

50376
1972
129-1

50376
1972
129-1

THÈSE

présentée

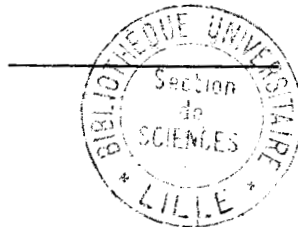
A L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE
EN BIOLOGIE CELLULAIRE

par

Hartmut F. HILDEBRAND



CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ULTRASTRUCTURE ET DU MÉCANISME
DE LA CONTRACTION DE LA GREGARINE *DIDYMOPHYES GIGANTEA* STEIN,
PARASITE INTESTINAL DE LA LARVE DU SCARABEIDE *ORYCTES NASICORNIS* L.

soutenue le 26 octobre 1972, devant la Commission d'examen

MM. M. DURCHON,
E. VIVIER,
J.-C. WISSOCQ,
K.-E. WOHLFARTH-BOTTERMANN,

Président
Rapporteur
Examineur
Membre invité

A mes Parents

en hommage affectueux et reconnaissant pour leur
dévouement.

A ma Femme

je lui témoigne ma plus vive affection et lui suis
profondément reconnaissant pour les sacrifices
consentis.

A toute ma Famille.

A tous mes Amis.

Ces recherches ont été réalisées au Laboratoire de Protistologie et Microscopie Electronique, U.E.R. de Biologie Animale, de l'Université des Sciences et Techniques de LILLE, où Monsieur le Professeur E.VIVIER a bien voulu m'accueillir et me confier le sujet du travail exposé dans cette thèse.
Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde et respectueuse gratitude.

Monsieur K.E.WÖHLFARTH-BOTTERMANN, Professeur à l'Université "Friedrich-Wilhelm" de BONN, m'initia à l'étude des mouvements cellulaires et me permit d'effectuer dans son laboratoire des travaux concernant la contraction cellulaire.
Je suis heureux de lui exprimer ma respectueuse reconnaissance.

Monsieur M.DURCHON, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de LILLE a bien voulu me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse.
Qu'il veuille accepter mes remerciements respectueux et sincères.

Je remercie vivement Monsieur J.C.WISSOCQ, Docteur ès Sciences Naturelles, de s'être intéressé à ce travail et d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse.
Je lui exprime toute ma gratitude pour ses nombreuses discussions enrichissantes.

Mes remerciements s'adressent également au personnel de la scierie "La Forestière Lesquinoise" qui a aimablement participé à la récolte des larves d'*Oryctes nasicornis*, à Monsieur J.M. QUIOT de l'I.N.R.A. (30. St-Christol-les-Alès) qui a bien voulu m'envoyer une quantité assez importante de ces mêmes larves, et finalement à Monsieur J. SCHREVEL, Professeur à la Faculté des Sciences de Poitiers, qui m'a fourni quelques exemplaires de *Blabera fusca*.

La partie biochimique de ces études n'aurait pu être réalisée sans la collaboration étroite avec le laboratoire de Monsieur le Professeur J. MONTREUIL, et je tiens à remercier tout particulièrement Messieurs C. CARDON, D. DUBRUILLE et A. VERBERT pour leurs conseils.

Je suis également heureux d'exprimer ma reconnaissance à Monsieur D. VINCKIER, qui m'a consacré un temps précieux pour l'étude des Grégarines au microscope électronique à balayage.

Enfin, c'est pour moi un plaisir d'associer en une même pensée tous mes camarades de laboratoire. En particulier je remercie Madame E. PORCHET-HENNERE pour ses conseils linguistiques, Monsieur D. LAZARECKI qui s'est chargé de la reproduction des photographies, Monsieur G. HIMPENS qui me conseilla dans la réalisation des dessins, et Mademoiselle R. PASQUESOONE qui a effectué le travail de dactylographie et assuré le tirage de cette thèse.

SOMMAIRE

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>I - MATERIEL ET METHODES</u>	3
A) <u>MATERIEL</u>	3
B) <u>METHODES</u>	4
1) Méthodes d'obtention des Grégarines	4
a) Elevage des Annélides	4
b) Elevage des larves <u>d'Oryctes</u>	4
c) Observation des Grégarines	4
2) Méthodes expérimentales	5
3) Méthodes de microscopie électronique	5
a) Microscopie électronique à transmission	5
b) Microscopie électronique à balayage	6
<u>II - ETUDE DE LA MORPHOLOGIE GENERALE</u>	7
A) <u>DESCRIPTION ET MESURES</u>	7
B) <u>FORMATION ET DIFFERENCIATION DU PROTOMERITE</u>	7
C) <u>LE DEUTOMERITE</u>	8
D) <u>DIFFERENCES ENTRE PROTOMERITE ET DEUTOMERITE</u>	9
E) <u>LA SYZYGIE</u>	10
1) Formation	10
2) Disparition du septum	10
3) L'enkystement	11
F) <u>LES MOUVEMENTS</u>	12
G) <u>DISCUSSION</u>	13
1) Dépendance du cycle biologique de la Grégarine du cycle de l'hôte	13
2) Division nucléaire progamique	14

3) L'épicyte	14
4) La couche fibrillaire	15
III - <u>ETUDE ULTRASTRUCTURALE</u>	17
A) <u>LES PREMIERS STADES DU DEVELOPPEMENT</u>	17
1) Stade I : Le jeune céphalin uninucléé	17
2) Stade II : Premières divisions nucléaires	18
3) Stade III : Apparition du Septum	19
4) Stade IV : Prolongement du Protomérite	19
5) Stade V : Vacuolisation du Protomérite	19
B) <u>LE PROTOMERITE</u>	20
1) L'épimérite ou mucron	20
a) L'anneau épiméritique et les membranes	21
b) Les microvillosités épiméritiques	22
c) Les relations parasite-hôte	22
2) L'épicyte	22
3) Les organites protoméritiques	23
a) Les mitochondries	23
b) Les microtubules	23
c) Les agglomérations protoméritiques	24
d) Le filament protoméritique	24
4) Le Septum	25
5) Discussion	26
a) La phase initiale	26
b) L'épimérite	29
c) La réaction de la cellule hôte sur le parasite.	30
d) Les agglomérations ribosomales	31

C) <u>LE DEUTOMERITE</u>	33
1) Les noyaux	33
a) Formation du fuseau intranucléaire	34
b) Séparation des noyaux fils	35
c) Nouvelle initiation des formations mitotiques	35
2) L'appareil de Golgi	36
a) Les dictyosomes D	36
b) Les dictyosomes D'	36
3) Le reticulum endoplasmique	37
4) La zone corticale	37
a) Les plis épicytaires	37
b) La lame "basale"	38
c) Les fibres annulaires ou myonèmes	38
d) Les formations en relation avec la paroi	39
e) Les structures extraépicytaires	40
5) Les inclusions fibrillaires	40
6) Discussion	40
a) La division nucléaire	41
b) L'appareil de Golgi	42
c) La zone corticale	43
D) <u>LA SYZYGIE</u>	44
IV - <u>ETUDES RELATIVES A LA CONTRACTION DES GREGARINES</u>	47
A) <u>CARACTERISATION DES ELEMENTS SUSCEPTIBLES D'ENTRER DANS LE PROCESSUS DE LA CONTRACTION DE DIDYMOPHYES GIGANTEA</u>	47

.../...

1) Expériences d'Extraction	47
2) Expériences de Contraction	49
3) Résultats obtenus au microscope électronique	50
B) <u>ESSAI DE CARACTERISATION DES ELEMENTS SUSCEPTIBLES D'ENTRER DANS LE PROCESSUS DE LA CONTRACTION CHEZ D'AUTRES GREGARINES</u>	51
1) <u>Selenidium hollandei</u>	51
a) Expériences d'extraction et de contraction	52
b) Résultats obtenus au microscope électronique	53
2) <u>Lecudina tuzetae et Lecudina pellucida</u>	54
a) Expériences d'extraction et de contraction	54
b) Résultats obtenus au microscope électronique	55
3) <u>Gregarina blaberae</u>	56
C) <u>DISCUSSION</u>	57
<u>CONCLUSION GENERALE</u>	64
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	

I N T R O D U C T I O N .

- INTRODUCTION

Le genre Didymophyes et l'espèce D. gigantea ont été décrits pour la première fois par STEIN (1848). Ce genre fut créé pour des Grégarines dont l'association entre deux individus est tellement intime, que le satellite finit par perdre le septum entre son protomérite et deutomérite. LEGER décrit à nouveau en 1892 la même espèce d'une façon assez détaillée tout en corrigeant les erreurs commises par STEIN.

Depuis, le genre Didymophyes a simplement été cité dans quelques énumérations telles que celles de MARSHALL (1893), WATSON (1916), FOERSTER (1938 a et b), LUDWIG (1946) et OBATA (1953). Mais CORDUA (1953) éveille à nouveau l'intérêt pour ce genre en décrivant 21 espèces dont 17 nouvelles. THEODORIDES et coll. (1955, 1956 et 1959), LIPA (1966) et ORMIERES (1968) continuent les travaux sur ce même genre.

Jusqu'à maintenant aucune étude sur les Didymophyidae-famille proposée par STEIN (1848) et LEGER (1892) - n'a été effectuée en microscopie électronique. Notre travail se propose donc de montrer au niveau de l'ultrastructure soit des différences, soit des ressemblances avec d'autres familles ou genres parmi les Grégarinomorphes. En plus se posent des questions auxquelles personne n'a pu répondre précisément mais qui imposent une étude détaillée, car, pour citer LEGER (1892), premièrement, "dans l'un ou l'autre des individus adultes qui constituent le couple il est impossible de déceler la présence d'un nucléus" et deuxièmement, "le sarcocyte montre une couche de fibrilles musculoïdes avec une admirable netteté" et "la facilité avec laquelle elles se distinguent dans cette Grégarine la désigne tout spécialement pour l'étude de cet élément".

Dans une première partie, nous pensons donc donner une vue détaillée de la morphologie et de l'ultrastructure de cette Grégarine, en insistant sur la formation des différents organites au cours de la croissance ainsi que sur l'appareil nucléaire.

Une seconde partie portera sur les problèmes relatifs aux mouvements des Grégarines, qui ont préoccupé de nombreux chercheurs depuis quelques dizaines d'années. Ces mouvements peuvent être ramenés aux trois principaux types suivants : les mouvements pendulaires et d'enroulement, les déformations péristaltiques et les déplacements par translation ou glissement.

En ce qui concerne ces derniers, beaucoup d'hypothèses ont été avancées qui invoquent la sécrétion de mucus pour provoquer une locomotion (SCHEWIAKOFF, 1894 ; SOKOLOW, 1912 ; PRELL, 1921). Ces hypothèses doivent être abandonnées, car le parasite n'est pas capable de produire une quantité suffisante de mucus. C'est plutôt chez l'hôte qu'il faut chercher l'origine du mucus.

RICHTER (1960) et d'autres auteurs (PORTER, 1897 ; CRAWLEY, 1902 et 1905 ; WATSON, 1916 ; COGNETTI DE MARTIIS, 1927 ; ROSRIN et LEVISON, 1929 ; FOWELL, 1936) expliquent tous les mouvements des Grégarines par des contractions généralisées des myonèmes longitudinaux et annulaires.

Cette théorie parut se confirmer dès les premiers travaux de microscopie électronique (KÜMMEL, 1958 ; KLUG, 1959). Mais il s'avéra que, parmi les Grégarines se déplaçant par translation, certaines ne possèdent pas de myonèmes (BEAMS et coll. 1960) ; ceux-ci ne peuvent donc pas être considérés comme le support essentiel de toutes les facultés de mouvements.

VIVIER (1968) a pu montrer lors de ses études ultrastructurales chez Lecudina bellucida qui ne possède pas de myonème, que la progression de celle-ci se fait grâce aux ondulations des plis épicytaires.

Plusieurs problèmes concernant la motilité des Grégarines restent donc en suspens. L'origine de l'ondulation des plis épicytaires et le mécanisme des contractions ont particulièrement retenu notre attention.

P R E M I E R C H A P I T R E

MATERIEL ET METHODES.

- MATERIEL ET METHODES

A MATERIEL

Le trophozoïte et le gamonte de la Grégarine Didymophyes gigantea, Stein, parasite intestinal de la larve du Scarabeïde Oryctes nasicornis, L. ont fait l'objet principal de ce présent travail.

Nos études relatives à la contraction ont porté sur cette même espèce et sur les trophozoïtes de Grégarines appartenant à des genres différents, toutes parasites de l'intestin d'Insectes ou d'Annélides Polychètes, que nous résumons dans le tableau suivant :

GREGARINES	HÔTES	PROVENANCE	
Didymophyes gigantea, Stein	Oryctes nasicornis, L. (Scarabéïdae)	Déchets des scieries de Prafrance (Cévennes) et "Forestière Lesquinoise" "Lesquin (Nord).	I N S E C T E S
Gregarina blabera Frenzel	Blabera fusca, Brünner (Dictyoptéra)	Mr. Schrevel, Laboratoire de Biologie animale - Poitiers.	E S T R O C H O T E S
Selenidium hollandel, Vivier et Schrevel	Sabellaria alveolata, L. (Sabellariïdae)	Roscoff, Laboratoire de Biologie marine	A N N E L I D E S
Lecudina tuzetae Schrevel	Nereis diversicolor O. F. Müller (Nereïdae)	Port de Petit-Fort-Philippe.	D I P T E R O L O G I E
Lecudina pellucida, (Koll) Mingazzini	Perinereis cultrifera, Grube (Nereïdae)	Luc sur Mer, Station de Biologie marine.	L Y C H O T E S

B - METHODES

1) Méthodes d'obtention des Grégarines

a) Elevage des Annélides-hôtes

Après la récolte, les Nereidae sont, selon leur taille, isolées dans des cristallisoirs ou des bacs contenant de l'eau de mer à la température de 15° à 20° C et du papier filtre.

Les Sabellaridae ont été laissées après réception dans les blocs de sable, lesquels ont été déposés dans de grands bacs contenant de l'eau de mer à la température d'environ 15° C.

En renouvelant l'eau de mer au moins une fois par semaine, on peut assurer la survie des Annélides de quelques semaines à plusieurs mois.

b) Elevage des larves d'Oryctes

Il est préférable de prendre au moment de la récolte une quantité suffisante du milieu dans lequel ont été trouvées les larves. Ce terreau, composé de déchets de bois plus ou moins pourris (suivant leur taille), est mélangé ensuite avec 1/3 de copeaux de bois. Ce mélange permet ainsi l'aération nécessaire à la survie des larves en laboratoire. De cette façon, on peut conserver les larves à une température d'environ 15° C plus de trois ou quatre mois.

c) Observation des Grégarines

Les Annélides anesthésiés au MS 222 (tricaïne méthane sulfonate) à 1 % dans l'eau de mer sont disséqués dans une boîte de Pétri sous une loupe binoculaire. Les Grégarines sont facilement prélevées à l'aide de micropipettes et observées, si nécessaire, entre lame et lamelle dans une goutte d'eau de mer, au microscope.

Les blattes et les larves d'Oryctes sont anesthésiées au chloroforme et disséquées sous une loupe binoculaire. Les morceaux d'intestin parasités sont plongés immédiatement dans une solution physiologique ou directement dans le fixateur.

L'observation sur le vivant s'est trouvée facilitée par l'emploi de la microscopie en contraste de phase ou en contraste interférentiel. Les microphotographies ont été réalisées pour la plupart au flash électronique.

2) Méthodes expérimentales

Les trophozoïtes des espèces étudiées exécutent des mouvements très différents.

En premier lieu, nous avons étudié la réaction des Grégarines vivantes à l'ATP (Adénosine triphosphate) et aux différents sels susceptibles d'influencer la contraction (ZIMMERMANN, 1962 ; KÄPPNER, 1961).

En second lieu, nous avons envisagé une extraction des protéines non contractiles des Grégarines par la glycérine (SZENT-GYÖRGYI, 1949 ; HOFFMANN-BERLING, 1953, 1954 et 1956 a et b ; KAMIYA et KURODA, 1965) dans différentes solutions salines. Sur ces Grégarines extraites, dites "modèles", nous avons fait agir l'ATP et les différents sels qui interviennent lors de la contraction.

D'autres techniques ont été employées, mais comme les résultats ont été peu significatifs jusqu'à présent, nous n'en parlerons que dans la discussion.

3) Méthodes de Microscopie électronique

a) Microscopie électronique à transmission

Les méthodes de fixation classiques entreprises au début pour les études au microscope électronique n'ont donné aucune satisfaction. De nombreux essais ont donc été pratiqués, dans le but d'améliorer les résultats.

La difficulté résidait principalement dans le choix du liquide fixateur. Plusieurs types ont été utilisés pour tenter d'apprécier l'influence des différents facteurs impliqués dans la fixation : en particulier l'agent fixateur lui-même, le tampon, le pH et la pression osmotique.

Jusqu'à présent les résultats les plus acceptables, ont été obtenus avec le Glutaraldéhyde (distillé selon FAHIMI et DROCHMANS, 1965) à 2,5 % en mélange avec l'Acroléine à 2,5 % en tampon Citrate à pH 7,2 pendant 1 heure, suivi d'un lavage d'une demi-heure dans une solution de sucrose 0,2 molaire dans le même tampon et d'une post-fixation par OsO_4 à 2 % dans le liquide de lavage pendant 1 heure. Ensuite, les blocs fixés ont subi un passage dans une solution d'Acétate de Sodium à 0,1 N suivi d'un bain de 20 minutes dans l'Acétate d'Uranyle à 0,5 % et à pH 3,5 et d'un deuxième lavage dans la solution d'Acétate de Sodium suivant TERZAKIS (1968).

Pour les Grégarines extraites à la Glycérine, nous avons utilisé la fixation chrom-osmique de DALTON (1955) modifiée par WOHLFARTH-BOTTERMANN (1957), qui propose une première coloration du bloc pendant la déshydratation dans l'alcool à 70° avec de l'acide phosphotungstique à 1 % et de l'Acétate d'Uranyle à 0,5 %.

Les inclusions ont été réalisées dans le Styrène-Méthacrylate selon la technique de KUSHIDA (1961) et STOCKEM et KOMNICK (1969) et les blocs sont coupés sur ultramicrotome LKB et Porter-Blum. En général, les coupes ont été recueillies sur grilles recouvertes d'une membrane de Parlodion ou de Pioloform F (STOCKEM 1968). Elles ont été contrastées par l'Acétate d'Uranyle à 2 % dans l'alcool à 50°, suivi du Citrate de Plomb selon REYNOLDS (1963). Pour les coupes des Grégarines extraites, une coloration par le Citrate de Plomb seul était suffisante. Les préparations ont été examinées au microscope électronique Siemens "Elmiskop IA" à 80KV.

o) Microscopie électronique à balayage

Pour la microscopie électronique à balayage, nous avons suivi le procédé habituel (SMALL et MARZALEK, 1969) : fixation au Glutaraldéhyde suivie d'une post-fixation avec OsO_4 à 2 % et $HgCl_2$ saturé à froid dans les proportions 6 : 1 (PARDUCZ, 1967), lyophilisation et métallisation rotative avec Au-Pd.

Les préparations ont été examinées au microscope à balayage Cambridge "Stereoscan" MK2.

DEUXIEME CHAPITRE

ETUDE DE LA MORPHOLOGIE GENERALE.

- ETUDE DE LA MORPHOLOGIE GENERALE

A - DESCRIPTION ET MESURES

Didymophyes gigantea se rencontre dans la partie antérieure de l'intestin moyen de la larve d'Oryctes nasicornis, où elle forme de petits amas de filaments ténus, blanchâtres, diversement contournés, situés entre la paroi intestinale et la membrane péritrophique.

Les Grégarines sont très fréquentes et on en trouve dans environ quatre larves sur cinq, en quantité remarquable surtout quand il s'agit encore de jeunes parasites. L'âge des larves n'y joue aucun rôle. Par contre, dans des larves en mue, nous n'en avons jamais rencontré aucun exemplaire.

Ces filaments (Fig. 24, Ab), visibles à l'oeil nu, d'une longueur de 1 centimètre et même plus, sans dépasser une largeur de 200μ , sont constitués par la réunion de deux individus en général.

Moins bien visibles sont les trophozoïtes isolés et jeunes gamontes. Ceux-ci sont transparents et se décèlent par les couleurs d'interférence. Le trophozoïte le plus petit que nous avons pu observer au microscope optique était long d'environ 100μ pour une largeur d'environ 20μ (Fig. 1, Aa).

Bien que l'on distingue déjà par les contours une partie antérieure et une partie postérieure, l'existence d'un septum n'est pas prouvée. Aussi bien dans la partie antérieure que dans l'extrémité de la partie postérieure, on observe des granules de différentes tailles, et au centre une tâche ronde plus claire, que LEGER (1892) avait interprétée comme étant un noyau chez le jeune trophozoïte.

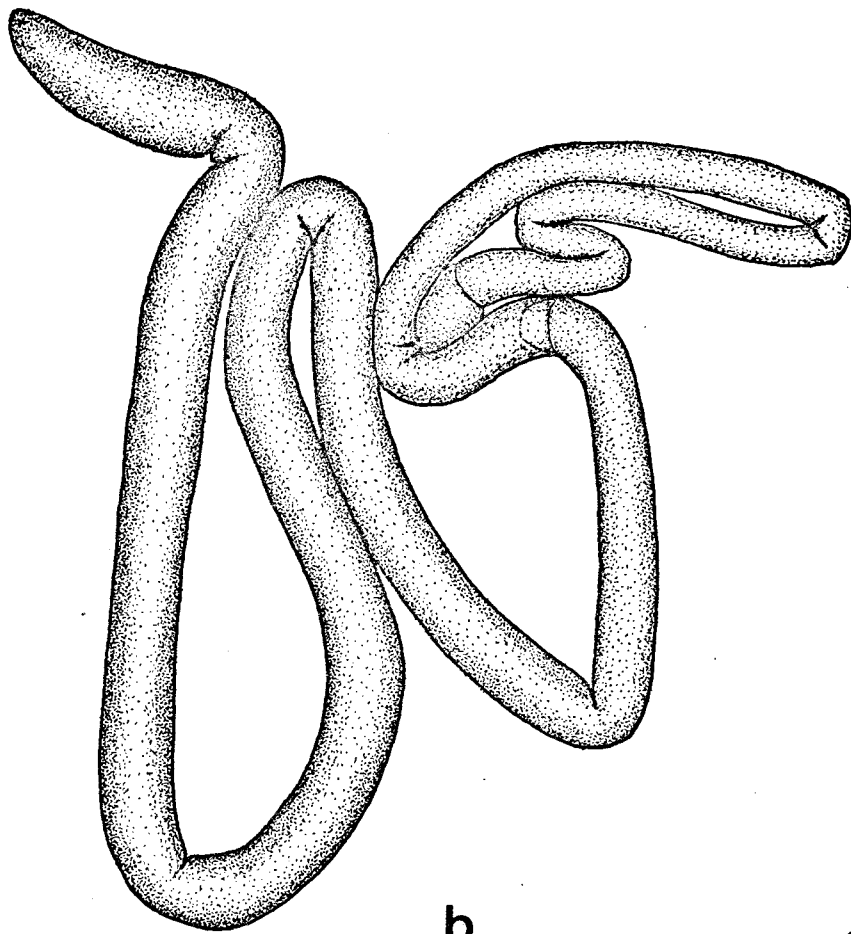
B - FORMATION ET DIFFERENCIATION DU PROTOMERITE

Au cours de la croissance, le septum s'interpose entre la partie antérieure et la partie postérieure (Fig. 2, 4), et c'est à partir de ce moment-là que nous pouvons employer les termes Protomérite et Deutomérite. Le septum est convexe, se dirigeant en général vers le Protomérite (Fig. 2, 4, Ac, Ad) et peut se retourner en doigt de gant au gré de l'animal.

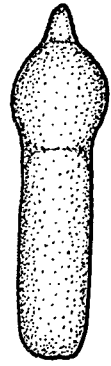
Le protomérite, allongé en mamelon conique (Fig. 2-4, 31) renferme presque toujours des corps plus denses (Fig. 2, Ac, Ad) de forme irrégulièrement sphérique que LEGER (1892) signalait déjà comme "inclusions albuminoïdes".

Fig. A L'évolution de Didymonhyes gigantea

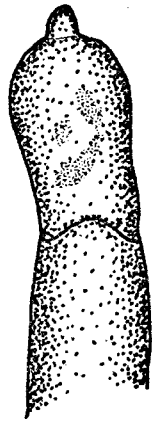
- a) Jeune trophozoïte au moment de l'élaboration du septum.
- b) Association de deux individus adultes ; le satellite est privé de septum.
- c - e) Premières phases du développement du Protomérite. Notez la présence des inclusions protoméritiques.
 - c) Protomérite pourvu d'un épimérite
 - d) Protomérite ayant perdu l'épimérite
 - e) Protomérite d'une syzygie adulte
- f) Cloison rectiligne d'une jeune syzygie. Le septum du protomérite du satellite est encore présent.
- g) Cloison d'une syzygie adulte. Le septum du satellite a disparu et le satellite s'est profondément introduit dans le primite.



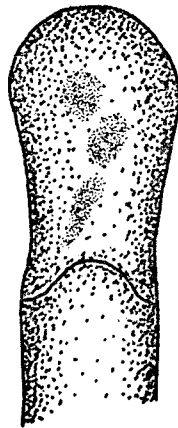
b



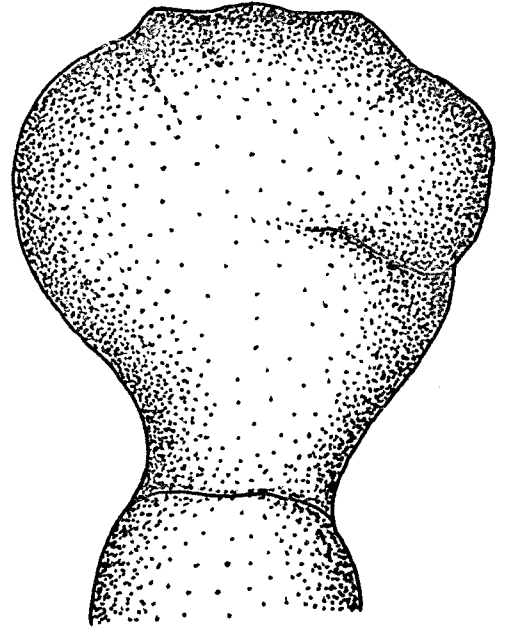
a



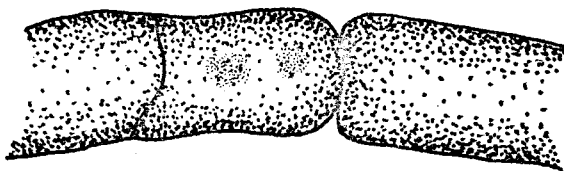
c



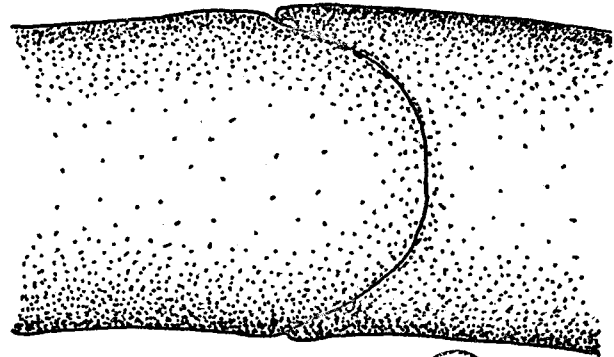
d



e



f

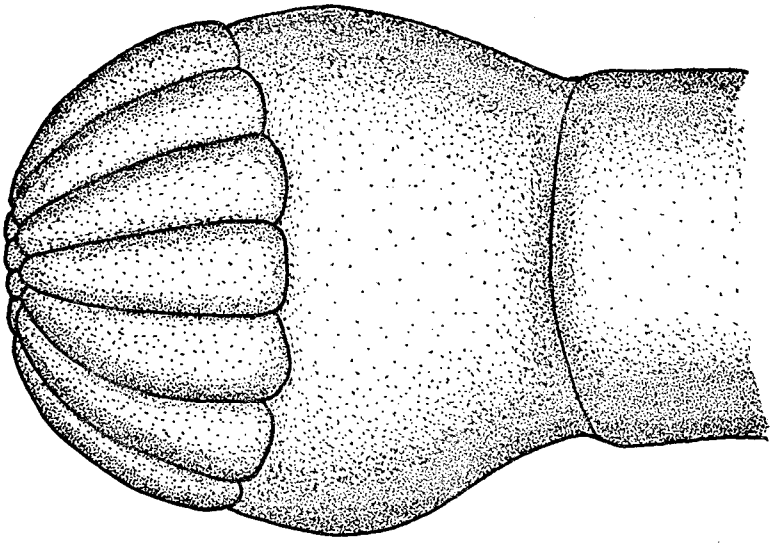


g

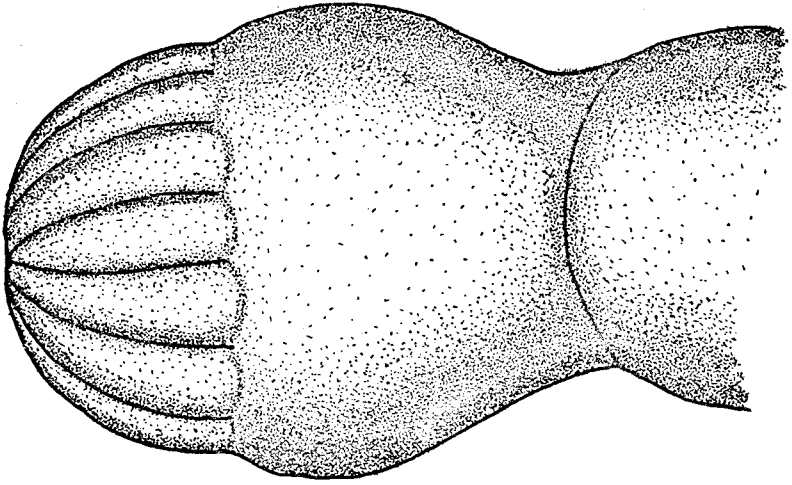


Fig. B Schéma de l'évolution du protomérite avant l'enkystement
des gamontes.

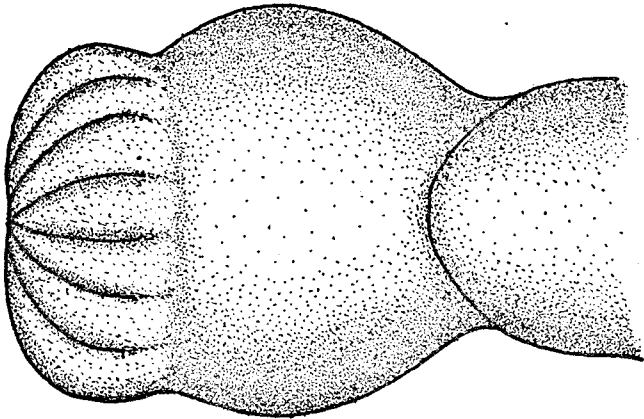
- a) Apparition des sillons radiaires au-dessus de l'étranglement protoméritique.
- b) Les Sillons radiaires sont plus prononcés et l'étranglement commence à s'égaliser
- c) Les Sillons sont établis jusqu'à l'étranglement qui se différencie en sillon circulaire.
- d) Fin d'évolution : une sorte de capuchon coiffe le protomérite.



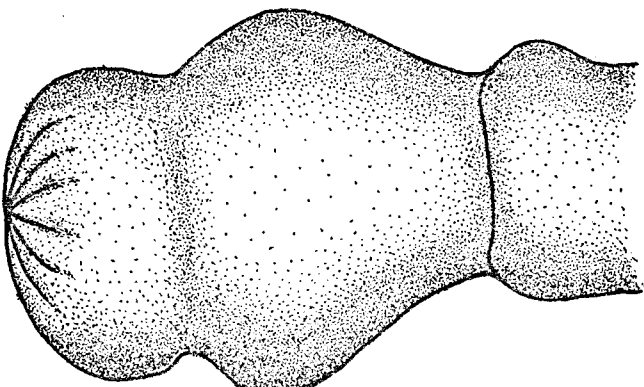
d



c



b



a



De temps à autre, le pôle du protomérite est isolé par une sorte d'étranglement qui lui donne un aspect de coiffe, rappelant un peu dans l'ensemble la forme d'un petit champignon.

En général, on observe au sommet un épimérite ou mucron de forme cylindro-conique (Fig. 4, 31, 32, Ac). Ce mucron semble recouvert par des structures formant un filet irrégulier (Fig. 31,32). C'est le microscope électronique qui nous permettra de les interpréter soit comme excroissance du mucron, soit comme résidus de la membrane déchirée de la cellule hôte, sur laquelle l'individu était fixé auparavant.

Chez les gamontes adultes, on observe un protomérite relativement court et renflé en forme de poire (Fig. 5, 37, Ae) qui acquiert au cours du développement une grande mobilité. Il peut se déformer diversement en s'allongeant (Fig. 6), en se creusant en forme de ventouse, ou en s'étranglant sous des contractions du type péristaltique (Fig. 7 et 8).

Vers la fin de l'évolution, avant l'enkystement des deux gamontes, le protomérite se différencie en deux parties. Cette différenciation part d'un étranglement (Fig. 11, Ba) certainement identique à celui déjà observé chez le jeune gamonte (Fig. 3). Partant du pôle se forment des sillons radiaires (Fig. 12, Bb) qui se rejoignent à leur base en un sillon circulaire (Fig. 13, 14, Bc, Bd). L'étranglement assez prononcé au début, s'est égalisé avec la partie distale et le protomérite, possède maintenant une sorte de coiffe sillonnée radiairement.

C - LE DEUTOMERITE

Le deutomérite est cylindrique, linéaire, environ dix fois plus long que le protomérite chez le trophozoïte (Fig. 1) et quarante à cinquante fois plus long chez le gamonte adulte, de sorte qu'il est presque impossible de prendre en photo l'animal dans toute sa longueur.

En début d'évolution, le deutomérite possède à peu près la même largeur que le protomérite (Fig. 1-4, 33) ; par contre, vers la fin du développement, après un renflement de ce dernier, il aura toujours une largeur moindre. Il se termine en courbe douce chez le cephalin (Fig. 9) et en pointe obtuse chez l'adulte (Fig. 10).

Les "inclusions albuminoïdes" (LEGER, 1892) ne se trouvent pas dans ce segment. Au stade encore jeune, le deutomérite montre très peu de structures cytoplasmiques et est très translucide. En cours de croissance, par contre, il se remplit d'une granulation très dense et devient opaque.

Les petits "corps cristalloïdes" décrits par LEGER (1892), n'ont jamais été observés au microscope optique. Nous avons, par contre, rencontré au microscope électronique, une structure énigmatique qui serait peut-être identique à ces corps cristalloïdes, mais dont nous parlerons plus tard. Nous n'avons jamais pu observer in vivo un noyau.

Sur des coupes semi-fines, cependant, nous avons rencontré une quantité de granules relativement gros, que nous avons identifiés par la suite comme étant des noyaux par la coloration avec du Vert de Méthyle-Pyronine. La coloration de Feulgen était négative. La structure centrale chez le jeune cephalin de la Fig. 1 nous semble donc être plutôt une vacuole qu'un noyau, surtout qu'elle se retrouve encore, à des stades plus avancés, dans l'extrémité postérieure du deutomérite (Fig. 9, 10). Ce sont là des stades où nous sommes certains de trouver une grande quantité de noyaux.

D - DIFFERENCES ENTRE PROTOMERITE ET DEUTOMERITE

La microscopie électronique à balayage révèle d'autres particularités qui distinguent le protomérite du deutomérite. (Fig. 33, 37). Cette différence apparaît surtout au niveau des plis épicytaires parcourant l'animal d'une extrémité à l'autre : ondulés sur le deutomérite (Fig. 34, 36, 38), ils sont droits sur le protomérite (Fig. 31, 35, 37). L'ondulation des plis du deutomérite se perd au niveau du septum dont l'emplacement se reconnaît par un léger étranglement chez le jeune gamonte (Fig. 33-34). Chez l'adulte (Fig. 37) cet étranglement est beaucoup plus accentué, d'une part par la moindre largeur du deutomérite, d'autre part par les excroissances des plis épicytaires du protomérite avant de se prolonger sur le deutomérite (Fig. 39-40).

Chez l'animal adulte (Fig. 38), les plis épicytaires du deutomérite sont plus ondulés que chez le jeune céphalin (Fig. 36). Souvent quelques-uns (jusqu'à une dizaine) sont accolés et par endroits on croit reconnaître des micropores (Fig. 38) au fond des plis.

En fin d'évolution, les plis du deutomérite montrent souvent des excroissances, en forme de petits lobes, parsemés sur toute la longueur de l'animal (Fig. 41-42). Ces excroissances rappellent les renforcements des plis épicytaires au niveau du bourrelet ectoplasmique chez Lecudina tuzetae (Schrevel, sous presse).

E - LA SYZYGIE

1) Formation

Le jeune céphalin se détache de bonne heure de la cellule hôte. Au même moment il se débarrasse spontanément de son mucron fixateur et vient s'unir à l'un de ses semblables en accolant son protomérite sur l'extrémité postérieure du deutomérite de celui-ci. C'est à partir de ce moment-là que nous parlons de syzygie, constituée en général de deux gamontes (Fig. 15).

Il arrive assez souvent que plusieurs individus se réunissent et nous pouvons observer ainsi des associations en chaîne de trois ou quatre gamontes (Fig. 16, 17). Mais il faut croire que ces associations ne sont que temporaires, car nous n'avons jamais pu observer des syzygies à plusieurs individus en chaîne à un stade plus avancé.

Par contre, ce n'est pas le cas lorsque trois céphalins se réunissent en forme d'Y, c'est-à-dire que deux individus s'appliquent en même temps sur l'extrémité postérieure d'un troisième (Fig. 18). Alors les trois gamontes restent ensemble jusqu'à la fin de l'évolution et il serait intéressant de voir ce qui se passe au moment de l'enkystement.

Après l'association des gamontes, les deutomérites s'allongent démesurément, tandis que le protomérite conserve sa longueur primitive, et le couple acquiert ainsi son aspect filiforme caractéristique (Fig. 24).

2) Disparition du septum

Après la réunion de deux individus, le septum du satellite (Fig. 19, Af) persiste quelque temps mais commence de bonne heure à se résorber (Fig. 20) et à la fin l'association ne comprend plus dès lors que trois segments (Fig. 21, Ag). L'association des deux individus est si intimement soudée que STEIN (1848) a créé le groupe des Didymophidae pour ces Grégarines comportant en fait trois segments à l'état libre.

La disparition du septum du satellite s'observe aussi au niveau des plis épicytaires (Fig. 43-44). Bien que l'étranglement puisse rester visible pendant un certain temps, l'ondulation des plis du deutomérite se propage maintenant également sur les plis de l'ancien protomérite. Le satellite s'introduit ensuite dans l'extrémité postérieure du Primate, qu'il refoule devant lui pour s'en coiffer (Fig. 22-23, Ag). La cloison de séparation subsistante peut se retourner en doigt de gant en suivant les mouvements de l'animal. Au niveau de cette cloison (Fig. 46) apparaissent alors aussi bien sur le primate (Fig. 47) que sur le satellite (Fig. 48), des excroissances

des plis épicytaires. Celles-ci forment sur le primitive des lobes plus ou moins ondulés (Fig. 47) et sur le satellite des fines baguettes ou des petites boules (Fig. 48).

Chez les associations de plusieurs individus le septum ne disparaît que chez le premier satellite. Les satellites suivants ne subissent aucune modification et sont simplement appliqués à l'extrémité du précédent.

Ce n'est pas le cas chez les syzygies en forme d'Y. Là les deux satellites perdent successivement leur septum (Fig. 18), et nous devons supposer que LEGER (1892) n'a pas dû observer ce phénomène. Seulement ici, certainement par manque de place, les satellites ne pénètrent pas aussi profondément dans le primitive que chez les syzygies à deux gamontes.

3) L'enkystement

En fin d'évolution la syzygie acquiert son aspect caractéristique. Elle est filiforme, et le satellite au moins deux fois plus long que le primitive (Fig. 24, Ab) est généralement plus gros et plus foncé que le premier individu (Fig. 23,24, Ab) ; ceci est probablement dû à la plus grande quantité de substance cytoplasmique finement granulaire qu'il renferme.

Au moment de l'enkystement, les deux individus sont distendus par l'abondance de la substance protoplasmique. Ils prennent une forme plus massive en se raccourcissant (Fig. 25 a). Placé dans une goutte d'eau sur une lame dans une chambre humide, le couple se rétrécit relativement rapidement (2 à 3 heures) tout en diminuant de volume (Fig. 25 b) et finit par se réunir dans un même kyste sphérique (Fig. 26).

Nous avons trouvé assez souvent ce stade d'enkystement mais nous n'avons jamais observé comme LEGER (1892), deux individus qui se recourbent l'un sur l'autre et exécutent une sorte de mouvement très lent.

Les kystes eux-mêmes sont très difficiles à obtenir au laboratoire. Ils se rencontrent très rarement près des gamontes en fin d'évolution et il est préférable de les chercher directement dans la partie postérieure du tube digestif où l'on a un peu plus de chance de les trouver. Ils doivent donc être éliminés assez rapidement.

Les kystes sont sphériques, gros ; ils mesurent environ 600 à 700 μ de diamètre, et sont d'un blanc mat. Le contenu est inégalement condensé, et les granulations paraissent se porter plus particulièrement vers le centre et vers la périphérie. Entre les deux, le kyste est légèrement plus transparent.

En appuyant un peu sur la lamelle, le kyste éclate facilement et laisse échapper une quantité énorme de spores ovoïdes. Les dimensions de ces spores sont de 8μ pour le grand axe et de 6μ pour le petit axe. Nous n'avons jamais observé jusqu'à maintenant ni de kystes secondaires, ni de spores entourés par une épispore.

LEGER (1892) décrit également des spores coelomiques appendues aux caecums du tube digestif. Nous avons eu l'occasion d'observer ces prétendues spores de D. gigantea dans de grands kystes, mais nous supposons qu'il s'agit ici plutôt de spores de microsporidies, que des spores de notre espèce

F - LES MOUVEMENTS

D. gigantea exécute des mouvements assez complexes. Dès que la Grégarine est libérée de l'intestin de la larve et est mise dans une solution physiologique, elle s'allonge rapidement. Mise entre lame et lamelle, on peut observer qu'elle avance lentement dans le sens de son axe longitudinal.

Dès que l'on aspire avec un papier filtre un peu de liquide physiologique de façon à ce que la lamelle exerce une plus forte pression sur la lame et en conséquence sur la Grégarine, on constate que celle-ci commence à s'enrouler comme le montre la Figure 24, Ab. Et c'est à ce moment là que l'on observe un flux et reflux cytoplasmique important et assez rapide. La figure 27 nous montre ce flux dans une partie de la Grégarine qui avance. Ce flux ^{ne} s'observe pas dans la partie antérieure coincée par la Grégarine elle-même. Ce qui signifie que le cytoplasme est à l'arrêt dans cette partie.

En même temps, l'animal exécute de fines contractions péristaltiques (Fig. 28 a), mais qui avancent moins rapidement que le cytoplasme et à peu près à la même vitesse que la Grégarine elle-même.

Une très grande importance cependant doit être accordée à la couche fibrillaire (Fig. 28). Bien que SCHNEIDER (1875) ne voit en elle qu'un appareil de soutien, un squelette cytoplasmique, LEGER (1892) lui attribue déjà le rôle de système contractile qui serait constitué par des "fibrilles musculoïdes". Ces fibrilles circulaires s'observent avec une telle netteté dans cette Grégarine, que l'action préalable de tout réactif devient inutile pour en constater la présence, surtout si l'on fait éclater la Grégarine par une légère pression sur la lamelle (Fig. 28 b).

Ces fibrilles, absentes chez le jeune céphalin et la jeune syzygie, n'apparaissent qu'en cours de croissance car elles doivent avoir un lien avec les mouvements d'enroulement, puisque les trophozoïtes et jeunes couples sont incapables de s'enrouler et ne peuvent se déplacer que par translation ou glissement.

Non seulement le deutomérite, mais aussi le protomérite possède une grande mobilité. Celui-ci peut se déformer diversement, comme nous l'avons décrit auparavant par de fortes contractions péristaltiques (Fig. 5 - 8). LEGER (1892) prétend que cette déformation se fait grâce à l'intervention de la "couche contractile", mais nous n'avons jamais pu observer les fibrilles circulaires dans ce segment, et la microscopie électronique démontrera cette absence.

G - DISCUSSION

Didymophyes gigantea prend parmi les Grégarines, au point de vue taille, la deuxième place après Porospora gigantea, parasite intestinal des homards, dont le trophozoïte atteint et même dépasse une longueur de 10 mm. Cette taille et la quantité d'individus que l'on trouve dans les larves d'Oryctes nasicornis, facilitent l'étude de la Grégarine.

1) Dépendance du cycle biologique de la Grégarine du cycle de l'hôte

Nous n'avons pas encore terminé l'étude du cycle biologique de cette Grégarine, mais il nous semble évident que celui-ci dépend du cycle de mue de la larve et que les derniers kystes sont expulsés avant que la larve se change en chrysalide, car l'immature n'est plus parasitée du tout par la Grégarine.

L'influence des sécrétions endocrines sur le cycle des Grégarines a déjà été démontrée. DURCHON et VIVIER (1961 et 1964) ont pu montrer chez les Néréidiens le synchronisme parfait entre l'hétéronéréidation expérimentale et la reproduction de la Grégarine Diplauxis hatti.

2) Division nucléaire progamique

Bien que Didymophyes gigantea soit assez éloignée au point de vue systématique de Diplauxis hatti, on trouve quand même quelques points communs entre les deux espèces.

C'est tout d'abord l'association précoce de deux individus. Diplauxis hatti (VIVIER, ORMIERES et TUZET, 1964), grégarine coelomique, subit comme Didymophyes gigantea et les autres espèces du genre Didymophyes (CORDUA 1953) toute son évolution en syzygie. La plupart de ces espèces possède une gamétogenèse précoce.

Chez Diplauxis hatti, on observe encore assez longtemps les noyaux des deux individus de la syzygie, et la gamétogenèse peu claire précise la disparition de la cloison séparant le primite du satellite (PRENSIER, 1971).

Le même phénomène est signalé par ORMIERES (1968) pour Didymophyes cuneicystis et D. chaudefouri qui semblent montrer une évolution nucléaire avant l'enkystement des gamontes.

Aussi CORDUA (1953) dessine la plupart des espèces déœrites sans noyau, tout au moins pour la fin de l'évolution.

Didymophyes gigantea nous semble parmi toutes ces espèces un cas encore plus particulier. Ici, la division nucléaire progamique commence déjà chez le jeune céphalin et semble ne pas avoir besoin de l'association de deux individus pour être induite. Elle pourrait d'abord expliquer le développement excessivement rapide de gémétokystes signalé par LEGER (1892) et ORMIERES (1968). Il ne faut donc pas être étonné qu'aucun auteur n'ait vu jusqu'à présent un noyau chez cette espèce excepté HOSHIDE (1953, 1959) qui semble dessiner des quantités de petits noyaux dans la syzygie adulte, mais dans le texte, il ne parle pas de noyaux. Cependant, ce même auteur (1959) représente chez la jeune syzygie un noyau dans chaque individu, observation que nous ne pouvons point confirmer.

3) L'épicyte

Les plis épicytaires sont communs pour la plupart des Grégarines, excepté les Selenidiidae qui possèdent plutôt des bombements épicytaires. (FOWELL (1936), VIVIER et SCHREVEL (1964 et 1966) et SCHREVEL (1971)). Mais comme ces bombements plus ou moins serrés montrent au microscope électronique presque la même structure que les plis, on ne peut pas tellement les considérer comme une exception.

C'est VIVIER (1968) qui le premier attribue aux mouvements des plis l'origine du déplacement de translation chez Lecudina pellucida. En effet, suivant les résultats obtenus au microscope à balayage, nous devons admettre cette hypothèse et nous pouvons même l'étendre à toutes les Grégarines qui possèdent des plis épicytaires ondulatoires et qui se déplacent par glissement.

VAVRA et SMALL (1969) démontrent que ces ondulations des plis ne sont pas un artefact de préparation, et que les Grégarines, possédant des plis non ondulatoires, n'exécutent aucun mouvement de translation. Cette hypothèse s'adapte très bien à notre cas : nous observons les deux sortes de plis. Le deutomérite, exécutant des mouvements de glissement montre des plis ondulatoires.

Par contre, le protomérite possède des plis non ondulatoires, et, en effet, quand on observe l'animal au microscope optique nous constatons que le protomérite n'intervient pas dans le déplacement rectiligne de la Grégarine. Il n'agit qu'en se pliant pour indiquer la direction, et il est simplement poussé par le corps de l'animal.

Ceci est confirmé par la transformation des plis protoméritiques du satellite en plis ondulatoires au moment de son absorption par le deutomérite.

4) La couche fibrillaire

LEGER (1892) attache une grande importance à la couche fibrillaire qu'il appelle "myocyte".

Les Grégarines chez lesquelles cette couche a été aperçue en premier lieu, sont celles où les fibrilles sont assez espacées pour être manifestement apparentes : Eirmocystis (= Hirmocystis), Didymophyes, et quelques espèces du genre Gregarina (LEGER 1892). Chez d'autres, comme Nematocystis et Monocystis (ROSKIN et LEVISON, 1929), l'action d'un réactif devient nécessaire pour en constater la présence, et encore faut-il examiner un grand nombre d'individus avant d'en rencontrer un qui montre nettement la couche fibrillaire.

Cette couche n'intervient pas, nous semble-t-il, ni dans le déplacement de translation, ni dans le flux cytoplasmique. Nous devons lui attribuer plutôt la responsabilité des mouvements péristaltiques et d'enroulement chez notre espèce.

Nos résultats obtenus au microscope optique et à balayage attendent une confirmation. Nous espérons la fournir par nos études au microscope électronique.

TROISIEME CHAPITRE

ETUDE ULTRASTRUCTURALE

- ETUDE ULTRASTRUCTURALE

A - LES PREMIERS STADES DU DEVELOPPEMENT

Nous diviserons la période de croissance en un certain nombre de stades qui, du sporozoïte, nous amèneront au gamonte en syzygie. Cette division en différentes phases, fixées arbitrairement suivant l'évolution du protomérite et du complexe nucléaire, est destinée à faciliter la compréhension du processus. C'est ainsi que depuis la pénétration du sporozoïte jusqu'à la formation du kyste, nous envisagerons cinq stades : les deux étapes extrêmes - sporozoïte, d'une part et gamétokyste, d'autre part - ne seront pas étudiées ici.

1) Stade I : le jeune céphalin uninucléé

Après l'implantation du sporozoïte, la portion intracellulaire de celui-ci se condense en une tête conique qui donnera plus tard le mucron ou l'épimérite. A ce moment, la jeune Grégarine est à son minimum de longueur : 3,5 à 4 μ . Cette phase, qui ne se rencontre que rarement, montre des structures extrêmement simples. (fig. 49, C).

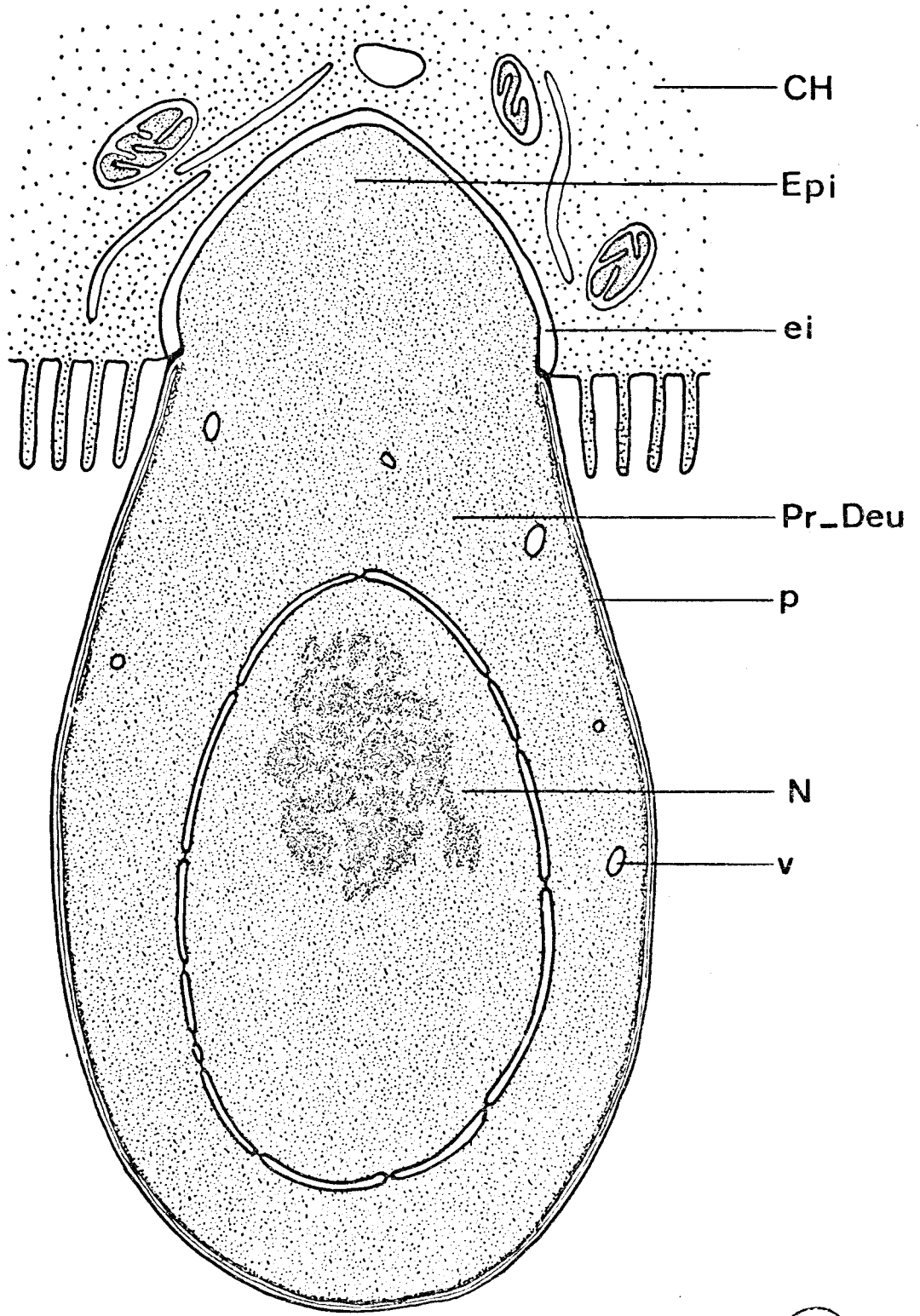
La paroi présente déjà tous les caractères de celle de l'adulte, si ce n'est l'absence de plissements ; elle est constituée d'un ensemble de trois membranes, dont les deux plus internes sont plus rapprochées ou même accolées suivant le schéma déjà donné par VIVIER et SCHREVEL (1964). La lame basale sous-jacente ne se distingue que par une légère couche plus dense.

Dans le mucron, par contre, la paroi se simplifie et elle ne présente plus qu'une seule membrane. Entre cette membrane et celle de la cellule-hôte se trouve une zone claire apparemment vide de toute inclusion. Il n'y a donc pas véritablement pénétration dans la cellule, la Grégarine repousse simplement la membrane cellulaire sans la rompre.

Le cytoplasme est, à ce stade, essentiellement formé de ribosomes en grande quantité. En outre, on peut parfois y trouver quelques vacuoles de taille peu importante, mais aucune trace d'ergastoplasme de dictyosome ou de mitochondrie.

Fig. C Schéma d'une Grégarine au stade I

La longueur du parasite^{est} de 4 microns environ. L'épimérite (Epi) est déjà formé. Dans le protodeutomérite (Pr-Deu) on trouve un seul noyau (N) et quelques vacuoles (v). Les ribosomes sont très abondants. L'espace intermédiaire entre l'épimérite et la cellule hôte (CH) est déjà présent. La paroi (p) de la Grégarine est formée de 3 membranes unitaires. Il n'y a pas encore de plis.



Le noyau unique est assez volumineux d'une taille de 2μ (grand axe) et $1,2\mu$ (petit axe). Son enveloppe est semblable à celle des Métazoaires : elle est formée de deux membranes percées de pores. Le nucléoplasme est finement granuleux avec un caryosome assez dense et excentrique. On n'y trouve jamais de chromatine typique ni au centre, ni à la périphérie. Son allure semble identique à celle décrite chez les Grégarina par DEVAUCHELLE (1968).

2) Stade II : premières divisions nucléaires

A ce stade les jeunes trophozoïtes ont une taille comprise entre 7 et 10μ . Ils vont à ce moment là, prendre une forme caractérisée par un mucron conique plus large que le corps qui prend lui-même une forme cylindrique. Cette phase se distingue de la première par l'apparition des premiers organites cytoplasmiques, la formation des plis épicytaires et les divisions nucléaires successives (Fig. 50,D). La paroi conserve une structure identique à celle du stade précédent. Elle ne changera d'ailleurs plus jusqu'à la fin du développement. Par contre la lame basale apparaît nettement (Fig. 68, 92). Elle pourrait jouer un rôle dans l'apparition des plis épicytaires qui se forment à ce stade (Fig. 50) et qui vont s'individualiser progressivement (Fig. 92).

Au niveau de l'implantation du parasite dans la cellule hôte, les membranes se présentent d'une manière très particulière : elles viennent s'accoler avec la membrane cellulaire et forment ainsi une sorte de bague entre la portion externe et la portion interne du parasite.

A ce stade, le cytoplasme commence à différencier les premiers organites. Les vacuoles sont relativement grandes et en quantité abondante, souvent en amas. Quelques mitochondries et dictyosomes apparaissent et on distingue des zones de réticulum endoplasmique agranulaire dans le mucron, et granulaire dans le corps de la Grégarine.

Cette phase se distingue de la précédente essentiellement par une quantité de noyaux qui ont la même allure que ceux du stade précédent. Leur taille est en général un peu inférieure - de 1 à 2μ environ. Plusieurs divisions mitotiques successives ont dû avoir lieu, mais d'une telle rapidité que nous n'avons jamais pu observer le stade de la première division nucléaire.

Fig. D Schéma d'une Grégarine au stade II

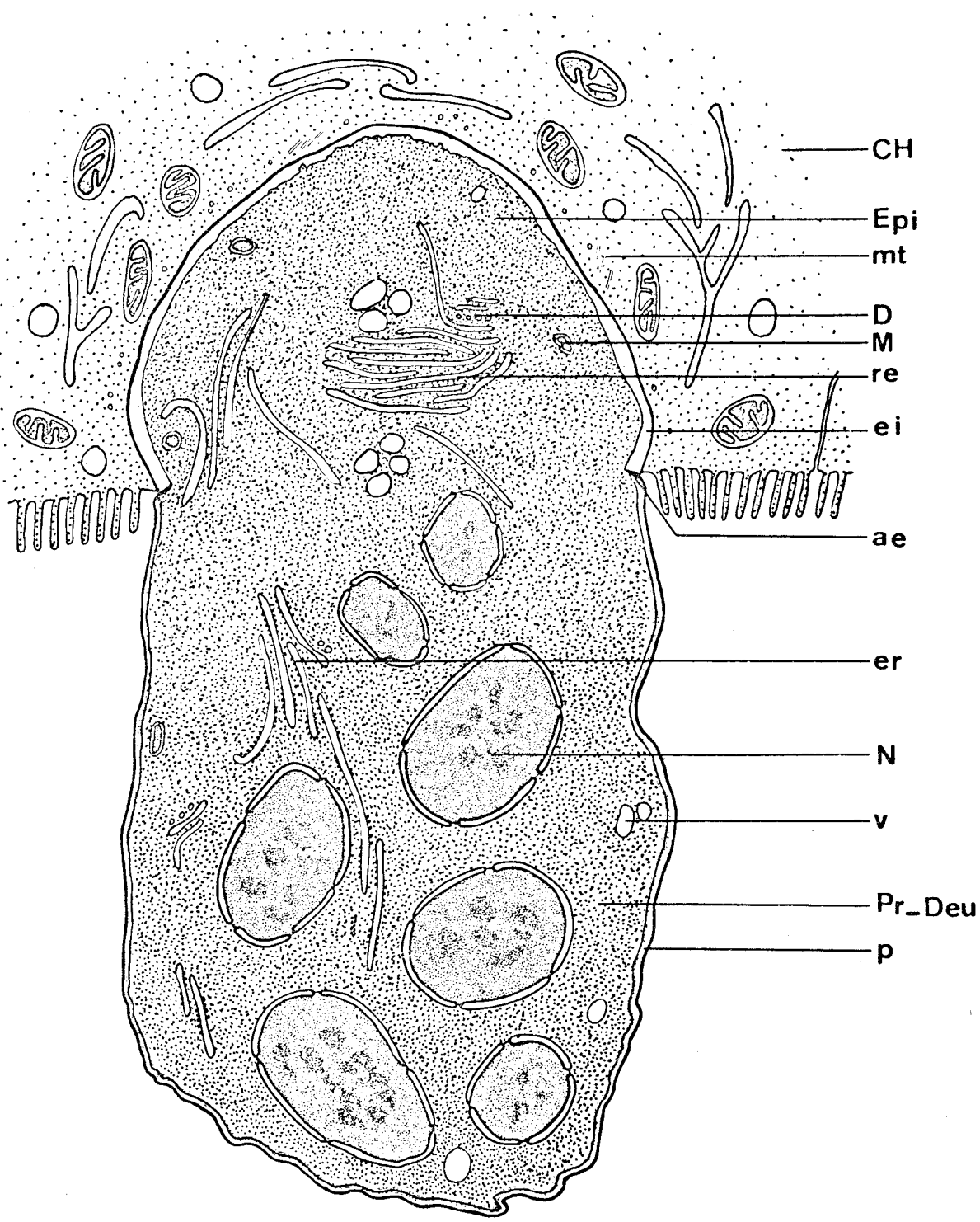
Longueur du parasite : 10 microns environ.

A ce stade, les premières mitoses progamiques ont déjà eu lieu (3 au total) et on observe plusieurs petits noyaux (N).

On retrouve les mêmes éléments que précédemment :

épimérite (Epi), Protodeutomérite (Pr-Deu), espace intermédiaire (e.i.) ainsi que des vacuoles (v). Les ribosomes sont toujours présents en grande quantité.

A ce stade, on voit apparaître des mitochondries (M), des lames de reticulum endoplasmique (re) et d'ergastoplasme (er) ainsi que des dictyosomes (D). On reconnaît à la base de l'épimérite l'anneau épiméritique. La paroi commence à se plier pour donner plus tard les plis épicytaires. Dans la cellule hôte (CH), on distingue des microtubules (mt).



- CH
- Epi
- mt
- D
- M
- re
- ei
- ae
- er
- N
- v
- Pr_Deu
- p

3) Stade III : apparition du Septum.

Si, jusqu'à présent, le parasite pouvait être considéré comme étant formé de deux parties - l'épimérite ou le mucron, caractérisé par une seule membrane, et le protodeutomérite de la Grégarine, contenant le ou les noyaux - à partir de ce stade III le parasite va se trouver divisé par une cloison nouvellement formée : le septum qui délimite deux parties distinctes : le protomérite dans le prolongement de l'épimérite, et le deutomérite renfermant les noyaux dont la quantité a sensiblement augmenté. (Fig. E).

Ce septum que nous allons décrire plus en détail dans un autre paragraphe, est constitué d'une densification de granules et fines fibrilles, laquelle naît au centre de l'animal et s'étend progressivement vers la périphérie (Fig. 85, 86, E).

4) Stade IV : prolongement du Protomérite

Ce stade est caractérisé d'une part par le prolongement du protomérite (Fig. 51, F), et d'autre part par la croissance démesurée en longueur du deutomérite. En plus c'est au cours de cette phase qu'a lieu l'association de deux individus pour former une syzygie.

Dans l'épimérite on distingue maintenant une quantité de mitochondries disposées en cercle autour d'un centre plus clair que le reste du cytoplasme (Fig. 53, 54).

Le protomérite séparé maintenant intégralement du deutomérite par le septum, est vacuolisé et fait ressortir ainsi davantage les agglomérations cytoplasmiques relativement denses, contournées et traversées par des lames ergastoplasmiques. Progressivement on trouvera des substances de réserve sous forme de paraglycogène dans le cytoplasme (Fig. 52).

5) Stade V : vacuolisation du protomérite

Au fur et à mesure de la croissance de la Grégarine, le cytoplasme va présenter un aspect particulier suivant qu'il s'agira de l'un ou l'autre des trois segments (Fig. 52).

Au niveau de l'épimérite le cytoplasme est très chargé en ribosomes et en mitochondries, et au bord, à l'intérieur du protomérite, on observe fréquemment des paquets de microtubules.

Fig. E Schéma d'une Grégarine du stade III.

Longueur du parasite : 20 à 30 microns.

Le septum protoméritique (sp) ainsi que les plis épicy-
taires de la paroi (p) et la lame "basale" (lb) sont apparus.

Le nombre de noyaux (N) a augmenté.

Les ribosomes sont plus denses dans l'épi-et protomérite
(Epi et Proto) que dans le Deutomérite (Deuto). Dans la
partie antérieure, les mitochondries (M) entourent un
centre plus clair.

ae = anneau épiméritique

CH = cellule hôte

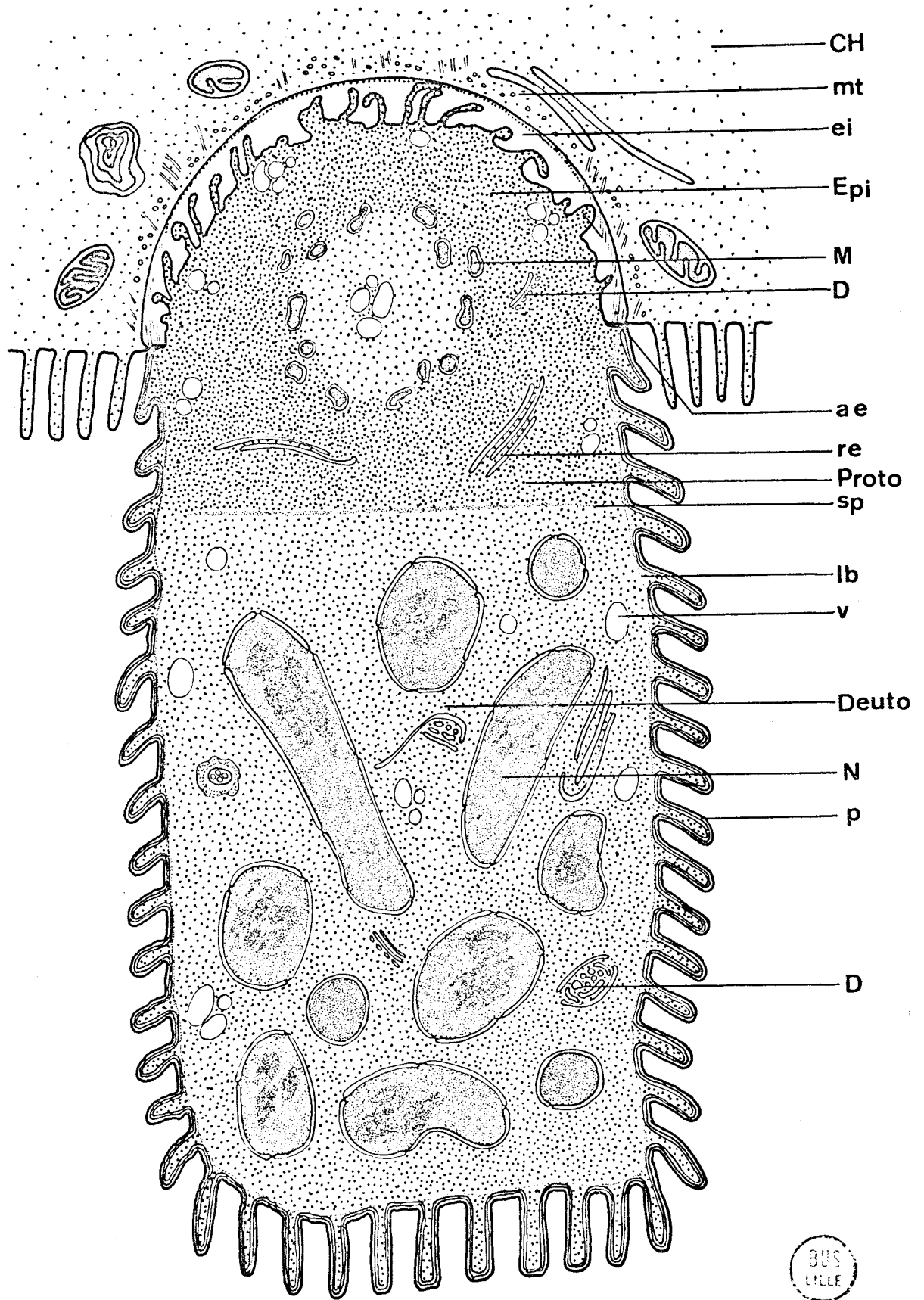
D = dictyosome

ei = espace intermédiaire

mt = microtubules

re = reticulum endoplasmique

v = vacuole



BUS
LITTLE

Fig. F Schéma d'une Grégarine du stade IV et V

Longueur du parasite : 100 μ à 12 mm.

Par simplicité nous ne présentons pas la syzygie entière.

La partie "Deutomérite" comprend ainsi le deutomérite du primite et le satellite.

L'épimérite (Epi) est caractérisé par la forte densité de ribosomes, la sphère centrale de mitochondries et les microtubules (mt).

A ce stade, apparaissent les agglomérations ribosomales (ar) entourées par des mitochondries (M) et des polysaccharides semblables au paraglycogène (pg) dans le protomérite. Le septum (sp) est convexe vers l'avant.

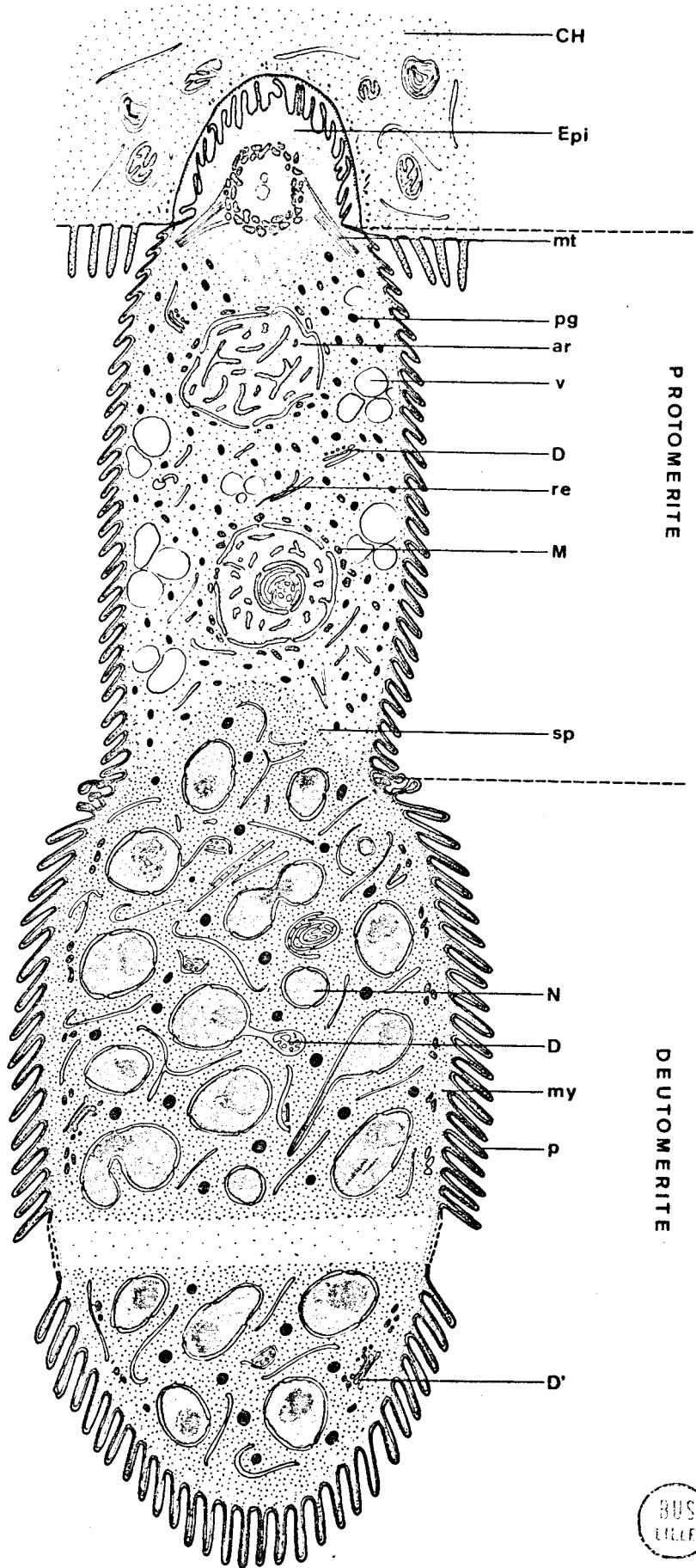
Dans le deutomérite, on reconnaît maintenant les myonèmes annulaires (my) dans l'ectoplasme et deux types de dictyosomes (D et D').

N = Noyau

p = paroi

re = reticulum endoplasmique

v = vacuoles



PROTOMERITE

DEUTOMERITE



Le protomérite nouvellement différencié montre une quantité énorme de vacuoles entre lesquelles on distingue des plages, soit finement granulaires, soit contenant des inclusions relativement grosses. Le nombre de grains de paraglycogène a diminué par rapport au stade précédent.

Dans le deutomérite, qui continue à se développer, on rencontre quelques rares mitochondries ainsi que des granulations de paraglycogène. Quelques vacuoles et du réticulum endoplasmique sont également présents à ce niveau. Les noyaux deviennent très nombreux dans ce segment et les dictyosomes sont multiples.

B - LE PROTOMERITE

Au début du développement, on ne distingue, comme nous l'avons déjà vu, que deux segments : l'épimérite et le protodeutomérite formant le corps de la Grégarine. C'est à partir de la formation du septum, que nous pouvons seulement parler d'un protomérite proprement dit. A ce moment apparaissent également les organites principaux.

C'est ce stade III et les suivants qui ont donc particulièrement retenu notre attention.

1) L'épimérite ou mucron

L'épimérite, que nous étudierons en premier lieu, est caractérisé tout d'abord par la membrane externe unique, puis par la forte densité du cytoplasme et une grande quantité de mitochondries (Fig. 53, 54).

Son ultrastructure se rapproche de celle de l'épimérite des Grégarina étudiées par DEVAUCHELLE (1968), et est presque identique à celle des Gregarina embiae décrites par LOUBES et coll. (1971).

Le mucron cylindro-conique, de 2 μ de long environ, est fiché dans la cellule intestinale de l'Oryctes jusqu'à l'élargissement qui le sépare du protomérite. C'est exactement à l'endroit où la membrane de la cellule hôte enserre la base de l'épimérite (Fig. 50) que se distingue un fin trait sombre, disposé perpendiculairement à l'enveloppe épiméritique. Il s'agit de l'appareil basal annulaire que décrivent DEVAUCHELLE (1968) et LOUBES et coll. (1971).

a) L'anneau épiméritique et les membranes

L'appareil basal annulaire est une lame faisant un tour complet dans l'épimérite. Nous pensons que là se trouve la limite vraie entre épimérite et protomérite. Cette lame annulaire s'incurve vers le pôle antérieur du mucron, et se poursuit en une membrane qui sépare le parasite d'une zone claire se trouvant entre celui-ci et la cellule-hôte. Nous appelons cet espace "zone intermédiaire".

Dans le protomérite même, cette lame forme un creux avec la membrane externe de la paroi. Dans ce creux, souvent rempli d'une granulation osmiophile (Fig. 60, 61, 6b), les deux membranes internes s'interrompent en se soudant, sans arriver jusqu'à la lame elle-même (Fig. 55, 6b). Il nous semble donc évident que la membrane unique du mucron n'est qu'une continuation de la membrane externe de la paroi épicytaire.

La limite du côté cellulaire de l'espace clair semble être constituée au premier abord par deux membranes (Fig. 56), mais en réalité il n'existe qu'une seule membrane provenant de la cellule hôte et recouverte d'une couche dense. Cette couche dense révèle sur des coupes très fines (Fig. 57) ou obliques (Fig. 58, 59), une structure. De fines côtes tubulaires tapissent tout le creux formé dans la cellule hôte par le parasite (Fig. 6a).

Cette couche côtelée se distingue particulièrement bien au niveau de la lame annulaire, et il semble exister (Fig. 60) un lien entre les côtes et la lame. La fig. 61 montre nettement que la membrane de la cellule hôte n'est pas en relation avec la lame.

La lame annulaire ne forme pas un cercle parfait. Sur des coupes presque tangentiellles (Fig. 62, 63), on distingue plusieurs endroits où la lame est coupée transversalement ou obliquement. On observe les fines côtes prenant parfois un aspect fibrillaire à ces endroits, et qui rejoignent la membrane de la cellule hôte.

L'anneau basal est lui-même structuré. Sur une coupe tangentielle de l'anneau, on reconnaît une striation transverse qui laisse apparaître une périodicité de 450 Å (Fig. 63).

- Fig. G
- a) Schéma de la couche tubulaire (ct) existant sur la membrane de la cellule hôte (mCH) dans l'espace intermédiaire entre épimérite et la cellule hôte.
- b) Schéma de la base de l'épimérite montrant l'anneau épiméritique (ae) et les trois membranes de la paroi.

CH = cellule hôte

ct = couche tubulaire

ei = espace intermédiaire

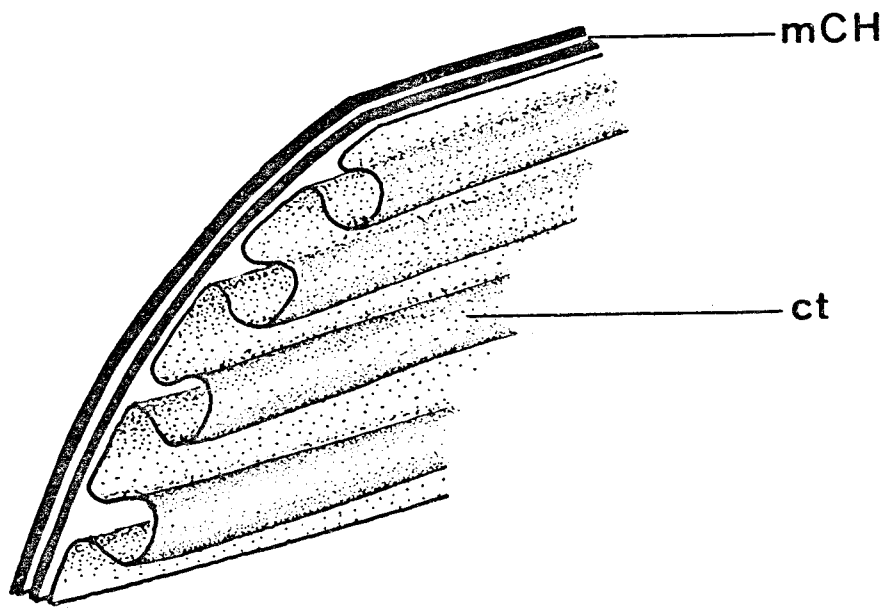
lb = lame "basale"

m₁ = membrane externe

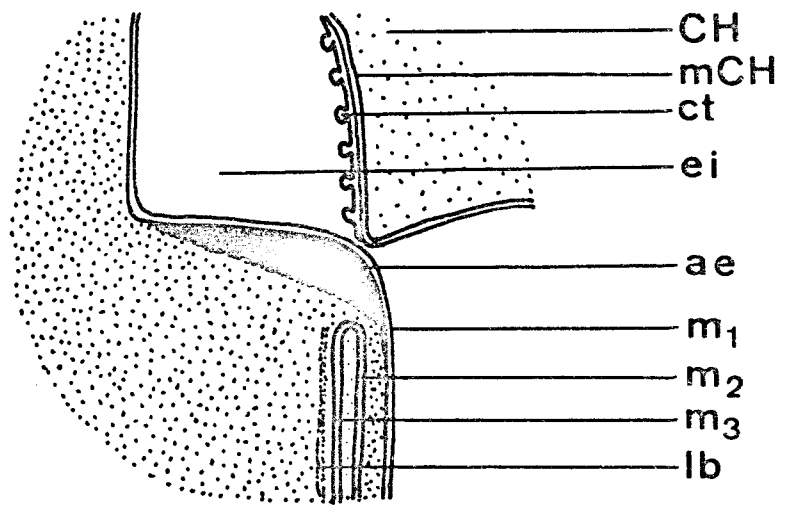
m₂ = membrane moyenne

m₃ = membrane interne

mCH = membrane de la cellule hôte



a



b



b) Les microvillosités épiméritiques

La zone entre le mucron et la cellule intestinale apparaît toujours vide de toute inclusion. Chez le jeune céphalin la membrane épiméritique est toujours lisse, chez l'adulte par contre, à partir du stade III, la membrane forme une quantité d'évaginations irrégulières qui peuvent apparaître soit en forme de plis épiméritiques, soit en forme de microvillosités (Fig. 62 - 64). Celles-ci se reconnaissent facilement par coupes transversales (Fig. 62-64). Suivant l'espace que leur laisse la zone intermédiaire, ces évaginations sont plus ou moins ondulées. Entre les microvillosités on aperçoit presque partout les côtes ou filaments décrits ci-dessus (Fig. 62, 63).

c) Les relations parasite-hôte

Les relations entre le parasite et son hôte sont dès le début avantagées par l'existence d'une seule membrane au niveau de l'épimérite. Les matériaux puisés dans la cellule hôte, doivent franchir non seulement deux membranes (celle de l'hôte et celle du parasite), mais aussi la zone intermédiaire.

La cellule hôte commence à réagir à la présence du parasite. Les microvillosités ont complètement disparu dans la zone intermédiaire. On peut également rencontrer quelques figures myéliniques habituellement considérées comme caractéristiques de la dégénérescence (Fig. 50). Cependant les organites habituels de ces cellules sont toujours présents et paraissent également intacts. Le cytoplasme par contre s'éclaircit remarquablement et devient très vacuolisé contrairement à celui des cellules saines. Dans la région de la cellule intestinale tout autour de l'épimérite, apparaît au fur et à mesure soit une quantité considérable de microtubules, de 200 Å de diamètre (Fig. 65, 67), soit une couche fibrillaire extrêmement dense (Fig. 66).

2) L'épicyte

C'est un épicyte classique de Grégarine. Il est admis maintenant que l'enveloppe des Grégarines est constituée de trois membranes unitaires, la membrane externe toujours visible, et le complexe membranaire interne constitué de deux membranes parfois si intimement accolées l'une à l'autre, qu'on ne les distingue que dans des cas

très favorables, comme l'indiquent VIVIER et coll. (1970). Par contre, chez notre espèce, les deux membranes internes sont nettement séparées par un espace structurellement vide (Fig. 68). A l'apex des plis on observe entre la membrane externe et la membrane moyenne, une dizaine de densifications : les arceaux apicaux. Opposées à ceux-ci dans la couche sous-jacente à la membrane interne, se trouvent des densifications apicales, plus osmiophiles que les arceaux apicaux et qui sont des coupes de fibres longitudinales (VIVIER 1968). L'épicyte est limité vers le cytoplasme par une lame basale (Fig. 68).

3) Les organites protoméritiques

a) Les mitochondries

Ce n'est pas seulement l'épimérite qui possède une quantité considérable de mitochondries. On les trouve également partout dans le protomérite, mais là d'une façon plus ou moins dispersée. Elles sont relativement petites et possèdent une matrice toujours très opaque aux électrons. Leur forme est simple, souvent un peu allongée et la membrane interne ne montre que très rarement des invaginations ampuliformes (Fig. 69).

b) Les microtubules

A la limite entre le cytoplasme épiméritique toujours relativement dense et celui du protomérite plus clair, on rencontre souvent des paquets de 30 à 40 microtubules d'un diamètre de 180 Å environ (Fig. 71 a, 72, 73). Ces paquets apparaissent en général au niveau de l'anneau basal, et pénètrent dans l'épimérite en bifurquant (Fig. 71 a) et se perdant dans la couche mitochondriale où on les retrouve isolés ou par association de deux jusqu'à quatre au maximum. (Fig. 69, 70, 71 b).

Ils ne sont pas tous orientés dans le même sens, et assez fréquemment on les observe se croisant (Fig. 71 a et b). De temps à autre, on en rencontre un ou deux dans l'ectoplasme protoméritique, parallèles au sens des plis épicytaires (fig. 68).

c) Les agglomérations protoméritiques

LEGER a déjà observé en 1892 dans le protomérite de D. gigantea des densifications cytoplasmiques qu'il appellera ensuite "inclusions albuminoïdes" (Fig. 51). Ces inclusions se révèlent au microscope électronique comme étant des agglomérations de ribosomes, entourées et traversées par du réticulum endoplasmique (Fig. 74), avec un dictyosome au centre et des mitochondries à proximité (Fig. 75).

Ces corps ribosomiaux apparaissent dans la Grégarine après la formation du septum, se différencient en même temps que se produit la vacuolisation du protomérite (Fig. 52) et finissent par donner différentes inclusions.

Les inclusions qui apparaissent le plus fréquemment sont surtout des grains denses aux électrons entourés par une membrane (fig. 76). En même temps, on peut observer d'autres grains à peu près de même taille (environ $0,1\mu$ de diamètre) qui sont à l'ordinaire un peu plus denses mais qui ne sont pas entourés par une membrane (Fig. 77). En d'autres endroits s'accumulent de petits sphérules d'un diamètre variable allant jusqu'à 500 \AA au maximum (Fig. 78). Ils sont reliés par des structures très denses qui apparaissent, sur coupe perpendiculaire, comme des fines lamelles parallèles (Fig. 79). On les observe presque aussi souvent que les grains denses, avec lesquels ils peuvent être mélangés à condition que ceux-ci ne possèdent pas de membrane. (Fig. 80). Dans le cas où les grains opaques sont entourés par une membrane, les agglomérations des différentes inclusions peuvent coexister, il est vrai, mais tout en restant séparées (Fig. 76). Progressivement on trouvera **des** substances de réserve sous forme de paraglycogène.

d) Le filament protoméritique

Une autre structure, nous semble-t-il, peut se différencier à partir de l'agglomération ribosomale : dans le protomérite du primite d'une syzygie en fin d'évolution, on rencontre dans une densification cytoplasmique des inclusions apparemment circulaires ou allongées (Fig. 81). Cependant, en y regardant de plus près, on reconnaît qu'il doit s'agir d'un élément très allongé et enroulé en peloton dans cette masse de ribosomes et de réticulum endoplasmique (Fig. 82, 83).

Ce filament d'une épaisseur moyenne d'environ $0,1 \mu$ rappelle tout à fait le filament polaire des microsporidies dont SCHUBERT (1969 b) décrit la structure d'une façon très détaillée. Les coupes transversales montrent une structure en anneaux concentriques. Il est donc formé d'éléments cylindriques emboîtés les uns dans les autres. A l'extérieur le filament est limité vers le cytoplasme par une membrane unitaire légèrement ondulée (Fig. 82-84). A l'intérieur se présente un anneau constitué de deux membranes (Fig. 84) entre lesquelles se trouve une zone très dense aux électrons. L'espace plus ou moins large entre cet anneau et la membrane externe est dépourvu de toute structure. C'est aussi le cas pour l'espace clair à l'intérieur de l'anneau. Le centre du filament est rempli par une condensation cylindrique également opaque aux électrons et entourée par une autre membrane (Fig. 82).

4) Le septum

Comme nous l'avons déjà décrit auparavant, le septum commence à s'établir à partir du stade III, partant du centre juste en dessous de l'épimérite (Fig. 85) et progressant vers la périphérie de la Grégarine. Au fur et à mesure de la formation du septum, le protomérite va s'allonger pour prendre par la suite sa forme de mamelon conique (Fig. 86).

Si son origine ne nous est pas connue, le septum apparaît en tout premier lieu comme constitué de petites fibrilles, formant une couche très peu épaisse, souvent discontinue (Fig. 85, 86). Progressivement il va s'épaissir et former chez l'adulte une zone épaisse de $0,1 \mu$ en moyenne avec une structure fibrillaire et finement granulaire identique à celle déjà décrite par GRASSE et THEODORIDES (1959), puis BEAMS et coll. (1959) et DEVAUCHELLE (1968) (Fig. 87, 88).

Chez le jeune céphalin le septum est rectiligne, tandis que chez l'adulte il est convexe vers l'avant. (Fig. 89). Sur les bords il bifurque et peut pénétrer profondément dans les deux segments de l'animal tout en longeant la paroi (Fig. 90). Sur une coupe transversale (Fig. 91) bien orientée, on arrive donc à le reconnaître par le cercle entourant le cytoplasme deutoméritique, et un autre longeant la paroi et l'épicyte.

5) Discussion

A propos de la Grégarine parasite de la larve d'Oryctes nasicornis, dont nous avons pu suivre les principales étapes du développement, de nombreux faits nouveaux apparaissent. Ces faits permettent d'envisager un certain nombre d'hypothèses relatives à la biologie de ces Sporozoaires et au rôle des principales structures.

Il est remarquable de constater que les discussions et hypothèses présentées par LEGER, il y a 80 ans se trouvent ici pleinement justifiées. Sans entrer dans les détails, disons simplement que cet auteur avait très bien distingué le premier stade à deux segments, l'épimérite et le protodeutomérite formant le corps de la Grégarine. Ensuite le stade à trois segments avec septum protodeutoméritique.

Nous reprendrons ici les points caractérisant plus particulièrement le développement de ces Grégarines, sans faire encore mention du complexe nucléaire qui fera l'objet d'une discussion ultérieure.

a) La phase initiale

Examinons la phase initiale de pénétration du sporozoïte dans la cellule hôte. Nous en connaissons maintenant la structure. L'étude faite par beaucoup d'auteurs (Bibliographie détaillée chez PORCHET-HENNERE et VIVIER (1971)) chez les sporozoïtes nous permet de supposer que chez D. gigantea l'ultrastructure de celui-ci est identique à celle d'autres Sporozoaires : de forme allongée avec, à son extrémité antérieure, un conoïde ainsi que des rhoptries qui parcourent tout le cytoplasme.

Cependant il est curieux de remarquer que chez l'espèce que nous avons étudiée, dès le premier stade (4μ), on ne trouve plus aucune trace de ces éléments alors que chez le Stylocephalus africanus (DESPORTES 1967), ils existent chez des individus dont la taille est nettement plus élevée (15 à 20μ). Chez Selenidium hollandei (SCHREVEL 1968) et Epicavus araeoceri (ORMIERES et DAUMAL 1970 a et b) on voit des formations apparemment comparables. Ainsi, dans le cas de Gregarinidae (DEVAUCHELLE 1968) et chez notre espèce il faut supposer que ces structures sont très fugaces.

Pendant la première phase il y a donc eu transformation rapide des principaux organites apicaux et sans doute des mitochondries, qui semblent avoir disparu au stade I. En plus, il y a eu fixation du parasite à son hôte avec l'apparition d'une "bague de jonction" et élaboration de l'épimérite. Pourtant il y a ici un phénomène particulier au niveau de la membrane : si l'on admet avec LEGER et DUBOSCQ (1902 et 1904) que le sporozoïte s'enfonce dans la cellule hôte, à priori la membrane externe doit être identique dans les deux premiers segments : épimérite et protodeutomérite. Ceci semble être le cas ici. En effet, aussi bien au début de la croissance que plus tard, on ne distingue qu'une seule membrane recouvrant l'épimérite et trois sur le reste du corps.

DEVAUCHELLE (1968) et LOUBES et coll. (1971) affirment cependant avoir observé chez les Grégarinidae deux membranes épiméritiques dont l'extérieur est accolé sur la membrane plasmique de la cellule hôte. Au moment de la pénétration, la membrane externe de la paroi trimembranaire s'interrompt et seules les deux autres formeront l'épimérite tout en se décollant pour établir ainsi la zone corticale ou "zone de transit".

BAUDOIN (1969), tout en observant également l'anneau basal, décrit même trois membranes épiméritiques chez Ancyrophora puytoraci, dont l'externe se joint à la membrane de la cellule hôte ; l'enveloppe épiméritique doit résulter de l'amalgame de deux membranes internes. A ces hypothèses nous allons en ajouter une troisième qui cherche à expliquer la constitution membranaire de l'épimérite dans son origine, c'est-à-dire à partir de l'ultrastructure du sporozoïte.

Il est connu que le sporozoïte possède une paroi identique à celle de l'adulte, à savoir constituée de trois membranes dont les deux internes forment souvent le "complexe membranaire interne". Au niveau du conoïde cette structure trimembranaire de la paroi est interrompue et l'on n'observe plus qu'une seule membrane à l'apex du sporozoïte (DESPORTES, 1967 ; PORCHET-HENNERE et VIVIER, 1971). Les deux membranes internes se rejoignent à cet endroit (VIVIER et PETITPREZ, 1968 et 1972).

Après la fixation du parasite à son hôte, l'apex unimembranaire du sporozoïte, tout en grandissant refoule alors la membrane de la cellule hôte devant lui et forme ainsi l'épimérite. En même temps le conoïde pourrait subir une transformation, et s'élargir considérablement. Cet élargissement est possible, puisque le conoïde n'est pas formé d'une seule pièce mais constitué de grosses fibres spiralées et parallèles entre elles. Celles-ci pourraient à ce moment glisser l'une sur l'autre et finalement se placer l'une derrière l'autre dans le sens longitudinal. Elargi, transformé en anneau, le conoïde (si l'on peut l'appeler encore ainsi) s'accolerait sur la membrane externe pour donner l'anneau basal.

Au moment où l'adulte se détache de l'hôte, l'épimérite est absorbé par le parasite et l'anneau basal disparaît. Les deux membranes internes doivent ensuite avancer vers le pôle et obturer le trou apparu dans la paroi.

Cette hypothèse semble d'autant plus vraisemblable, que l'on distingue nettement l'endroit, dans le creux formé par la bague épiméritique avec la membrane externe, où se rejoignent les deux membranes internes (Fig. 55). Cela, nous semble-t-il, doit être le même cas chez les Gregarinidae, et nous croyons observer ce même phénomène chez Gregarina polymorpha (DEVAUCHELLE 1968, Pl. II, Fig. 2). La zone corticale dépourvue de toute structure, décrite par cet auteur ne serait donc rien d'autre que la zone intermédiaire entre le parasite et la cellule hôte dans notre cas.

DESPORTES (1967) a démontré l'évolution de l'épimérite chez Stylocephalus africanus et GUSTAFSON & coll. (1954) ont déjà envisagé la fonction du conoïde comme structure buccale, appareil de pénétration.

Ainsi chez le jeune trophozoïte des stades I et II, on peut distinguer deux parties fort différentes : le corps de la Grégarine entouré d'une enveloppe à trois membranes, et l'épimérite unimembranaire. Entre ces deux segments se trouve l'anneau de jonction au niveau duquel vient s'imbriquer la membrane de la cellule hôte. Cette différence existant entre les membranes des deux segments confère peut-être à l'épimérite et au protodeutomérite des rôles différents.

b) L'épimérite

L'épimérite que nous étudierons ici va être caractérisé au cours de son évolution par le fait qu'il semble présenter une très intense activité.

Tout d'abord il y a présence en grande quantité de ribosomes, présence soupçonnée depuis longtemps, puisque l'épimérite est connu comme très pyroninophile. Puis de nombreuses mitochondries apparaissent, ce qui est un indice démontrant un métabolisme actif au niveau de ce segment

Le rôle joué par l'épimérite serait tout d'abord la nutrition de l'animal. L'épimérite puisant dans la cellule hôte les matières premières, va s'en servir pour élaborer les polysaccharides que l'on retrouve dans les autres segments. La fonction de nutrition a été attribuée à ce premier segment par beaucoup d'auteurs, notamment par GÖHRE (1943), SCHREVEL et VIVIER (1966), SCHREVEL (1968) et DEVAUCHELLE (1968).

Il est évident que si nous suivons l'opinion de ces auteurs, la nutrition par l'épimérite reste à démontrer, soit par des études cytochimiques ou encore mieux par des expériences à l'aide de traceurs opaques aux électrons, utilisés chez divers Protozoaires (STEINERT et NOVIKOFF, 1960 ; FAVARD et CARASSO 1963 et 1964 ; ELLIOT et CLEMMONS, 1966).

La plupart de ces auteurs envisagent l'absorption du matériel par phagocytose ou pinocytose. Dans notre cas, comme chez les Gregarinidae (DEVAUCHELLE, 1968 ; LOUBES et coll., 1971), on ne retrouve pas de réseau vacuolaire identique à celui rencontré chez d'autres espèces telles que Selenidium hollandei (SCHREVEL, 1968) ; ce qui nous amène à penser que le matériel puisé dans la cellule hôte est utilisé sur place, c'est-à-dire au niveau même de l'épimérite

D'autre part, nous ne devons pas oublier que l'épimérite doit avoir, à côté de la fonction synthétique, une fonction lytique. Il doit produire une substance qu'il envoie dans la cellule hôte, laquelle sera capable de dissoudre du matériel dans l'épithélium intestinal, pour lui permettre le passage à travers les deux membranes, celle de la cellule hôte et celle de l'épimérite.

Le rôle joué par l'épimérite dans la nutrition nous amène naturellement à considérer la fonction de la zone intermédiaire. Cet espace extracellulaire apparaît toujours vide de toutes inclusions, si ce n'est la présence de petites sphérules et des évaginations de la membrane épiméritique qui accroissent considérablement la surface de l'épimérite et facilitent ainsi les échanges entre parasite et zone intermédiaire. Nous devons donc attribuer à cette zone, un rôle de transit, aussi bien pour évacuer les matières lytiques dans la cellule hôte que pour absorber et sélectionner les matériaux puisés dans l'épithélium intestinal.

c) La réaction de la cellule hôte sur le parasite

Il n'y a pas rupture de la membrane cellulaire, et il faut absolument exclure pour notre espèce le cas de parasitisme intracellulaire. Il faudrait donc éviter de parler d'une pénétration du sporozoïte et employer plutôt le terme fixation, car la membrane cellulaire n'est jamais rompue.

Cependant au cours de la croissance de l'épimérite, la membrane change d'aspect. Tout d'abord les microvillosités de l'épithélium intestinal subsistant à gauche et à droite du parasite, se déplissent et s'intègrent dans la membrane cellulaire.

Dans la cellule on voit apparaître tout autour de l'épimérite une quantité considérable de microtubules et de fines fibrilles. DEVAUCHELLE (1968) explique la présence de microtubules par le déplissement des villosités dans lesquelles se trouvaient les tubules auparavant. Comme nous n'en avons jamais trouvé ni dans les villosités, ni dans le cytoplasme de la cellule hôte, nous devons chercher leur origine plutôt dans une réaction de la cellule attaquée. Cela se rapproche du phénomène observé par SCHREVEL et VIVIER (1966) chez Lecudina pellucida qui attribuent au mucron un rôle de suçoir qui provoque alors une digestion de l'épithélium. Nous pouvons admettre cette hypothèse d'autant plus que nous avons retrouvé les fibrilles que décrivent ces auteurs chez Lecudina dans la cellule hôte de notre espèce.

Un autre phénomène apparaît au niveau de la membrane cellulaire. Celle-ci se recouvre d'une couche dense aux électrons d'une

épaisseur de 80 à 100 Å environ, qui montre une structure en fines côtes tubulaires. Il nous est impossible d'indiquer l'origine de cette couche, car elle peut aussi bien provenir du parasite que de l'hôte.

Provenant de l'hôte, elle pourrait servir comme moyen de défense, en empêchant les substances solvantes émises par le parasite, de pénétrer dans la cellule. Mais à ce moment-là, l'hôte aurait un plus grand intérêt à rendre cette couche plus épaisse, qu'à agrandir sa surface par de fins replis.

Nous pensons donc que la première hypothèse apparaît comme vraisemblable ici et que c'est effectivement le parasite qui établit cette couche pour faciliter la pénétration du matériel lytique dans la cellule.

En tous cas, la dégénérescence de la cellule hôte est une preuve évidente qu'elle n'est pas capable de se défendre contre le parasite.

d) Les agglomérations ribosomales

Le protomérite proprement dit se distingue nettement de l'épimérite. Alors que ce dernier ne possède qu'une quantité de mitochondries incluses dans une masse dense de ribosomes, le protomérite montre tous les organites principaux des Grégarines : des grains de paraglycogène, des dictyosomes, du réticulum endoplasmique, des mitochondries et une quantité de grosses vacuoles.

Les agglomérations ribosomales déjà détectées au microscope optique par LEGER (1892), nous paraissent particulièrement intéressantes et pourraient être analogues au "noyau protoméritique" observé par DEVAUCHELLE (1968) chez les Gregarina, parasites de Tenebrio molitor. Ces corps entourés et traversés par des lames du réticulum endoplasmique avec un dictyosome central, nous semblent être l'endroit de l'élaboration du matériel de réserve (SCHREVEL et VIVIER, 1966), d'autant plus que vers la fin d'évolution, ces corps ribosomaux différencient des grains denses de différents aspects. Les mitochondries doivent y jouer le rôle de fournisseur d'énergie.

Cette hypothèse qui se doit d'être prouvée par des études cytochimiques est déjà renforcée par de nombreux faits : les grains sont toujours situés dans des régions très riches en granules R. N. P. et en lamelles ergastoplasmiques, comme ont pu l'observer

VIVIER et HENNERE chez la Coccidie Coelotropha durchoni (1965) ; on retrouve également du paraglycogène accolé à des mitochondries chez Coelotropha jeune.

L'organite le plus curieux du protomérite est le filament protoméritique que nous avons décrit auparavant. Il semble prendre son origine dans cette même masse constituée de ribosomes et de réticulum endoplasmique, et montre une forte ressemblance avec le filament polaire des Microsporidies (SCHUBERT, 1969 a, HILDEBRAND et VIVIER, 1971). S'il n'est pas un artefact, ce filament n'a jamais été observé chez aucune Grégarine, et bien qu'il se montre fréquemment chez l'adulte en fin d'évolution, nous ne pouvons lui attribuer aucune fonction.

Observé chez toutes les Microsporidies dans la spore, il a été décrit comme organe de pénétration dans la cellule hôte (LOM, 1971 et 1972). Par contre pour notre espèce cette fonction ne peut être considérée comme logique, car à la fin de son évolution la Grégarine s'enkyste et est loin de se fixer sur une cellule hôte. D'autre part, nous pouvons penser que ce filament n'est pas un organite propre à la Grégarine, et qu'il est d'origine microsporidienne. Le cas d'hyperparasitisme chez les Microsporidies est connu depuis longtemps. Les premières Microsporidies parasites de Grégarines ont été décrites par LEGER et DUBOSCQ (1909). Depuis de nombreux auteurs ont décrit des Microsporidies hyperparasites ; VIVIER (1965), HILDEBRAND et VIVIER (1970) dans le cas des Metchnikovellidae, CODREANU (1967) chez une Grégarine d'Eohémère, CORBEL (1967) chez une Grégarine de Gryllide, puis VINCKIER et coll (1971), chez une Grégarine de Némerte.

Dans notre cas, il pourrait donc s'agir d'un filament polaire d'une microsporidie au moment de l'infestation, c'est-à-dire qu'il n'existe dans la Grégarine que le filament polaire, et non encore l'hyperparasite même.

Comme nous avons fréquemment observé ce filament, mais jamais une Microsporidie dans la Grégarine, et comme nous l'observons toujours au niveau du protomérite, la question de son origine et de sa fonction reste encore en suspens.

C) LE DEUTOMERITE

Comme nous l'avons déjà vu, le deutomérite n'apparaît qu'à partir du stade III au moment de la formation du septum. Bien que les premières divisions nucléaires aient déjà eu lieu avant l'apparition du septum, le deutomérite se distingue surtout par la présence d'une quantité énorme de petits noyaux (HILDEBRAND 1972). En outre, c'est dans ce segment que nous allons trouver les éléments responsables de la contraction de la Grégarine : les myonèmes circulaires.

1) Les noyaux

Dans le jeune trophozoïte de Didymophyes gigantea, les noyaux montrent sensiblement la même structure que celui du stade uninucléé (Fig. 92). Au cours de la croissance interviennent des divisions nucléaires successives, dont nous ne pouvons pas indiquer le nombre exact. Si l'on songe que l'on peut observer fréquemment chez l'adulte plus de 100 noyaux sur une coupe transversale (Fig. 93), et que la syzygie atteint à ce moment une longueur de 10 mm et plus, nous devons admettre que le nombre de divisions nucléaires doit être très élevé.

C'est à cet endroit, que nous voulons parler du prétendu noyau observé par LEGER (1892) au microscope optique. En effet, il ne peut s'agir d'un noyau comme nous l'avons déjà montré auparavant, et la microscopie électronique révèle qu'il s'agit d'une grande vacuole, pourvue d'une structure finement granulaire ou fibrillaire, et peu dense (Fig. 94).

Au cours de l'évolution, les noyaux changent légèrement d'aspect. Au début, le nucléoplasme possède un karyosome assez dense mais hétérogène, tandis qu'au stade adulte il est marqué par la présence d'un nucléole très rouge après la coloration au Vert de Méthyl Pyronine. On n'y rencontre jamais aucune trace de chromatine. La taille des noyaux observés, quel que soit le stade d'évolution, est en général située entre 1 et 2 μ : L'enveloppe nucléaire est du type classique et munie de pores diaphragmés (Fig. 95 et 96). Ces diaphragmes deviennent surtout évidents au moment où l'enveloppe nucléaire est légèrement dilatée (Fig. 96 b).

Parfois les noyaux peuvent être lobés (Fig. 97, 98) et des coupes sériées montrent que les lobes peuvent être relativement prolongés (Fig. 97). Assez souvent, un ou deux noyaux sont entourés par une lame de réticulum endoplasmique (Fig. 99), et l'on distingue par endroits la continuité de celle-ci avec l'enveloppe nucléaire (Fig. 99 a). Les noyaux peuvent aussi montrer des invaginations contenant du cytoplasme d'une densité supérieure à celle du cytoplasme extérieur (Fig. 100). Plusieurs ponts existent dans de tels noyaux entre l'enveloppe nucléaire interne et externe.

Nous avons observé de nombreuses figures mitotiques que nous groupons en trois phases, telles qu'elles semblent se succéder.

a) Formation du fuseau intranucléaire

Nous n'avons pu suivre en microscopie électronique la première division nucléaire, ni obtenir d'images montrant l'origine et l'ébauche du fuseau intranucléaire. Les premiers stades de la division nucléaire que nous avons observés sont ceux où le fuseau mitotique est déjà existant.

Partant d'une extrémité, le fuseau traverse souvent plus de la moitié du noyau dans le sens longitudinal. Les quelques microtubules (de diamètre voisin de 200 Å) sont bien visibles. (Fig. 101 a, 102 a). Nous n'en avons jamais observé plus de trois dans une même coupe (Fig. 103).

Les microtubules prennent leur origine dans une densification au pôle du noyau (101, 102), laquelle apparaît, suivant le niveau de coupe, soit près de l'enveloppe nucléaire (Fig. 101 a), soit légèrement à l'intérieur du noyau (Fig. 102 a).

Dans le premier cas, cette densification d'où partent les microtubules, semble interrompre l'enveloppe nucléaire (Fig. 101 b) ou tout au moins la membrane interne de celle-ci. La figure 102 b nous montre la densification sous forme d'un cône structuré radiairement, limité à la base par un matériel dense. Cette structure rappelle le centrocône observé par DUBREMETZ (1971, 1972) au cours de la mitose schizogonique chez Eimeria necatrix.

Sur des coupes transversales (Fig. 103, 104), on remarque que les microtubules peuvent être orientés dans des sens différents et on arrive ainsi à distinguer un microtubule coupé transversalement à côté d'un autre coupé dans le sens longitudinal (Fig. 104). Ce dernier semble dans ce cas partir de la densification fusoriale.

Au cours de notre étude, nous n'avons jamais rencontré de centriole et nous supposons que cette structure n'existe pas chez notre espèce.

b) Séparation des noyaux fils

La répartition des nucléoles entre les futurs noyaux fils semble être le dernier événement intervenant avant la séparation complète des noyaux fils. Durant les phases précédentes le nucléole était logé dans une extrémité du noyau (Fig. 102 a et b). Sur certaines images il semble se placer au centre du noyau père déjà relativement allongé (Fig. 105, 106) et prend par la suite une allure hétérogène (Fig. 107), avant de se retrouver divisé dans chaque noyau fils (Fig. 109).

A ce moment le noyau s'étrangle et finit par se scinder complètement (Fig. 108, 109).

Dans certains cas, le noyau peut s'allonger considérablement en fin de division (Fig. 109), et il ne persiste entre les noyaux fils qu'un long canal étroit (Fig. 110) parcouru souvent par un microtubule (Fig. 109). Dans d'autres cas, on observe dans ce même canal, une invagination de l'enveloppe nucléaire. La figure 111 nous montre dans ce canal, d'une part une coupe transversale de la membrane nucléaire interne, et d'autre part une coupe tangentielle de la membrane nucléaire externe.

c) Nouvelle initiation des formes mitotiques

Certaines de nos images montrent qu'une mitose peut débiter avant que la précédente soit terminée (Fig. 112 à 114). L'interphase semble dans ce cas supprimée. Nous observons qu'avant la séparation des noyaux fils, des fuseaux de division apparaissent dans ceux-ci et que le "centrocône" est déjà présent. Un microtubule est en général dirigé dans le sens de l'étranglement du noyau (Fig. 113), ou passe même dans le canal décrit ci-dessus (Fig. 114).

Ce phénomène de l'apparition d'une mitose avant la fin de la précédente pourrait expliquer la forme polylobée des noyaux.

2) L'appareil de Golgi

L'appareil de Golgi nous semble être très complexe. Nous observons des dictyosomes en grande quantité dans le deutomérite où ils paraissent être en relation avec l'enveloppe nucléaire par l'intermédiaire du réticulum endoplasmique, mais nous en trouvons aussi dans le protomérite où n'existe aucun noyau. Ensuite on distingue libres dans le cytoplasme des dictyosomes dont les vésicules sont denses aux électrons.

Pour le deutomérite nous allons donc faire une différence entre deux types de dictyosomes : D et D'.

a) Les dictyosomes D

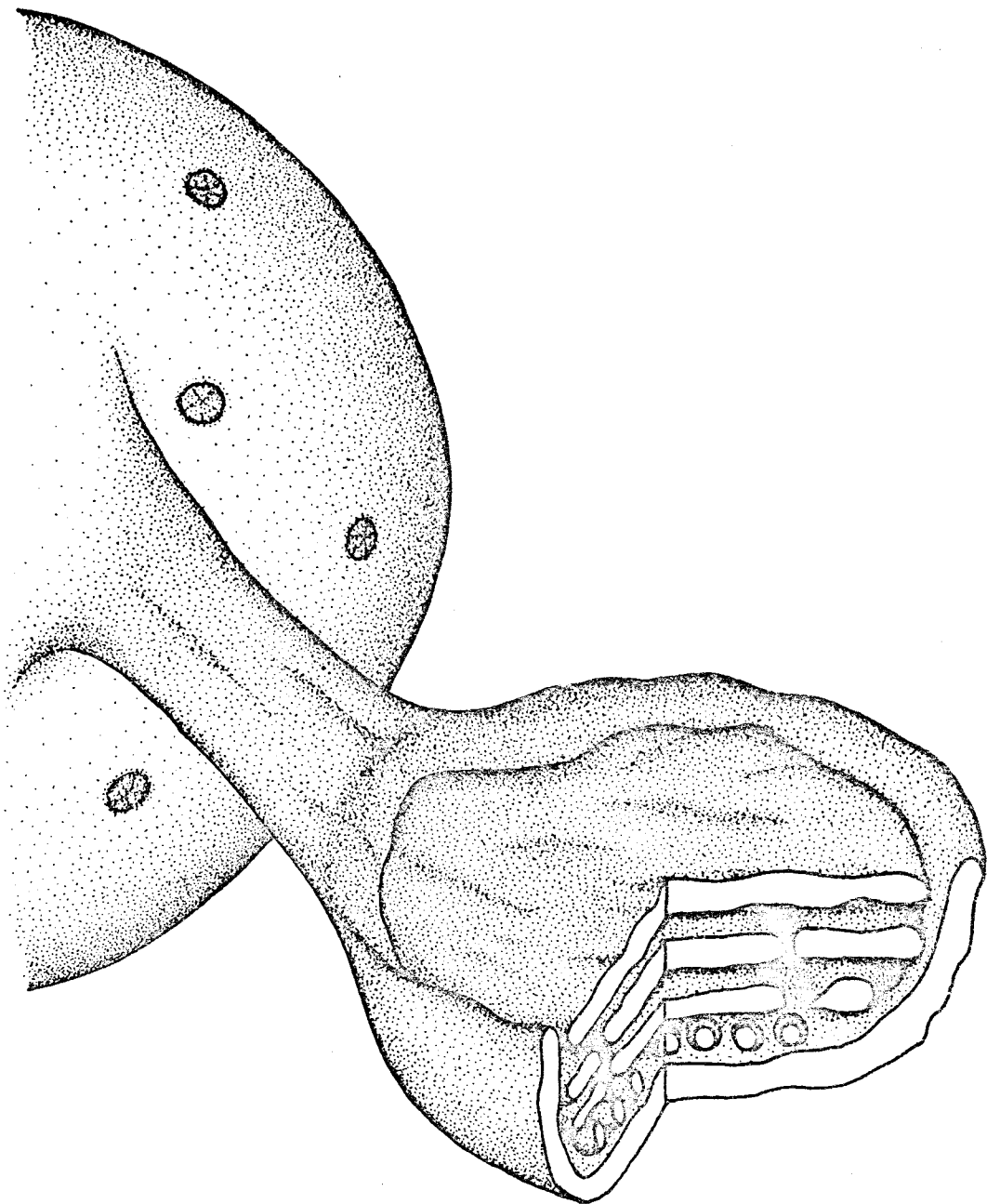
Dans le deutomérite, l'appareil de Golgi est constitué de nombreux dictyosomes qui se trouvent à proximité d'une lame de réticulum endoplasmique (Fig. 115) : chaque dictyosome étant constitué par l'empilement de trois saccules au maximum. Sur des coupes parallèles aux saccules golgiens (Fig. 116, 117), on constate que la lame de réticulum endoplasmique entoure le dictyosome complètement, de façon à ce que celui-ci se retrouve dans une sorte de cupule.

Sur un côté, le réticulum endoplasmique s'éloigne davantage du dictyosome (Fig. 115) et forme une sorte de languette (Fig. 117) qui va rejoindre ensuite l'enveloppe nucléaire (Fig. 118, H). Certaines images montrent que la même lame de réticulum endoplasmique reliée au noyau, peut former deux cupules à la fois. (Fig. 119).

b) Les dictyosomes D'

A proximité des dictyosomes précédents, on en observe d'autres moins englobés par le réticulum endoplasmique et dont les vésicules du saccule distal possèdent un contenu homogène relativement dense aux électrons (Fig. 120, 121). Les dictyosomes du protomérite ont le même aspect (Fig. 123). D'autres dictyosomes sont tout à fait libres dans le cytoplasme. Leurs saccules sont très aplatis et émettent des vésicules relativement grandes à leur périphérie (Fig. 122). Ce sont

Fig. H Schéma montrant la relation entre dictyosome et noyau par intermédiaire d'une lame de réticulum endoplasmique.



BUS
LILLE

surtout ces dictyosomes que nous appelons D'.

3) Le réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique a un aspect très commun à toutes les Grégarines. Il peut prendre une forme plus ou moins vésiculaire, mais on le rencontre aussi très souvent sous forme de longues lames qui parcourent le cytoplasme. Il est sous cet aspect toujours dépourvu de ribosomes (Fig. 120).

Dans certains cas, surtout vers la fin de l'évolution, le réticulum endoplasmique peut apparaître aggloméré et nous distinguons d'une part des empilements d'une douzaine de lames aplaties (Fig. 124), et d'autre part, des enroulements assez volumineux (Fig. 125). Dans ces agglomérations, on reconnaît contrairement à ce que nous avons décrit ci-dessus, des ribosomes accolés sur les lames. Mais il ne peut être question d'un ergastoplasme proprement dit, car cette couche ribosomale n'apparaît que par endroits et n'est pas du tout continue. Ces formations rappellent l'aspect de l'ergastoplasme comme nous l'avons signalé antérieurement chez le jeune trophozoïte du stade II.

4) La zone corticale

Dans la zone corticale nous suivons le schéma établi par VIVIER (1968) qui distingue deux zones différentes : l'épicyte, qui est formé par les plis épicytaires et la paroi, et l'ectoplasme qui est souvent plus pauvre en inclusions cytoplasmiques que l'endoplasme, et qui contient chez beaucoup de Grégarines des microtubules et quelques vésicules de réticulum endoplasmique.

Chez notre espèce, l'ectoplasme est occupé par des myonèmes annulaires, d'où le nom de "sarcocyte" donné par LEGER (1892).

a) Les plis épicytaires

L'ultrastructure des plis épicytaires deutoméritiques est sensiblement comparable à celle décrite antérieurement pour ceux du protomérite. A la différence des plis protoméritiques, ils sont plus aigus et la séparation des deux membranes internes apparaît encore plus nettement (Fig. 126, I). Ils possèdent toujours les arceaux apicaux (d'une épaisseur de 180 \AA environ) entre la membrane externe et la

Fig. I Schéma, d'après des résultats de microscopie électronique, de la zone superficielle de Didymophyes gigantea (coupe transversale), indiquant les éléments principaux intervenant dans la contractilité.

aa = arceaux apicaux

fa = filaments apicaux

lb = lame "basale"

M = Mitochondrie

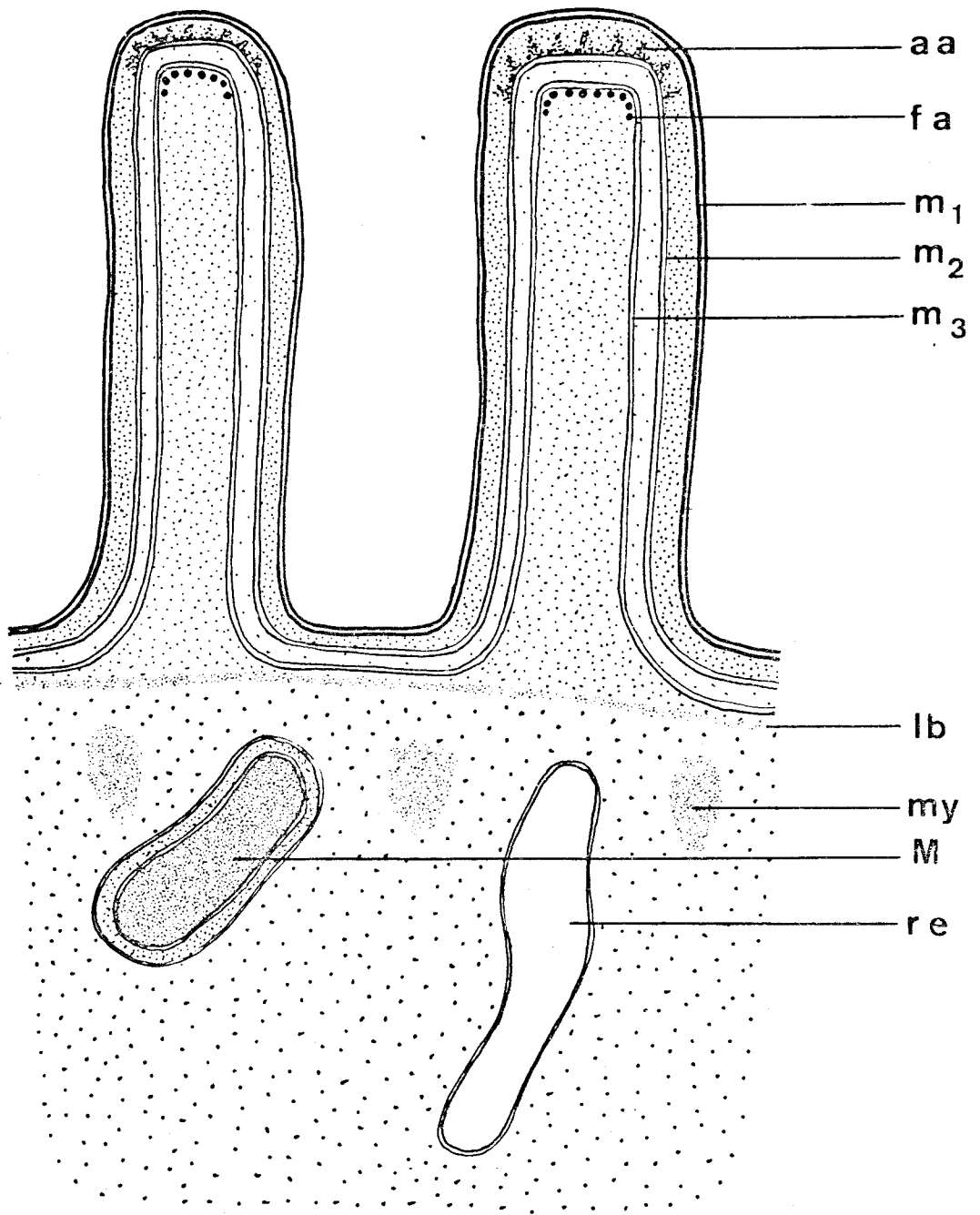
m₁ = membrane externe

m₂ = membrane moyenne

m₃ = membrane interne

my = myonème

re = reticulum endoplasmique



membrane moyenne, et les filaments apicaux (d'un diamètre voisin de 80 \AA) sous la membrane interne. La différence des structures apicales est très nette sur une coupe tangentielle de l'apex. (Fig. 127). Sur certaines images, on observe un élargissement des plis rempli de cytoplasme relativement dense contenant comme ailleurs des ribosomes (Fig. 128). Partout, le cytoplasme intraépicytaire est dépourvu de toute inclusion. La couche dense, sous-jacente à la membrane interne, décrite chez d'autres Grégarines, n'existe pas chez Didymophyes gigantea.

b) La lame basale

A la base des plis, l'épicyte est séparé de l'ectoplasme par une couche dense d'une épaisseur de 70 \AA environ (Fig. 126). Cette couche est tangentielle à la paroi et est appelée lame "basale".

Cette couche périectoplasmique extrêmement mince est constituée de fines fibrilles d'une épaisseur de 25 \AA environ (Fig. 130, 131). Elles sont logées perpendiculairement aux myonèmes annulaires et se dirigent donc dans le sens longitudinal de la Grégarine (Fig. 130).

c) Les fibres annulaires ou myonèmes

Dans l'ectoplasme, immédiatement sous la paroi, sont logés les myonèmes annulaires (Fig. 132). En coupe transversale (Fig. 134), ils montrent une forme conique s'amincissant à l'extrémité distale. Chez la Grégarine adulte, leur épaisseur peut facilement atteindre 2μ pour le grand axe et 1μ pour le petit axe. L'espace entre les myonèmes est assez régulier de 2 à $2,5 \mu$.

Les myonèmes sont constitués chez les jeunes Grégarines de fines fibrilles d'une épaisseur de 50 \AA en moyenne et de quelques microtubules d'un diamètre voisin de 180 \AA (Fig. 129, 133). A proximité des myonèmes, dans l'ectoplasme, se trouve une quantité de vésicules de réticulum endoplasmique et une multitude de mitochondries, dont l'aspect est identique à celles décrites antérieurement (Fig. 132, 134, 135 a, 139 I).

d) Les formations en relation avec la paroi

La paroi est fréquemment interrompue au fond des plis par des formations qui mettent le cytoplasme de la Grégarine en relation avec le milieu intestinal. Ces formations sont des invaginations de la paroi et on peut en distinguer trois différents types.

- Les vésicules à contenu opaque. (Fig. 135) ; souvent existent contre la paroi des concentrations qui se colorent fortement par le plomb. Elles sont de forme ovoïde, avec un contenu granuleux entouré d'une seule membrane. Ces formations d'une dimension de 0,2 à 0,3 μ dans leur grand axe sont orientées vers un point de la paroi et leur membrane se joint à la membrane interne de la paroi.

- Les vésicules trimembranaires (Fig. 136) ; elles contiennent, comme les précédentes, une structure sphérique dense aux électrons d'un diamètre de 0,1 μ environ. Les vésicules sont entourées de trois membranes, dont la membrane externe est en continuité avec la membrane interne de la paroi. Les deux membranes internes sont ouvertes vers la paroi et se rejoignent à cet endroit (Fig. 136 a). Entre l'enveloppe vésiculaire et le grain opaque se trouve un espace clair et dépourvu de toute structure. L'espace entre les deux membranes internes est relativement dense aux électrons. (Fig. 136 b).

- Les vésicules allongées (Fig. 137) ; le dernier cas observé de formation en rapport avec la paroi, est constitué par des vésicules longues de près d'un micron et d'un diamètre de l'ordre de 500 Å. Ces vésicules sont entourées de deux membranes unitaires dont la membrane externe est en continuité avec la membrane interne de la paroi. La membrane interne rejoint la membrane moyenne. Ces vésicules à contenu relativement opaque aux électrons, sont bordées tout autour par des vésicules de réticulum endoplasmique.

Dans aucun cas, la membrane externe de la paroi ne semble être interrompue. Une coupe tangentielle à la paroi, montre que ces vésicules, de n'importe quel type, sont relativement fréquentes et toujours logées entre deux plis (Fig. 138).

e) Les structures extraépicytaires

A l'extérieur du parasite entre les plis, on distingue régulièrement de petites sphérules et des structures allongées, d'un diamètre voisin de 200 Å, de longueur très variable (Fig. 140). Il s'agit dans les deux cas de la même structure et nous avons devant nous une quantité de petits tubules coupés le plus souvent dans le sens transversal, d'où l'apparence de sphérules. Ces tubules extracytoplasmiques, jamais observés chez d'autres Grégarines, sont en relation avec la paroi, ou plus exactement avec la couche polysaccharidique qui recouvre la membrane externe (Fig. 141).

5) Les inclusions fibrillaires

Au fur et à mesure de l'évolution de la syzygie, on observe chez les deux individus, sauf dans le protomérite, des inclusions fibrillaires soit d'une forme compacte (Fig. 142), soit d'une forme allongée (Fig. 143). Elles peuvent atteindre une largeur de 0,7 μ et une longueur importante de plus de 2,5 μ . Ces inclusions apparemment non limitées par une membrane, sont constituées de fines fibrilles d'une épaisseur de 80 Å. Les fibrilles parallèles entre elles, semblent bifurquer et former ainsi un réseau impénétrable pour toute autre structure cytoplasmique, inclus les ribosomes. A certains endroits, elles montrent nettement une sousstructure granulaire.

L'origine et la fonction de ces inclusions nous sont complètement inconnues. Il est possible qu'elles correspondent aux cristaux signalés déjà par LEGER (1892).

6) Discussion

Les ultrastructures décrites chez Didymophyes gigantea, nous amènent à considérer particulièrement deux problèmes : d'une part celui de la division nucléaire progamique, d'autre part celui de la mobilité en rapport avec l'existence des myonèmes et des fibres à l'apex des plis épicytaires.

a) La division nucléaire

Les mitoses progamiques chez les Grégarines n'ont été étudiées, au point de vue ultrastructural, que par DESPORTES (1970) chez Stylocephalus et par PRENSIER (1971) chez Diplauxis. Chez Didymophyes gigantea, nous avons pu obtenir quelques images sur les divisions nucléaires progamiques, qui nous permettent de l'interpréter et de la comparer avec les observations faites sur d'autres Protozoaires.

Dans le nucléoplasme, on observe assez fréquemment des microtubules mitotiques partant d'une masse opaque en général au pôle du noyau. Cette masse, de forme conique, rappelle celle décrite chez de diverses Coccidies au cours de la schizogonie (DUBREMETZ 1971, 1972) et de la microgamétogénèse (HAMMOND et coll. 1969) : le centrocône. Chez ces Protozoaires, le centrocône apparaît comme une invagination de l'enveloppe nucléaire en forme de cône, à la base large et convexe et ouverte au sommet vers une paire de centrioles. Dans notre cas, nous ne pouvons confirmer que la forme conique. Certaines images montrent un rapport entre le centrocône et l'enveloppe nucléaire, et le dernier semble être invaginé au sommet du centrocône, mais sur d'autres images, le centrocône semble logé dans le nucléoplasme. Nous ne pouvons encore moins expliquer l'origine de cet organite nucléaire. Chez Didymophyes gigantea n'existent pas non plus de centrioles pouvant intervenir dans la mitose.

Le centrocône renferme des microtubules qui partent en divergeant d'un point commun de l'apex. Ils peuvent traverser la base du centrocône et s'allonger dans le nucléoplasme, mais ne pénètrent jamais dans le cytoplasme comme c'est le cas chez Eimeria (DUBREMETZ 1972).

La persistance de l'enveloppe nucléaire au cours de la mitose est un phénomène courant chez les Protozoaires (GRELL 1964). Le comportement de l'enveloppe lors de la séparation des noyaux fils est identique à celui décrit par HAMMOND et coll. (1969) et DUBREMETZ (1972) chez Eimeria. Il est caractérisé par la disjonction des deux membranes nucléaires qui se referment successivement. Cette figure a été également observée chez les Ciliés Nassula, (TUCKER, 1967), bien que chez cette espèce, l'écartement des noyaux fils soit dû à un faisceau microtubulaire qui n'existe pas chez Didymophyes.

La séparation des chromosomes se fait indépendamment de celle des noyaux fils. Ce phénomène connu depuis longtemps chez les Coccidies, est représenté par des mitoses accélérées, où une division débute avant que la précédente soit achevée (BELAR, 1926 ; NAHIB, 1938). Le cas analogue est connu chez certains Radiolaires et Périidiniens (HOLLANDE et ENJUMET 1953). La disjonction entre ces deux processus semble être une caractéristique des mitoses schizogoniques ou apparentées, quand les divisions nucléaires interviennent dans une masse cytoplasmique indivise. Elle apparaît de façon encore plus nette chez les Hémosporidies (HOWELLS et DAVIES, 1971) où les chromosomes sont répliqués plusieurs fois avant que le noyau de l'oocyste se découpe en noyaux fils.

b) L'appareil de Golgi

De nombreux auteurs signalent une relation étroite entre Golgi et enveloppe nucléaire GRELL, (1964) et PORCHET-HENNERE et VIVIER, (1971) chez les Sporozoaires en général, SHEFFIELD (1966) chez Besnoitia, OGINO et YONEDA (1966), SENAUD (1967), SHEFFIELD et MELTON (1968), VIVIER et PETITPREZ (1972) chez Toxoplasma, PORCHET-HENNERE et RICHARD (1971) chez Aggregata, ANDREASSEN et BEHNKE (1968) chez Eimeria, VIVIER et SCHREVEL (1966), et PRENSIER (1971) chez les Grégarines.

Tous ces auteurs notent que l'enveloppe nucléaire est dépourvue de ribosomes. PRENSIER (1971), VIVIER et PETITPREZ (1972) montrent qu'à cet endroit privilégié, il se produit un renouvellement des saccules golgiens par perlage et fusion de petites vésicules issues de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire. D'autre part, VIVIER (1965), VIVIER et HENNERE (1965) et SCHREVEL (1969), montrent que les dictyosomes se forment à partir de lames de réticulum endoplasmique. L'une des faces émet de petites vésicules, qui se soudent pour former des saccules. Ce phénomène semble être très courant chez les Sporozoaires.

Dans le cas de Didymophyes gigantea, nous trouvons une synthèse des deux phénomènes : les dictyosomes se forment à partir de lames de réticulum endoplasmique, lesquelles sont, de leur part, en relation intime avec l'enveloppe nucléaire. Ainsi l'enveloppe forme les dictyosomes par l'intermédiaire du réticulum endoplasmique.

A côté de ces dictyosomes classiques, au point de vue Sporozoaires, existent des dictyosomes non entourés par le réticulum endoplasmique. Ceux-ci émettent des vésicules de contenu dense et possèdent des saccules très aplatis. Nous les avons appelés Dictyosomes D'. La différence entre les Dictyosomes dits D et D' est nette au point de vue morphologique. Bien que nous ne connaissions pas l'évolution, nous supposons que les deux types de dictyosomes ont la même origine. Après leur naissance dans la cupule de réticulum endoplasmique, les dictyosomes sont libérés dans le cytoplasme, avec une partie de la lame du réticulum. Dès qu'ils commencent la synthèse du matériel de réserve, ils se détachent complètement du réticulum endoplasmique et se trouvent, à la fin de l'évolution golgienne, libres dans le cytoplasme.

L'évolution des dictyosomes protoméritiques doit être identique à celle de l'appareil de Golgi deutoméritique. Bien entendu, comme il n'y a pas de noyau, la relation avec l'enveloppe nucléaire ne peut exister dans ce cas-ci.

c) La zone corticale

Les plis épicytaires sont sensiblement identiques à ceux décrits chez d'autres Grégarines (VIVIER, 1968 ; SCHREVEL, 1969, 1971 a et b). La seule différence est l'absence de la couche dense sous-jacente dans les plis mêmes. VIVIER (1968), lors de son étude ultrastructurale de la Grégarine Lecudina pellucida, attribue à ces plis la possibilité de mouvements natatoires, lesquels seraient provoqués soit par les arceaux apicaux, soit par les filaments apicaux ou même par les deux. Nous admettons cette hypothèse pour le cas du déplacement par glissement. Pour les contractions du type péristaltique, nous recherchons plutôt l'origine dans les myonèmes ectoplasmiques observés pour la première fois en microscopie électronique par REGER (1967) chez Pyxinoïdes balani. Nous supposons que ces myonèmes sont le siège principal de la contraction proprement dite.

Les fines fibrilles d'une épaisseur de 50 Å environ, composant les myonèmes, pourraient ainsi correspondre aux fibrilles d'actine possédant la même taille. Par contre, nous n'avons jamais pu observer des fibres d'une taille supérieure correspondant à celles de la myosine : 130 Å environ. Les structures entourant les myonèmes peuvent jouer un rôle dans la contraction, comme l'ont montré VIVIER et coll. (1969) chez le Cilié Spirostomum : les mitochondries en relation de

voisinage avec les myonèmes comme source d'énergie, et les vésicules de réticulum endoplasmique délivrant les métabolismes nécessaires, peuvent intervenir dans le mécanisme de la contraction.

La lame basale, également constituée de fines fibrilles de la même taille que celles d'actine, pourrait représenter un troisième mécanisme dans les mouvements chez les Grégarines, mais son importance serait beaucoup moindre que celle des myonèmes, car elle est plus fine et moins dense que ceux-ci et montre beaucoup moins de fibrilles.

L'importance des plis épicytaires n'est pas uniquement la participation active aux mouvements par translation des Grégarines. Ils doivent jouer aussi un rôle important dans la nutrition (VIVIER, 1968). Ils accroissent considérablement la surface de la Grégarine facilitant ainsi les échanges entre parasite et lumière intestinale de l'hôte. Dans notre cas, un autre facteur intervient pour accroître davantage cette surface : les tubules de la couche polysaccharidique accolée sur la membrane externe de la paroi. Si l'on s'imagine la taille de la Grégarine, nous devons admettre qu'une simple nutrition par l'épimérite ne peut suffire pour synthétiser le matériel de réserve nécessaire au cours de l'enkystement et des stades suivants où aucune nutrition ne peut avoir lieu. Et chez cette Grégarine géante, la surface bien qu'agrandie par les plis, ne doit quand même pas être suffisante. Les tubules polysaccharidiques doivent donc intervenir dans l'absorption des ions pris par le parasite dans la lumière intestinale de l'hôte. Mais cela n'est qu'une hypothèse et seule une étude cytochimique approfondie de cet élément permettra de répondre à cette question avec certitude.

D) LA SYZYGIE

Parmi les nombreux travaux concernant les Grégarines, peu d'études ultrastructurales sont consacrées à l'étude des individus en syzygie. Pourtant, depuis LEGER et DUBOSCQ (1902), puis JOYET-LAVERGNE (1926), on sait qu'il existe une sexualisation cytoplasmique chez ces Protozoaires. La microscopie électronique n'a apporté, jusqu'à présent, que peu de renseignements sur l'ultrastructure de ces associations. Pour les quelques auteurs qui l'ont étudiée (BEAMS et coll., 1959 ; DESPORTES, 1966 ; DESPORTES et THEODORIDES, 1969 ; SCHREVEL, 1969), le seul point remarqué est que la zone de jonction entre les deux gamontes est formée par une simple juxtaposition des plis cuticulaires. DEVAUCHELLE (1968 b) démontre d'importantes modifications de cette zone de contact, modifications

affectant surtout l'épicyte et le Protomérite de l'individu postérieur.

Dans le cas de Didymophyes gigantea, les plis épicytaires de la zone de contact disparaissent aussitôt après l'accolement de deux individus (Fig. 144) et on peut suivre une cloison rectiligne entre le primitive et le satellite. Cette cloison est tout au début formée de quatre membranes qui dérivent des membranes moyenne et interne de la paroi du parasite. La membrane externe cependant disparaît à ce niveau, c'est-à-dire que la membrane externe du primitive rejoint celle du satellite (Fig. 144). A ce stade on observe, à la périphérie de la cloison, des invaginations et enroulements de la paroi, et on retrouve ainsi les excroissances observées déjà au microscope à balayage (Fig. 47, 48).

Près de la cloison, se rencontrent souvent des vésicules du réticulum endoplasmique, phénomène déjà observé chez Diplauxis hatti par PRENSIER (1971).

Les enroulements de la paroi se rencontrent parfois aussi vers le centre de la cloison et contournent souvent un espace extracellulaire contenant encore les tubules extraépicytaires de la couche polysaccharidique (Fig. 145). Les enroulements nous montrent, que la jonction de deux individus n'est pas encore parfaite et qu'il doit s'agir de plis rudimentaires.

Un autre phénomène nous montre encore l'imperfection de l'association : on rencontre fréquemment des vésicules en relation avec la paroi même au niveau de la cloison (Fig. 146). Ces vésicules sont identiques à celles que nous avons décrites antérieurement. Au moment de l'accolement, elles existaient sur la partie postérieure du futur primitive et n'ont pas encore été absorbées par celui-ci lors de la jonction. Une néoformation de ces vésicules après l'association nous semble peu probable puisque nous ne pouvons pas nous expliquer l'importance d'une expulsion à ce niveau. D'autre part, s'il s'agissait d'une pinocytose il faudrait expliquer l'origine du matériel dense contenu dans la vésicule.

Au cours de l'évolution, la cloison entre les deux individus d'une syzygie subit une transformation permanente qui est marquée tout d'abord par le déplissement complet de l'ancienne paroi; ensuite, on constate une disparition des deux membranes moyennes d'origine (Fig. 147). Entre les deux membranes restantes, donc les anciennes membranes internes, se trouve une couche dense discontinue (Fig. 147), probablement un résidu des membranes moyennes.

Nous n'avons pas pu suivre l'évolution jusqu'à la fin, mais nous supposons qu'elle est comparable à l'évolution chez Diplauxis hattii (PRENSIER, 1971). Chez cette espèce, la cloison est également constituée de deux membranes qui commencent par s'imbriquer vers la fin de l'évolution, et qui montrent de nombreux pores, avant de disparaître complètement au moment de l'enkystement.

Le Protomérite du satellite est soumis à une transformation après l'association des deux individus. Tout d'abord le septum disparaît comme nous l'avons démontré antérieurement lors de notre étude au microscope optique, ensuite les agglomérations ribosomales sont absorbées ou dispersées. On trouve encore relativement longtemps les structures lamellaires de la Fig. 79 et surtout les microtubules protoméritiques près de la cloison. (Fig. 144).

Nous n'avons jamais pu observer les sphérules décrites par DEVAUCHELLE (1968) chez Gregarina polymorpha et par SCHREVEL (1969) chez Lecudina tuzetae.

QUATRIEME CHAPITRE

ETUDES RELATIVES A LA CONTRACTION DES GREGARINES.

ETUDES RELATIVES A LA CONTRACTION DES GREGARINES

L'étude morphologique étant insuffisante pour résoudre le problème de la contraction des Grégarines, nous avons envisagé différentes expérimentations qui tiennent compte du métabolisme de la cellule.

A) CARACTERISATION DES ELEMENTS SUSCEPTIBLES D'ENTRER DANS LE PROCESSUS DE CONTRACTION CHEZ DIDYMOPHYES GIGANTEA.

Nos études relatives à la contraction des Grégarines ont porté sur plusieurs espèces. Tout d'abord nous parlerons de nos résultats obtenus chez D. gigantea, ensuite nous comparerons ces résultats avec ceux obtenus chez les autres espèces.

1) Expériences d'extraction

Le premier SZENT-GYORGYI (1949) a eu l'idée d'extraire les fibres musculaires par la glycérine, à froid. Bien que les fondements biochimiques de cette action semblent peu connus, on peut supposer que la glycérine détruit la matière organique, tout en préservant les protéines contractiles. Après l'opération, les cellules extraites, appelées "modèles" peuvent encore se contracter en présence d'ATP (Adénosine-triphosphate). Cette méthode a été ensuite améliorée par de nombreux auteurs, notamment par HOFFMANN-BERLING (1953, 1954, 1956 a et b) sur les fibroplastes, WEBER et PORTZEHL (1952) sur le muscle squelettique, KAMIYA et KURODA (1965) sur les Myxomycètes et SCHÄFER-DANNEL (1967) sur les Amibes. Les travaux relatifs aux Protozoaires seront examinés dans la discussion. Donc, mise au point sur les tissus musculaires, cette méthode est maintenant appliquée à des cellules et organismes non musculaires, renfermant simplement des éléments contractiles.

Pour notre part, nous avons dû modifier les solutions d'extraction et de contraction proposées par KAMIYA et KURODA (1965), à la suite de nos expériences faites sur les Grégarines in vivo.

Dans des travaux antérieurs (HILDEBRAND D. E. A. 1970) sur la caractérisation des éléments susceptibles d'entrer dans le processus de la contraction de Lecudina tuzetae et L. pellucida, nous avons pu constater lors de nos expériences in vivo que, pour ces Grégarines, il fallait de fortes concentrations en ATP et $MgCl_2$ pour obtenir une réaction de l'animal (l'optimum d'ATP à 0,01 M et l'optimum de $MgCl_2$

à 0,05 M). Beaucoup d'auteurs observent à ces concentrations une inhibition de la contraction (HOFFMANN-BERLING, 1954 : SIMARD-DUQUESNE et COUILLARD, 1962 ; KAMIYA et KURODA, 1965 : ACHTERRATH, 1969 b ; BECK et coll., 1969, 1970 a et b ; LEGRAND, 1970). Selon eux les concentrations optimales sont d'environ 0,001 à 0,005 M pour l'ATP et de 0,003 à 0,005 M pour le $MgCl_2$. Ces mêmes concentrations sont aussi les plus favorables pour la contraction des Grégarines extraites.

Dans le cas de Didymophyes gigantea, nous avons essayé les mêmes concentrations que celles utilisées chez Lecudina, mais il s'est avéré que chez D. gigantea la concentration de $MgCl_2$ était beaucoup trop élevée et nous avons finalement dû reprendre la concentration indiquée par les auteurs cités ci-dessus. Nous avons donc employé les solutions suivantes (en concentrations finales), (à un pH 7,2 et non, comme chez Lecudina à pH 8) :

- Solution de contrôle : KCl à 0,01 M ; $MgCl_2 - 6 H_2O$ à 0,005 M et tampon TRIS-maléate à 0,01 M.

- Solution d'extraction : solution de contrôle, EDTA (Ethylène diamine tétraacétate disodique) à 0,01 M et Glycérine à 40 %.

- Solution de lavage : solution de contrôle et EDTA à 0,01 M.

- Solution de contraction : solution de contrôle et ATP à 0,01 M.

Pour ces solutions, nous n'avons pu respecter la force ionique (I) déterminée pour les Amibes (I = 0,05) par SIMARD-DUQUESNE et COUILLARD (1962), laquelle joue un rôle important pour l'extraction et surtout pour la contraction. A défaut de l'appareillage nécessaire, nous avons calculé la force ionique selon la formule :

$$I = \frac{1}{2} \sum C_i \cdot Z_i^2 \quad (1)$$

et nous avons obtenu comme résultats I = 0,075 pour les solutions d'extraction et de lavage, et I = 0,09 pour la solution de contraction.

(1) - I = force ionique

C = Concentration molaire

Z = Valence

2) Expériences de contraction

Les Grégarines ont été immergées dans la solution d'extraction à 0° C pendant 24 heures puis à -15° C et à 18° C pendant une période de 2 à 20 jours. Nous avons fait varier le temps d'extraction pour contrôler exactement la dégradation des différents organites cellulaires. En même temps, cette expérience nous a permis de savoir à quel degré d'extraction nous aurons une contraction maximale.

Afin de voir si les "modèles" glycérolés sont capables de réagir à l'ATP, nous avons immergé une centaine de Grégarines dans la solution d'extraction et effectué des prélèvements toutes les 48 heures pendant 20 jours. Chaque échantillon comprenant environ une dizaine de Grégarines était testé par la solution de contraction, cette dernière étant renouvelée pour chaque manipulation, car l'ATP en solution se dissocie rapidement.

Avant de faire agir l'ATP sur les Grégarines extraites, celles-ci sont placées dans des bains de concentrations décroissantes en glycérine (20 %, 10 %, 5%), puis rincées dans la solution de lavage.

Le mode opératoire a été le suivant : Les Grégarines

extraites sont placées entre lame et lamelle, sur un léger peloton de laine de verre. La solution de contraction est posée à une des extrémités de la lamelle et aspirée à l'autre par un papier filtre. Les fils de laine de verre servent à maintenir les Grégarines en place.

Nous avons pu alors tester la solution de contraction.

Nous nous attendions tout d'abord à une contraction du parasite mais rien ne se passait. Par contre, nous avons pu constater un changement considérable au niveau des myonèmes déjà observés chez l'animal vivant (Fig. 28). Chez la Grégarine extraite (Fig. 29), ces myonèmes sont très peu visibles, et ont quasiment disparu à partir du deuxième jour d'extraction. Si l'on fait passer alors la solution contenant l'ATP entre lame et lamelle, ces fibres réapparaissent après 3 à 4 minutes environ (Fig. 30).

Pour cette expérience, nous avons employé des solutions de contraction avec différentes concentrations en ATP et nous avons pu

observer, que les myonèmes disparaissent lors de l'extraction, ne réapparaissent plus. Une concentration en ATP inférieure à 0,01 M (par exemple 0,005 M) était donc insuffisante pour provoquer une contraction, et les

fortes concentrations (à 0,05 M et plus) devaient entraîner alors une séparation du complexe Acto-myosine et inhiber ainsi la contraction.

Il n'y a donc pas de changement par rapport au volume (s'il y en avait un, il serait très faible), mais plutôt au niveau des myonèmes. Ce phénomène est aussi important que ce soit au premier jour ou au vingtième jour de l'extraction.

3) Résultats obtenus au microscope électronique

Déjà après une durée d'extraction de 5 à 6 jours, une dénaturation presque complète des organites cellulaires a lieu, et à la place des grains de paraglycogène se trouvent de gros trous (Fig. 148). Dans le cytoplasme, il ne reste que quelques résidus membranaires de tous les organites et de temps à autre on reconnaît encore sur une coupe tangentielle, les emplacements des micropores dans la paroi (Fig. 150).

Par contre, il apparaît dans tout le cytoplasme des structures filamenteuses (Fig. 149, 150, 152). L'épaisseur de ces fibrilles varie entre 10 et 80 Å mais la plupart des fibrilles possède une épaisseur aux alentours de 40 à 80 Å.

Les myonèmes apparaissent après extraction d'une netteté extraordinaire et on les distingue encore mieux que chez la Grégarine normale (Fig. 148, 149, 151-153). Ces myonèmes sont essentiellement constitués de fines fibrilles d'une épaisseur de 40 à 50 Å et quelques fibres dont l'épaisseur est voisine de 100 Å. L'espace entre les fibrilles est relativement large et on observe de nombreux ponts entre elles. On distingue même quelques fibres en forme de zigzags. Le myonème a donc un aspect plus ou moins lâche (Fig. 151).

Après l'action de l'ATP cependant l'aspect du myonème n'est plus le même (Fig. 152). Les fibrilles sont plus serrées et plus parallèles entre elles. Les ponts entre les fibrilles semblent s'être mis dans le même sens que celles-ci. On n'observe nulle part de microtubules après l'extraction.

L'observation de l'épicyte de la Grégarine extraite est également très intéressante. Les plis épicytaires ont en général gardé leurs formes initiales et semblent avoir peu changé à première vue (Fig. 148). La lame basale est toujours existante (Fig. 151, 153) et sur coupe tangentielle apparaissent toujours les fibrilles que nous avons déjà observées chez la Grégarine normale (Fig. 150).

Bien que les plis gardent la forme normale lors de l'extraction, la paroi de ceux-ci est fortement dénaturée, sauf au niveau de l'apex où l'on reconnaît toujours les deux membranes internes entre les arceaux et les filaments apicaux encore bien visibles (Fig. 154, 155). Il ne reste de la paroi qu'un résidu de la membrane externe au niveau de l'apex, et des fragments des trois membranes un peu partout dans les plis. La dénaturation de la paroi peut aller jusqu'à un point où plusieurs plis se soudent de façon à ce que l'on croit reconnaître un seul pli avec plusieurs apex, à la base duquel la lame basale forme un tracé continu et très net (Fig. 156).

Nous n'avons jamais pu observer une différence de densité des fibrilles cytoplasmiques avant et après contraction. Mais malgré cette lacune, nous croyons pouvoir considérer ces fibrilles comme étant des structures responsables de la contraction ou du flux cytoplasmique.

B - ESSAI DE CARACTERISATION DES ELEMENTS SUSCEPTIBLES D'ENTRER DANS LE PROCESSUS DE LA CONTRACTION CHEZ D'AUTRES GREGARINES

Au cours de notre travail, d'autres espèces de Grégarines ont suscité notre intérêt : Selenidium hollandei, Leocudina tuzetae et L. bellucida, Grégarina blaberae. Ces Grégarines effectuent de différents types de mouvements comme des mouvements d'enroulement, des contractions péristaltiques ou des déplacements par translation ou glissement.

1) Selenidium hollandei

Selenidium hollandei a l'avantage de présenter à la fois des mouvements d'enroulement accompagnés de contractions plus ou moins accentuées. VIVIER et SCHREVEL (1964, 1966) ont démontré chez cette espèce la présence d'un système de microtubules net et bien individualisé qu'ils considèrent comme responsable de la contraction. Les contractions montrées par cette Grégarine sont très différentes des flux et des reflux cytoplasmiques des amibes (WOHLFARTH-BOTTERMAN, 1964). La grégarine aplatie montre au microscope à contraste de phase sur chaque face des bombements peu prononcés, en général au nombre de 8, séparés par autant de sillons (Fig. 159). Cet aspect a été retrouvé en microscopie électronique par VIVIER et SCHREVEL (1964 et 1966). La microcinématographie permet de suivre au cours des mouvements, la progression d'ondes au niveau des bandes longitudinales. Ces bandes, plus ou moins nombreuses, suivant l'espèce, ont été souvent interprétées comme des myonèmes ou fibres musculoïdes (GIARD, 1884 ; CAULLERY et MESNIL, 1899 ; BRASIL, 1907 ;

RAY, 1930 : FOWELL, 1936). Les colorations utilisées permettaient d'après l'interprétation de ces auteurs, de localiser les myonèmes à la base des sillons de la pellicule. VIVIER et SCHREVEL (1964-1966), cependant, ont pu montrer lors de leurs études ultrastructurales, qu'il n'existe pas de myonèmes, mais une couche de microtubules, qui est, contrairement à l'interprétation des auteurs cités ci-dessus, interrompue au niveau des sillons.

a) Expériences d'extraction et de contraction

Pour les expériences d'extraction, nous avons suivi le procédé que nous avons déjà décrit auparavant.

Au cours de ces recherches, nous avons pu constater un phénomène qui arrive à partir du 8ème jour d'extraction : le cytoplasme commence à se détacher de la paroi de la Grégarine et à se concentrer au centre en formant ainsi un ruban central (Fig. 158). Cette concentration commence en général dans la partie postérieure et avance au fur et à mesure de la durée de l'extraction. Ce ruban pourrait correspondre au tube axial que FOWELL (1936) a observé chez d'autres Grégarines du genre Selenidium.

Nous avons tenté de déterminer la durée optimum d'extraction, c'est-à-dire celle qui permet les contractions maximales. Nous avons donc immergé quelques centaines de Grégarines dans la solution d'extraction et effectué tous les deux jours un prélèvement afin de pouvoir tester la solution de contraction. Ainsi nous avons pu constater qu'une contraction a lieu dès le 2ème jour, mais que le maximum de contraction s'observe pour une durée d'extraction allant de 10 à 14 jours (Fig. 157). Encore le 20ème jour, on arrive à avoir une contraction très nette. La contraction est orientée surtout dans le sens de la largeur et presque pas dans le sens de la longueur. La surface de projection de la Grégarine contractée diminue environ de 31 % en comparaison avec celle de la Grégarine non contractée, et son volume diminue d'environ 50 % par contraction (contraction maximale). Cette diminution du volume de la Grégarine nous semble être significative, mais nous avons quand même essayé de démontrer qu'elle est due uniquement à l'action de l'ATP.

Pour cette vérification, nous avons utilisé le Salyrgan (Salicyl- (λ -hydroxymercure- β - méthoxypropyle) -amid-ortho-acétate), un inhibiteur influençant la contraction de façon à bloquer les groupes-SH nécessaires pour la fonction du complexe acto-myosine (SINGER et BARRON, 1944 ; OLCUTT et FRAENKEL-CONRAT, 1947 ; BAILEY et PERRY, 1947 ; BARRON, 1951 ; DE ROBERTIS et PELUFFO, 1951 ; ABE, 1959, 1963 ; ACHTERRATH, 1969 a). En effet, le Salyrgan à 0,001 M a inhibé la contraction et l'action de l'ATP est devenue nulle.

b) Résultats obtenus au microscope électronique

Toutes les expériences réalisées ont donné lieu à des contrôles structuraux effectués au microscope électronique. Cela nous a permis d'observer la dégradation de l'ultrastructure corrélative de la contraction maximale. L'examen au microscope a montré, que la dénaturation par extraction des organites cellulaires se fait très rapidement et essentiellement durant les deux premiers jours (Fig. 160). Les microtubules périphériques cependant peuvent se conserver jusqu'à 8 à 10 jours. Ce temps correspond à celui pour lequel la contraction atteint son maximum. Les éléments qui disparaissent en dernier sont les grains de paraglycogène (Fig. 160). A leur place restent souvent des traces plus ou moins blanches (Fig. 162).

Au cours de l'extraction, le "modèle" glycérimé devient donc au fur et à mesure structurellement vide et on distingue des structures finement granulaires ou légèrement fibrillaires dans le cytoplasme dégradé (Fig. 160, 161). La densité de ces structures reste toujours identique, aussi bien après le 2ème que le 20ème jour de l'extraction.

Contrairement aux organites cytoplasmiques, la paroi se dégrade difficilement au cours de l'extraction (Fig. 162). Même au bout de 8 à 10 jours, on peut encore régulièrement retrouver la structure classique (membrane unitaire) pour chacune des trois membranes constituant la paroi. Bien sûr, cela ne veut pas dire que ces trois membranes restent en parfait état, mais elles ne perdent leur continuité que partiellement et il reste au moins deux membranes.

En ce qui concerne nos expériences de contraction, de nombreux problèmes se sont révélés : nous avons pu observer les structures finement granulaires et fibrillaires (Fig. 160, 161) dans toutes les Grégarines extraites et contractées, mais nous n'avons jamais décelé de différences nettes entre les structures obtenues après une extraction et celles obtenues après une contraction. Ces résultats jusqu'à maintenant peu significatifs ont été également obtenus après nos expériences avec le Salyrgan.

2) Lecudina tuzetae et L. pellucida

Ces deux Grégarines du même genre exécutent principalement des mouvements de glissement accompagnés de légères contractions généralement transversales, qui peuvent parcourir lentement toute la longueur du parasite. Ces mouvements représentent donc une sorte de contraction péristaltique, encore plus apparente au moment où la Grégarine rencontre un obstacle qui l'oblige à modifier sa trajectoire, ou lorsqu'elle effectue une sorte de pirouette. Après avoir modifié sa direction, la Grégarine reprend son glissement rectiligne.

a) Expériences d'extraction et de contraction

Les expériences sur l'extraction et la contraction nous ont montrées dans le cas des Grégarines du genre Lecudina ont été en principe les mêmes que celles décrites préalablement pour Didymophyes gigantea et Selenidium hollandei.

Afin d'obtenir une contraction maximale, nous avons effectué comme dans les cas précédents, des prélèvements de Lecudina de la solution d'extraction toutes les 48 heures pendant 20 jours. Ces expériences nous ont montré que la durée optimale d'extraction se situe pour ces Grégarines entre 8 à 10 jours.

Après cette série d'expériences nous avons fait agir l'ATP dans deux différentes solutions de contraction dont la première seule contenait le $MgCl_2$ à 0,05 M. Avec la solution sans $MgCl_2$, nous avons obtenu une contraction correspondant à une diminution de projection de surface d'environ 4 à 5 %. Par contre, par le $MgCl_2$ nous avons pu accentuer la diminution de projection de surface par contraction jusqu'à une valeur de 10 à 11 %. (Fig. 163, 164), ce qui montre l'importance de $MgCl_2$ dans

le métabolisme de la contraction. La contraction obtenue chez les Lecudina nous semblait insuffisante pour envisager des expériences avec un inhibiteur.

b) Résultats obtenus au microscope électronique

Les Grégarines du genre Lecudina possèdent comme la plupart des Grégarinomorphes, des plis épicytaires à structure tout à fait classique : la paroi est constituée de trois membranes unitaires dont les deux internes forment le complexe membranaire interne. Une couche dense aux électrons est accolée sur la membrane interne dans le cytoplasme épicytaire. A l'apex des plis, on rencontre les arceaux et les filaments apicaux, et à la base l'épicyte est séparé de l'ectoplasme par une couche dense d'une épaisseur de 200 Å environ : la lame "basale". Dans l'ectoplasme et seulement dans cette zone, se rencontrent les microtubules d'un diamètre extérieur de 250 Å environ (Fig. 165, 166) (VIVIER, 1968 ; SCHREVEL, 1964, 1969).

La lame "basale" (Fig. 166) est constituée de fines fibrilles d'une épaisseur nettement supérieure à celle décrite chez Didymophyes gigantea. Elles atteignent un diamètre de 80 à 100 Å et semblent être tubulaires.

Comme chez les espèces décrites précédemment, une dénaturation importante des organites cellulaires a eu lieu chez les Lecudina après une durée d'extraction relativement courte, et déjà au bout de 5 à 6 jours il n'existe plus de microtubules dans l'ectoplasme. A la suite de ce traitement, apparaissent dans tout le cytoplasme des structures fibrillaires d'une grande netteté. (Fig. 168, 169). L'épaisseur de ces fibrilles varie entre 10 et 150 Å, mais la plupart des fibrilles possèdent une épaisseur de 40 à 100 Å environ.

L'observation de l'épicyte de la Grégarine extraite est également très intéressante. Bien que les plis aient perdu leurs formes initiales, le système membranaire ne semble pas du tout être dénaturé par l'action de la glycérine et se montre conservé intégralement dans chaque pli et pas seulement à l'apex comme c'est le cas chez Didymophyes gigantea. (Fig. 168). Entre les plis, par contre, la paroi a presque complètement disparu. La lame "basale", dont le tracé est encore très net, existe toujours (Fig. 168).

Sur des coupes tangentielles des plis, on observe un système fibrillaire très net et très régulier. (Fig. 167). Les filaments

sont situés parallèlement entre eux et possèdent une épaisseur régulière de 70 à 80 Å. Comme ces filaments se perdent dans le cytoplasme, à l'endroit où la coupe devient plus ou moins oblique, il faut supposer qu'ils se situent pour la Grégarine vivante dans la couche dense aux électrons qui s'accrole sur le complexe membranaire interne dans le cytoplasme épicytaire.

3) Gregarina blaberae

Au cours de notre travail, une dernière Grégarine, Grégarina blaberae a suscité notre intérêt. Cette Grégarine effectue principalement des mouvements de translation rectilignes accompagnés de faibles contractions du type péristaltique comme l'a pu montrer RICHTER (1960) lors de son étude cinématographique chez les Gregarina, parasites intestinaux de la larve de Tenebrio molitor.

Gregarina blaberae montre une ultrastructure à peu près identique à celle décrite chez d'autres espèces du genre Gregarina (DESPORTES, 1966 ; DEVAUCHELLE, 1968 a et b ; LOUBES et coll., 1971). Cette espèce possède un épicyte classique de Grégarine (et en particulier du genre Gregarina) : plis trimembranaires, structures apicales et lame "basale" (SCHREVEL, 1971 a et b).

En ce qui concerne nos expériences d'extraction et de contraction, nous avons employé les mêmes solutions et suivi le mode opératoire indiqué précédemment. Gregarina blaberae ne montre pas de contractions apparentes après l'action de l'ATP et l'expérience avec un inhibiteur serait sans importance.

Nous avons donc soumis les Grégarines extraites à un examen au microscope électronique et nous avons pu obtenir des résultats identiques à ceux obtenus au cours de notre étude sur les Lecudina et Didymophyes. Par l'action de la glycérine, les organites cellulaires disparaissent au bout de quelques jours et le cytoplasme est pourvu d'une quantité énorme de fines fibrilles d'une épaisseur de 10 à 100 Å environ (Fig. 172). A côté de ces fibrilles minces, se rencontrent des fibres épaisses fibrillaires d'un diamètre de 180 Å environ (Fig. 173).

L'épicyte semble inattaqué par l'action de la glycérine et nous retrouvons aussi bien la forme initiale des plis que les trois membranes de la paroi. Comme chez les autres espèces étudiées, les filaments apicaux persistent au traitement de la glycérine (Fig. 170). Sur une coupe tangentielle au niveau de l'apex apparaissent, comme dans le cas de Lecudina, les filaments apicaux d'une épaisseur d'environ 140 Å montrant parfois un aspect tubulaire (Fig. 171).

Nous n'avons pu constater chez aucune des Grégarines étudiées une différence de densité, ni des filaments apicaux, ni des fibrilles cytoplasmiques avant et après l'action de l'ATP sur une Grégarine extraite.

C - DISCUSSION

Chaque organisme qu'il soit pluricellulaire, ou Protozoaire, ou chaque cellule isolée capable d'effectuer des mouvements ou des contractions, doit posséder des structures qui expliquent ces mécanismes. C'est au complexe actomyosine, que tous les auteurs qui ont travaillé jusqu'à maintenant sur la motilité, attribuent les mécanismes de la contraction et des mouvements. Ce complexe peut exister sous une très haute organisation, comme dans le muscle strié, mais peut être également moins organisé, comme dans le muscle lisse ou très désordonné comme chez beaucoup de cellules isolées en culture ou chez la plupart des Protozoaires. En général, ce complexe se présente sous la forme de fibrilles, dont la différence de taille et d'épaisseur s'explique par ces différents constituants : l'actine, la myosine et leurs dérivés.

Comme notre travail ne concerne que des Protozoaires, nous ne ferons que peu référence aux recherches relatives à la contraction musculaire, pour nous intéresser plus particulièrement aux travaux réalisés sur la contraction de la cellule et les mouvements des Protozoaires.

SCHNEIDER et WOHLFARTH-BOTTERMANN (1959) décrivent pour la première fois chez les Amibes des fibrilles simples ou disposées en groupes parallèles qu'ils considèrent comme étant contractiles. WOHLFARTH-BOTTERMANN (1962, 1963, 1965) a mis en évidence des fibrilles dans le cytoplasme du Myxomycète Physarum, qui exécute des mouvements identiques à ceux des Amibes. Nous connaissons aussi des structures contractiles chez divers Ciliés comme chez Vorticella (LEVINE, 1956 ; ROBERTO-SOTELO, et TRUJILLO-CENOZ, 1958) et chez Spirostomum (LEGRAND, 1970).

HOFFMANN-BERLING (1954) a pu montrer que la contraction musculaire et cellulaire n'a pas besoin de l'énergie fournie par l'assimilation, si l'ATP est présent. Car la motilité de la cellule ou du muscle peut persister sous certaines conditions après leur mort apparente. SZENT-GYÖRGYI (1949) démontre qu'une extraction par la Glycérine, peut conserver

les protéines contractiles de l'organisme. Si l'on offre donc l'ATP à une cellule extraite par la Glycérine - dite cellule "modèle" - celle-ci doit se contracter à la condition qu'il y existe des protéines contractiles. (Rappelons que nous sommes toujours dans l'ignorance des bases biochimiques de l'action de la glycérine).

C'est ainsi, que SIMARD-DUSQUESNE et COUILLARD (1962^a et b) ont provoqué la contraction d'une Amibe "modèle" et que SCHÄFER-DANNEEL, (1964, 1967) a pu démontrer le caractère contractile des fibrilles cytoplasmiques chez l'Amibe, en comparant au microscope électronique l'organisation et la densité des fibrilles avant et après contraction de l'animal extrait. Des travaux analogues ont été effectués sur le Myxomycète Physarum par KAMIYA et KURODA (1965), KAMIYA (1968) et ACHTERRATH (1969 b et c) et sur Spirostomum par LEGRAND (1970).

Dans notre étude sur la contraction des Grégarines nous avons essayé de suivre ce principe. Nous avons obtenu chez Selenidium et Lecudina une contraction maximale après une extraction de 10 jours environ. Il nous semblait logique que cette réaction à l'ATP puisse être visible au microscope électronique, à la condition qu'il existe des structures contractiles. Mais nous n'avons jamais obtenu le résultat souhaité. Chez Selenidium, le cytoplasme de la Grégarine "modèle" est même dépourvu de structures par endroits, et là où il en existait il n'était pas possible de constater une différence de densité des structures fibrillaires avant et après l'action de l'ATP sur l'animal extrait. Nous n'avons pu non plus observer une différence de densité chez les autres espèces qui montrent un réseau important de structures fibrillaires. Ce qui nous semble plus logique car ces espèces se contractent très peu (Lecudina) ou d'une façon non apparente (Didymophyes et Gregarina).

Il importerait de connaître les raisons de cet échec car il n'est pas pensable que les structures connues jusqu'à présent (les microtubules sous-pelliculaires ou ectoplasmiques) soient suffisantes pour expliquer les contractions.

Etudions d'abord ces structures. La glycérine extrait les protéines non contractiles, et entraîne alors une dégradation des organites cytoplasmiques. Cette dégradation atteint également les microtubules périphériques qui disparaissent finalement après une extraction de 5 à 6 jours chez Lecudina et de 8 à 10 jours chez Selenidium. A ce moment, la contraction provoquée par l'ATP atteint son maximum chez Selenidium. Nous pouvons en conclure, que ce n'est certainement pas aux microtubules périphériques, qu'il faut attribuer un rôle dans la contraction. Les termes "myonèmes" ou "fibres musculoïdes" employés par GIARD (1884),

LEGER (1892), CAULLERY et MESNIL (1899), BRASIL (1907) et d'autres auteurs doivent donc être abandonnés, au moins dans le cas des Selenidiidae et beaucoup d'autres Grégarines, dont les soi-disant "myonèmes" se sont révélés comme étant des plis épicytaires longitudinaux.

Nous devons plutôt reprendre l'hypothèse avancée par SCHREVEL (1966) selon laquelle les microtubules constitueraient un renforcement de la cellule et plus particulièrement de la paroi. C'est également MIGNOT (1966) qui nie la contractilité des microtubules sous-pelliculaires (non de ceux existant dans les flagelles et cils) chez les Protozoaires en particulier chez les Euglénomonadines. Nous considérons ces microtubules comme une sorte de "squelette" cytoplasmique. Cela expliquerait l'intensité de la contraction alors que ces tubules ont disparu par extraction : ce serait eux qui limiteraient la contraction pendant la période antérieure aux 10 jours d'extraction.

Dans le cas de Didymophyes gigantea cependant, le terme "myonème" est justifié. Nous trouvons chez cette Grégarine des paquets de fibrilles résistant à une extraction par la Glycérine et qui montrent une nette réaction en présence d'ATP. Nous avons ainsi pu démontrer la contractilité de ces structures et il doit s'agir d'actomyosine.

Un autre système fibrillaire beaucoup moins organisé que les myonèmes et tout à fait irrégulier existe dans le cytoplasme de l'animal. Ces fibrilles cytoplasmiques ne pénètrent guère dans les plis épicytaires, certainement en raison du fait que la lame "basale" n'est pas encore détruite par la glycérine. L'épaisseur des fibrilles est très irrégulière et varie de 10 à 150 Å (chez Gregarina, même plus), mais se situe généralement aux environs de 40 à 100 Å. Le système fibrillaire mis en évidence par l'extraction, n'est pas visible dans le cytoplasme d'une Grégarine normale, et son apparition peut être due à l'action de la glycérine en solution saline. Une telle précipitation des protéines contractiles en solution saline et glycéro-saline est connue depuis 1952 (WEBER et PORTZEHL). Différents auteurs ont repris les études sur la précipitation de l'actomyosine en partant des protéines contractiles préalablement dissoutes (BECK et coll., 1969, 1970 a et b ; HINSSEN, 1970 ; MIKO-NUMOURA et KONDO, 1970). Leur point de départ correspond donc environ à l'état normal de notre matériel.

BECK et coll. (1970 b) obtiennent, comme nous, des fibrilles montrant une très grande variété d'épaisseur de 6 à 162 Å, dont la majorité est de 12,30 et 60 Å et un peu moins fréquentes sont les fibrilles de 42,72 et 90 Å ; après des mesures très exactes. Nos mesures sont moins précises et seraient à refaire pour trouver éventuellement une analogie en ce qui concerne l'épaisseur et la statistique. Néanmoins l'épaisseur la plus fréquente des fibrilles de notre matériel correspond à celles trouvées par les auteurs.

Le système fibrillaire contractile décrit chez les Myxomycètes (KAMIYA, 1968 : ACHTERRATH, 1969 a et b) se montre également sous un aspect identique au système fibrillaire chez les Grégarines étudiées ici. ACHTERRATH (1969 a) a bloqué la formation des fibrilles dans une goutte cytoplasmique du Myxomycète en l'immergeant dans une solution de Salyrgan. L'auteur a réussi à débloquent au fur et à mesure l'inhibiteur par la cystéine et à provoquer ainsi la précipitation du système fibrillaire.

On se pose la question : quel serait alors le facteur induisant la précipitation de l'actomyosine sous forme de fibrilles ? Nous devons le chercher essentiellement dans l'énorme choc osmotique que subit l'animal lors de son immersion dans la solution d'extraction. Ce choc doit provoquer une "hyperprécipitation" de l'actomyosine et éventuellement même une polymérisation. Ceci a été démontré par MIKI-NOUMURA et KONDO (1970) pour la G-Actine isolée à partir d'ovocytes d'oursins et polymérisée ensuite en F-Actine *in vitro*. IKEMOTO et coll. (1966) obtiennent cette même hyperprécipitation à partir de l'actomyosine musculaire.

Mais la glycérine ne doit pas seulement provoquer une simple "hyperprécipitation" des protéines contractiles. Elle doit les précipiter immédiatement en état contracté, ce qui expliquerait le résultat négatif quand on met les structures fibrillaires en présence d'ATP.

Afin de pouvoir affirmer avec certitude que les fines fibrilles de 50 à 60 Å sont identiques à celles de la F-Actine, nous avons entrepris en collaboration avec WISSOCQ et BECK des expériences biochimiques ayant comme base la composition moléculaire des protéines contractiles en particulier celle de la Myosine. L'actine fibrillaire ou F-Actine est composée de globules de G-Actine et possède une structure hélicoïdale. Les fibrilles de myosine sont composées de monomères, lesquels peuvent être fractionnés par protéolyse en LMM (Light meromyosin) et HMM (Heavy meromyosin) (LOWEY et COHEN, 1962 ; LOWEY et coll., 1969 ; NACHMIHS et coll., 1970). De ces deux constituants principaux, la LMM est logée dans la fibre et donc invisible au point de vue ultrastructural,

et la HMM se montre au microscope électronique sous forme de ponts entre la myosine et l'actine. C'est donc la HMM qui peut entrer en contact intime avec l'actine au moment de la contraction (PRINGLE, 1968). Si l'on met la HMM en présence de l'actine, on obtient après coloration négative l'image typique des fibrilles d'actine "décorées" : fibrilles hélicoïdales avec des particules d'une longueur d'environ 150 Å inclinées sous un angle de 60° et dirigées toujours dans le même sens (MOORE et coll., 1970).

Nous avons donc isolé et purifié l'actine et la HMM à partir du muscle de lapin suivant le procédé de PORTZEHL et coll. (1950), ULBRECHT et coll. (1960) et LOWEY et coll. (1969). Après vérification des produits obtenus par le contraste négatif (MOORE et coll., 1970) nous avons fait agir la HMM sur des Didymophyes extraites afin d'obtenir in situ éventuellement une "décoration" des fines fibrilles par la HMM, comme la décrivent ALLERA et coll. (1971). L'examen au microscope électronique des Grégarines ayant subi ce traitement n'a révélé aucune différence apparente avec les Grégarines non traitées avec la HMM. Ce résultat est peu surprenant. Car, comme nous l'avons déjà dit antérieurement, dans les myonèmes extraits existent probablement tant de ponts de myosine, que l'on ne peut guère en ajouter d'autres. Il faut donc supposer que les fines fibrilles d'actine sont déjà "décorées" d'origine. Nous n'avons jamais pu observer des fibrilles de myosine, bien qu'il doive en exister, sinon on ne peut provoquer de contraction ; donc, la myosine doit se présenter sous un aspect non fibrillaire et ne peut exister que sous forme d'oligomères. (Si elle était présente sous forme de monomères, une contraction ne pourrait pas non plus avoir lieu, puisque le principe de glissement de fibrilles d'actine sur celle de myosine, évoqué par HUXLEY (1959, 1963, 1964, 1965, 1966) ne pourrait pas fonctionner).

Par leur dimension et leur forme, nous supposons alors que les fibrilles décrites ci-dessus représentent des fibrilles de F-Actine, et que les petites particules partant tout le long de ces fibrilles, sont probablement de la myosine. (HATANO et coll., 1967 ; KAMIYA, 1968). Avant de continuer nos expériences avec la HMM, il faudrait tout d'abord essayer de rendre lisses les fines fibrilles, et de les "décorer" avec la HMM par la suite, afin de pouvoir dire avec certitude qu'il s'agit de F-Actine.

Une autre structure est susceptible d'entrer dans le mécanisme des mouvements des Grégarines : les plis épicytaires. La différence d'aspect au microscope électronique de la zone corticale après extraction est très nette chez toutes les espèces étudiées. Au niveau de l'apex des plis, nous pouvons observer un système fibrillaire parallèle contenant des filaments d'épaisseur et d'espacement très réguliers. L'extraction a visualisé davantage les filaments observés déjà au même endroit chez la Grégarine normale. Nous considérons ces filaments comme étant contractiles. La haute organisation de ce système contractile est remarquable et n'a jamais été décrite chez une cellule non musculaire ou chez un Protozoaire. L'existence de ce système explique donc les mouvements ondulatoires, ce qui confirme l'hypothèse avancée par VIVIER (1968).

La conservation de la paroi après extraction a attiré également notre attention. Chez Selenidium, elle ne se dégrade que difficilement et nous observons toujours des fragments d'au moins deux membranes. Chez les autres espèces possédant des plis épicytaires, elle persiste à l'extraction tout au moins au niveau de l'apex (Didymophyes). Chez les Lecudina, la paroi de la zone située entre les plis est totalement dégradée. Généralement, il ne reste à cet endroit qu'une seule des trois membranes, elle-même très altérée. Par contre, la paroi des plis eux-mêmes est bien conservée et présente toujours les trois membranes chez lesquelles on peut encore facilement distinguer la structure classique à deux feuillets denses. Le complexe membranaire interne s'arrête brusquement à la base de chaque pli, mais montre toujours nettement les trois feuillets denses dont le plus central est généralement plus épais. Les plis cependant ont perdu leur forme initiale.

Chez Grégarina, finalement, les plis gardent leur forme allongée et étroite mais comme chez Lecudina, la paroi est dégradée dans la zone entre les plis. Contrairement aux autres espèces, la zone dense sous-jacente dans le cytoplasme épicytaire est encore très bien conservée après extraction.

Cette différence de dégradation de la paroi après la même durée d'extraction pour toutes les espèces, nous semble avoir son origine dans l'existence de la couche dense sous-jacente. Celle-ci existant chez toutes les espèces excepté chez Didymophyes, pourrait protéger la paroi et empêcher ainsi l'action de la glycérine. Si l'on postule que la glycérine ne préserve que les protéines contractiles, il convient donc d'attribuer éventuellement à la couche dense et particulièrement aux membranes mêmes une fonction dans la contractilité. Ceci a été montré

chez les Amibes où l'on a pu prouver un système membranaire cytoplasmique sensible à l'ATP (voir référence chez REINOLD et STOCKEM, 1972).

La lame "basale" semble de même avoir une fonction dans la contraction des Grégarines. Comme nous l'avons vu, elle est composée de fines fibrilles et n'est jamais détruite par la glycérine. Chez Didymonhves, nous pouvons toujours retrouver ces fibrilles après extraction dans une coupe tangentielle.

Nos résultats en microscopie électronique permettent de faire appel à plusieurs mécanismes différents pour expliquer la motilité des Grégarines. La comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par beaucoup d'autres auteurs peut justifier notre interprétation concernant les fibrilles. Mais nos études resteront toujours incomplètes, tant que nous n'aurons pas prouvé, soit la contractilité du système fibrillaire cytoplasmique, soit sa constitution en myosine et actine. Nous avons l'intention dans la mesure du possible, de continuer nos recherches relatives à la contraction des Grégarines, afin de pouvoir confirmer nos résultats obtenus jusqu'à présent.

C O N C L U S I O N G E N E R A L E .

CONCLUSION GENERALE

Par ses caractères très curieux (morphologie, syzygie précoce, absence apparente de noyaux), Didymophyes gigantea avait depuis longtemps intrigué et intéressé de nombreux chercheurs. La microscopie électronique nous a apporté d'autres renseignements tout aussi originaux. Ainsi, nous avons pu découvrir la structure très particulière des premiers stades et du protomérite : l'évolution de l'épimérite, le développement des rapports avec la cellule hôte, les structures protoméritiques (l'existence d'un polysaccharide éventuellement différent du paraglycogène, dont les grains sont souvent entourés par une membrane), et le filament protoméritique. Une étude cytochimique de ces structures serait souhaitable pour pouvoir confirmer certaines hypothèses, en particulier le phénomène de la nutrition, et le métabolisme de la transformation de substances puisées dans la cellule hôte en substances de réserve.

L'un des points les plus remarquables est incontestablement l'existence d'une multiplication nucléaire extrêmement précoce. Les mitoses progamiques entraînent ainsi la présence d'un nombre considérable de très petits noyaux dans une même cellule, même avant l'association de deux individus en syzygie. Ceci explique que l'appareil nucléaire était jusqu'à présent passé inaperçu.

Suite à nos résultats ultrastructuraux, la question taxonomique serait à revoir. En comparaison avec les travaux effectués par d'autres auteurs sur les Grégarines, la position du genre Didymophyes dans la famille des Hirmocystidae devient incertaine et il faudrait rapprocher ce genre plutôt de la famille des Gregarinidae en raison de la forte ressemblance avec l'épimérite et du protomérite de celles-ci : évaginations et anneau épiméritiques, disposition des mitochondries dans l'épimérite, organites protoméritiques, et septum. Mais nous tenons encore plus à établir de nouveau la famille des Didymophyidae proposée déjà par STEIN et LEGER, non seulement en raison de la disparition rapide du septum, lors de l'association de deux individus, mais aussi par l'existence d'une mitose progamique précoce qui semble être commune pour toutes les espèces de ce genre (CORDUA, 1953 : ORMIERES, 1968 et communication personnelle).

D'après nos expériences, nous pouvons conclure que toutes les hypothèses qui invoquent la sécrétion de mucus comme origine des mouvements des Grégarines, doivent être abandonnées. Les contractions effectuées par les Grégarines ne résultent pas non plus de l'existence des microtubules sous-belliculaires (Selenidium, Lecudina), d'autant plus qu'ils disparaissent pendant l'extraction au moment où l'animal montre un maximum de contraction en présence d'ATP.

Nous devons leur attribuer plutôt une fonction de cytosquelette et abandonner le terme "myonème", tout au moins pour les Selenidiidae. Chez Didymophyes, cependant, ces myonèmes existent et leur contractilité a été démontrée par l'action de l'ATP.

Nous rappelons que la glycérine n'extrait que les protéines non contractiles et peut faire précipiter ou polymériser en solution saline le complexe actomyosine. Nous considérons alors les structures fibrillaires cytoplasmiques visibles après une extraction, comme étant des protéines contractiles et par conséquent comme des structures responsables de la contraction.

Le système fibrillaire au sommet des plis est responsable des mouvements ondulatoires de ceux-ci et nous pouvons ainsi confirmer l'hypothèse de VIVIER (1968), qui voit l'origine du déplacement des Lecudinidae dans ces plis épicytaires et l'étendre pour toutes les Grégarines possédant des plis ondulatoires.

Il peut donc y avoir plusieurs mécanismes de contractilité chez les Grégarines : au niveau des myonèmes, dans le cytoplasme, dans les plis épicytaires, au niveau de la lame basale, et dans le mucron de certaines Grégarines où l'on a observé de fines fibrilles.

Nous avons donc pu apporter des renseignements nouveaux sur l'ultrastructure de Didymophyes gigantea et la cytophysiologie de quelques Grégarines. De nombreuses questions restent en suspens et nous espérons que d'autres travaux pourront compléter nos connaissances sur ce matériel extrêmement intéressant.

BIBLIOGRAPHIE.

B I B L I O G R A P H I E

ABE.S, (1959) Rotational protoplasmic streaming and SH.
Kagaku (Science), 29, 361-362.

ABE.S, (1963) The Effect of P-Chloromercuribenzoate on Amoeboid Movement, Flagellar Movement and Gliding Movement. *Biol.Bull.* 124, 107-114.

ACHTERRATH.M. (1969a) Hemmung der Entstehung des Fibrillenmusters von *Physarum polycephalum* durch Salyrgan. *Cytobiologie*, 1, 159-168

ACHTERRATH.M. (1969b) Die Reaktion von glycerin-extrahierten Protoplasmatropfen von *Physarum polycephalum* auf Zugabe von ATP. *Cytobiologie*, 1, 169-183.

ACHTERRATH.M. (1969c) Nachweis kontraktiler Elemente bei Schleimpilzen durch Glycerinierung. *Osterr. Arbeitsgem.f.Ultrastrukturforschung u. Dtsch. Ges.f. Elektronenmikroskopie. Gemeinsame Tagung, Wien. 22-25 Sept. 1969. -Mikroskopie.*

ALLERA.A, BECK.R, WOHLFARTH-BOTTERMANN.K.E. (1971) Weitreichende fibrilläre Protoplasmadifferenzierungen und ihre Bedeutung für die Protoplasmaströmung. VIII : Identifizierung der Plasmafilamente von *Physarum polycephalum* als F-Actin durch Anlagerung von heavy meromyosin *in situ*. *Cytobiologie*, 4, 437-449.

ANDREASSEN.J, et BEHNKE.O. (1968) Fine structure of merozoites of a rat coccidian *Eimeria migairii*, with a comparison of the fine structure of other Sporozoa. *J.Parasitol.* 54, 150-163.

BAILEY.K et PERRY.S.V. (1947) Role of sulfhydryl groups in the interaction of myosin and actin. *Biochem.Biophys.Acta*, 1, 506-516.

BARRON.E.S.G. (1951) Thiol groups of biological importance. *Adv.Enzymol.* 11, 201-266.

BAUDOIN.J. (1969) Sur l'ultrastructure de la région antérieure de la Grégarine *Ancyrophora puytoraci* B. *Protistologica*, 5, 431-43

BEAMS.H.W, TAHMISIAN.T.N, DEVINE.R.L, et ANDERSON.E. (1959). Studies on the fine structure of a gregarine parasitic in the gut of the grasshopper, *Melanoplus differentialis*. *J.Protozool.* 6, 136-146.

BECK.R, KOMNICK.H, STOCKEM.W et WOHLFARTH-BOTTERMANN.K.E. (1969) Weitreichende fibrilläre Protoplasmadifferenzierungen und ihre Bedeutung für die Protoplasmaströmung. IV : Vergleichende Untersuchungen an Actomyosin-Fäden und glycerinierten Zellen. *Cytobiologie*, 1, 99-114.

BECK.R, HINSSSEN.H, KOMNICK.H, STOCKEM.W et WOHLFARTH-BOTTERMANN.K. (1970a) Weitreichende fibrilläre Protoplasmadifferenzierungen und ihre Bedeutung für die Protoplasmaströmung. V. Kontraktion, ATPase Aktivität und Feinstruktur isolierter Actomyosin-Fäden von *Physarum polycephalum*. *Cytobiologie* 2, 259-274.

BECK.R, KOMNICK.H, STOCKEM.W et WOHLFARTH-BOTTERMANN.K.E. (1970b) Weitreichende fibrilläre Protoplasmadifferenzierungen und ihre Bedeutung für die Protoplasmaströmung. VI. Vergleichende Untersuchungen an isolierten Actomyosin-Fäden schräggestreifter und glatter Muskeln. *Cytobiologie* 2, 413-428.

BELAR.K. (1926) Zur Cytologie von *Aggregata eberthi* (Bemerkungen zu der Arbeit " The life history and chromosome cycle of *Aggregata eberthi*" von C.C.Dobell.) *Arch. f. Protistenk.* 53, 312-325.

BRASIL:L (1907) Recherches sur le cycle évolutif des *Selenidiidae*, Grégarines parasites d'Annélides Polychètes. *Arch. f. Protistenk.* 8, 370-397.

CAULLERY.M et MESNIL.F. (1899) Sur l'évolution d'un groupe de Grégarines à aspect nématode, parasites d'Annélides marines. *C.R.Soc.Biol.Paris.* 51, 78.

- CODREANU.R. (1967) Sur une microsporidie nouvelle hyperparasite d'une Grégarine du genre *Enterocystis* et le statut systématique de la famille des *Enterocystidae* *Margareta* Codreanu 1940, propres aux Ephémères. *Protistologica* 3, 351.
- COGNETTI DE MARTIIS.L. (1927) Sul miocito e sui movimenti della gregarine *monocystidae*. *Archiv. Protist.* 58, 253-271.
- CORBEL.J.C. (1967) *Metchnikovella martojai* n.sp. (Microsporidia, *Metchnikovellidae*) parasite d'une Grégarine de Gryllide. *Protistologica* 3, 365-368.
- CORDUA.C.A. (1953) Untersuchungen über die Gregarineninfektion der Dungkäfer. *Arch. f. Protistenk.* 98, 469-506.
- CRAWLEY.H. (1902) The progressive movements of gregarines. *Proc. Acad. Nat.Sci.Philad.* 54, 4-20.
- CRAWLEY.H. (1905) The movements of gregarines. *Proc. Acad. Nat. Sc. Philad.* 57, 89-99.
- DALTON.A.J. (1955) A chrome-osmium fixative for electrone microscopy. *Anat. Record.* 121, 281.
- DANNEEL.S. (1964) Identifizierung der kontraktiven Elemente im Cytoplasma von *Amoeba proteus*. *Naturwiss.* 51, 368-369.
- DE ROBERTIS.E et PELUFFO.C.A. (1951) Chemical stimulation and inhibition of bacterial motility studied with a new method. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 78, 584-589.
- DESORTES.I. (1966) L'ultrastructure de la jonction entre le primitif et le satellite des associations de *Gregarina blattarum* Sieb (Eugrégarines, *Gregarinidae*). *C.R.Acad.Sci.Paris.* 262, 1869-1870.
- DESORTES.I. (1967) Ultrastructure et évolution du sporozoïte de *Stylocephalus africanus* Théodoridès, Desportes et Jolivet, Eugrégarine, *Stylocephalidae*. *C.R.Acad.Sci.Paris.* 265, 423-426.

DESPORTES.I. (1970) Ultrastructure des Grégarines du genre *Stylocephalus*. La phase enkystée. *Annale des Sci. Nat.Zool.et Biol.Animale*. 12ème série. 12, 74-169.

DESPORTES.I et THEODORIDES J. (1969) Ultrastructure de la Grégarine *Callynthrochlamys phronimae* Frenzel; Etude comparée de son noyau avec celui de *Thalicola salpae* (Frenzel) (Eugregarina). *J.Protozool.* 16, 449-460.

DEVAUCHELLE.G. (1968a) Etude ultrastructurale du développement des Grégarines du *Tenebrio molitor* L. *Protistologica* 4, 313-332.

DEVAUCHELLE.G. (1968b) Etude de l'ultrastructure de *Gregarina polymorpha* (Hamm) en syzygie. *J.Protozool.* 15, 629-636.

DUBREMETZ.J.F.(1971) L'ultrastructure du centriole et du centrosôme chez la coccidie *Eimeria necatrix*. Etude au cours de la schizogonie. *J.de Microscopie.* 12, 453-458.

DUBREMETZ.J.F. (1972) Etude ultrastructurale de la mitose schizogonique chez la coccidie *Eimeria necatrix* (Johnson 1930). *J. Ultrastr. Res* (sous presse).

DURCHON.M et VIVIER.E. (1961) Déterminisme de la gamogonie chez une Grégarine parasite de *Perinereis cultrifera* Grube (Annelide Polychète). *C.R.Acad.Sci.Paris* 253, 318-320.

DURCHON.M et VIVIER.E. (1964) Influence des sécrétions endocrines sur le cycle des Grégarines chez les Néréidiens (Annélides Polychètes). *Ann. d'Endocrinologie* 253, n°5 suppl. 43-48.

ELLIOT et CLEMMONS (1966) An ultrastructural study of ingestion and digestion in *Tetrahymena pyriformis*. *J.Protozool.* 13, 311-323.

FAHIMI et DROCHMANS (1965) Essai de standardisation de la fixation à la glutaraldéhyde. *J. de Microscopie.* 4, 725-748.

FAVARD.P et CARASSO. N (1963) Mise en évidence d'un processus de micropinocytose interne au niveau des vacuoles digestives d'*Epi-stylis anastatica* (Cilié Péritriche). *J.de Microscopie*, 2, 495-498.

FAVARD.P et CARASSO.N.(1964) Etude des vésicules de micropino-
cytose interne chez les Ciliés péritriches. 3^d European Regional
Conference on Electron Microscopy, Prague. Publishing House of
Czekoslov. Acad.Sci. Prague, 13B, 197-198.

FOERSTER.H. (1938) Gregarinen in schlesischen Insekten.
Z.f. Parasitenk. 10, 157-209.

FOERSTER.H. (1938) Beobachtungen über das Auftreten von Gregarin
in Insekten. Z.f. Parasitenk. 10, 644-673.

FOWELL.R.R. (1936) The fibrillar structures of protozoa with
special reference to schizogregarines of the genus *Selenidium*.
J.Roy.Micr.Soc. 56, 12-28.

GIARD.A. (1884) Note sur un nouveau groupe de Protozoaires des
Annélides et sur quelques points de l'histoire des Grégarines
(*Selenidium pendula*). C.R.Assoc.fr.Avanc.Sc.Congr.Blois, 192.

GÖHRE.E. (1943) Untersuchungen über den plasmatischen Feinbau
der Gregarinen mit besonderer Berücksichtigung der Sexualitäts-
verhältnisse. Archiv.f.Protistenk. 96, 295-324.

GRASSE.P.P et THEODORIDES.J. (1959) Recherches sur l'ultrastruc-
ture de quelques Grégarines. Ann.Sc.Nat.Zool. 12ème série, 1, 237
252.

GRELL.K.G. (1964) The Protozoan Nucleus. In: BRACHET.J et MIRSKY.
(Eds) " The Cell" vol 6, p 1-79. Academic Press, New-York

GUSTAFSON.P.V, AGAR.H.D et CRAMER.D.I. (1954). An electron
microscope study of *Toxoplasma*. Amer.J.trop.Med.Hyg. vol.3,
1008-1022.

HAMMOND D.M, SCHOLTYSECK.E et CHOBOTAR.B. (1969). Fine structure
study of the microgametogenesis of *Eimeria auburnensis*. Z.f.
Parasitenk. 33, 65-84.

- HATANO.S, TOTSUKA.T et OOSAWA.F. (1967) Polymerisation of plasmodium actin. *Biochim.Biophys.Acta* 140, 109-122.
- HENNERE.E(1967). Etude cytologique des premiers stades du développement d'une Coccidie *Myriosporides amphiglenae*. *J.Protozool.* 14, 27-39.
- HILDEBRAND H.F. (1970) Contribution à l'étude des mouvements de quelques Grégarines parasites d'Annélides polychètes. *D.E.A.Lille*.
- HILDEBRAND.H.F et VIVIER.E. (1971) Observations ultrastructurales sur le sporoblaste de *Metchnikovella wohlfarthi* n.sp. (Microsporidies) parasite de la Grégarine *Lecudina tuzetae*. *Protistologica* 7, 131-139.
- HILDEBRAND.H.F (1972) Etude au microscope électronique de l'évolution nucléaire progamique chez la Grégarine *Didymophyes gigantea* Stein, parasite intestinal de la larve du Scarabaeide *Oryctes nasicornis* L. 11ème réunion du G.P.L.F.Lille, *J.Protozool* (sous presse).
- HINSSSEN.H. (1970) Synthetische Myosinfilamente von Schleimpilz-Plasmodien. *Cytobiologie* 2, 326-331.
- HOFFMAN-BERLING.H. (1953) Die Wasser-Glyzerin-extrahierte Zelle als Modell der Zellmotilität. *Biochem.Biophys.Acta* 10, 628.
- HOFFMAN-BERLING.H. (1954) Adenosintriphosphat als Betriebsstoff von Zellbewegungen. *Biochem.Biophys.Acta* 14, 182-194.
- HOFFMANN-BERLING.H. (1956a) Der Mechanismus eines neuen, von der Muskelkontraktion verschiedenen Kontraktionszyklus. *Biochem. Biophys.Acta* 27, 247-255.
- HOFFMANN-BERLING.H. (1956b) Das kontraktile Eiweiss undifferenzierter Zellen. *Biochem.Biophys.Acta* 19, 453-463.
- HOLLANDE.A et ENJUMET.M. (1953) Contribution à l'étude biologique des Sphaerocollides (Radiolaires collodaires et radiolaires polycythaires) et leurs parasites. *Ann.Sci.Nat.Zool.11e Série.* 15, 99-183.

- HOSHIDE.H. (1953) Studies on the Gregarines from the Coleoptera in Japan II. *Bull.Fac.Educ.Yamafuchi.Univ.* 2, 1-12.
- HOSHIDE.H. (1959) Studies on the cephaline Gregarines of Japan I
3) Description of the members belonging to the families *Didymophyidae*, *Actinocephalidae*, *Acanthosporidae*, *Stylocephalidae*, *Dactylophoridae*. *Bull.Fac.Educ.Yamafuchi.Univ.* 8, 35-101.
- HUXLEY.H.E. (1959) Muscular Contraction. *Amer.Heart.J.* 58, 777-7
- HUXLEY.H.E. (1963) Electron Microscope Studies on the Structure of Natural and Synthetic Protein Filaments from Striated Muscle. *J.Mol.Biol.* 7, 281-308.
- HUXLEY.H.E. (1964) Structural arrangements and the contraction mechanism in striated muscle. *Proc.Roy.Soc.* B160, 442-448.
- HUXLEY.H.E. (1965) The mechanism of muscular contraction. *Scientific American* 213, 18-27.
- HUXLEY.H.E. (1966) The fine structure of striated muscle and its functional significance. In: *The Harvey Lectures*. Acad.Press.New-York. 85-118.
- IKEMOTO.N, KITAGAWA.S et GARGELY.J. (1966) Electron microscopic investigation of the interaction of actin and myosin. *Biochem.Z.* 345, 410.
- JOYET-LAVERGNE.P. (1926) Les colorations vitales des Grégarines et les caractères de sexualisation du cytoplasme. *C.R.Acad.Sci. Paris.* 182, 1295-1297.
- KAMIYA.N. (1968) The Mechanism of cytoplasmic Movement in a Myxomycete Plasmodium. In : *Aspects of Cell Motility ,Symposia of the Society for Experimental Biology XXII*. Univ.Press.Cambridge.p199-214.
- KAMIYA.N. et KURODA.K. (1965). Movement of the Myxomycete Plasmodium I(A study of Glycerinated models). *Proc.Jap.Acad.* 41, 837-841

- KÄPPNER.W. (1961) Bewegungsphysiologische Untersuchungen an der Amöbe *Chaos chaos* II. Die Wirkung von Salyrgan, Cystein und ATP. *Protoplasma (Wien)* 53, 504-529.
- KLUG.H. (1959) Cytomorphologische Untersuchungen an Gregarinen. *Biol.Zbl.* 78, 630-650.
- KÜMMEL.G. (1958) Die Gleitbewegung der Gregarinen, Elektronenmikroskopische und experimentelle Untersuchungen. *Arch.f.Protistenk.* 102, 501-522.
- KUSHIDA.H. (1961) A styrene-methacrylate resin embedding method for ultrathin sectioning. *J.Electron.Microscopy.* 10, 16-19.
- LEGER.L. (1892) Recherches sur les Grégarines. *Tabl.Zool.* 3, 1-183.
- LEGER.L et DUBOSCQ.D. (1902) Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les trachéates. *Arch.Parasit.* 6, 377-473.
- LEGER.L et DUBOSCQ.D. (1909) Sur une microsporidie parasite d'un Grégarine. *C.R.Acad.Sci.Paris.* 138, 733-734.
- LEGRAND.B. (1970) Recherches expérimentales sur le déterminisme de la contraction et les structures contractiles chez le Spirostome. (*Spirostomum ambiguum*). *Protistologica.* 6, 283-300.
- LEVINE.L. (1956) Contractility of glycerinated *Vorticella*. *Biol.Bull.* 111, 319.
- LIPA.E.Jr. (1966) *Tribolium destructor* Uytt. (Coleoptera Tenebrionidae) nouvel hôte de la Grégarine *Didymophyes minuta* (Ishii) Watson (Gregarinidae Didymophyidae). *Zool.Zh.SSSR.* 45, 1130-1133.
- LOM.J. (1971) Observation sur la structure du filament polaire du genre *Nosema*. *J.Protozool.* 18, Suppl.p.51.
- LOM.J. (1972) On the structure of the Extruded Microsporidian Polar Filament. *Z.f.Parasitenk.* 38, 200-213.

- LOUBES.C1, ORMIERES.R et BOUIX.G. (1971) *Gregarina embiae* n.sp. Parasite des Embioptères *Monotylota ramburi* Rimsky-Korsakov 1905 et *Haploembia solieri* Rambur 1842 . A.Cycle biologique.B. Ultra-structure du Cephalin. *Bull.Soc.Zool.France.* 96, 519-530.
- LOWEY.S et COHEN.C. (1962) Studies on the structure of Myosin. *J.Mol.Biol.* 4, 293-308.
- LOWEY.S, SLAYTER.H.S, WEEDS.A.G et BAKER.H. (1969) Substructure of the myosin molecule. I. Subfragments of myosin by enzymic degradation. *J.Mol.Biol.* 42, 1-29.
- LUDWIG.P.W. (1946) Studies on the protozoan fauna of the larvae of the Crane fly, *Tipula abdominalis*. I. Flagellates, Amoebae and Gregarines . *Trans.Amer.Micr.Soc.* 65, 189-214.
- MARSHALL.W.S. (1893) Beiträge zur Kenntniss der Gregarinen. *Arch. f.Naturgesch.* 59, 25-44.
- MIGNOT.J.P. (1966) Structure et ultrastructure de quelques Euglénomonadines. *Protistologica* 2, 51-117.
- MIKI-NOUMURA.T et KONDO.H. (1970) Polymerization of Actin from Sea Urchin Eggs. *Exptl.Cell Res.* 61, 31-41.
- MOORE.P.B, HUXLEY.H.E et DeROSIER D.J. (1970) Three-dimensional reconstruction of F-Actin, thin filaments and decorated thin filaments. *J.Mol.Biol.* 50, 279-295.
- NACHMIAS.V.T, HUXLEY.H.E et KESSLER.D. (1970) Electron microscope observations on actomyosin and actin preparations from *Physarum polycephalum*; and on their interaction with heavy meromyosin subfragment I from muscle myosin. *J.Mol.Biol.* 50, 83-90.
- NAHIB.A. (1938) Studien über die Gattung *Klossia* und Beschreibung des Lebenszyklus von *Klossia loosi* (nov.sp.) *Arch.f.Protistenk.* 91, 474-515.
- OBATA.K. (1953) Reports on some Gregarines from Japanese Insekts. *J.Sci.Hiroshima.Univ.* 14, 1-34.

- OGINO.N et YONEDA.C. (1966) The fine structure and mode of division of *Toxoplasma gondii*. *Arch.Ophthal.* 75, 218-227.
- OLCUTT.H.S et FRAENKEL-CONRAT.H. (1947) Specific group reagents for proteins. *Chem.Rev.* 41, 151-197.
- ORMIERES.R. (1968) Eugrégarines parasites d'*Aphodius* (Coleop. Scarab) des environs de Besse. Données nouvelles sur le genre *Didymophyes* Stein. *Annal.Stat.Biol.Besse-en-Chaudesse.* 3, 209-220
- ORMIERES.R et DAUMAL.J. (1970a) Données ultrastructurales sur *Epicavus araeoceri* Orm et Daum, Eugrégarine parasite d'*Araerocerus fasciculatus* de Geer (Coléoptère Anthribidae). *C.R.Acad.Sci.Paris* 270, 2451-2453.
- ORMIERES.R et DAUMAL.J. (1970b) Etude ultrastructurale de la partie antérieure d'*Epicarus araeoceri* Orm et Daum, Eugrégarine parasite du Coléoptère Anthribidae *araeocerus fasciculatus* de Geer. *Protistologica* 4, 97-111.
- PARDUCZ.B. (1967) Ciliary movement and coordination in ciliates. *Int.Rev.Cytol.* 21, 91-127.
- PORCHET-HENNERE.E et VIVIER.E. (1971) Ultrastructure comparée de germes infectueux (Sporozoïtes, Merozoïtes, Schizozoïtes, Endozoïtes etc...) chez les Sporozoaires. *Ann.Biol.* 10, 77-113.
- PORCHET-HENNERE.E et RICHARD.A. (1971) La sporogénèse chez la Coccidie *Aggregata eberthi*. Etude en microscopie électronique. *J.Protozool.* 18, 614-628.
- PORTER.J.F. (1897) Two new *Gregarina*. *J.Morphol.* 14, 1-20.
- PORTZEHL.H, SCHRAMM.G et WEBER.H.H. (1950) Actomyosin und seine Komponenten. 1.Mitt: Darstellung von Actomyosin und L-Myosin und Bestimmung ihrer physikalischen Konstanten. *Z.Naturforsch.* 5b, 61-74.
- PRELL.H. (1921) Zur Theorie des sekretorischen Ortsbewegung. *Arch.f.Protistenk.* 42, 99-175.

- PRENSIER.G. (1971) Contribution à l'étude ultrastructurale des différents stades du cycle de *Dipauxis hattii* (Grégarine monocystidée) parasite de *Perinereis cultrifera* Grübe. Thèse de 3ème Cycle. Lille.
- PRENSIER.G. (1972) Modalités de la division metagamique chez *Diplauxis hattii* (Grégarine monocystidée). Etude ultrastructurale. *J.de Microscopie* (sous presse).
- PRINGLE.J.W.S. (1968) Mechano-chemical transformation in striated muscle. In : "Aspects of Cell Motility" Symposia of the Society for Experimental Biology XXII. University Press Cambridge. p67-86.
- RAY.H.N. (1930) Studies on some Sporozoa in Polychaete worms. I. Gregarines of the genus *Selenidium*. *J.Paracytol.* 22, 370-398.
- REGER.J.F. (1967) The fine structure of the Gregarine *Pyxinooides balani*, parasitic in the barnacle *Balanu tintinnabalum*. *J.Protozoology* 14, 488-497.
- REINOLD.M et STOCKEM.W. (1972) Darstellung eines ATP-sensitiven Membran systems mit Ca^{2+} -transportierender Funktion bei Amöben. *Cytobiologie* 6, 182-194.
- REYNOLDS.E.S. (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain for electron microscopy. *J.Cell Biol.* 17, 208.
- RICHTER.J. (1960) Bewegungsphysiologische Untersuchungen an Polycystiden Gregarinen unter Anwendung des Mikrozeitrafferfilms. *Protoplasma.* 51, 197-241.
- ROBERTO-SOTELO.J et TRUJILLO-CENOZ.O.(1958) The fine structure of an Elementary Contractile Systeme. *J.Biophys.Biochem.Cytol.* 6, 126-131.
- ROSKIN.G et LEVINSON.L.B. (1929) Die Kontraktilen und die Skelettelemente der Protozoen. I. Der Kontraktile und der Skelettapparat der Gregarinen. (Monocystidae). *Arch.f.Protistenk.* 66, 355-401.

- SCHÄFER-DANNEEL.S. (1967) Strukturelle und funktionelle Voraussetzungen für die Bewegung von *Amöba proteus*. *Z.f.Zellforsch.* 78, 441-462.
- SCHEWIAKOFF.W. (1894) Über die Ursachen der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen. *Zeit.Wiss.Zool.* 58, 340-354.
- SCHNEIDER.A. (1875) Contribution à l'histoire des Grégarines des Invertébrés de Paris et Roscoff. *Arch.Zool.Exp.Gen.* 4, 493-604.
- SCHNEIDER.L et WOHLFARTH-BOTTERMANN K.E. (1959) Protistenstudien IX. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Amöben unter besonderer Berücksichtigung der Feinstruktur des Cytoplasmas. *Protoplasma (Wien)* 51, 377-389.
- SCHREVEL.J. (1964) 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.Gen.* 104, 125-142.
- SCHREVEL.J. (1968) L'ultrastructure de la région antérieure de la Grégarine *Selenidium* et son intérêt pour l'étude de la nutrition chez les Sporozoaires. *J.Microscopie* 7, 391-410.
- SCHREVEL.J. (1969) Biologie, Cytologie, Physiologie des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes. *Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles. Lille 1969.*
- SCHREVEL.J. (1971a) Contribution à l'étude des *Selenidiidae* parasites d'Annélides Polychètes. II. Ultrastructure de quelques trophozoïtes. *Protistologica*, 7, 101-130.
- SCHREVEL.J. (1971b) Observations biologiques et ultrastructurales sur les *Selenidiidae* et leurs conséquences sur la systématique des Grégarinomorphes. *J.Protozool.* 18, 448-470.
- SCHREVEL.J et VIVIER.E. (1966) Etude de l'ultrastructure et du rôle de la région antérieure (Mucron et Epimérite) de Grégarines parasites d'Annélides Polychètes. *Protistologica*, 2, 17.

SCHUBERT.G. (1969a) Ultracytologische Untersuchungen an der Spore der Mikrosporidienart *Heterosporis finki*, gen.n, sp.n. *Z.f.Parasitenk.* 32, 59-79.

SENAUD.J. (1967) Contribution à l'étude des sarcosporidies et des toxoplasmes (*Toxoplasma*). *Protistologica*, 3, 170-216.

SHEFFIELD.H.G. (1966) Electron microscopy study of the proliferative form of *Besnoitia jellisoni*. *J.Parasitol.* 52, 583-594.

SHEFFIELD.H.G et MELTON.M.L. (1968) The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*. *J.Parasitol.* 54, 209-226.

SIMARD-DUQUESNE.N et COUILLARD.P. (1962a) Ameboïd Movement.I. Reactivation of glycerinated Models of *Amoeba proteus* with ATP. *Exptl.Cell Research* 28, 85-91.

SIMARD-DUQUESNE.N et COUILLARD.P. (1962b) Ameboïd Movement.II. Research of contractile Proteins in *Amoeba proteus*. *Exptl.Cell Research* 28, 92-98.

SINGER.T.P et BARRON.E.S.G. (1944) Effect of sulphhydryl reagents on ATPase activity of myosin. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 56, 120-124.

SMALL.E.B et MARSZALEK.D.S. (1969) Scanning Electron Microscopy of fixed, frozen, and dried Protozoa. *Science* 163, 1064-1065.

SOKOLOW.B. (1912) Studien über die Physiologie der Gregarinen. *Arch.f.Protistenk.* 27, 260-314.

STEIN.F. (1848) Über die Natur der Gregarinen. *Arch.Anat.Phys.Med. (Müllers Archiv.)* 182, 223.

STEINERT.J et NOVIKOFF.A.B. (1960) The existence of a cytostome and the occurrence of pinocytosis in the trypanosome (*Trypanosoma mega*). *J.Biophys.Biochem.Cytol.* 8, 563-570.

STOCKEM.W. (1970) Die Eigenung von Pioloform F für die Herstellung elektronenmikroskopischer Trägerfilme. *Mikroskopie* 26, 185-189.

- STOCKEM.W et KOMNICK.H. (1970) Erfahrungen mit der Styrol-Methacrylat-Einbettung als Routinemethode für die Licht- und Elektronenmikroskopie. *Mikroskopie* 26, 199-203.
- SZENT-GYORGYI.A. (1949) Free energy relations and contraction of actomyosin. *Biol. Bull.* 96, 140-161.
- TERZAKIS.J.A. (1968) Uranyl Acetate, a Stain and Fixative. *J. Ultr. Res.* 22, 168-184.
- THEODORIDES.J. (1955) Contribution à l'étude des parasites et phorétiques de Coléoptères terrestres. *Vie et Milieu, Suppl.* 4, 1-310.
- THEODORIDES.J et JOLIVET.P. (1959) Eugrégarines parasites de Coléoptères. *Expl. Pc. Nat. Albert. 2ème Série*, 8, 3-95.
- THEODORIDES.J et ORMIERES.R. (1956) Sur un cas tératologique chez *Didymophyes guttiformis* Cordua. Remarques sur la position systématique du genre *Didymophyes* Stein (*Eugregarina-Didymophyidae*). *Ann. Paras. Hum. Comp.* 31, 177-181.
- TUCKER.J.B. (1967) Changes in nuclear structure during the binary fission in the ciliate *Nassula*. *J. Cell Sci.* 2, 481.
- ULBRECHT.M, GRUBHOFER.N, JAISLE.F et WALTER.S. (1960) Die erschöpfende Reinigung von Actin-Präparaten. Zahl und Art der phosphathaltigen prosthetischen Gruppen von G- und F-Actin. *Biochem. Biophys. Acta.* 45, 443-459.
- VAVRA.J et SMALL.E.B. (1969) Scanning Electron Microscopy of Gregarines (*Protozoa, Sporozoa*) and its Contribution to the theory of Gregarine Movement. *J. Protozool.* 16, 745-757.
- VINCKIER.D, DEVAUCHELLE.G et PRENSIER.G. (1971) Etude ultrastructurale du développement de la microsporidie *Nosema vivieri* [V.D. et P. 1970]. *Protistologica.* 7, 273-287.

- VIVIER.E. (1965) Etude au microscope électronique de la spore de *Metchnikovella hovassei* n.sp.; appartenance des *Metchnikovellidae* aux Microsporidies. *C.R.Acad.Sci.Paris*, 260, 6982-6984.
- VIVIER.E. (1965) Sur quelques particularités de certains organites cytoplasmiques (mitochondries et appareil de Golgi) chez les Sporozoaires. *J.de Microscopie* 4, 168-169.
- VIVIER.E. (1968) L'organisation ultrastructurale corticale de la Grégarine *Lecudina pellucida*; ses rapports avec l'alimentation et la locomotion. *J.Protozool.* 15, 230-246.
- VIVIER.E et HENNERE.E. (1965) Ultrastructure des stades végétatifs de la Coccidie *Coelotropha durchoni*. *Protistologica*.1, 89-104.
- VIVIER.E, LEGRAND.B et PETITPREZ.A. (1969) Recherches cytochimiques et ultrastructurales sur les inclusions polysaccharidiques et calciques du Spirostome; leurs relations avec la contractilité. *Protistologica*, T.V. fasc 1, 145-159.
- VIVIER.E, ORMIERES.R et TUZET.O. Observations sur le cycle et les affinités des Grégarines parasites du Polychète *Périnèreis cultrifera* Grube. *Arch.Zool.Exp et Gen.* 103, 20-29.
- VIVIER.E et PETITPREZ.A. (1968) Le complexe membranaire superficielle et son évolution lors de l'élaboration des individus-fils chez *Toxoplasma gondii*. *J.Cell Biol.* 43, 329-342.
- VIVIER.E et PETITPREZ.A. (1972) Données ultrastructurales complémentaires, morphologiques et cytochimiques, sur *Toxoplasma gondii*. *Protistologica* (sous presse).
- VIVIER.E et SCHREVEL.J. (1964) Etude, au microscope électronique, d'une Grégarine du genre *Selenidium*, parasite de *Sabellaria alveolata*. L. *J.de Microscopie.* 3, 651-670.
- VIVIER.E et SCHREVEL.J. (1966) Les ultrastructures cytoplasmiques de *Selenidium hollandei*, n.sp. Grégarine parasite de *Sabellaria alveolata*. L. *J.de Microscopie.* 5, 213-228.

VIVIER.E, DEVAUCHELLE.G, PETITPREZ.A, PORCHET-HENNERE.E, PRENSIER. SCHREVEL.J et VINCKIER.D. (1970) Observations de cytologie comparée chez les Sporozoaires. I. Les structures superficielles chez les formes végétatives. *Protistologica*. 6, 127-150.

WATSON.M.E. (1916) Studies on Gregarines. *Illinois Biol.Mon.* 2, 1-25

WEBER.H.H et PORTZEHL.H. (1952) Kontraktion, ATP-Cyclus und fibrilläre Proteine des Muskels. *Erg.Physiol.* 47, 369-468.

WOHLFARTH-BOTTERMANN.K.E. (1957) Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. *Naturwissenschaften*. 44, 287-288.

WOHLFARTH-BOTTERMANN.K.E. (1962) Weitreichende, fibrilläre Protoplasmadifferenzierungen und ihre Bedeutung für die Protoplasmaströmung: I Elektronenmikroskopischer Nachweis und Feinstruktur. *Protoplasma (Wien)* 54, 514-539.

WOHLFARTH-BOTTERMANN.K.E. (1963) Weitreichende, fibrilläre Protoplasmadifferenzierungen und ihre Bedeutung für die Protoplasmaströmung : II Lichtmikroskopische Darstellung. *Protoplasma (Wien)* 57, 747-761.

WOHLFARTH-BOTTERMANN.K.E. (1965) Weitreichende, fibrilläre Protoplasmadifferenzierungen und ihre Bedeutung für die Protoplasmaströmung : III Entstehung und experimentell induzierbare Musterbildung. *Roux'Arch.Entwicklungsmechanik* 156, 371-403.

WOHLFARTH-BOTTERMANN.K.E. (1964) Differentiations of the ground Cytoplasm and their Significance for the Generation of the Motive Force of Ameboid Movement. In : "Primitive motile systems in Cell Biology" R.D.Allen, et N.Kamiya, Academic Press, New-York. 79-109.

ZIMMERMANN.A.M. (1962) Action of ATP on Amoeba. *J.Cell and Compartment Physiol.* 60, 271-280.