84) lu dans la table : la différence entre les deux groupes est non significative. Il n'y a donc pas de différence entre les taux de parasitisme. Ce résultat est logique car l'étude du taux d'infestation de N. diversicolor par L. tuzetae est de 97,2 % \pm 2 % (Chapitre XIII).

β) Relation entre la sexualité et la présence de kystes.

Le tableau 17 fait apparaître deux comparaisons non significatives et une comparaison significative.

Dans les échantillons de Septembre 1964 et Février 1965, les X^2 calculés sont inférieurs au $X^2_{(0,05)}$ à 1 degré de liberté lu dans la table : il n'y a pas de différence significative entre les vers donnant des kystes dans les classes asexuée et sexuée. Par contre, en Septembre 1966, il existe une différence hautement significative entre le nombre de vers donnant des kystes chez les asexués et sexués.

γ) Comparaison entre le nombre de kystes produits chez les vers asexués et sexués.

Le tableau 18 montre deux comparaisons **significatives** (Septembre 1964 et Février 1965), une comparaison ^{non} significative (Septembre 1966). Dans les deux premiers cas, les vers sexués produisent plus de kystes que les asexués. En Septembre 1966, au contraire, nous n'avons pas mis en évidence une différence entre les nombres de kystes éliminés par les vers asexués et sexués.

Vers	Septembre 1964		Septembre 1966		Février 1965	
	avec kystes	sans kystes	avec kystes	sans kystes	avec kystes	sans kystes
Asexués	29	3	22	25	16	44
Sexués	90	18	52	7	48	91
χ^2	$\chi^2_c = 0,47$	N.S.	$\chi^2_c = 21,03^{**}$	H.T.	$\chi^2_c = 1,08$	N.S.

Tableau 17 : Nombre de N. diversicolor ayant donné des kystes chez les asexués et sexués, à diverses périodes. Populations de N. diversicolor récoltées dans le Boulonnais.

Période	Septembre 1964		Septembre 1966		Février 1965	
	asexué	sexué	asexué	sexué	asexué	sexué
Etat génital						
Nombre de vers	29	89	22	52	16	48
Nombre de kystes	1196	4995	532	1240	127	604
χ^2	$\chi^2_c = 91,128^{**}$	H.T.	$\chi^2_c = 0,07$	N.S.	$\chi^2_c = 22,37^{**}$	H.T.
	$\chi^2_{0,05(1)} = 3,84$					

Tableau 18 : Nombre de kystes produits par les vers asexués et sexués à diverses périodes. Populations de N. diversicolor récoltées dans le Boulonnais.



c) Etude de la production des kystes en fonction de l'âge des Annélides femelles estimé par la valeur du diamètre ovocytaire

α) Etude graphique.

L'état génital des N. diversicolor, déterminé par examen du liquide de ponction coelomique, a été établi pour chaque individu femelle, par la moyenne de 30 mesures d'ovocytes en Septembre 1966 et de 10 mesures environ en Septembre 1964 et Février 1965. A partir de ces mesures, nous avons établi l'histogramme des Annélides par classe ovocytaire pendant les 3 périodes (graphiques 3, 4, 5). On remarquera que les diamètres ovocytaires sont inférieurs à 140 μ en Septembre sauf pour quelques femelles matures (2 sur 140 vers en Septembre 1964), par contre en Février, il existe de nombreuses femelles dont le diamètre ovocytaire est compris entre 90 μ et 200 μ . La surface hachurée des histogrammes représente par classe ovocytaire, les Annélides qui ont fourni des kystes. Sur les graphiques 6, 7, 8, nous avons indiqué le nombre de kystes de chaque Annélide en fonction de sa taille ovocytaire.

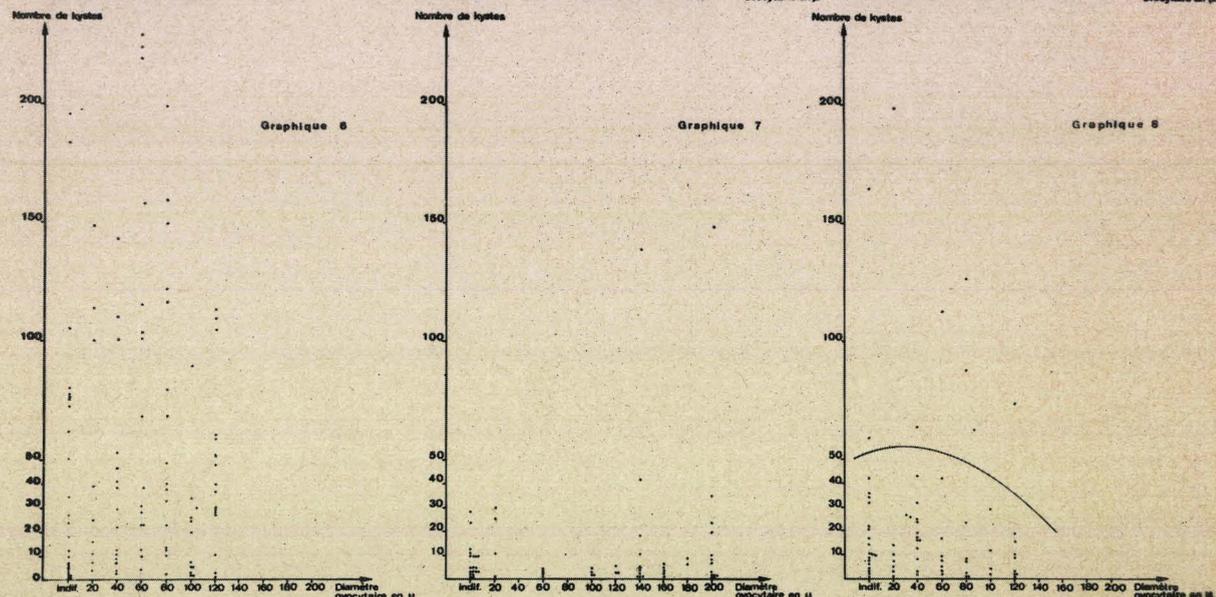
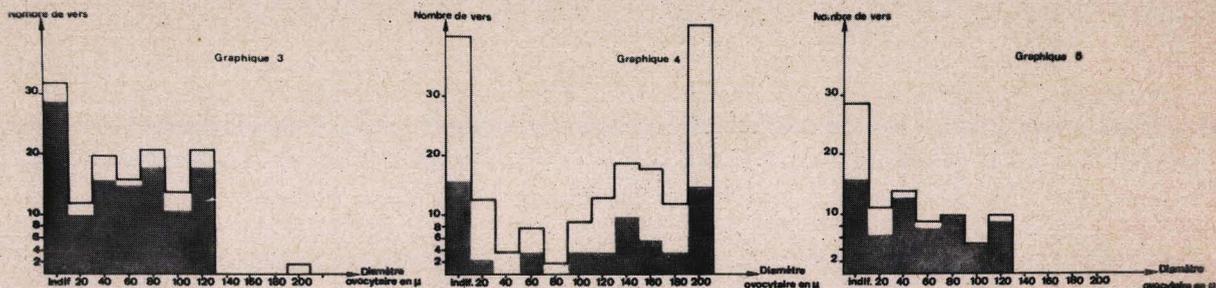
La très grande dispersion des valeurs explique la variabilité des intervalles de confiance à 95 % du nombre moyen de kystes établi sur l'échantillon de Septembre 1966 (Graphique 9).

Pour préciser l'hétérogénéité des vers quant à la production des kystes, nous avons fait une analyse de variance.

β) Analyse de la variance.

Nous avons effectué cette analyse sur le 3ème échantillon, celui de Septembre 1966, où le diamètre ovocytaire de chaque Annélide avait été déterminé à partir de la moyenne de 30 mesures. Pour rendre l'analyse de la variance plus efficace, nous avons effectué une transformation racine carrée (voir LISON, 1958) : les calculs sont faits sur la racine carrée du nombre de kystes et non sur le nombre de kystes lui-même. Par ailleurs, nous avons écarté certaines valeurs très fortes et n'avons considéré que le lot situé au-dessus de la courbe A, constituant un ensemble assez homogène.

L'analyse de la variance est non significative (Tab. 19 et Tab. 19bis) la différence entre les moyennes du nombre de kystes émis dans les six classes ovocytaires est non significative. Le choix de la courbe A n'offre aucune critique puisque l'analyse de variance est non significative ; en tenant compte des valeurs extrêmes, nous aurions le même résultat.



Graphiques 3, 4, 5 : Distribution des tailles ovocytaires des *N. diversicolor*

Graphiques 6, 7, 8 : Répartition du nombre de kystes de *L. tuzetiae* émis par chaque *N. diversicolor* en fonction du diamètre ovocytaire

Graphiques 3 et 6 : Septembre 1964 ; Graphiques 4 et 7 : Février 1965 ; Graphiques 5 et 8 : Septembre 1968



Classes	20 μ		40 μ		60 μ		80 μ		100 μ		120 μ	
	N	VN	N	VN	N	VN	N	VN	N	VN	N	VN
Nombre de kystes N et leur transférence en racine	2	1,41	2	1,73	3	1,73	2	1,41	1	1,00	2	1,41
	4	2,00	4	2,00	3	1,73	2	1,41	1	1,00	3	1,73
	6	2,44	9	3,00	7	2,64	3	1,73	5	2,25	3	1,73
	8	2,82	14	3,74	8	2,82	8	2,82	13	3,60	4	2,00
	11	3,31	17	4,12	10	3,16	9	3,00	30	5,47	10	3,16
carré VN par ver	15	3,87	17	4,12	17	4,12	10	3,16			10	3,16
			18	4,24	43	6,55	19	4,35			17	4,12
			20	4,47			25	5,00			20	4,47
			25	5,00								
			26	5,09								
			33	5,74								
			44	6,63								

Tableau 19 : Nombre de kystes éliminés pendant un intervalle de temps de 15 jours.
Population de N. diversicolor de Septembre 1966, récoltée à la Slack.

En prenant $X' = 100 X$ nous aboutissons au tableau d'analyse de variance suivant :

Origine de la variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen (Estimation de la variance)	F
Entre groupes (entre classes oocytaires)	34 375,02	5	6 875,004	1,706 N.S.
A l'intérieur des groupes résiduels	798 917,94	40	19 972,948	
Total	969 292,96	45		

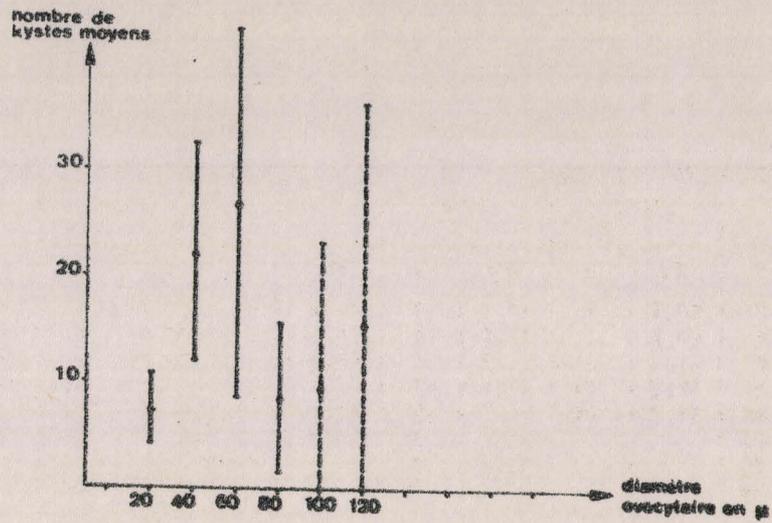
Tableau 19 bis : Analyse de variance correspondant aux données du tableau précédent.

Au risque 5 %

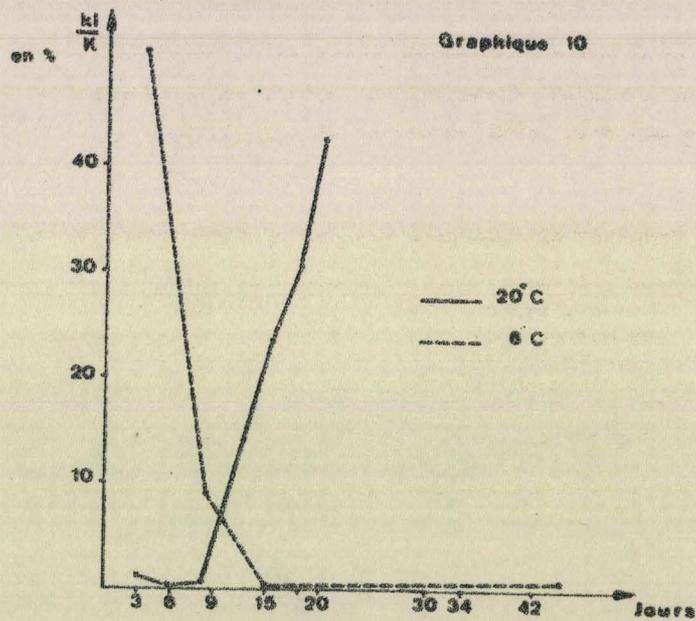
$$F_{40}^5 = 2,45$$

BUS
L.V.

Graphique 9



Graphique 10



Graphique 9: Répartition du nombre de kystes moyens avec son intervalle de confiance à 95%, en fonction du diamètre ovocytaire de l'hôte. Echantillon de Septembre 1966

Graphique 10: Vitesse d'élimination des kystes de L. buzetae en fonction de la température. Expérience: Février 1964

Comme l'analyse de variance est non significative, il est inutile de calculer la droite de régression, sa pente ne sera pas significativement différente de 0.

L'hétérogénéité des distributions de kystes en Février 1965 et Septembre 1964 étant supérieure à celle examinée en Septembre 1966, il est donc inutile de réaliser une analyse de variance sur ces exemples.

d) Discussion

Les tests de comparaison sur le nombre de vers donnant des kystes dans les classes asexuée et sexuée montrent deux résultats non significatifs (Septembre 1964 et Février 1965, Tableau 17). Ceci tend à montrer que le pourcentage de vers émettant des kystes ne diffère pas sensiblement entre sexués et asexués. Ces résultats sont confirmés par l'examen de très jeunes vers.

L'examen de 20 N. diversicolor de 30 à 50 sétigères, au tégument encore transparent, récoltées en Août 1964 au Petit-Port de Boulogne montre qu'elles étaient toutes parasitées et 11 d'entre elles ont donné 50 kystes en un mois.

Les comparaisons des nombres de kystes produits par les vers sexués et asexués montrent (Tableau 18) deux tests hautement significatifs (Septembre 1964, Février 1965) et un test non significatif (Septembre 1966). Il semblerait donc que le nombre de kystes produits par les vers sexués est généralement plus important que celui produit par les vers asexués.

Toutefois, la distribution du nombre de kystes par ver, en fonction de son âge estimé par la valeur du diamètre ovocytaire, montre qu'il n'est pas possible de mettre en évidence une relation entre le nombre de kystes produits par les vers des différentes classes.

En résumé, il n'existe pas de différence nette entre les classes asexuée et sexuée puisque certains tests sont non significatifs. La très grande disparité entre les nombres de kystes émis par les Annélides sexuées et asexuées souligne la complexité de l'expérimentation sur les Grégarines intestinales de N. diversicolor : un ver très parasité est susceptible de modifier la valeur des tests. Par conséquent, l'étude expérimentale des facteurs susceptibles de contrôler l'enkystement de L. tuzetae chez N. diversicolor doit se faire en tenant compte de la vitesse d'élimination des kystes : le nombre de kystes produits ne constitue qu'une simple indication sur l'effet du facteur étudié.

L'examen de deux périodes, correspondant respectivement aux températures estivales et hivernales de l'eau de mer, permet d'envisager le facteur saison.

2. Etude du facteur température

a) Etude du facteur saison sur la production des kystes.

Le calcul des différents pourcentages de vers donnant des kystes dans les 3 cas considérés est le suivant :

Septembre 1964	:	85 %
Février 1965	:	32,1 %
Septembre 1966	:	69,1 %

La comparaison du nombre de vers donnant des kystes (Tab. 20) fait apparaître des différences significatives entre tous les groupes.

Périodes	Vers	Avec kystes	Sans kystes	X ² _c (0,05)	
				1.d.d.1 = 3,84	2.d.d.1 = 5,99
Septembre 1964	119	21	8,86***	38,65***	3,21*
Février 1965	64	135			
Septembre 1966	74	32			

Tableau 20 : Tableau récapitulatif des N. diversicolor donnant des kystes à différentes périodes, avec les valeurs des différents tests de comparaisons. Populations de N. diversicolor récoltées dans le Boulonnais.

Il existe donc une différence très nettement significative entre les vers qui donnent des kystes en Septembre et en Février. En période hivernale, il y a moins de vers produisant des kystes.

Ces résultats permettent d'envisager une étude expérimentale sur le rôle et l'importance de la température dans l'enkystement de L. tuzetae.

b) Etude expérimentale de la température sur l'enkystement de *L. tuzetae*.

De façon à éliminer la très grande disparité du nombre de kystes émis par les différents vers, nous considérons le rapport $\frac{k_i}{K}$ du nombre de kystes fournis pendant un intervalle de temps k_i , sur le nombre total de kystes K éliminés par le ver pendant toute l'expérience. Ce rapport permet, comme nous l'avons vu avec les Grégarines de *S. amica*, d'étudier la vitesse d'élimination des kystes. L'utilisation de l'index TK 50 n'a pas été retenue dans les différentes expériences car il suppose que chaque ver a donné tous ses kystes. Si cette condition était réalisée dans les séries expérimentales de *S. amica*, elle est très loin de l'être dans les séries de *N. diversicolor*, pour plusieurs raisons :-le degré d'infestation est plus grand;

- la période d'observation est souvent inférieure à 45 jours (délai dans l'étude de *S. amica*,
- la caractérisation du paramètre de l'activité génitale ne peut être définie facilement. (*N. diversicolor* est une espèce qui ne présente pas d'épitoquie).

Les relevés réguliers de la température de l'eau de mer en surface, effectués depuis le 1er janvier 1961 dans le port de Boulogne, par l'Office des Pêches de Boulogne, donnent des températures moyennes de 6°C pour le mois de Février, de 18°C pour Août-Septembre. Ces températures extrêmes des périodes hivernale et estivale, nous ont amené à choisir les valeurs de 6°C \pm 1°C et 20°C \pm 1°C pour nos expériences.

Nous avons réalisé trois types d'expériences.

- Maintien à une température constante, soit 6°C, soit 20°C.
- "Chocs thermiques" : les vers sont placés pendant une certaine période à une température basse puis élevée brusquement et inversement. Certaines séries ont subi deux "chocs thermiques" (6°C - 20°C - 6°C).
- Chocs thermiques accompagnés de l'ablation du prostomium.

c) Effets de la température constante :

En février 1964, à partir de *Nereis* récoltées au Petit-Port de Boulogne dans la vase où le température était de 6°C, nous avons réalisé 2 séries :

- 1ère série maintenue à 6°C,
- 2ème série maintenue à 20°C.

Série expérimentale	1ère Série	2ème Série
Température	6° C	20° C
Durée de l'enkystement	42 j	20 j
Nombre d'animaux	19	22
Nombre d'animaux ayant donné des kystes	9	20
Nombre de kystes	85	1183
$\frac{k}{t}$	0,106	2,68

Tableau 21 : Conditions et résultats des expériences à température constante (6°C et 20°C) réalisées en Février 1964.

Les résultats du tableau 21 montrent la très nette différence des nombres de kystes ; par ailleurs, le graphique 10 fait ressortir une vitesse d'élimination très différente. Dans la série à 6°C, peu de kystes sont émis et la vitesse d'élimination diminue très vite au début de l'expérience. A 20°C, les kystes sont beaucoup plus nombreux et la vitesse d'élimination n'augmente rapidement qu'après une phase de latence d'une dizaine de jours. Ces résultats amènent à penser que la température intervient sur la formation des kystes. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons soumis les Nereis diversicolor à des "chocs thermiques"

B) Effets des chocs thermiques :

Expérience de Février 1964

Une série de 23 vers, soumise aux températures successives de 6°C, 20°C puis 6°C, donne les résultats figurés dans le tableau 22.

Nombre de vers	Vers donnant kystes	Nombre de kystes	Phase 6°C			Phase 20°C			Phase 6°C		
			durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes
23	21	2975	20 J	4	6	26 J	20	1466	17 J	19	1504

Tableau 22 : Conditions et résultats de l'expérience de chocs thermiques (6°C - 20°C - 6°C) réalisée en Février 1964.

Nombre de vers	Vers donnant kystes	Nombre de kystes	Phase préliminaire 16°C			Phase 20°C			Phase 6°C			Phase 3°C		
			durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes
32	30	7916	6 J	18	210	18 J	29	3365	10 J	28	2110	16 J	25	2231

Tableau 23 : Résultats de l'expérience de chocs thermiques (20°C - 6°C - 3°C) réalisée en Mai 1964.

Nombre de vers	Vers donnant kystes	Nombre de kystes	Phase préliminaire 16°C			Phase 6°C			Phase 20°C		
			durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes
10	7	1149	6 J	2	15	18 J	7	232	22 J	7	902

Tableau 24 : Résultats de l'expérience de chocs thermiques (6°C - 20°C) réalisée en Mai 1964.



La vitesse d'élimination des kystes, indiquée sur le graphique 11, montre qu'elle dépend de la phase thermique. Dans un premier temps, à 6°C, nous retrouvons l'aspect décrit au paragraphe précédent ; la production de kystes initialement faible devient nulle. A 20°C, la vitesse d'élimination n'augmente qu'après une période de latence d'une dizaine de jours. Le retour à 6°C fait apparaître une augmentation considérable du nombre de kystes (1311 kystes en 3 jours) puis une chute très importante de la production kystique.

Ces résultats démontrent :

1°/ que la température de 20°C est favorable à l'enkystement de L. tuzetae.

2°/ que la température de 6°C ralentit normalement la production kystique ; toutefois l'effet de cette température basse n'est pas immédiat et peut provoquer, comme c'est le cas ici, une brusque réaction d'enkystement (les kystes étant formés à la suite du séjour à 20°C).

Expériences de Mai 1964

Après avoir maintenu pendant 6 jours les vers à la température du laboratoire (16°C environ), nous avons soumis des vers aux températures 20°C - 6°C - 3°C (Tableau 23 et graphique 12) et des vers aux températures 6°C - 20°C (Tableau 24 et graphique 13).

Ces expériences viennent confirmer les résultats précédents : la phase à 20°C favorise l'émission de kystes, celle à 6°C la ralentit (graphique 12). On peut noter toutefois que la phase à 6°C et à 3°C ou 4°C n'inhibe par aussi fortement la production kystique qu'au mois de février

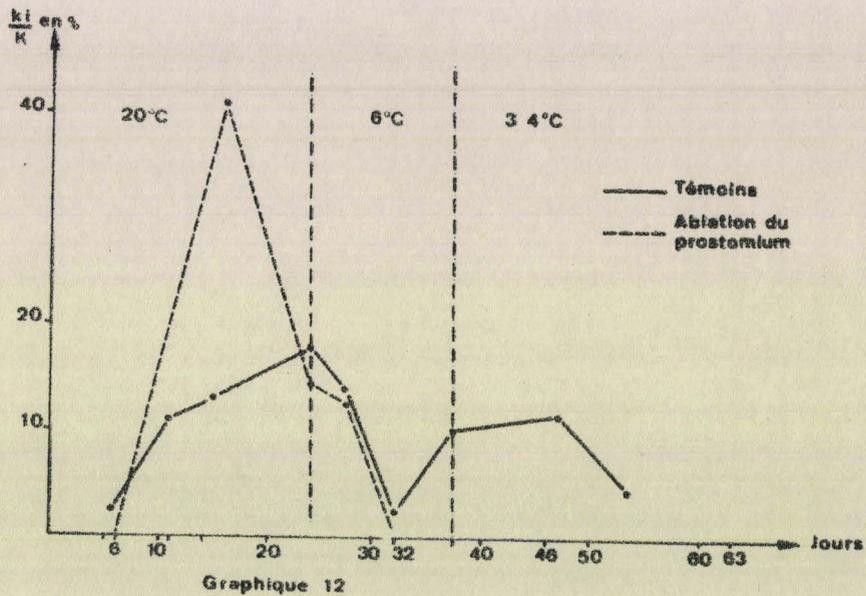
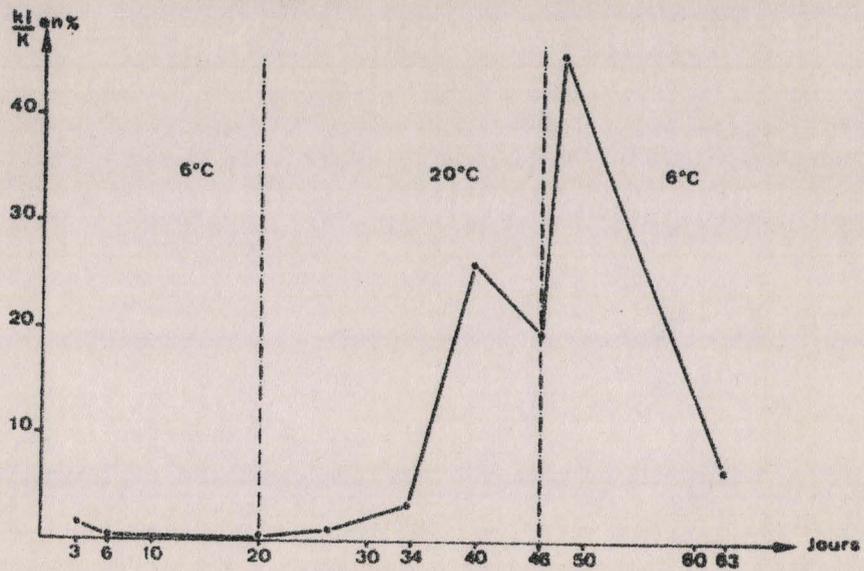
Y) Effets de l'ablation du prostomium et des chocs thermiques.

Expérience de Février 1964 (tableau 25)

Nombre de vers	Vers avec kystes	Nombre de kystes	Phase 6°C			Phase 20°C		
			durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes
14	10	247	22 j	8	30	16 j	7	217

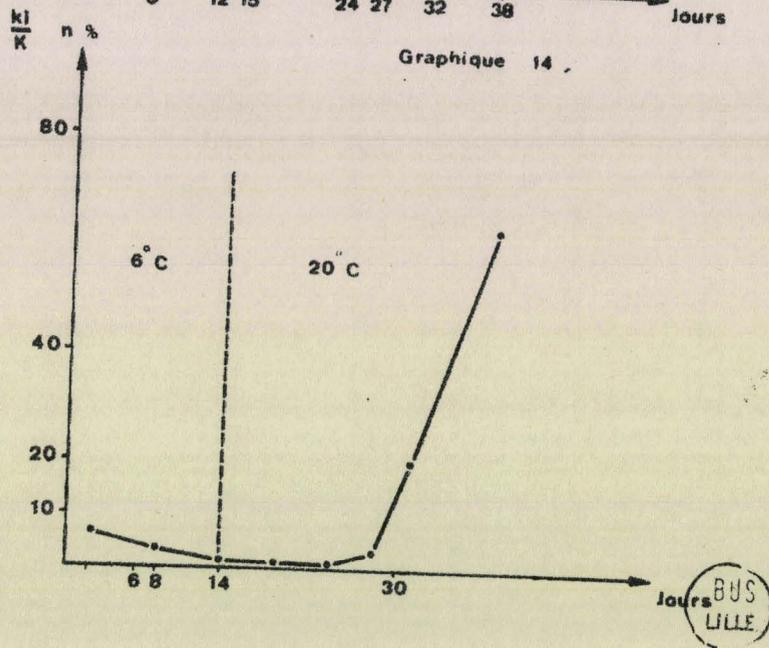
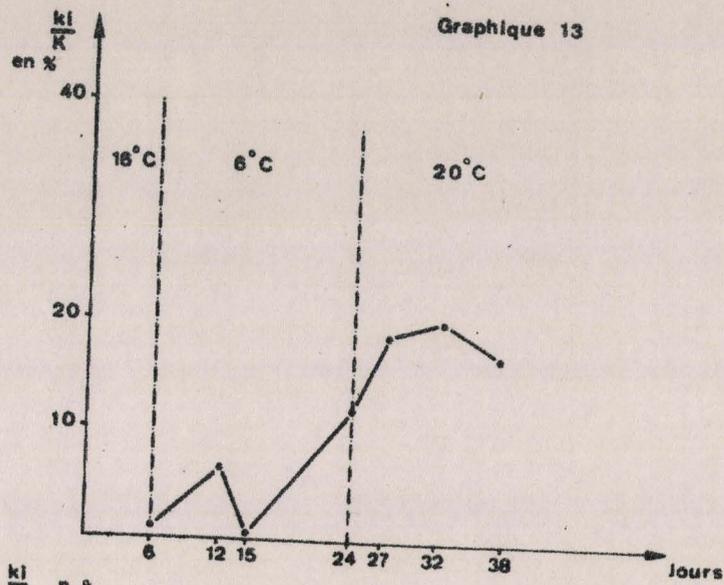
Tableau 25 : Résultats de l'expérience ablation prostomium et passage de 6°C à 20°C - Février 1964.

Graphique 11



Graphique 11 : Vitesse d'élimination des kystes au cours d'une expérience de choc thermique (6°C - 20°C - 6°C). Expérience: Février 1964

Graphique 12 : Vitesse d'élimination des kystes au cours d'un choc thermique (20°C, 6°C, 3-4°C) par des N. diversicolor ayant subi l'ablation du prostomium et par des vers témoins. Expérience: Mai 1964



Graphique 13 : Vitesse d'élimination des kystes au cours d'un choc thermique (6 C, 20 C) sur des N. diversicolor récoltées en Mai 1964

Graphique 14 : Vitesse d'élimination des kystes au cours d'un choc thermique (6 C, 20 C) sur des N. diversicolor ayant subi l'ablation du prostomium.

Expérience Février 1964

BUS
LILLE

Expérience de Mai 1964 (Tableau 26).

Nombre de vers	Vers avec kystes	Nombre de kystes	Phase 16° C			Phase 6° C		
			durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes	durée	Vers avec kystes	Nombre de kystes
10	9	1696	18 j	9	1432	8 j	6	264

Tableau 26 : Résultats de l'expérience ablation prostomium et passage de 16° C à 6° C - Mai 1964.

La vitesse d'élimination des kystes dans l'expérience de février (graphique 14) est comparable à celle de l'élimination lors du choc thermique 6° C - 20° C. L'ablation du prostomium n'est donc pas capable de provoquer, pendant la phase de 6° C, un déclenchement important de la production de kystes (Tableau 25).

L'expérience réalisée en Mai (Tableau 26, graphique 12) montre que la vitesse d'élimination augmente considérablement dans la série où l'ablation du prostomium est accompagnée d'une température élevée puis diminue quand les vers sont replacés à basse température. Comme le nombre de kystes ne peut être considéré en "valeur absolue", il n'est pas possible d'attribuer à ce pic une valeur importante.

A partir de ces expériences, il ne semble pas possible d'attribuer au facteur ablation du prostomium, un rôle déterminant dans la production des kystes de L. tuzetae.

c) Discussion

La comparaison de la production de kystes, à deux périodes de l'année (Septembre et Février), permet d'envisager l'étude du facteur saison et par voie de conséquence celui de la température de l'eau de mer. Le choix de deux températures, l'une correspondant à la période hivernale (6° C), l'autre estivale (20° C), permet de tester les effets thermiques soit isolément (effet de la température constante) soit successivement (chocs thermiques). De ces expériences il ressort que le facteur température agit directement sur la

formation et le rythme d'élimination des kystes. L'élimination des kystes est élevée quand la température est de 20°C, basse quand elle est de 6°C. Si certaines expériences (effets de températures constantes) semblent indiquer que les températures basses réduisent considérablement le nombre de kystes, les expériences de chocs thermiques montrent que les basses températures n'inhibent pas complètement la production de kystes et qu'elles peuvent être à l'origine d'une réaction brutale d'enkystement.

Il convient d'attribuer au facteur température un rôle important dans l'enkystement de L. tuzetae, susceptible de masquer éventuellement l'influence d'autres facteurs. L'effet du facteur ablation du prostomium ne peut être dégagé dans les expériences où il est associé aux chocs thermiques.

La mise en évidence de réactions brutales d'enkystement conjointement aux chocs thermiques, est très importante car elle fait ressortir à la fois la simplicité et la complexité des facteurs contrôlant l'enkystement de L. tuzetae. Simplicité, dans la mesure où l'on peut admettre que toute modification brutale, comparable à un "stress", peut intervenir directement sur l'enkystement. Complexité, dans la mesure où la biologie de Nereis diversicolor montre une tolérance extrême vis-à-vis de son milieu (salinité, émersion).

III - CONCLUSION

L'étude des facteurs contrôlant l'enkystement des Grégarines chez les Annélides Polychètes, nous amène à dissocier les espèces coelomiques et intestinales. Les nombreuses corrélations entre le cycle des Grégarines coelomiques et celui de leurs hôtes, décrites et vérifiées, la démonstration expérimentale chez Diplauxis hatti, parasite de Perinereis cultrifera (DURCHON et VIVIER, 1961 et 1964) permettent de penser que le déterminisme de la reproduction de ces Grégarines est lié à celui de la maturation génitale.

Dans le cas des Grégarines intestinales étudiées, la température agit très nettement sur la formation et la vitesse d'élimination des kystes.

Les résultats obtenus sur les Grégarines intestinales de S. amica semblent indiquer que les deux phénomènes, sexualisation de l'hôte et élimination des kystes, sont parallèles mais indépendants.

Chez L. tuzetae, parasite de N. diversicolor, la production des kystes est possible chez les très jeunes individus et l'examen de plusieurs populations ne permet pas d'établir une relation entre le nombre de kystes produits et la taille ovocytaire. Les chocs thermiques déclenchent des réactions parfois extrêmement brutales. Il reste à savoir si, dans les conditions naturelles, d'autres modifications du milieu telles que des variations de salinité, une émergence plus ou moins prolongée etc... auraient le même effet.

Ces résultats semblent indiquer que le facteur hormonal n'est pas aussi déterminant, chez les Grégarines intestinales, que celui mis en évidence par DURCHON et VIVIER (1961 et 1964) pour les Grégarines coelomiques d'Annélides, ou par CLEVELAND (1957 et 1959) pour les Flagellés des Termites.

La comparaison de nos résultats avec ceux de CORBEL (1964), obtenus chez Gregarina garnhami Canning, parasite intestinal de Locusta migratoria, montre des analogies très nettes entre l'émission des kystes en fonction de la température chez les vers, et celle enregistrée en fonction de la mue chez les Insectes. CORBEL (1966) n'attribue cependant pas à l'hormone de mue un contrôle direct de l'enkystement des Grégarines. Ces résultats rappellent ceux que nous obtenons chez L. tuzetae, dans la mesure où l'ablation du prostomium de l'hôte N. diversicolor ne constitue apparemment pas le facteur déterminant.

Les facteurs qui contrôlent le cycle des Grégarines intestinales sont en définitive très complexes. Le jeûne, la salinité, l'alimentation, l'émergence doivent être étudiés en particulier dans leur action sur le comportement de l'intestin, l'émission des kystes ^{étant} peut-être liée directement à la dégénérescence de l'intestin (histolyse par exemple).

CHAPITRE XII

CARACTERES DU PARASITISME DES GREGARINES
CHEZ LES ANNELIDES POLYCHETES

I - HABITAT

Les Grégarines parasites d'Annélides Polychètes se rencontrent aussi bien dans l'intestin que dans le coelome (Tableau 27). Cependant, le nombre d'espèces intestinales est nettement supérieur.

Intestin		Coelome		
Localisation dans la lumière	Localisation intraépithéliale	Coelome proprement dit	ovocytes	Paroi des néphridies
- genre <u>Selenidium</u>	formes de croissance de <u>Lecudina</u> et <u>Ogerella</u> [⊗]	genre <u>Urospora</u>	<u>Gonospora minchini</u>	<u>Gonospora arenicolae</u>
- genre <u>Lecudina</u>		genre <u>Diplauxis</u>		
- genre <u>Polyrhabdina</u> [⊗]		genre <u>Pterospora</u>		
- genre <u>Sycia</u>		<u>Gonospora varia</u>		
- genre <u>Ogerella</u> [⊗]				
- genre <u>Ancorina</u> [⊗]				
- genre <u>Bathiella</u> [⊗]				
- genre <u>Ferraria</u> [⊗]				

Tableau 27 - Localisation des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes.

[⊗] Ces Grégarines non décrites dans ce travail, feront l'objet d'une mise au point prochaine.

Parmi les Grégarines coelomiques, les Gonosporides parasites d'Arenicola ecaudata possèdent deux particularités intéressantes : Gonospora arenicolae est fixée, au cours de sa croissance, sur les parois des néphridies, Gonospora minchini s'attaque aux ovocytes.

Dans un nombre limité de cas, les Grégarines intestinales sont localisées dans des régions bien déterminées. Ainsi S. pendula n'est jamais présent dans la portion intestinale antérieure, vert clair des quarante premiers sétigères de Nerine cirratulus; S. hollandei habite l'intestin de la région caudale, achète, repliée sous la face ventrale de Sabellaria alveolata; Solenocystis foliata est également fixé dans l'intestin postérieur de Scoelelepis fuliginosa. Chez Syllis amica, les Ogerella sont réparties surtout dans l'intestin de la région postérieure qui subit les transformations stoloniales. Dans le cas des Lecudina, on ^{ne} peut parler d'une localisation bien précise. Notons toutefois que l'intestin situé immédiatement après l'estomac est souvent très parasité chez N. diversicolor par de très petites L. tuzetae.

La répartition des Grégarines intestinales basée sur le pH (GÖHRE 1943) est probablement un aspect secondaire. Il semble beaucoup plus logique de considérer la richesse en métabolites utilisables par les Grégarines ^{et} le degré d'anaérobiose dans la répartition des parasites.

II - SPECIFICITE PARASITAIRE

Il existe une spécificité parasitaire stricte chez les Grégarines coelomiques. CAULLERY et MESNIL (1898) l'avaient déjà signalée à propos d'Urospora longissima. Nous avons vérifié l'absence de U. longissima chez les formes A de Dodecaceria concharum Oerst. par une dissection minutieuse de 50 individus récoltés en Août 1966 dans les cuvettes de maerl à St Eflam (Nord-Finistère) et sur des échantillons de la région de l'Anse St Martin (Cotentin). Par contre, la plupart, sinon la totalité des Dodecaceria caulleryi Dehorne (Dodecaceria concharum Oerst forme B) du Boulonnais sont parasités par cette longue Grégarine. D'autres exemples aussi probants sont le parasitisme de Gonospora varia Léger chez Audouinia tentaculata et son absence chez Cirratulus cirratus, de même les Gonosporides s'observent chez Arenicola ecaudata et non chez les A. marina et A. grubei. On pourrait

multiplier les exemples : Diplauxis hattii parasite de Perinereis cultrifera, Urospora lagidis, parasite de Pectinaria koreni. Nous avons retrouvé les Pterospora maldaneorum chez Leiochone clypeata de Roscoff.

La spécificité parasitaire chez les Grégarines intestinales est plus difficile à définir. Une première distinction peut se faire selon les familles d'Annélides Polychètes.

Famille d'Annélides	:	Familles de Grégarines
Nereidiformes, Capitelliformes	:	<u>Lecudinidae</u>
Spioniformes, Terebelliformes	:	<u>Selenidiidae</u>
Scoleciformes, Sabelliformes	:	
Hermelliformes	:	

Tableau 28 - Répartition des Lecudinidae et Selenidiidae par familles d'Annélides Polychètes

On peut donc estimer avec CAULLERY et MESNIL (1899) que d'une façon générale, les Lecudinidae parasitent les Polychètes errantes, les Selenidiidae, les Polychètes sédentaires. La spécificité parasitaire est facile à définir quand les trophozoïtes présentent un caractère particulier, par exemple la forme d'une ancre chez Ancorina ; l'anneau ectoplasmique de Lecudina tuzetae, le nombre de stries et l'aplatissement des Selenidium. Ainsi L. tuzetae est spécifique de N. diversicolor, Ancorina sagittata de Capitella capitata. Ces cas sont relativement peu nombreux. Souvent, nous l'avons vu, en particulier dans le genre Lecudina, il faut recourir à des caractères très généraux, tels que la forme, les dimensions du trophozoïte.

Une seconde difficulté dans l'établissement de la spécificité parasitaire chez les Grégarines intestinales provient des critères spécifiques utilisés dans la systématique des Polychètes. FAUVEL souligne à diverses reprises des espèces très voisines ; Glycera alba diffère de G. convoluta par

la longueur et la couleur des branchies ; Apomatus similis diffère de Protula tubularia par un opercule sphérique, transparent, porté par un filament branchial, dont la chute ne serait-ce qu'accidentelle, ne permet plus de distinguer les deux espèces. De plus pour ces exemples, les aires de répartition sont identiques sur les côtes de la Manche, et nous avons vu que L. legeri ne peut être distinguée chez Glycera alba et G. convoluta, de même Selenidium caulleryi chez Apomatus et Protula.

Les difficultés évoquées expliquent la complexité de l'étude systématique du genre Lecudina. Nous avons attribué un rôle important à la spécificité parasitaire conformément à l'opinion de CAULLERY et MESNIL (1898) et CAULLERY (1950, p. 194). Nous reconnaissons que dans certains cas (Lecudina polymorpha, parasite de Lumbriconereis latreilli et L. elongata, parasite de Lumbriconereis impatiens), la valeur du rang espèce peut se discuter, peut être ne s'agirait-il que d'une sous-espèce ou d'une variété. Des expériences de contamination avec L. polymorpha et L. elongata sur des hôtes préalablement défaunés, condition indispensable, pourraient résoudre le problème. Ce type d'expériences reste, pour l'instant, délicat pour les Grégarines intestinales de Polychètes. En attendant leur réalisation, il nous semble nécessaire de conserver une grande importance à la spécificité parasitaire chez les Grégarines intestinales de Polychètes. Cela permettra une détermination rapide et probablement plus précise.

III - CARACTERES DE L'INFESTATION

Nous distinguons d'une part le taux d'infestation ou pourcentage d'Annélides parasitées et d'autre part le degré d'infestation ou nombre de Grégarines par Annélide.

A - Taux d'infestation

1 - Etablissement du taux d'infestation

Le tableau 29 présente un certain nombre de pourcentages de parasitisme avec leurs intervalles de confiance à 95 % pour différentes Grégarines intestinales. En précisant l'intervalle de confiance de chaque

pourcentage, nous enlevons le caractère anecdotique du pourcentage observé. Autrement dit, nous pouvons affirmer avec 5 % d'erreurs que le pourcentage, en Septembre 1966, de Nerine cirratulus de la Pointe-aux-Oyes, parasitées par S. pendula, était compris dans l'intervalle 13 % - 29 % (la dissection répétée de lots composés de 100 Nérines provenant du même endroit, à la même époque aurait donné un pourcentage probablement différent de 21 % mais compris dans l'intervalle 13 - 29 % dans 95 % des cas). Cet intervalle représente donc une valeur de référence pour une espèce de Grégarine provenant d'une population d'Annélides Polychètes déterminée, à une période précise.

Deux remarques doivent être faites au sujet de l'établissement de cet intervalle de confiance.

- La précision dépend du nombre d'hôtes examinés ; elle est d'autant meilleure que le nombre d'individus est plus grand. Il suffit de comparer, dans le tableau 29, les cas de L. leptonereidis et L. heterocephala.

- L'intervalle de confiance ne peut servir de référence que si la date et la population d'A. Polychètes, sont nettement définies.

2 - Comparaison du taux d'infestation à deux époques différentes

a) Selenidium pendula

Il faut d'abord s'assurer que le pourcentage établi sur une population déterminée ne diffère pas d'une façon significative pendant un intervalle de temps court. La comparaison des taux d'infestation de deux récoltes espacées de 2 jours, provenant de la même station (Pointe-aux-Oyes) nous a donné les résultats rapportés dans le tableau 30.

Les taux d'infestation entre les deux dates de récolte ne diffèrent donc pas d'une façon significative : on peut donc considérer que le taux d'infestation en Septembre 1968 était de 8,5 % et son intervalle de confiance au risque 5 % : 4 % - 13 %.

Date \ Parasitisme	Parasité	Non parasité	Total
7/9/68	7 (8,3)	93 (91,7)	100
9/9/68	8 (6,7)	72 (73,3)	80
Total	15	165	180

Tableau 30 - Nombre de Nerines parasitées sur deux échantillons récoltés à deux jours d'intervalle à la Pointe-aux-Oyes
 $\chi^2_c = 0,49$ $\chi^2 (0,05) (1) = 3,84$

- La comparaison de deux échantillons de Nerine cirratulus, récoltés au même endroit à deux ans d'intervalle (tableau 31) fait apparaître une différence significative quant au taux d'infestation par Selenidium pendula. Toutefois dans les deux cas, les taux d'infestation sont faibles.

Date \ Parasitisme	Parasité	Non parasité	Total
Septembre 1966	21 (12,8)	79 (87,2)	100
Septembre 1968	15 (23,2)	165 (156,8)	180
Total	36	244	280

Tableau 31 - Nombre de Nerine parasitées sur deux échantillons récoltés à deux ans d'intervalle à la Pointe-aux-Oyes
 $\chi^2_c = 8,73$ $\chi^2 (0,05) (1) = 3,84$
 $= \chi^2 = 3,84 = 2,89$

Le χ^2_c est inférieur au χ^2 lu dans la table au risque 1 % pour 1 d.d.l., il est donc hautement significatif.

b) Lecudina leptonereidis

La comparaison des taux d'infestation d'une même population de Leptonereis glauca, à deux périodes différentes (Tableau 32), ne montre pas de différence significative entre les deux taux d'infestation.

Date	Parasité	Non parasité	Total
Décembre 1960	19 (20,7)	16 (14,3)	35
Avril 1961	78 (76,3)	51 (52,7)	129
Total	97	67	164

Tableau 32 - Nombre de L. glauca parasités sur deux échantillons récoltés en Décembre 1960 et Avril 1961 au Fort de Croy.

Une valeur $\chi^2_c = 0,40$ N.S. $\chi^2 (0,05) (1) = 3,84$

Le χ^2_c est inférieur au χ^2 lu dans le tableau au risque 5 % pour 1 d.d.l.

En résumé, les taux d'infestation par une même Grégarine à deux époques différentes peuvent être soit identiques (L. leptonereidis) soit différents (S. pendula). Le taux d'infestation est donc susceptible de variation : les conditions dans lesquelles se trouvent les hôtes interviennent directement sur ces taux d'infestation. Comme nous le verrons plus loin, un hiver rigoureux peut bouleverser complètement les taux de parasitisme.

3 - Classement de certaines Annélides d'après le parasitisme

A partir du tableau 29 on peut distinguer quatre catégories

- dans le parasitisme :
- très fréquent: taux de parasitisme supérieur à 80 %
 - fréquent : " " compris entre 50 % et 80 %
 - non rare : " " " " 20 % et 50 %
 - rare : " " inférieur à 10 %

Genre	Espèce	Hôte	Lieu de récolte	Date ou période d'observation	Nombre d'Annélides observées	Nombre d'Annélides parasitées	%	Intervalle de confiance à 95 %
LEUCODINA	<u>L. tustas</u>	<u>Nereis diversicolor</u>	Slack	Septembre 1966	172	168	97,7 %	95,2% - 99,7%
	<u>L. pallucida</u>	<u>Nereis pelagica</u>	Fort de Croy	Septembre 1968	51	14	27,6 %	62 - 82 %
	<u>L. sp.</u>	<u>Nereis funata</u>	Paradis (Baie de Morlaix)	Avril 1966	50	19	38 %	24 - 54 %
	<u>L. leptoneuridia</u>	<u>Leptoneuris glauca</u>	Fort de Croy	Décembre 1960 Avril 1961	35 129	19 78	57,3 % 58,9 %	45 - 78 % 50 - 70 %
	<u>L. heterocephala</u>	<u>Nephtys hombergii</u>	Wimereux Digue Carnot	Octobre 1962 à Mars 1963	50	11	22 %	12 - 36 %
			Roscoff	Avril 1964 à Avril 1965	32	19	59 %	41 - 77 %
	<u>L. legeri</u>	<u>Glycera alba</u> et <u>G. convolvata</u>	Roscoff	Août 1962 à Avril 1965	93	19	20,4 %	12 - 30 %
SABELLIDINA	<u>S. hollandei</u>	<u>Sabellaria alveolata</u>	Saint-Efflam	Mars 1963 à Septembre 1968	supérieur à 500	tous parasités		
	<u>S. pendula</u>	<u>Nerine cirratulus</u>	Plage Wimereux	Mars 1963 à Février 1968	68	0		
			Pointe aux Oyes	Septembre 1966 Septembre 1968	100 180	21 15	21 % 8,5 %	13 - 29 % 4 - 13 %
			Vil Aber Roscoff	À partir de Juin 1964	une centaine		supérieurs à 50 %	
	<u>S. echinatum</u>	<u>Dodecacaria concharum</u> forme A	Saint-Efflam	Avril 1966	50	2	4 %	1,6 - 5,3 %

Tableau 29 - Taux d'infestation avec leur intervalle de confiance à 95 % de quelques Annélides Polychètes parasitées par des Grégaires intestinaux.

BUS
LILLE

Ce classement imparfait permet de répartir un certain nombre de Grégarines pour lesquelles nous n'avons pas établi un dénombrement précis mais où les nombreux examens permettent une estimation du taux de parasitisme.

Catégories	Grégarines	Hôtes
très fréquent	<u>Urospora longissima</u>	<u>Dodecaceria caulleryi</u>
	<u>Gonospora varia</u>	<u>Audouinia tentaculata</u>
	<u>Selenidium sabellariae</u>	<u>Sabellaria alveolata</u>
	<u>Selenidiidae</u>	<u>Audouinia tentaculata</u>
	<u>Lecudina elongata</u>	<u>Lumbriconereis impatiens</u>
	<u>Lecudina polymorpha</u>	<u>Lumbriconereis latreilli</u>
fréquent	<u>Sycia inopinata</u>	<u>Audouinia tentaculata</u>
	<u>Lecudina platynereidis</u>	<u>Platynereis massiliensis</u>
	<u>Gonospora arenicolae</u>	<u>Arenicola ecaudata</u>
non rare	<u>Gonospora minchini</u>	<u>Arenicola ecaudata</u>

Tableau 33 - Estimation du taux de parasitisme de certaines Grégarines parasites d'A. Polychètes.

Quand le taux de parasitisme est rare (cas de S. echinatum, parasite de Dodecaceria concharum forme A) on peut se demander s'il ne s'agit pas d'un parasitisme accidentel.

B - Degré d'infestation

Le taux d'infestation traduit un caractère qualitatif : parasité ou non parasité, mais ne donne aucune indication sur le nombre de Grégarines rencontrés chez l'hôte.

Ainsi chez L. sp., parasite de Nereis fucata (tableau 29) le taux d'infestation estimé sur 50 individus était de 38 % avec un intervalle de confiance 24 - 54 %. Or sur les 19 Nereis parasitées, le décompte des Grégarines était le suivant :

3	<u>Nereis fucata</u>	avaient	plus d'une	dizaine de	Grégarines
10	"	"	"	une seule	Grégarine
6	"	"	"	entre 1 et 10	Grégarines

Un exemple opposé est celui des Sabellaria alveolata où l'on peut estimer que la dissection à n'importe quelle période de l'année d'un seul hôte fournit au minimum plusieurs dizaines de S. hollandei.

On parlera de degré d'infestation élevé quand le nombre de Grégarines sera supérieur à 20 ou 30 par ver parasité et de degré d'infestation faible dans le cas inverse.

Notons que les Annélides où le degré d'infestation est élevé correspondent souvent à celles où le taux de parasitisme est très fréquent.

IV - DISCUSSION : Essais d'interprétation des infestations naturelles

Nous avons vu que les Grégarines intestinales ne semblent pas répondre à une corrélation très stricte entre le cycle de développement des Grégarines et celui des Annélides. Pour expliquer les taux et degrés d'infestation élevés, où le facteur accidentel doit être écarté, nous pouvons envisager plusieurs hypothèses.

A - Densité de population des Annélides

Les différents hôtes très parasités, Nereis diversicolor, Sabellaria alveolata, Audouinia tentaculata, Dodecaceria caulleryi sont tous des Annélides grégaires. On peut donc concevoir une infestation régulière, indépendante de l'âge de l'Annélide où tous les hôtes se contaminent par

absorption des sporocystes avec leurs aliments.

Nous savons que Nerine cirratulus habite un sable homogène, de taille moyenne ou élevée, sans grande cohésion et soumis à de fréquents remaniements par les courants (RULLIER 1959), il faut donc admettre que seule la densité de population, estimée à 700 ou 800 par m^3 à la Pointe aux Oyes, (AMOUREUX L. 1966) associée ou non à une résistance importante des spores, constitue un facteur important capable d'expliquer la présence de S. pendula.

B - Exigences biologiques des Grégarines

Il existe des espèces telles Owenia fusiformis, Polydora ciliata où la densité de population peut être supérieure à celles signalées précédemment mais qui ne sont pas ou peu parasitées. Comme nous l'exposons à propos de l'habitat et de la spécificité parasitaire, il existe des exigences biologiques qui permettent ou non le développement des Grégarines.

1 - Le régime alimentaire de l'hôte doit influencer la présence des Grégarines intestinales. Les espèces qui absorbent de grandes quantités de sable (Arenicola marina), ne contiennent pas de Grégarines intestinales. De même, il semble assez net que la richesse du milieu organique où vivent les hôtes se répercute sur l'abondance des Grégarines. Ainsi les Nephtys hombergii des herbiers de Penpoull (Roscoff) sont plus parasités que les échantillons récoltés dans les sables à Nephtys de l'Aber de Roscoff (considérés comme sédiments propres, RULLIER 1959). Une observation comparable peut être faite à propos des Glycères d'herbiers ou de sable.

2 - La nature et la quantité de métabolites assimilables par les Grégarines peuvent constituer des facteurs limitants.

Les Polyrhabdina syllinae de S. amica contiennent en très grande abondance des substances de réserves comparables aux gouttellettes "lipidiques" de l'épithélium intestinal (travail en cours).

La localisation parfois très précise (ovocyte, néphridies) est incontestablement à mettre en rapport avec les exigences métaboliques de la Grégarine.

3 - Le degré d'anaérobiose dans l'intestin peut également influencer la présence et la répartition des Grégarines.

Ces différentes constatations mettent en évidence la nécessité d'une recherche de la répartition en fonction des conditions biochimiques où interviennent la richesse en métabolites assimilables par la Grégarine, la nature des enzymes digestifs efficaces pour la déhiscence de certaines spores, le degré d'anaérobiose et la régulation du milieu hydrique. Malheureusement, la plupart de ces différents facteurs ne sont pas encore connus chez les Annélides Polychètes.

C - Fécondité des différentes Grégarines

En tenant un raisonnement analogue à ceux de FILLIPONNI (1950), CORBELL (1966), il est facile de montrer que la fécondité c'est-à-dire le nombre de sporozoïtes disponibles par kyste, varie chez les Grégarines d'Annélides Polychètes. Un kyste de Selenidium contient au maximum 200 (voir même 150) spores, soit $200 \times 4 = 800$ sporozoïtes. Un kyste de Lecudina (par exemple L. tuzetae) contient au moins 1000 spores, soit $1000 \times 8 = 8000$ sporozoïtes. On pourrait montrer que le nombre de sporozoïtes disponibles par kyste chez G. varia est supérieur à celui de Lecudina et inférieur à celui d'Urospora longissima.

Cette fécondité ne traduit pas une explication satisfaisante des infestations naturelles intenses. En effet, une faible fécondité peut être compensée par une production de kystes régulière et beaucoup plus importante.

D - Résistance des spores et trophozoïtes

L'étude du comportement des Annélides amène à considérer le problème de la résistance des parasites. Certaines Annélides subissent régulièrement des émergences plus ou moins longues. Ainsi les N. cirratulus de l'Aber de Roscoff, situées entre les côtes 7,1 m et 8 m, appartiennent à la haute plage découverte 10 h à 11 h 45 à chaque marée (RULLIER 1959). Les Sabellaria alveolata de l'Île rouge se situent au niveau moyen de la plage, mais les Hermelles ne correspondent à aucun niveau précis (PRENANT 1939, VOVELLE 1966). Certaines espèces immergées sont également parasitées : cas

des Protula et des N. fucata récoltées en dragage. A ces temps d'émersion variables, atteignant parfois plusieurs jours (cas. des Nereis diversicolor de la baie de Lancieux, RETIERE communication personnelle) s'ajoutent des fluctuations importantes de la salinité pour les espèces d'eau saumâtre (exemple : Nereis diversicolor)

Si l'influence de l'émersion et de la salinité est délicate à définir dans les infestations naturelles, la température permet de mieux apprécier la résistance des parasites. Nous laisserons les problèmes des contrôles thermiques, de la vitesse d'élimination des kystes, examinés au chapitre précédent pour considérer les conséquences du froid intense de l'hiver 1962-63. La présence d'une banquise, pendant plusieurs semaines sur le littoral Boulonnais a entraîné la disparition des Perinereis cultrifera, Audouinia tentaculata, Lumbriconereis impatiens, espèces littorales très répandues pour les deux premières, non rare pour la troisième, toujours intensément parasitées avant cette période.

En 1966, nous avons retrouvé trois jeunes Lumbriconereis impatiens de 10 cm, dépourvus de L. elongata. De même quatre Audouinia tentaculata récoltées en Février 1966 et une dizaine d'individus en Septembre 1968, étaient dépourvues de G. varia, par contre les Selenidiidae étaient très abondantes dans l'intestin. L'absence de L. elongata et de Gonospora varia chez des hôtes qui étaient toujours intensément parasités avant l'hiver 1962-63 doit s'expliquer par la destruction importante des kystes et des spores.

L'influence des différents facteurs pourrait être précisée par le contrôle rigoureux d'une population de Nerine cirratulus ou de Nereis diversicolor pendant une période de deux ou trois ans durant laquelle le taux et le degré d'infestation, les caractéristiques biologiques des hôtes et des biotopes seraient déterminés, régulièrement chaque mois. Signalons à ce sujet, l'intérêt de la technique d'immersion de lames de verre ou de polyéthylène, où viennent se fixer les larves de certaines espèces d'Annélides Polychètes (Polydora ciliata) et permettent de suivre régulièrement le développement d'une population bien déterminée. Cette méthode permettrait de savoir si les larves d'Annélides Polychètes qui ont effectué un séjour planctonique sont

contaminées ou non par des sporozoïtes.

V - CONCLUSION

La corrélation entre le cycle de l'hôte et celui du parasite constitue une explication raisonnable des infestations naturelles intenses dans le cas des Grégarines coelomiques, parasites d'Annélides Polychètes mais ne peut être retenue pour les Grégarines intestinales. Dans ce dernier cas, on peut dégager l'importance de la densité de population des hôtes, les conditions biologiques propres à chaque Annélide, permettant ou non le développement des Grégarines. Le rôle de la température dans la maturation génitale, le rythme d'enkystement, d'autres facteurs que nous n'avons pas pu contrôler, telles l'émersion et la salinité, sont susceptibles d'intervenir. La vie coloniale des hôtes et les facteurs de nutrition des Grégarines constituent probablement les clés de l'explication des infestations intenses.

CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE

Les résultats sur la nutrition des Selenidiidae et Lecudinidae montrent que :

- le mucron sert non seulement d'appareil de fixation, mais aussi d'organe de succion permettant la pénétration de substances issues de l'épithélium intestinal.

- le tissu hôte est rendu assimilable après une action lytique : les corps denses antérieurs sont les réservoirs des enzymes lytiques.

- les grandes vacuoles digestives formées à l'apex de S. hollandei se fragmentent en vacuoles plus petites et une intense micropinocytose s'établit à leur périphérie ; l'intervention des corps denses antérieurs peut également être envisagée dans les phénomènes de digestion intracellulaire.

Au cours de la croissance de Sycia inopinata, l'épimérite est le siège de transformations importantes. D'autre part, les caractères ultrastructuraux de S. inopinata sont très différents de ceux du genre Lecudina. L'existence d'un véritable épimérite et l'absence de septum fibrillaire permettent de la considérer comme une Dicystidée. Ces résultats entraînent la nécessité de rapprocher Sycia des Polyrhabdinidae et de séparer les Polyrhabdina des Lecudinidae.

L'incorporation de précurseurs radioactifs des protéines et la localisation de l'activité phosphorylasique montrent une différence de métabolisme entre l'ectoplasme et l'endoplasme. Elles confirment les hypothèses élaborées au cours de l'étude cytologique.

Le mécanisme des mouvements des Selenidiidae est difficile à établir. Le développement des systèmes de fibres sous cuticulaires chez les Selenidiidae semble lié à la puissance des mouvements ; toutefois, le rôle contractile ou squelettique des fibres tubulaires n'a pu être précisé.

L'existence de "kystes à mérozoïtes" dans l'intestin de Sabellaria alveolata est en faveur d'une multiplication schizogonique de S. hollandei, toutefois la démonstration expérimentale s'impose pour affirmer la réalité d'un tel phénomène. Au pôle postérieur des mérozoïtes, il existe un pore qu'il est logique d'interpréter comme un pore d'élimination ou d'excrétion.

L'étude des facteurs susceptibles d'intervenir dans l'enkystement des Grégarines intestinales et celle des conditions de parasitisme des Grégarines chez les Annélides Polychètes sont complexes. Nos résultats permettent de montrer une action nette de la température sur la vitesse d'élimination des kystes des Grégarines intestinales de S. amica et N. diversicolor. D'autre part, la production des kystes de L. tuzetae par les N. diversicolor femelles, n'est pas en relation avec le diamètre ovocytaire, paramètre utilisé pour déterminer l'âge du ver.

LISTE DES HÔTES PARASITES ET DE LEURS PARASITES ETUDIÉS

Annélides Polychètes	Grégarines	Lieux de Récolte
- Cirratulidæ		
<u>Cirratulus cirratus</u> C.F. Müller	<u>Selenidium virgula</u> Caullery et Mesnil	Boulonnais
	<u>Selenidium cometomorpha</u> n. sp.	Boulonnais
	<u>Selenidium filiformis</u>	Boulonnais
<u>Audouinia tentaculata</u> Mont.	<u>Selenidium cirratuli</u> (Ray Lanck.) Ming.	Boulonnais
	<u>Selenidium fallax</u> Mac Gregor et Thomasson	Boulonnais
	<u>Ditrypanocystis cirratuli</u> Burt, Denny, Thomasson	Boulonnais
	<u>Syca inopinata</u> Léger	Boulonnais et Roscoff
	<u>Gonospora varia</u> Léger	Boulonnais et Roscoff
<u>Dodeacseria concharum</u> Oerst. forme A	<u>Selenidium echinatum</u> Caullery et Mesnil	Saint-Efflam
<u>Dodeacseria caulleryi</u> Dehorne	<u>Urospora longissima</u> (Caullery et Mesnil)	Boulonnais (Cap Gris-Nez, Fort de l'Hourd)
- Capitellidæ		
<u>Capitella capitata</u> Fabricius	<u>Ancora sagitta</u> Labbé	Aber Roscoff
- Arenicolidæ		
<u>Arenicola scudata</u> Johnston	<u>Gonospora arenicolæ</u> (Cunningham)	Aber Roscoff
	<u>Gonospora minchini</u> Goodrich et Pixell-Goodrich	Aber Roscoff
- Maldanidæ		
<u>Leiochone clypeata</u> Saint-Joseph	<u>Pterospora madagascariæ</u> Labbé et Racovitz	Aber Roscoff
- Sabellaridæ		
<u>Sabellaria alveolata</u> L.	<u>Selenidium hollandi</u> Vivier et Schrevel	Saint-Efflam
	<u>Selenidium sabellaria</u> n. sp.	Saint-Efflam
- Amphitecnidæ		
<u>Pectinaria koreni</u> Malmgren	<u>Urospora lagidis</u> Saint-Joseph	Digue Carnot (Boulogne)
- Ampharetidæ		
<u>Melinna palmata</u> Grube	<u>Selenidium melinnae</u> n. sp.	Roscoff (Terrenès, Penpoull)
- Terebellidæ		
<u>Terebella lapidaria</u> (Kahler)	<u>Selenidium terebellæ</u> (Koll.) Ray	Roscoff
<u>Polynnia nebulosa</u> (Montagu)	<u>Selenidium costatum</u> Mont.	Roscoff
- Sabellidæ		
<u>Myxicola infundibulum</u> Rénier	<u>Selenidium mesnili</u> Brasil	Penpoull
- Serpulidæ		
<u>Pometoceros triquetus</u> L.	<u>Selenidium brasili</u> Ray	Wimereux
<u>Protula tubularia</u> Mont.	<u>Selenidium caulleryi</u> Brasil	Baie de Morlaix (Château du Taureau)
<u>Apometus similis</u> Marion et Bobretsky	<u>Selenidium caulleryi</u> Brasil	Baie de Morlaix (Château du Taureau)
<u>Mercierella enigmatica</u> Fauvel	<u>Selenidium mercierellæ</u> Théodoridès et Laubier	Canal de Caen

BUS
11/15

LISTE DES NÔTES PARASITES ET DE LEURS PARASITES ETUDIÉS

Annélides Polychètes	Océgraphes	Lieux de récolte
- <i>Heteris</i>		
<i>Perinereis sulcifera</i> Grube	<i>Diplanxys harti</i> Vavoev Tuzet Omléres	Port de Croy (Mineroux)
<i>Perinereis marioni</i> Aud. et M. Bém.	<i>Laudina pellicula</i> (Koll.) Ming. <i>Laudina pelmatomorpha</i> n. sp.	Port de Croy (Mineroux) Kœqueville (Cherbourg)
<i>Heteris diversicolor</i> O.F. Müller	<i>Laudina tuzeti</i> Schrevel	Boulonnais (Petit Port de Boulogne, Stack, Petit-Port Philippe, Bate de Lamoignon (Côte-du-Nord), Aber de Roscoff.
<i>Heteris pelagica</i> L.	<i>Laudina pellicula</i> (Koll.) Ming. <i>Laudina defretini</i> n. sp. <i>Laudina platymereida</i> n. sp.	Mineroux Pointe-aux-Oies (Mineroux) Chenal de l'île Verte (Roscoff)
<i>Platymereis macillienensis</i> Moquin-Tandon	<i>Laudina leptomereida</i> Schrevel	Port de Croy (Mineroux), Harde (Roscoff)
- <i>Syllidae</i>		
<i>Syllis antica</i> Quatrefages	<i>Polyrhabdina syllina</i> Schrevel <i>Ogarella syllina</i> Schrevel	Kœqueville (Cherbourg)
- <i>Nephtidae</i>		
<i>Nephtys hombergii</i> Audouin et M. Bém.	<i>Laudina heterocephala</i> (Ming.)	Mineroux, Roscoff (Aber, Pempoull), St-Etienne
- <i>Glyceridae</i>		
<i>Glyceria convoluta</i> Kefferslein	<i>Laudina legeri</i> Brasil	Roscoff (Aber, Pempoull)
<i>Glyceria alba</i> Rathke	<i>Laudina legeri</i> Brasil	Roscoff (Aber, Pempoull)
- <i>Eunicidae</i>		
<i>Lumbriconereis isopatiens</i> Claparède	<i>Laudina elongata</i> (Mingezini)	Boulonnais (Port de Croy, Port de l'Harvet), Aber de Roscoff
<i>Lumbriconereis latrillii</i> Aud. et M. Bém.	<i>Laudina polymorpha</i> Schrevel	Aber de Roscoff, Pempoull
<i>Arabella tricolor</i> Montagu	<i>Laudina arabella</i> Hochstede	Roscoff (Tlacozan)
<i>Marpesia samouelii</i> Montagu	<i>Bathylella marphyana</i> Setna <i>Pteraria cornucephala</i> Setna	Mineroux (Pointe-aux-Oies) Mineroux (Pointe-aux-Oies)
- <i>Sponidae</i>		
<i>Nerine clarrutiana</i> D. Chaise	<i>Selenidium pendula</i> Olard	Mineroux (Pointe-aux-Oies), Lavo-aur- Mer, Aber de Roscoff
<i>Selenidium ariferym</i> Ponsil		Boulonnais
<i>Selenidium apionis</i> (Koll.) May		Cherbourg, Roscoff
<i>Selenidocystis foliata</i> (May)		Roscoff
<i>Polyrhabdina apionis</i> Mingezini		Cherbourg, Roscoff

BB
1111

CONCLUSION GENERALE

Les cycles des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes, étudiés jusqu'à présent à l'aide des techniques d'histologie ou de frottis humides, sont dans leur ensemble, mal établis. Dans le but de préciser les stades peu connus, en particulier ceux de la gamétogenèse et de la sporogenèse, nous avons effectué le maximum d'observations sur le vivant ; l'obtention délicate des différents stades sexués nous a amené à rechercher certains facteurs susceptibles d'intervenir dans l'enkystement. L'étude de la cytologie et de la physiologie cellulaire de ces parasites a pu être entreprise grâce aux techniques ultrastructurales, cytochimiques et autoradiographiques.

La place des Selenidiidae Brasil 1907 dans la systématique des Grégarines, basée sur la schizogonie (FANTHAM 1908, GRASSE 1953, WEISER 1955, LEVINE 1961, CHEISSIN et POLJANSKY 1963, Comité de Taxonomie de la Society of Protozoology 1964) doit être reconsidérée. En effet, les observations histologiques et ultrastructurales sur les "kystes à mérozoïtes" de S. hollandei sont, comme celles des auteurs antérieurs sur S. caulleryi (Brasil 1907), S. metchnikovi (Léger et Duboscq 1917), S. mesnili (Ray 1930a), favorables à une multiplication schizogonique des Selenidiidae, mais ne constituent pas une preuve de la réalité d'un tel mode de reproduction. Il importe donc d'établir d'autres critères pour fixer la position systématique des Selenidiidae.

Notre étude montre l'indépendance des Selenidiidae par rapport aux Lecudinidae, Urosporidae, Gonosporidae, familles appartenant aux Eugrégarines. Les caractères biologiques des Selenidiidae, en particulier les mouvements pendulaires et d'enroulement des trophozoïtes, l'apparition des noyaux gamétiques au niveau du noyau primaire avant l'enkystement et les spores à quatre sporozoïtes, sont différents de ceux des Lecudinidae, Urosporidae, Gonosporidae. En effet, chez ces dernières les mouvements sont soit de glissement, soit de métabolie, la première mitose progamique est postérieure à l'enkystement, les spores ont huit sporozoïtes.

De plus, la microscopie électronique démontre la différence d'organisation ultrastructurale des régions corticales des Selenidiidae et des Eugrégarines.

- L'épicyte des Selenidiidae, constitué de bombements longitudinaux plus ou moins accentués, contraste avec les nombreux plis aigus des Eugrégarines (Lecudina par exemple), ou ceux des Grégarines Tricystidées parasites d'Insectes (GRASSE et THEODORIDES 1959, BEAMS et Coll. 1959, REGER 1967, DESPORTES 1964, 1966, DEVAUCHELLE 1968).

- D'autre part, les Selenidiidae possèdent sous la paroi, au niveau des bombements longitudinaux, un système fibrillaire nettement organisé et défini; cette disposition corticale n'a jamais été retrouvée chez les Eugrégarines.

Une autre caractéristique fondamentale des Selenidiidae est la présence et le développement des corps denses antérieurs correspondant aux corps chromatiques signalés par BRASIL (1907), RAY (1930a). Ce résultat est important car il démontre que l'organisation des Selenidiidae est proche du mérozoïte, germe initial dont l'ultrastructure est commune à tous les Sporozoaires. On peut donc considérer les Selenidiidae comme des formes primitives où certains organites des mérozoïtes persisteraient, tels les corps denses antérieurs, et où certains systèmes, telles les fibres tubulaires, se seraient particulièrement développés.

Ces résultats, tout en soulignant l'indépendance de la famille des Selenidiidae par rapport aux Eugrégarines, sont favorables à leur maintien actuel dans l'ordre des Archigrégarines proposé par GRASSE (1953) mais en modifiant le caractère de base, la schizogonie, pour le remplacer par l'organisation ultrastructurale du trophozoïte, proche de celle du mérozoïte.

Il serait prématuré de donner une systématique à l'intérieur de la famille des Selenidiidae, car les observations ultrastructurales sur les Selenidiidae des Terebellidae, Serpulidae, Sabellidae n'ont pas encore pu être réalisées. Toutefois, cette systématique peut s'envisager sous deux angles.

1°) Création de genres nouveaux correspondant aux Selenidiidae parasites de groupes homogènes d'Annélides Polychètes. Dans ce cas, les familles d'Annélides Polychètes auraient un rôle déterminant.

Le genre Selenidium serait réservé, par exemple, aux Selenidiidae des Spionidae; d'autres genres désigneraient les Selenidiidae des Cirratulidae, les Selenidiidae des Terebellidae, les Selenidiidae des Sabellidae et des Serpulidae.

2°) Les genres seraient établis à partir des caractères propres aux Grégarines, indépendamment des familles d'Annélides Polychètes. On pourrait, par exemple, donner pour les Selenidiidae présentant une épine, le nom de Spinosenidium, pour les Selenidiidae en forme de ruban, celui de Tenioselenidium.

Nous pensons que la première solution est sans doute la meilleure, car nous savons que les Selenidiidae parasites d'une famille d'Annélides Polychètes présentent de nombreux caractères communs. Les Selenidiidae de Cirratulidae ont tous des mouvements d'enroulement qui contrastent avec ceux actifs des Selenidiidae des Sabellariidae. De même, les Selenidiidae des Terebellidae sont les seuls à avoir des bombements longitudinaux larges présentant un aspect de mosaïque.

Un autre point intéressant concerne la spécialisation métabolique des différentes régions de la Grégarine. La microscopie électronique, l'autoradiographie, la localisation d'enzymes spécifiques d'un métabolisme précis, tels l'activité phosphorylasique et le métabolisme du paraglycogène, démontrent une spécialisation métabolique de l'ectoplasme et de l'endoplasme dans le genre Lecudina. Cette différence se retrouve chez les Selenidiidae où l'ectoplasme riche en systèmes fibrillaires sous-cuticulaires, et souvent en mitochondries, diffère de l'endoplasme abondamment pourvu en enclaves de réserve (paraglycogène, lipides...). La participation de la région antérieure des Selenidiidae et Lecudinidae dans la nutrition, vient renforcer cette notion de spécialisation des différentes régions des trophozoïtes et met en évidence une polarité apico-basale des trophozoïtes. Cette polarité, très nette chez les mérozoïtes (SCHREVEL 1968c), où le conoïde et le pore d'excrétion déterminent respectivement le pôle antérieur et le pôle postérieur, se retrouve chez les trophozoïtes. La région antérieure fixée au tissu hôte permet l'alimentation du trophozoïte, tandis que le pôle postérieur semble assurer l'élimination des déchets (L. heterocephala).

L'épicyte des Grégarines met en évidence la diversification de l'architecture corticale des Sporozoaires. La paroi constitue une enveloppe régulière chez les Coccidies, les Toxoplasmea, les Hémospories, par contre elle présente une ornementation très variée chez les Grégarines. L'épicyte permet en outre de mieux comprendre les relations entre les diverses familles de Grégarines.

L'étude des facteurs susceptibles de contrôler l'enkystement des Grégarines intestinales, entreprise chez L. tuzetae, parasite de N. diversicolor et chez les Grégarines parasites de S. amica, montre que le facteur température agit nettement sur l'élimination des kystes, en la stimulant quand elle est élevée (20° C environ), en la ralentissant quand elle est basse (5 à 6° C). L'étude des conditions du parasitisme souligne la spécificité parasitaire stricte des Grégarines coelomiques.

Le taux et les degrés d'infestation sont variables selon les espèces considérées. Généralement ils sont élevés chez les Annélides qui vivent groupées, telles les N. diversicolor, Sabellaria alveolata, Cirratulidae.

L'analyse de diverses populations de N. diversicolor du Boulonnais montre que les jeunes Annélides sont capables d'émettre des kystes. Il n'existe aucune différence entre le nombre de vers donnant des kystes chez les vers sexuellement **indifférenciés** et chez les vers sexuellement différenciés, toutefois les vers différenciés semblent produire plus de kystes que les vers indifférenciés.

L'étude cytologique met en évidence des caractères communs entre les différentes Grégarines étudiées. De plus elle permet de montrer chez certaines Grégarines, le rôle important du système ergastoplasmique et la présence d'organites lytiques dont l'étude mérite d'être approfondie.

- La paroi est constituée de trois membranes tripartites. Cette structure se retrouve chez la plupart des Sporozoaires actuellement connus (VIVIER et Coll. 1965).

- Les mitochondries présentent une réduction de leur structure interne qui peut être mise en rapport avec l'anaérobiose (VIVIER et SCHREVEL 1966).

Chez les Selenidiidae, il existe une relation nette entre le développement du réseau mitochondrial et la puissance des mouvements de leur trophozoïte.

- Les enclaves de réserve sont abondantes. La réserve glucidique la plus caractéristique des Grégarines est le paraglycogène. L'utilisation de la technique de la Thiocarbohydrazide-Protéinate d'Argent (SELIGMAN, modifiée par THIERY 1967) et l'action de divers traitements enzymatiques mettent en évidence dans chaque grain un arrangement de particules de 80 à 130 Å de diamètre,

reliées par des filaments. Cette organisation ultrastructurale permet d'envisager de nouvelles hypothèses concernant la structure, l'élaboration et l'utilisation de cette réserve glucidique.

Les résultats ultrastructuraux et cytochimiques sont favorables à la nature amylopectinique du paraglycogène et ils sont en accord avec ceux, biochimiques, obtenus sur la réserve glucidique d'Eimeria par RYLEY et Coll. (1968).

L'appareil de Golgi montre une polarité très nette : la face basale est en relation avec l'ergastoplasme par l'intermédiaire de petites vésicules. La face apicale possède des dilatations qui sont probablement à l'origine des vésicules observées sur la zone latérale et apicale des dictyosomes. Chez S. hollandei, l'ergastoplasme s'hypertrophie et les grandes cisternes dilatées contiennent une substance diffuse et de très nombreux grains opaques. Les dictyosomes abondants semblent extraire la substance diffuse. Les grains intracisternaux représentent peut-être un matériel de stockage.

Chez L. tuzetae, les cisternes ergastoplasmiques et les dictyosomes sont développés dans l'ectoplasme et participent très vraisemblablement à l'élaboration des mucopolysaccharides acides très abondants dans cette région.

Les corps denses antérieurs particulièrement nombreux chez les Lecudiniidae et certains Selenidiidae correspondent aux organites décrits sous le nom de toxosomes, paired organelles, rhoptries, chez les mérozoïtes. La mise en évidence d'une activité phosphatasique acide positive permet de leur attribuer un rôle lytique. En effet, les trophozoïtes pourvus de ces organites provoquent une destruction importante du tissu hôte ; inversement certains trophozoïtes (Sycia inopinata) en sont dépourvus et l'activité du parasite sur l'hôte est moins nette.

Sur le plan de la physiologie cellulaire, la nutrition et les mouvements constituent deux problèmes importants.

L'étude de la nutrition permet de montrer que la région antérieure de S. hollandei absorbe des substances nutritives. Chez Lecudina pellucida et L. tuzetae, il existe des faits très favorables à un tel mode de nutrition. Le mécanisme doit comprendre la libération des enzymes lytiques provenant des corps denses antérieurs et l'absorption du tissu hôte dans la Grégarine par le mucron. La nutrition par la paroi, osmotrophie ou pinocytose, constitue chez ces espèces un mode de nutrition probablement secondaire. Le Rouge Neutre montre que la diffusion existe, par contre nos essais de démonstration de la pinocytose sont restés décevants.

Le mécanisme des mouvements pendulaires ou d'enroulement chez les Selenidiidae a été envisagé. Il existe une relation entre le développement des systèmes fibrillaires sous-cuticulaires et la puissance des mouvements des trophozoïtes. Toutefois, le rôle précis de ces systèmes fibrillaires n'a pu être établi. Des recherches complémentaires, basées sur la connaissance cytochimique des tubules sous-cuticulaires, s'imposent.

L'étude de certains aspects du métabolisme des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes par les méthodes autoradiographiques et cytochimiques montre que :

- les vitesses d'incorporation de la Leucine ^3H et de l'Uridine ^3H dans la biosynthèse des protéines et ribonucléines sont comparables à celles observées chez les ovocytes de l'hôte ;
- le marquage des protéines nucléoplasmiques de L. tuzetae persiste huit jours après l'injection dans le coelome de N. diversicolor de Leucine ^3H .
- la dégradation du paraglycogène emprunte la voie du Glucose-1-Phosphate.

En résumé, l'étude des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes souligne l'abondance et la variété des problèmes biologiques. Si ce travail permet de connaître les principaux stades évolutifs du cycle des Selenidiidae, Lecudinidae, Urosporidae et Gonosporidae parasites d'Annélides Polychètes, les caractères ultrastructuraux des trophozoïtes des principales espèces et certains aspects de la physiologie cellulaire des trophozoïtes, il reste encore de nombreux problèmes.

Il apparaît en effet urgent de préciser les caractères ultrastructuraux de la reproduction de ces Grégarines, d'approfondir avec les techniques de cytochimie et d'autoradiographie ultrastructurales les mécanismes de physiologie cellulaire, non seulement des trophozoïtes, mais aussi des autres stades. L'enkystement des Grégarines intestinales est rapide, aussi est-il permis d'envisager raisonnablement une étude du comportement des acides nucléiques et des protéines basiques au cours de l'apparition des noyaux gamétiques ; les Selenidiidae constituent, rappelons-le, un matériel de choix.

La limite de nos recherches actuelles est incontestablement la difficulté de l'obtention massive de Grégarines. Toutefois le choix d'un élevage favorable et le développement des cultures de parasites permettent de penser que

cette difficulté pourra être surmontée dans un avenir proche. A ce moment-là, les Grégarines avec leurs inclusions si particulières que sont, par exemple, le paraglycogène et les corps denses antérieurs, pourront être étudiées par les méthodes biochimiques.

Ces différents problèmes constituent les perspectives de recherche dans lesquelles nous pensons devoir continuer.

BIBLIOGRAPHIE

1. AIKAWA M., 1966. The fine structure of the erythrocytic stages of three avian malarial parasites, Plasmodium fallax, P. lophurae, and P. cathemerium. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 15, 449-471.
2. AIKAWA M., HEPLER P.K., HUFF C.G. et SPRINTZ H., 1966. The feeding mechanism of avian malarial parasites. J. Cell Biol., 28, 355-373.
3. AIKAWA M., HUFF C.G., SPRINTZ H., 1967. Fine structure of the asexual stages of Plasmodium elongatum. J. Cell Biol., 34, 229-249.
4. AMOUREUX L., 1966. Etude bionomique et écologique de quelques Annélides Polychètes des sables intertidaux des côtes Ouest de la France. Arch. Zool. Exp. et Gén., 106, 1-218.
5. ANDERSON W. et ANDRE J., 1968. The extraction of some components with pronase and pepsin from thin sections of tissue embedded in an epon-araldite mixture. J. de Microscopie, 7, 343-353.
6. ANDRE J. et THIERY J.P., 1963. Mise en évidence d'une sous-structure fibrillaire dans les filaments axonématiques des flagelles. J. de Microscopie, 2, 71-80.
7. ARVY L., 1952. Sur deux parasites de Phascolion strombi (Mont.) Bull. du Lab. de Dinard, 36, 7-13.
8. BARDELE C.F., 1966. Elektronen mikroskopische Untersuchung an dem Sporozoon Eucoccidium dinophili Grell. Zeitsch. Zellforsch., 74, 559-595.
9. BATHIA B.L. et SETNA S.B., 1938. On some Gregarines parasites from certain Polychete Worms from Andaman Islands. Proc. Indian Academy of Sciences, 8 B, 231-242.
10. BEAMS H., TAHMISIAN T., DEVINE R. et ANDERSON E., 1957. Ultrastructure of the nuclear membrane of a Gregarine parasitic in grasshoppers. Exp. Cell Research, 13, 200-204.

11. BEAMS H., TAHMISIAN T., DEVINE R. et ANDERSON E., 1959. Studies on the fine structure of a Gregarine in the gut of the grasshopper, Melanophus differentialis. J. Protozool., 6, 136-146.
12. BEBBINGTON A., BOURNE E.J., STACEY M. et WILKINSON I.A., 1952. The Q-enzyme of Polytomella coeca. J. Chem. Soc. 240.
13. BEHNKE O. et FOREP A., 1967. Evidence for four classes of microtubules in individual cells. J. Cell Sci., 2, 169-192.
14. BENNETT H.S., 1963. Morphological aspects of extracellular polysaccharides. J. Hist. Cytochem., 11, 14.
15. BERNHARD W., 1968. Une méthode de coloration régressive à l'usage de la microscopie électronique. C.R. Acad. Sci., 267, 2170-2173.
16. BERNHARD W. et GRANBOULAN N., 1968. Electron microscopy of the nucleolus in vertebrate cells. Dans : Ultrastructure in biological systems, Dalton A. et Hagenau F. éd., Academic Press, N.Y., 3, 81-149.
17. BIRNSTIEL M.L. et FLAMM W.G., 1964. Intranuclear site of histone synthesis. Science, 145, 1435-1437.
18. BLOCH D.L., 1966. Cytochemistry of Histones. Protoplasmatologia, Bd 3, 1-56.
19. BOGOLEPOVA I.J., 1953. Les Grégarines de la Baie Pierre Le Grand (en russe). Trav. Inst. Zool. Acad. Sci. URSS, 13, 38-55.
20. BRACHET J., 1965. Le rôle des acides nucléiques dans la morphogénèse. Année Biologique, 4, 2-48.
21. BRASIL L., 1904. Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides Polychètes. L'épithélium intestinal de la Pectinaire. Arch. Zool. Exp., Série 4, 2, 91-255.
22. BRASIL L., 1905. Recherches sur la reproduction des Grégarines Monocystidées. Arch. Zool. Exp., Série 4, 3, 17-38.
23. BRASIL L., 1905 a. Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines Monocystidées. Arch. Zool. Exp., Série 4, 4, 69-99.
24. BRASIL L., 1907. Recherche sur le cycle évolutif des Selenidiidae, Grégarines parasites d'Annélides Polychètes. I. La schizogonie et la croissance des gamétocytes chez Selenidium caulleryi n. sp. Arch. f. Protistank., 8, 370-397.

25. BRASIL L., 1908. Le genre Doliocystis Léger. C.R. Acad. Sc., 146, 425-427.
26. BRASIL L., 1908 a. La croissance de Doliocystis elongata dans l'intestin des Lumbriconereis impatiens, Clap. C.R. Soc. Biol., 64, 355-356.
27. BRASIL L., 1909. Documents sur quelques Sporozoaires d'Annélides. Arch. f. Protistenk., 16, 107-142.
28. BRASIL L. et FANTHAM H.B. Sur l'existence chez les Sipunculieus de Schizogregarines appartenant à la famille des Selenidiidae. C.R. Acad. Sci., 114, 518-520.
29. BURT D.R.R., DENNY M. et THOMASSON L.A., 1963. On Ditrypanocystis cirratuli gen. nov., sp. nov. a Gregarine possessing undulating membranes. Parasitology, 53, 12.
30. BÜTSCHLI O., 1885. Bemerkungen über einen den glycogenen verwandten Körper in den Gregarinen. Zeitsch. f. Biol., 21, 603-612.
31. BÜTTNER D.W., 1967. Die Feinkstruktur der Merozoiten von Theileria parva. Zeitf. f. Tropenmedizin und Parasitologie, 18, 224-244.
32. BÜTTNER D.W., 1968. Das Cytostom von Lankesterella garnhami. Zeitsch. Zellforsch., 88; 126-137.
33. CARO L.G. et PALADE G.E., 1964. Protein synthesis, storage and discharge in the pancreatic exocrine cell. An autoradiographic study. J. Cell Biol., 20, 473-495.
34. CAULLERY M., 1950. Le Parasitisme et la Symbiose. 2ème édition. Editeurs Douin, Paris.
35. CAULLERY M. et MESNIL F., 1898. Sur une Grégarine coelomique nouvelle présentant dans son cycle évolutif, une phase de multiplication asporulée. C.R. Soc. Biol., 50, 65-68.
36. CAULLERY M. et MESNIL F., 1898 a. Les formes épitoques et l'évolution des Cirratulien. Ann. Univers. Lyon. Fascicule 34.

37. CAULLERY M. et MESNIL F., 1899. Sur quelques parasites internes des Annélides. I. Grégarines nématoides des Annélides : G. Selenidium Giard. Trav. Stat. Zool. Wimereux., 7, 80-99.
38. CAULLERY M. et MESNIL F., 1900. Sur les parasites internes des Annélides Polychètes en particulier celles de la Manche. C.R. Ass. Fr. Avanc. Sciences, Boulogne-sur-Mer, 1899, 491-496.
39. CAULLERY M. et MESNIL F., 1900 a. Sur un mode particulier de division nucléaire chez les Grégarines. Arch. Anat. Microsc., 3, 146-167.
40. CAULLERY M. et MESNIL F., 1901. Le parasitisme et la reproduction asexuée des Grégarines. C.R. Soc. Biol., 52, 84-87.
41. CAULLERY M. et MESNIL F., 1914. Sur l'existence de Grégarines Dicystidées chez les Annélides Polychètes. C.R. Soc. Biol., 77, 516-520.
42. CAULLERY M. et MESNIL F., 1919. Metchnikovellidae et autres Protistes parasites des Grégarines d'Annélides. Ann. Inst. Pasteur, 33, 209-240.
43. CECCONI J., 1905. Sur l'Anchorina sagittata Leuck., parasite de Capitella capitata. Arch. f. Protistenk., 6, 230-244.
44. CHANGEUX J.P., 1961. Contribution à l'étude des animaux associés aux Holothuries. Vie et Milieu. Suppl. 10, 1-124.
45. CHARRET R., 1969. L'A.D.N. nucléolaire chez Tetrahymena pyriformis : chronologie de sa replication. Exp. Cell Research (sous presse).
46. CHEISSIN E.M., 1959. Cytochemical investigations of different stages of the life cycle of Coccidia of the rabbit. Proc. XV Intern. Congress of Zoology, London, 713-716.
47. CHESSIN E.M. et POLJANSKY G.I., 1963. On the taxonomic system of Protozoa. Acta Protozoologica, 31, 327-352.
48. CHEISSIN E.M. et SNIGIREVSKAYA E.S., 1965. Some new data on the fine structure of the merozoites on Eimeria intestinalis (Sporozoa, Eimeriidae). Protistologica, 1, 121-126.

49. CLAPAREDE E., 1861. Etudes anatomiques sur les Annélides, Turbellariés, Opalines et Grégarines observés dans les Hébrides. Mém. Soc. Phys. et Hist. nat. Genève, 16.
50. CLEVELAND L.R., 1957. Correlation between the molting period of Cryptocercus and sexuality of its Protozoa. J. Protozool., 4, 168-175.
51. CLEVELAND L.R., 1959. Sex induced with ecdysone, Proc. Nation. Sci., U.S.A., 45, 747-753.
52. COLLEY F.C., 1967. Fine structure of sporozoites of Eimeria nieschulzi. J. Protozool., 14, 217-220.
53. Committee on Taxonomic Problems of the Society of Protozoologists, 1964. A revised classification of the phylum Protozoa. J. Protozool., 11, 7-20.
54. CORBEL J.C., 1964. Infestations expérimentales de Locusta migratoria L. (Insecte, Orthoptère) par Gregarina garnhami Canning (Sporozoaire, Grégarinomorphe) : relation entre le cycle de l'hôte et celui du parasite. C.R. Acad. Sci., 259, 207-210.
55. CORBEL J.C., 1965. Remarques sur l'incorporation de ^{35}S par une Grégarine intestinale d'Insecte Orthoptère. C.R. Acad. Sci., 261, 3669-3671.
56. CORBEL J.C., 1966. Contribution à l'étude des Grégarines d'Orthoptères. Thèse Faculté des Sciences Paris.
57. COWGILL R.W. et CORI C.F., 1955. The conversion of inactive phosphorylase to phosphorylase b and phosphorylase a in lobster muscle extract. J. Biol. Chem., 216, 133-140.
58. COX F.E.G., 1965. Ditrypanocystis cirratuli (Sporozoa Archigregarinida) parasitic in Cirratulus cirratus from Plymouth. J. Mar. Biol. Ass., U.K., 45, 59-64.
59. COX F.E.G. et VICKERMAN K., 1966. Pinocytosis in Plasmodium vinckei. Ann. Trop. Med. Parasit., 60, 293-296.
60. CUNNINGHAM J.T., 1907. On Kalpidorhynchus arenicolae a new Gregarine, parasitic in Arenicola ecaudata. Arch. f. Protistenk., 10, 199-215.

61. CURGY J.J., 1968. Influence du mode de fixation sur la possibilité d'observer des structures myéliniques dans les hépatocytes d'embryons de poulet. J. Microscopie, 7, 63-80.
62. DANIELS M.I., 1938. A cytological study of the Gregarines parasites of Tenebrio molitor, using the ultracentrifugation. Quart. Journ. Microsc. Sci., 80; 293-320.
63. DAY E.D., 1968. Structure and function of the nucleolus in developing cells. Dans : Ultrastructure in biological systems, Dalton A. et Hagenau Edit., Academic Press, N.Y., 3, 1-79.
64. DEHORNE A., 1930. La formation plasmodiale et les kystes à mérozoïtes de Sabellaria spinulosa Leuck. C.R. Soc. Biol., 104, 647-650.
65. DEHORNE A., 1931. Nouvelles observations sur le plasmode généralisé et les kystes à mérozoïtes de Sabellaria spinulosa Leuck. C.R. Acad. Sci., 192, 1139-1140.
66. DEHORNE A., 1933. La schizométabolisme et les segments tétragemmes de Dodecaceria caulleryi, n. sp., Bull. Biol. Fr. et Belg., 57, 298-326.
67. DESPORTES I., 1966. L'ultrastructure de la jonction entre le primitive et le satellite des associations de Gregarina blattarum Sieb. (Eugregarines, Gregarinidae). C.R. Acad. Sci., 262, 1869-1870.
68. DESPORTES I., 1967. Ultrastructure et évolution du sporozoïte de Stylocephalus africanus Théodoridès, Desportes et Jolivet, Eugregarine, Stylocephalidae. C.R. Acad. Sci., 265, 423-426.
69. DEVAUCHELLE G., 1968. Etude ultrastructurale du développement des Gregarines du Tenebrio molitor L. Protistologica, 4, 313-332.
70. DHAINAUT A., 1964. Contribution à l'étude du métabolisme de l'A.R.N., par incorporation de ^3H -Uracile, au cours de l'ovogénèse chez Nereis diversicolor O.F. Müller (Annélide Polychète). Bull. Soc. Zool., 89, 408-412.
71. DIBB M.J., 1938. Selenocystis foliata (Ray) from Scolecopsis fuliginosa Clpde and its identity with Haplozoon sp. Parasitology, 30, 296-308.

72. DODGE J.D. et CRAWFORD R.M., 1968. Fine structure of the Dinoflagellate Amphidinium carteri Hulbert. Protistologica, 4, 231-241.
73. DOGIEL V.A., POLJANSKY J.I. et CHEISSIN E.M., 1965. Général Protozoology, 2ème édition. Oxford University Press, 1-741.
74. DROCHMANS P., 1962. Morphologie du glycogène. Etude au microscope électronique de colorations négatives du glycogène particulaire. J. Ultr. Research, 6, 141-163.
75. DROZ B., 1967. Synthèse et transfert des protéines cellulaires dans les neurones ganglionnaires. Etude radio-autographique quantitative en microscopie électronique. J. de Microscopie, 6, 201-228.
76. DURCHON M., 1952. Recherches expérimentales sur deux aspects de la reproduction chez les Annélides Polychètes : l'épitoquie et la stolonisation. Ann. Sci. Nat., Zool., 11ème série, 14, 119-206.
77. DURCHON M., 1959. Contribution à l'étude de la stolonisation chez les Syllidiens (Annélides Polychètes) : I. Syllinae. Bull. Biol. France et Belgique, 93, 155-219.
78. DURCHON M. et VIVIER E., 1961. Déterminisme de la gamogonie chez une Grégarine parasite de Perinereis cultrifera Grube (Annélide Polychète). C.R. Acad. Sci., 253, 318-320.
79. DURCHON M. et VIVIER E., 1964. Influence des sécrétions endocrines sur le cycle des Grégarines chez les Néréidiens (Annélides Polychètes). Annales d'Endocrinologie, Paris, 25 suppl., 43-48.
80. ELLIOT A.M. et BAK I.J., 1964. The Contractile Vauole and Related Structures in Tetrahymena pyriformis. J. Protozool., 11, 250-261.
81. FANTHAM A.B., 1908. The Schizogregarines : a review and new classification. Parasitology, 1, 369-412.
82. FAURE-FREMIET E. et ANDRE J., 1968. Structure corticale d'une Amibe édaphique. Protistologica, 4, 195-206.

83. FAURE-FREMIET E., FAVARD P., CARASSO N., 1962. Etude au microscope électronique des ultrastructures d'Epistylis anastatica (Cilié Péritriche). J. de Microscopie, 1, 287-312.
84. FAUVEL P., 1923. Polychètes Errantes. Faune de France, P. Lechevalier Edit., Paris.
85. FAUVEL P., 1927. Polychètes Sédentaires. Faune de France, P. Lechevalier Edit., Paris.
86. FAVARD P. et CARASSO N., 1963. Mise en évidence d'un processus de micropinocytose interne au niveau des vacuoles digestives d'Epistylis anastatica (Cilié Péritriche). J. de Microscopie, 2, 495-498.
87. FAVARD P. et CARASSO N., 1964. Etude des vésicules de micropinocytose interne chez les Ciliés Péritriches. Third European Regional Conference on Electron Microscopy, Prague, Publishing House of Czechoslov. Acad. Sc., Prague, 13, B, 197-198.
88. FAWCETT D.W., 1966. On the occurrence of a fibrous lamina on the inner aspect of the nuclear envelope in certain cells of vertebrates. Amer. J. Anat., 119, 129-146.
89. FELDHERR C.H., 1968. Nucleocytoplasmic exchanges during early interphase. J. Cell Biol., 39, 49-54.
90. FICQ A., 1961. Contribution à l'étude du métabolisme cellulaire au moyen de la méthode autoradiographique. Inst. Interuniv. des Sciences Nucléaires, Bruxelles, 9, 7-121.
91. FILIPPONI A., 1950. Studi sigli Stylocephalidae (Sporozoa). III. Fecondita dei parassiti e grado di inferzione dei loro ospiti. Riv. Parasitol., Ital., 11, 171-186.
92. FLETCHER K.A. et MAEGRAITH B.G., 1962. Intracellular Phagotrophy by Plasmodium knowlesi. Ann. Trop. Med. Parasit., 56, 492-495.
93. FOWELL R.R., 1936 a. The fibrillar structures of Protozoa, with special reference to Schizogregarines of the genus Selenidium. J. R. Micr. Soc. London, 56, 12-28.

94. FOWELL R.R., 1936 b. Observations on the Sporozoa inhabiting the gut of the Polychaete Worm Polydora flava Claparède. Parasitology, 28, 414-430
95. FRIEND D.S., 1965. The fine structure of Brunner's gland in the mouse. J. Cell Biol., 25, 563-576.
96. GANAPATI P.N., 1946 a. On Lecudina pellucida (Kolliker) Mingazzini (1891) from the gut of Nereis chilkaensis Southern. Proc. Ind. Acad. Sci. 23 B, 211-227.
97. GANAPATI P.N., 1946 b. Notes on some Gregarines from Polychaetes of the Madrast Coast. Proc. Ind. Acad. Sci., 23 B, 228-248.
98. GANAPATI P.N. et AIYAR R.G., 1937. Life history of a dicystid Gregarine Lecudina brasili n. sp. parasitic in the gut of Lumbriconereis. Arch. f. Protistenk., 89, 113-132.
99. GARNHAM P.C.C., 1963. The ultrastructure of Haemosporidia and allied Protozoa with special reference to the motile stages. Dans : Progress in Protozoology Proceed. 1rst Int. Congr. on Protozoology, Prague, 1961, Publ. House of Czeckosl. Acad. Sci., 427-433.
100. GARNHAM P.C.C., BIRD R.G., BAKER J.R. et FRAY R.S., 1961. Electron Microscope Studies of Motile Stages of Malaria Parasites. II. The Fine Structure of the Sporozoite of Laverania (= Plasmodium) falcipara. Tr. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg., 55, 98-102.
101. GARNHAM P.C.C., BAKER J.R. et BIRD R.G., 1962. The fine structure of Lankesterella garnhami. J. Protozool., 9, 107-114.
102. GEORGE J.D., 1964. On some environmental factors affecting the distribution of Cirriiformia tentaculata (Polychaeta) at Hamble. J. Mar. Biol. Ass., U.K., 44, 373-388.
103. GIARD A., 1884. Note sur un nouveau groupe de Protozoaires parasites d'Annélides Polychètes et sur quelques points de l'histoire des Grégarines (Selenidium pendula). C.R. Ass. fr. Avanc. Sci., Congrès de Blois, p. 192.

104. GIBBONS A.V. et CLEVELAND L.R., 1964. The fine structure and function of the contractile axostyles of certain Flagellates. J. Cell Biol., 24, 387-400.
105. GÖHRE E., 1943. Untersuchungen über den plasmatischen Feinbau der Gregarinen mit besonderer Berücksichtigung der Sexualitätsverhältnisse. Arch. f. Protistenk., 96, 295-324.
106. GOLDSTEIN L., 1963. RNA and Protein in nucleocytoplasmic interactions. Symp. Intern. Society for Cell Biol. Ed. R.J.C. HARRIS, Academic Press, New-York, 2, 129-149.
107. GOODRICH E. et DIXELL-GOODRICH H.C.M., 1921. Gonospora minchini n. sp. a Gregarine inhabiting the egg of Arenicola. Quart. Journ. Micr. Sc., 65, 157-162.
108. GRAIN J., 1966. Etude cytologique de quelques Ciliés Holotriches endocommensaux des Ruminants et des Equidés. Protistologica, 2, 3-52.
109. GRANBOULAN N. et GRANBOULAN P., 1964. Cytochimie ultrastructurale du nucléole. I. Mise en évidence de chromatine à l'intérieur du nucléole. Expl. Cell Res., 34, 71-87.
110. GRANBOULAN N. et GRANBOULAN P., 1965. Cytochimie ultrastructurale du nucléole. II. Etude des sites de synthèse de RNA dans le nucléole et le noyau. Expl. Cell Res., 38, 604-619.
111. GRASSE P.P., 1953. Traité de Zoologie. T. I., fasc. II, Masson et Cie Editeurs, Paris.
112. GRASSE P.P. et THEODORIDES J., 1957. L'ultrastructure de la membrane nucléaire des Grégarines. C.R. Acad. Sci., 245, 1985-1986.
113. GRASSE P.P. et THEODORIDES J., 1958. La présence de l'ergastoplasme chez les Protozoaires (cas des Grégarines). C.R. Acad. Sci., 246, 1352-1353.
114. GRASSE P.P. et THEODORIDES J., 1959. Recherches sur l'ultrastructure de quelques Grégarines. Ann. Sci. Nat., Zool., 12^e série, 1, 237-252.

115. GUHA S.B., 1962. Etudes histochimiques à propos de la phosphorylase et de "branching enzyme". Thèse Faculté des Sciences Paris.
116. GUHA S.B. et WEGMANN R., 1959. Etudes sur l'activité phosphorylasique. I. Une nouvelle méthode de mise en évidence de la phosphorylase. Ann. Histochem., 4, 103-114.
117. GUHA S.B. et WEGMANN R., 1966. The use of ^{14}C labelled substrate in histochemical demonstration of different forms of phosphorylase. Histochemic, 6, 350-361.
118. GUSTAFSON P.V., AGAR H.D. et CRAMER D.I., 1954. An electron microscopy study of Toxoplasma. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 3, 1008-1021.
119. HAMMOND D.M., SCHOLTYSECK E. et CHOBOTAR B., 1967. Fine Structures Associated with Nutrition of the Intracellular Parasite Eimeria auburnensis. J. of Protozool., 14, 678-683.
120. HENNERE E., 1967. Etude cytologique des Premiers Stades du Développement d'une Coccidie : Myriosporides amphiglanæ. J. Protozool., 14, 27-39.
121. HENTSCHEL C.C., 1926. On the correlation of the life-history to the Acephalina Gregarine, Gonospora, with the sexual cycle of the host. Parasitology, 18, 137-143.
122. HENTSCHEL C.C., 1930. On the correlation of the Acephalina Gregarine, Gonospora with the sexual cycle of its host. II. Gonospora arenicolæ. Parasitology, 22, 505-509.
123. HEPLER P.K., HUFF J.G. et SPRINZ H., 1966. The fine structure of the exoerythrocytic stages of Plasmodium fallax. J. Cell Biol., 30, 333-358.
124. HERPIN R., 1925. Recherches biologiques sur la reproduction et le développement de quelques Annélides Polychètes. Bull. de la Soc. des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France 4^o série, 5, 1-250.
125. HESSE E., 1909. Contribution à l'étude des Monocystidées des Oligochètes. Arch. Zool. Exp. et gén., 43, 27-301.

126. HURLBERT R.E. et RITTENBERG S.C., 1962. Glucose metabolisme of Euglena gracillis var. bacillaris ; growth and enzymatic studies. J. Protozool., 9, 170-182.
127. HOSHIDE H., 1958. Studies on the cephaline Gregarines of Japan. II. Description of those belonging to the Families Lecudinidae, Polyrhadinidae, Cephaloidophoridae and Stenophoridae. Bull. Fac. Educ. Japon, 6, 97-157.
128. JAMESON A.P., 1920. The chromosome-cycle of Gregarines with special reference to Diplocystis schneideri. Quart. J. microsc. Sci., 64, 207-266.
129. JAMIESON J.D. et PALADE G.E., 1967 a. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I. Role of the Peripheral Elements of the Golgi complex. J. Cell Biol., 34, 577-596.
130. JAMIESON J.D. et PALADE G.E., 1967 b. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. II. Transport to Condensing Vacuoles and Zymogen Granules. J. Cell. Biol., 34, 597-615.
131. JAMIESON J.D. et PALADE G.E., 1968 a. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cells. III. Dissociation of Intracellular Transport from Protein Synthesis. J. Cell. Biol., 39, 580-588.
132. JAMIESON J.D. et PALADE G.E., 1968 b. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cells. IV. Metabolic Requirements. J. Cell Biol., 39, 589-603.
133. JOYET-LAVERGNE P.H., 1926. Recherches sur le cytoplasme des Sporozoaires. Arch. Anat. Microsc., 22, 1-128.
134. KAMM. M.E., 1922. Studies on Gregarines. Illinois Biol. Monogr., 7, 1-100.
135. KALIFAT S.R., BOUTEILLE M. et DELARUE J., 1967. Etude ultrastructurale de la lamelle dense observée au contact de la membrane nucléaire interne. J. de Microscopie, 6, 1019-1026.
136. KARNOVSKY M.Y., 1961. Simple methods for "staining with lead" at high pH in electron microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol., 11, 729-732.

137. KELLER P.J. et CORI G.T., 1955. Purification and properties of the Phosphorylase-Rupturing enzyme. J. Biol. Chem., 214, 127-134.
138. KLUG H., 1959. Cytomorphologische Untersuchungen an Gregarines. Biol. Zbl. 78, 630-650.
139. KÖLLIKER A., 1845. Die Lehre von der thierischen Zelle. Z. f. Wiss. Bot., 2, 46.
140. KÖLLIKER A., 1849. Beiträge sur Kenntniss niederer Thiere. Ueber die Gattung Gregarina L. Dufour. Z. Wiss. Zool., 1, 1-37.
141. KUMMEL G., 1958. Die Gleitbewegung der Gregarinen Elektronenmikroskopische und experimentelle Untersuchungen. Arch. f. Protistenk. 102, 501-522.
142. LABBE A., 1899. Sporozoa. Das Tierreich Lief 5.
143. LABBE A. et RACOVITZA E.G., 1897. Pterospora maldaneorum n. g., n. sp., Grégarine nouvelle parasite des Maldaniens. Bull. Soc. Zool. Fr., 22, 92-97.
144. LACY D.D. et MILES H.B., 1959. Observations by electron microscopy on an Acephaline Gregarine (Apolocystis elongata Phillips and Mackinnon). Nature G.B., 183, 1456-1457.
145. LAINSON R., BAKER J.R., BIRD J.R., GARNHAM P.P.C. et HEALEY P., 1961. Electron micrographs of Bankesterella (Atoxoplasma) from english sparrows. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 55, 9.
146. LANG K., 1954. Paragonospora typica n. g., n. sp., from the body cavity of Terebellides Strömi Lars. Ark. Zool. Stockholm, 6, 441-442.
147. LANKESTER R.E., 1863. On our present knowledge of the Gregarinidae with descriptions of three new species belonging to that class. Quart. J. Microsc. Sci., 3, N.S., 83-96.
148. LEGER L., 1892. Recherches sur les Grégarines. Tablettes Zoologiques, 3, 1-183.
149. LEGER L., 1893. L'évolution des Grégarines intestinales des Vers marins. C.R. Acad. Sci., 116, 204-206.

150. LEGER L., 1904. La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. f. Protistenk., 3, 303-357.
151. LEGER L., 1907. Les Schizogregarines des Trachéates. I. Le genre Ophryocystis. Arch. f. Protistenk., 8, 159-215.
152. LEGER L., 1910. Les Schizogregarines des Trachéates. II. Le genre Schizocystis. Arch. f. Protistenk., 18, 83-110.
153. LEGER L. et DUBOSCQ O., 1902. Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les Trachéates. Arch. de Parasit., 6, 377-472.
154. LEGER L. et DUBOSCQ O., 1904. Nouvelles recherches sur les Grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates. Arch. f. Protistenk., 4, 335-383.
155. LEGER L. et DUBOSCQ O., 1909. Etude sur la sexualité des Grégarines. Arch. f. Protistenk., 17, 19-134.
156. LEGER L. et DUBOSCQ O., 1917. Sporozoaires de Glossobalanus minutus Kow. Eimeria epidermica n. sp. ; Eimeria beauchampi n. sp. ; Selenidium metchnikowi n. sp. Annales de l'Institut Pasteur 31, 60-72.
157. LENHINGER A.L., 1964. The mitochondrion. W.A. Benjamin Inc., New-York, Amsterdam.
158. LEVINE N., 1961. Problems in the systematics of "Sporozoa". J. Protozool., 8, 442-452.
159. LEVINE N., 1969. Communication personnelle.
160. LISON L., 1958. Statistique appliquée à la Biologie Expérimentale. Gauthiers-Villars Editeur, Paris.
161. LISON L., 1960. Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes. Gauthiers-Villars Editeur, Paris.
162. LOUBATIERES R., 1955. Contribution à l'étude des Grégarinomorphes Monocystidae parasites des Oligochètes du Languedoc-Roussillon. Ann. Sci. Nat., Zool. Biol. An., 17, 73-201.

163. LUDVIK J., 1958. Elektronenoptische Befunde zur Morphologie der Sarcosporiden (Sarcocystis tenella Railliet, 1886). Zentralbl. Bakt. parasitenk. Inf. Hyg., 172, 330-350.
164. LUDVIK J., 1960. The electron microscopy of Sarcocystis miescheriana Kuhn, 1865. J. Protozool., 7, 128-135.
165. LUDVIK J., 1963. Electron microscope study of some parasitic Protozoa. In Progress in Protozoology, Proc. 1st Intern. Congr. Protozool., Prague, 1961, Publ. House of Czechosl. Acad. Sc., 370.
166. MAC GREGOR H.C. et THOMASSON P.A., 1965. The fine structure of two Archigregarines, Selenidium fallax and Ditrypanocystis cirratuli. J. Protozool., 12, 438-443.
167. MACKINNON D.L. et HAWES R.S.J., 1961. An introduction to the study of Protozoa. Clarendon Press Edit., Oxford.
168. MACKINNON D.L. et RAY H.N., 1931. Observations on Dicytid Gregarines from Marine Worms. Quart. Journ. Micr. Sci., 74, 439-466.
169. MACKINNON D.L. et RAY H.N., 1933. The life cycle of two species of "Selenidium" from the Polychaete Worm Potamilla reniformis. Parasitology, 25, 143-162.
170. MATTINGLY S.A., 1963. Nuclear Protein synthesis in Vicia faba. Exp. Cell Res., 29, 314-326.
171. MAUPAS E., 1886. Sur les granules amylicés du cytosome des Grégarines. C.R. Acad. Sci., 102, 120-123.
171. MAZANEC K., 1967. Présence de la "Zonula Nucleum Limitans" dans quelques cellules humaines. J. de Microscopie, 6, 1027-1032.
172. MIGNOT J.P., 1966. Structure et ultrastructure de quelques Euglénomanadines. Protistologica, 2, 51-117.
173. MINCHIN E.A., 1903. Sporozoa. Treat on Zoology, Ed. R.E. Lankester, London Part 1, fasciculé 2.

174. MINCHIN E.A., 1912. An Introduction to the study of Protozoa. London.
175. MINGAZZINI P., 1891. Gregarine monocistidee nuove o poco conosciute, de Golfo di Napoli. Rend. Accad. Lincei, 4, 467-474.
176. MINGAZZINI P., 1893. Contributo alla conoscenza degli Sporozoi. Ric. Lab. Anat. Norm. Univ. Roma, 3, 31-35.
177. MOSSEVITCH T.N. et CHEISSIN E.M., 1961. Observations au microscope électronique des mérozoïtes d'Eimeria intestinalis, parasite de lapin (en russe). Cytologia, 3, 34-39.
178. MOULD D.L. et THOMAS G.J., 1958. The enzyme degradation of starch by Holotrich Protozoa from sheep remen. Biochem. J., 69, 327-337.
179. MÜLLER M. et RÖHLICH P., 1961. Studies on feeding and digestion in Protozoa. II. Food vacuole cycle in Tetrahymena corlissi. Acta morphologica, 10, 297-305.
180. MÜLLER M., RÖHLICH P., TOTH J. et TÖRÖ I., 1963. Fine structure and enzymatic activity of Protozoan Food Vacuoles. Dans Ciba Foundation Symposium on Lysosomes, J. et A. Churchill Edit., London, 201-216.
181. NATH V. et DUTTA G.P., 1962. Cytochemistry of Protozoa, with Particular Reference to the Golgi Apparatus and the Mitochondria. Int. Rev. of Cytology, Bourne G.H. et Danielli J.F., Edit, Acad. Press, 13, 323-355.
182. NAVILLE A., 1927. Le cycle chromosomique d'Urospora lagidis (Saint-Joseph). Parasitology, 19, 100-138.
183. NEUTRA M. et LEBLOND C.P., 1966 a. Synthesis of the carbohydrate of mucus in the Golgi complex as shown electron microscope radioautography of globet cells from Rats injected with glucose ^{-3}H . J. Cell Biol., 30, 119-136.
184. NEUTRA M. et LEBLOND C.P., 1966 b. Radioautographic comparaison of the uptake of galactose ^{-3}H and glucose ^{-3}H in the Golgi region of various cells secreting glycoproteins or mucopolysaccharides. J. Cell Biol., 30, 137-150.

185. NORBY R. et LYCKE E., 1967. Factors Enhancing the Host-Cell Penetration of Toxoplasma gondii. J. of Bacteriology, 93, 53-58.
186. OVTRACHT L., 1967. Ultrastructure des cellules sécrétrices de la glande multifide de l'escargot. J. de Microscopie, 6, 773-790.
187. PATILLO W. et BECKER E.R., 1955. Cytochemistry of Eimeria brunetti and E. acervulina of the chicken. J. Morphology, 96, 61-96.
188. PATRIZI G. et POGER M., 1967. The ultrastructure of the nuclear periphery. The Zonula Nucleum Limitans. J. Ultrastr. Res., 17, 137-157.
189. PEASE D.C., 1963. The ultrastructure of flagellar fibrils. J. Cell Biol., 18, 313-326.
190. PIXELL-GOODRICH H.L.M., 1916. The Gregarines of Glycera siphonostoma. Quart. Journ. Micr. Sci., 61, 205-216.
191. PORCHET-HENNERE E., 1967. Etude des premiers stades de développement de la Coccidie Coelotropha durchoni. Z. Zellforsch., 80, 556-569.
192. PORCHET-HENNERE E., 1969. Observations sur la cytologie, l'ultrastructure et la physiologie de quelques Coccidies parasites d'Annélides Polychètes. Thèse Faculté des Sciences de Lille.
193. PORTER A., 1908. Merogregarina amaroucii, n. g., n. sp., a Sporozoön from the digestive tract of the Ascidian, Amaroucium sp. Arch. f. Protistenk., 15, 227-248.
194. PRENANT M., 1939. Etudes de bionomie intercotidale. La baie de Douardenez et ses abords. Bull. Biol. Fr. et Belg., 73, 451-476.
195. PRESCOTT D.M., 1963. R.N.A. and Protein replacement in the nucleus during growth and division and the conservation of components in the chromosome. Dans Symposia of the International Society for Cell Biology, Ed. R.J.C. Harris, Acad. Press, N.Y., 2, 111-128.
196. PUYTORAC P. (de), 1965. Ultrastructures fibrillaires et ultrastructures squelettiques cytoplasmiques chez les Ciliés. Progress in Protozoology. Second Intern. Conf. on Protozoology, Londres, Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 80-90.

197. PUYTORAC P. (de) et SCHREVEL J., 1965. Nouvelles espèces de Ciliés Astomes endoparasites d'Annélides Polychètes. Ann. Fac. Sci. Univers. de Clermont-Ferrand, 26, 85-99.
198. RAY H.N., 1930 a. Studies on some Sporozoa in Polychaete Worms. I. Gregarines of the genus Selenidium. Parasitology, 22, 370-398.
199. RAY H.N., 1930 b. Studies on some Sporozoa in Polychaete Worms. II. Donisiella scolelepidis n. g., n. sp. Parasitology, 22, 471-480.
200. REED N., 1933. Sporogony in Selenidium mesnili Brasil, a Sporozoan parasite of Myxicola infundibulum. Parasitology, 25, 402-409.
201. REGER J.F., 1967. The fine structure of the Gregarine Pyxinoides balani, parasitic in the barnacle Balanus tintinnabulum. J. Protozool., 14, 488-497.
202. REICHENOW E., 1932. Sporozoa. Dans Die Tierwelt der Nord und Ostsee., Lief. 21, Akad. Verlagsg. Leipzig.
203. REID B.R. et COLE R.D., 1964. In vitro histone synthesis in cell thymus nuclei. Int. Congr. Biochem., 6, 237.
204. ROBINSON M., 1910. Reproduction of Kalpidorhynchus arenicolae (Gnglm). Quart. J. Micr. Sci., 54, 565-576.
205. ROSENBAUM R.M. et WITTNER M., 1962. The activity of intracytoplasmic enzymes associated with feeding and digestion in Paramecium caudatum. The possible relationship to neutral red granules. Arch. f. Protistenk., 106, 223-240.
206. ROSKIN G. et LEVINSON L.B., 1929. Die Kontraktilen und der Skelettapparat der Gregarinen (Monocystidae). Arch. f. Protistenk., 66, 355-401.
207. ROTH L.E., 1959. An electron microscope study of the cytology of the Protozoan Peranema trichophorum. J. Protozool., 6, 107-116.
208. ROTH L.E., 1960. Electron microscopy of pinocytosis and food vacuoles in Pelomyxa. J. Protozool., 7, 176-185.

209. RUDZINSKA M.A., 1958. An electron microscope study on the contractile vacuole in Tokophrya infusionum. J. Biophys. Biochem., 6, 195-202.
210. RUDZINSKA M.A., BRAY R.S. et TRAGER W., 1960. Intracellular phagotrophy in Plasmodium falciparum and Plasmodium gonderi. J. Protozool., 7 (Suppl.), 24-25.
211. RUDZINSKA M.A. et TRAGER W., 1957. Intracellular phagotrophy by malaria parasites : an electron microscope study of Plasmodium lophurae. J. Protozool., 4, 190-199.
212. RUDZINSKA M.A. et TRAGER W., 1959. Phagotrophy and two new structures in the malaria parasite Plasmodium berghei. J. Biophys. Biochem. Cytol., 6, 103-112.
213. RUDZINSKA M.A. et TRAGER W., 1962. Intracellular phagotrophy in Babesia rodhani as revealed by electron microscopy. J. Protozool., 9, 279-288.
214. RUDZINSKA M.A., TRAGER W. et BRAY R.S., 1963 a. Pinocytosis in intraerythrocytic parasites. Proc. XVI Intern. Congr. Zoology, Washington, D.C. 4, 204-207.
215. RUDZINSKA M.A., TRAGER W. et BRAY R.S., 1963 b. The fine structure of erythrocytic malaria parasites and Babesia. Seventh Intern. Congr. Trop. Med. and Malaria, Rio de Janeiro, 428-429.
216. RUDZINSKA M.A., TRAGER W. et BRAY R.S., 1965. Pinocytotic Uptake and Digestion of Hemoglobin in malaria parasites. J. Protozool., 12, 563-576.
217. RULLIER F., 1959. Etude bionomique de l'Aber de Roscoff. Trav. Stat. Biol. Roscoff (N.S.), 10, 350 Pages.
218. RYLEY J.F., MANNERS D.J. et STARK R.J., 1968. Amylopectin, the storage polysaccharide of Eimeria tenella. J. of Protozool., 15 suppl., 31.
219. SAINT-JOSEPH (Baron de), 1895. Les Annélides Polychètes des Côtes de Dinard. Ann. Sci. Nat., Zool., 7^o Série, 20, 185-275.

220. SCHNEIDER A., 1875. Contribution à l'histoire des Grégarines des Invertébrés de Paris et de Roscoff. Arch. Zool. Exp. et Gén., 4, 493-604.
221. SCHNEIDER L., 1960. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Nephridialsystem von Paramecium. J. Protozool., 7, 75-90.
222. SCHOLTYSECK E. et PIEKARSKI B., 1965. Elektronenmikroskopische untersuchungen an merozoiten von Eimerien (Eimeria perforans und E. stiedae) und Toxoplasma gondii. Z. Parasitenk., 26, 91-115.
223. SCHREVEL J., 1963 a. Grégarines parasites de quelques Eunicidae et Glyce-ridae (Annélides Polychètes). C.R. Soc. Biol., 157, 568-571.
224. SCHREVEL J., 1963 b. Grégarines nouvelles de Nereidae et Eunicidae. (Annélides Polychètes). C.R. Soc. Biol., 157, 814-816.
225. SCHREVEL J., 1964 a. Contribution à l'étude de trois Grégarines parasites d'Annélides Polychètes : Lecudina elongata Mingazzini, 1891 ; Lecudina tuzetae Schrevel, 1963 ; Gonospora varia Léger, 1892. Arch. Zool. Exp. et Gén., Protistologica, 104, 125-142.
226. SCHREVEL J., 1964 b. Influence de la température sur la Gamogonie de Lecudina tuzetae Schrevel, Grégarine parasite de Nereis diversicolor O.F. Müller. Proceedings of the Intern. Congress of Parasitology, Tamburini Editore, Milano, 598-599.
227. SCHREVEL J., 1965. Sur les spores de la Grégarine coelomique de Dodecaceria caullery Dehorne (Annélide Polychète). Arch. Zool. Exp. et Gén., Protistologica, 105, 97-99.
228. SCHREVEL J., 1966 a. Cycle de Selenidium pendula Giard 1884, Grégarine parasite de Nerine cirratulus Delle Chiage (Annélide Polychète). Protistologica, 2, 31-34.
229. SCHREVEL J., 1966 b. Aperçu sur les ultrastructures cytoplasmiques de la Grégarine Selenidium pendula Giard, parasite de Nerine cirratulus (Annélide Polychète). J. of Protozoology, 13 suppl., 40.

230. SCHREVEL J., 1968 a. L'ultrastructure de la région antérieure de la Grégarine Selenidium et son intérêt pour l'étude de la nutrition chez les Sporozoaires. J. de Microscopie, 7, 391-410.
231. SCHREVEL J., 1968 b. Données récentes sur la biologie des Grégarines de la famille des Selenidiidae : nécessité d'une révision systématique. J. of Protozoology, 15 Suppl., 43.
232. SCHREVEL J., 1968 c. Existence d'un pore d'excrétion chez les schizozoïtes de Sporozoaires. C.R. Acad. Sci., 267, 746-748.
233. SCHREVEL J., 1969. Etude de la nutrition chez les Sporozoaires : cas des Grégarines. Third Int. Conference of Protozoology, Leningrad.
234. SCHREVEL J. et DHAINAUT A., 1968. Incorporation d'Uridine ^3H et de Leucine ^3H chez Lecudina tuzetae Schrevel, Grégarine parasite de l'Annélide Polychète Nereis diversicolor O.F. Müller. C.R. Soc. Biol., 162, 465-467.
235. SCHREVEL J. et FOUQUET J.P., 1968. Mise en évidence d'une activité phosphorylasique chez une Grégarine. C.R. Acad. Sci., 267, 1297-1299.
236. SCHREVEL J., OGER C. et WISSOCQ J.C., 1968. Facteurs influençant la production des kystes des Grégarines parasites de l'Annélide Polychète Syllis amica Quatr. Etude quantitative : problèmes et méthodes. Protistologica, 4, 67-83.
237. SCHREVEL J. et VIVIER E., 1965. Aspects ultrastructuraux et cytochimiques du mucron et de l'épimérite de quelques Grégarines parasites d'Annélides Polychètes. Progress in Protozoology, Second International Conference of Protozoology, 147-148.
238. SCHREVEL J. et VIVIER E., 1966. Etude au microscope électronique de la région antérieure des Grégarines : le mucron de Lecudina pellucida (Koll.) Mingazzini et l'épimérite de Sycia inopinata Léger. Protistologica, 2, 17-28.
239. SCHAUD J., 1965. Ultrastructure comparée des endodyozoïtes de Sarcocystis tenella et de Toxoplasma gondii. In Progress in Protozoology, Second Intern. Conf. Protozool., Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 188.

240. SENAUD J., 1966. L'ultrastructure du micropyle des Toxoplasmasida. C.R. Acad. Sc., 262, 119-121.
241. SENAUD J., 1967. Contribution à l'étude des Sarcosporidies et des Toxoplasmes (Toxoplasmea). Protistologica, 3, 167-232.
242. SENAUD J. et PUYTORAC P. (de), 1962. Observations complémentaires sur l'ultrastructure de la "spore de Sarcocystis tenella Rail" (Sarcosporidie du Mouton). C.R. Soc. biol., 156, 1630-1633.
243. SENAUD J. et PUYTORAC P. (de), 1964. Observation de la Sarcosporidae du Lézard (Lacerta muralis). Arch. Zool. Exp. Gén., 104, 182-186.
244. SETNA S.B., 1931. On three new Gregarines, Bathiella marphysae n. g., n. sp., from Indian Polychetes. Rec. Ind. Mus., 33, 203-210.
245. SHEFFIELD H.G., 1966. Electron microscope study of the proliferative form of Besnoitia jellisoni. J. Parasitol., 52, 583-594.
246. SHEFFIELD H.G. et HAMMOND D.M., 1966. Fine structure of first generation merozoites of Eimeria bovis. J. Parasitol., 52, 595-606.
247. SHERMA N.N., ALBACH R.A., SHAFFER J.G., 1967. Incorporation of uridine-5-³H in Entamoeba histolytica and Bacteroides sp. of the CLG medium. J. of Protozool., 14 Suppl. 22.
248. SIEDLECKI M., 1903. Quelques observations sur le rôle des amibocytes dans le coelome d'une Annélide. Ann. Inst. Pasteur, 17, 449-462.
249. SIEKEWITZ P. et PALADE G.E., 1958. A cytochemical study on the pancreas of Guinea Pig. III. In vivo incorporation of Leucine 1-¹⁴C into the proteins of cell fractions. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 557-566.
250. SIEKEWITZ P. et PALADE G.E., 1960. A cytochemical study on the pancreas of Guinea Pig. V. In vivo incorporation of Leucine 1-¹⁴C into the chymotrypsinogen of various cell fractions. J. Biophys. Biochem. Cytol., 7, 619-630.
251. SIMPSON C.F., 1966. Electron microscopy of Sarcocystis fusiformis. J. Parasitol., 52, 607-613.

252. STHEBENS W.E., 1967. The ultrastructure of Lankesterella hylae. J. Protozool., 13, 63-73.
253. STEINERT J. et NOVIKOFF A.B., 1960. The existence of a cytostome and the occurrence of pinocytosis in the Trypanosome (Trypanosoma roega). J. B.B.C., 8, 563-570.
254. SWANSON M.A. et CORI C.F., 1948. Studies on the structure of polysaccharides. IV. Relation of the iodine color of the structure. J. Biol. Chem., 172, 825-837.
255. TERZAKIS J.A., 1968. Uranyl Acetate, a Stain and Fixative. J. Ultr. Res., 22, 168-184.
256. THEODORIDES J. et DESPORTES I., 1968. Sur trois Grégarines parasites d'Invertébrés Marins. Bull. Inst. Océanogr. Monaco, 67, n° 1387, 11 p.
257. THEODORIDES J. et LAUBIER L., 1962. Selenidium mercierellae n. sp. (Archigregarina Selenidiidae) Grégarine parasite du Serpulien d'eau saumâtre Mercierella enigmatica Fauvel (note préliminaire). Vie et Milieu, 13, 323-326.
258. THIERY J.P., 1967. Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. J. de Microscopie, 6, 987-1018.
259. TREGOUBOFF G., 1918. Etude monographique de Gonospora testiuli Trég. Arch. Zool. Exp. et Gén., 57, 471-509.
260. TUZET O., 1931. Une Grégarine parasite de Bythinia tentaculata L., Gonospora dubosqui n. sp. Arch. Zool. Exp. Gén., 71, 16-20.
261. TUZET O. et ORMIERES R., 1958. Selenidium flabelligerae n. sp., parasite Flabelligera diplochaitos Otto (Annélide sédentaire). Ann. Sc. Nat., Zool., 11° Série, 13, 38-55.
262. TUZET O. et ORMIERES R., 1962. Grégarines de Roscoff. Cahiers de Biologie Marine, 3, 289-306.

263. TUZET O. et ORMIERES R., 1964. Selenidium productum nom. nov. pour Selenidium flabelligaræ Tuz. et Orm. 1958, préemployé. Vie et Milieu, 15, 801-802.
264. VANDENBERG S., RHOPIN J. et YOELI M., 1967. Electron microscopic and histochemical studies of sporozoïte formation in Plasmodium berghei. J. Protozool., 14, 82-103.
265. VINCKIER D. et VIVIER E., 1968. Organisation ultrastructurale corticale de la Grégarine Monocystis herculea. C.R. Acad. Sci., 266, 1737-1739.
266. VIVIER E., 1960. Contribution à l'étude de la conjugaison chez Paramecium caudatum. Ann. Sc. Nat., Zool., 12^o Série, 1, 387-506.
267. VIVIER E., 1966. Variations ultrastructurales du chondriome en relation avec le mode de vie chez des Protozoaires. Proc. 6th Intern. Congr. Electr. Microscopy, Kyoto, 2, Biology, Ryozi Uyeda Ed., Maruzen Co., Tokyo, 247-248.
268. VIVIER E., 1967. Observations ultrastructurales sur l'enveloppe nucléaire et ses "pores" chez des Sporozoaires. J. de Microscopie, 6, 371-390.
269. VIVIER E., 1968. L'organisation Ultrastructurale Corticale de la Grégarine Lecudina pellucida ; ses Rapports avec l'Alimentation et la Locomotion. J. of Protozool., 15, 230-246.
270. VIVIER E., HENNERE E., 1964. Cytologie, cycle et affinités de la Coccidie Coelotropha durchoni, nomen novum (= Eucoccidium durchoni Vivier) parasite de Nereis diversicolor O.F. Müller (Annélide Polychète). Bull. Biol. Fr. Belg., 93, 1, 153-206.
271. VIVIER E. et HENNERE E., 1965. Ultrastructure des stades végétatifs de la Coccidie Coelotropha durchoni. Protistologica, 1, 89-104.
272. VIVIER E., HENNERE E. et SCHREVEL J., 1965. Etude de quelques caractères ultrastructuraux communs à diverses Grégarines et Coccidies. 2nd Int. Conf. Protozool., London, Research in Protozoology, Excerpta Medica, Intern. Congr., sér. N° 91, 151-152.

273. VIVIER E. et SCHREVEL J., 1964. Etude, au microscope électronique, d'une Grégarine du genre Selenidium, parasite de Sabellaria alveolata L. J. Microscopie, 3, 651-670.
274. VIVIER E. et SCHREVEL J., 1966. Les ultrastructures cytoplasmiques de Selenidium hollandei, n. sp., Grégarine parasite de Sabellaria alveolata L. J. Microscopie, 5, 213-228.
275. VIVIER E., SCHREVEL J. et HENNERE E., 1963. Corrélations entre le cycle de quelques Sporozoaires et le cycle de leurs hôtes (Annélides Polychètes). Arch. Zool. Exp. Protistologica, 102, 231-238.
276. VIVIER E., SCHREVEL J. et HENNERE E., 1964. L'ultrastructure de la paroi de quelques Sporozoaires, ses rapports avec certains organites cytoplasmiques, son rôle possible dans la nutrition. Proceedings of the First Intern. Congress of Parasitology, Tamburini Editore, Milano, 290-291.
277. VIVIER E., SCHREVEL J. et HENNERE E., 1967. L'ultrastructure de l'enveloppe nucléaire et de ses pores chez des Sporozoaires. J. Microscopie, 5, 84a-85a.
278. VIVIER E., TUZET O. et ORMIERES R., 1964. Observations sur le cycle et les affinités des Grégarines parasites du Polychète Perinereis cultrifera Grube. Arch. Zool. Exp. et Gén., 103, 20-29.
279. VOVELLE J., 1966. Le tube de Sabellaria alveolata (L.) Annélide Polychète Hermellidae et son ciment. Etude écologique, expérimentale, histologique et histochimique. Arch. Zool. Exp. et Gén., 106, 1-187.
280. WEISER J., 1955. A New Classification of the Schizogregarina. J. Protozool., 2, 6-12.
281. WESCHENFELDER R., 1938. Die Entwicklung von Actinocephalus parvus Wellmer. Arch. f. Protistenk., 91, 2-60.
282. WOSILAIT W.D. et SUTHERLAND E.W., 1956. The reaction of epinephrine of liver phosphorylase. J. Biol. Chem., 213, 469-482.
283. ZEIGEL R.F. et DALTON A.J., 1962. Speculations based on the morphology of the Golgi system in several types of protein-secreting cells. J. Cell Biol., 15, 45-54.

