

50376
1973
112

50376
1973
112

THÈSE

présentée

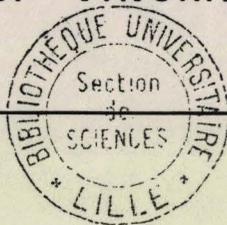
A L'UNIVERSITÉ DES
SCIENCES ET TECHNIQUES
DE LILLE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE
EN BIOLOGIE CELLULAIRE

par

Daniel VINCKIER



ETUDE DES CYCLES ET DE L'ULTRASTRUCTURE DE

LECUDINA LINEI n. sp. (GREGARINE PARASITE DE NEMERTE)

ET DE SON PARASITE, LA MICROSPORIDIE *NOSEMA VIVIERI* (V.D. et P.)

soutenue le 9 Mars 1973 devant la Commission d'examen

MM M. DURCHON
E. VIVIER
B. BOILLY
J. SCHREVEL

Président
Rapporteur
Examineur
Membre invité

A mes Parents

A ma Femme

en témoignage de reconnaissance et d'affection.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

I - <u>MATERIEL ET TECHNIQUES</u>	2
A) <u>MATERIEL</u>	2
B) <u>TECHNIQUES</u>	2
a) Méthode d'observation in vivo	2
b) Méthode d'obtention des kystes	2
c) Méthodes de microscopie électronique	3
1) Microscopie électronique à transmission	3
2) Microscopie électronique à balayage	3
II - <u>ETUDE DU CYCLE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp., PARASITE INTESTINAL DU NEMERTE LINEUS VIRIDIS (FABR) JOHNSTON</u>	4
A) <u>OBSERVATIONS</u>	4
1) Le trophozoïte	4
2) La syzygie	5
3) Le gamétokyste et les gamètes	5
4) Le sporokyste et les spores	6
B) <u>DIAGNOSE</u>	7
C) <u>DISCUSSION</u>	7
III - <u>ETUDE ULTRASTRUCTURALE DU TROPHOZOITE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp.</u>	8
A) <u>STRUCTURE DU JEUNE TROPHOZOITE</u>	8
1) Le mucron et le système de fixation du trophozoïte à la paroi intestinale	8
a) Chez le très jeune parasite	8
- Le mucron proprement dit	8
- La région de l'épithélium intestinal-hôte surmontant le mucron	9
b) Chez le trophozoïte plus âgé.	10

2) Le "corps" du jeune trophozoïte	10
a) Région antérieure	11
b) Région moyenne	11
c) Région postérieure	11
d) Région moyenne à un stade plus âgé	11
3) Discussion	12
<u>B) STRUCTURE DU TROPHOZOTTE ADULTE</u>	13
1) L'épicyte	13
a) Observation au microscope électronique à balayage	14
b) Observation au microscope électronique à transmission	15
- La paroi	15
- Le cytoplasme épicytaire	16
- Les micropores	16
2) L'ectoplasme	17
a) La basale	17
b) Les microtubules	17
c) Les organites cytoplasmiques Mitochondries - Granules denses - Vacuoles sous-corticales	17
3) L'endoplasme et les inclusions cytoplasmiques	18
a) Les mitochondries	18
b) L'appareil de Golgi	18
c) Les inclusions de type mucopolysaccharidique	19
d) Le paraglycogène	19
e) Les inclusions lipidiques	19
f) Les granules denses	20
g) Organites à structure myélinique	20
h) Fibres tubulaires	20
4) La zone antérieure de la Grégarine	21
5) Le noyau	21
a) L'enveloppe nucléaire	21
b) Le nucléoplasme	22

6) Discussion	22
a) La zone corticale	22
- La paroi	22
- L'épicyte	23
- L'ectoplasme et ses inclusions	24
. La lame basale	24
. Les microtubules sous-pelliculaires	25
. Les mitochondries et les vacuoles sous-corticales	25
b) L'endoplasme et les inclusions cytoplas- miques	26
- L'appareil de Golgi	26
- Les inclusions de type mucopolysaccha- ridique	26
- Le paraglycogène	27
- Les inclusions lipidiques	28
IV - <u>ETUDE D'UN CAS D'HYPERPARASITISME : NOSEMA VIVIERI (V. D. et P.)</u> <u>MICROSPORIDIE PARASITE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp.</u>	29
A) <u>HISTORIQUE</u>	29
B) <u>ETUDE ULTRASTRUCTURALE DU DEVELOPPEMENT DE NOSEMA</u> <u>VIVIERI.</u>	30
1) Phase végétative	31
a) Formes uninucléées : les schizontes	31
b) Phase de multiplication des schizontes	31
2) Phase sporogonique	33
a) Sporoblastes : origine et formation du filament polaire	33
b) Spores	36
3) Rapports hôte-parasite	38
4) Résumé des caractères cytologiques de <u>Nosema</u> <u>vivieri (V. D. et P.)</u> .	39
5) Diagnose	40
C) <u>DISCUSSION</u>	41
1) Position systématique	41
2) Organitogenèse	42
a) La paroi et la limite hôte-parasite	43

b) Le filament polaire et le polaroplaste 44
c) La vacuole postérieure 46

3) Spores 47

4) Cycle 48

RESUME et CONCLUSION 49

BIBLIOGRAPHIE



Les Grégarines, Protozoaires parasites obligatoires peuvent, à leur tour, être parasitées par d'autres Protozoaires. De tels cas d'hyperparasitisme sont connus au moins depuis 1897, date à laquelle CAULLERY et MESNIL ont décrit le genre Metchnikovella comme type nouveau de microorganisme parasite de Grégarines ; or on sait depuis les travaux de VIVIER (1965) que les Metchnikovellidae sont en fait des Microsporidies. D'autres Microsporidies appartenant aux genres Nosema et Perezia sont également connues en qualité de parasites de Grégarines (LEGER et DUBOSCQ, 1909).

Au cours de nos études sur les Grégarines de Vers et étendant nos recherches aux parasites de Nemertes, nous avons eu l'occasion de rencontrer une espèce dont l'examen a révélé la présence d'hyperparasites appartenant aux Microsporidies, mais différents des Metchnikovellidae.

Or chez les Némertes, MONTGOMERY (1898), chez une Grégarine de Lineus gesserensis et AWERINZEW (1908-1909) chez une Grégarine d'Amphiporus sp. avaient déjà décrit des formes rappelant fortement des spores de Microsporidies. Il nous a paru intéressant d'approfondir le problème de l'hyperparasitisme rencontré et d'en effectuer une étude ultrastructurale, à la fois de l'hôte et de l'hyperparasite.

Alors que les Sporozoaires parasites des Annélides Polychètes et Oligochètes ont suscité de nombreux travaux, ils ont été très peu étudiés chez les Némertiens ; outre les deux espèces citées ci-dessus, une seule autre a été signalée par SCHNEIDER (1875), dans son "Histoire des Grégarines des Invertébrés de Paris et de Roscoff" où elle est parasite de Valencinia sp. Cependant en 1951, GONTCHAROFF, étudiant la régénération et la reproduction chez quelques Lineidae de France, a trouvé de tels parasites dans l'intestin de Lineus ruber et Lineus sanguineus. Nous avons recherché notre matériel chez les représentants du genre Lineus et c'est ainsi que chez Lineus viridis, l'étude d'une Grégarine intestinale a révélé l'existence de la Microsporidie Nosema vivieri (V. D. et P., 1970).

Mais avant d'étudier la structure fine de cet hyperparasite, il était indispensable de connaître parfaitement la Grégarine, cellule-hôte. Nous nous proposons donc dans ce Mémoire, avant d'aborder le développement, qui présente quelques caractères originaux, de la Microsporidie Nosema vivieri, de décrire le cycle in vivo de la Grégarine que nous avons nommée Lecudina linei n. sp., description qui a été complétée par une étude ultrastructurale du trophozoïte.

PREMIERE PARTIE

MATERIEL ET TECHNIQUES

CHAPITRE I

MATERIEL ET TECHNIQUES

A) MATERIEL

Les Lineus viridis (Fabr.) Johnston proviennent du littoral de la Mer du Nord, de la Station de Biologie Maritime de Wimereux. Ils ont été ramassés sous les pierres de la zone supérieure de l'estran, et gardés au laboratoire dans des cristallisoirs, à l'obscurité et à une température d'environ 4 à 8°. Ils supportent très bien le jeûne durant de longues périodes. Un tiers environ des individus sont parasités et leur taux d'infestation est plus élevé que chez les autres Lineidae ayant le même biotope. Il est ainsi possible d'obtenir des trophozoïtes à n'importe quelle période de l'année.

B) TECHNIQUES

a) Méthode d'observation in vivo

Les Némertes anesthésiés au MgCl (à 77,7% dans l'eau distillée) sont observés entre lame et lamelle sous binoculaire : il est ainsi possible de voir par transparence s'ils sont parasités ou non. Les vers atteints sont alors disséqués et le contenu intestinal prélevé à l'aide de pipettes capillaires est examiné sur lame au microscope à contraste de phase ou à contraste interférentiel. Il a été ainsi possible d'obtenir les trophozoïtes mais très rarement les kystes.

b) Méthode d'obtention des kystes

Les Némertes parasités sont isolés dans des piluliers ou des petites boîtes de Petri dans de l'eau de mer additionnée de quelques traces de pénicilline 10.000 μ , et gardés à l'obscurité à température ambiante (environ 16°). Au bout de quelques jours, il est ainsi possible

d'obtenir les kystes de Grégarines qui sont rejetés dans l'eau de mer, et de suivre le cycle du parasite. Mais comme le soulignait déjà SCHNEIDER (1875), il faut très longtemps aux kystes dans l'eau de mer pour arriver à la complète maturité, et beaucoup dégénèrent au bout de quelques jours.

c) Méthodes de microscopie électronique

1) Microscopie électronique à transmission

L'étude ultrastructurale a été faite selon les techniques classiques : double fixation glutaraldéhyde-osmium dans un tampon phosphate, déshydratation dans l'acétone puis inclusion en épon ou araldite.

Les pièces sont coupées à l'Ultramicrotome Porter-Blum sur couteau de verre ou de diamant. Les coupes, recueillies sur grilles parlodionnées sont contrastées par l'acétate d'uranyle en solution aqueuse ou alcoolique et par le citrate de Plomb selon REYNOLDS (1963).

Les préparations sont examinées aux Microscopes SIEMENS Elmiskop I a et HITACHI HU 11 E.

Remarque

En général, avant les coupes ultrafines, nous recueillons sur une lame des coupes dites semi-fines d'environ $0,25 \mu$ d'épaisseur qui, après coloration à l'azur B à pH 10, sont observées au Microscope optique ordinaire.

2) Microscopie électronique à balayage

Les Grégarines isolées sont fixées dans le mélange de Parducz ou dans la glutaraldéhyde 5 % tamponnée, puis lavées 5 à 8 fois, dans de l'eau bidistillée. Elles sont ensuite déposées sur les porte-objets, congelées à -70° , et lyophilisées. Après lyophilisation les échantillons sont métallisés avec un mélange d'or-palladium, (60% - 40 %) et observés au Microscope Cambridge STEREOSCAN MK II a.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DU CYCLE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp.

PARASITE INTESTINAL DU NEMERTE LINEUS VIRIDIS (FABR.) JOHNSTON

CHAPITRE II

ETUDE DU CYCLE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp., PARASITE INTESTINAL DU NEMERTE LINEUS VIRIDIS (FABR.) JOHNSTON.

Lecudina linei est une Grégarine non cloisonnée, hébergée dans les deux tiers postérieurs de l'intestin et des diverticules intestinaux de Lineus viridis.

A) OBSERVATIONS

1) Le trophozoïte

Les coupes histologiques ou l'examen in vivo d'un ver parasité montrent soit des Grégarines extra-tissulaires fixées à l'épithélium, soit des Grégarines libres dans la lumière intestinale ou les diverticules du tube digestif.

Dans un même hôte, coexistent des trophozoïtes de taille variée. Le plus jeune trophozoïte observé (fig. 1), plus ou moins piriforme et arqué, atteint environ 110μ de long sur $20 - 25 \mu$ de large. L'extrémité antérieure est plus arrondie que la postérieure qui est effilée ; à la surface de celle-ci, on distingue une légère striation (fig. 2) correspondant certainement à un plissement de la paroi. Ce jeune trophozoïte peut être fixé à l'épithélium intestinal par un prolongement du mucron comparable à un filament rhizoïde qui pénètre profondément dans la cellule-hôte (fig. 26)

Le trophozoïte plus âgé s'allonge mais est toujours légèrement arqué, l'extrémité postérieure restant plus effilée que l'antérieure (fig. 3, 6) ; en moyenne, pour une longueur de 350 à 400μ , la largeur atteint 45μ . A côté de cette forme qui est la plus fréquente, on peut observer des variantes plus ou moins accentuées. Certains individus peuvent être beaucoup plus allongés, étroits et arqués (fig. 5) et atteindre 450μ de long sur $30 - 35 \mu$ de large ; d'autres peuvent présenter un renflement dans leur région moyenne (fig. 4), l'extrémité postérieure étant alors très incurvée ; ce renflement pourrait être dû à des mouvements cytoplasmiques

mais nous n'avons jamais observé de mouvements péristaltiques comme il en existe chez d'autres Grégarines (Urospora longissima, Monocystis agilis, Monocystis lumbrici...).

Dans la Grégarine, on distingue une zone ectoplasmique claire, transparente et une zone endoplasmique granuleuse, riche en réserves (fig. 3, 6). La région antérieure arrondie est différenciée en un mucron en forme de ventouse avec une petite protubérance centrale (fig. 23), alors que la région postérieure se rétrécit et s'allonge en une sorte de queue. Ces deux régions sont de nature essentiellement ectoplasmique. Le noyau sphérique ou ovoïde d'environ 25 - 30 μ de diamètre, clair, se repère plus ou moins facilement selon l'opacité de l'endoplasme (fig. 6). On peut y observer un ou deux caryosomes sphériques plus denses, d'environ 8 - 9 μ de diamètre. Il est généralement situé au tiers antérieur de la Grégarine.

2) La syzygie

La syzygie d'abord latérale, devient frontale. Les deux sporadins accolés se mettent à tourner sur place, prenant une forme ovoïde (fig. 7) puis sphérique : c'est le début de l'enkystement (fig. 8). Ceci s'accompagne de mouvements de cytoplasme à l'intérieur de chaque conjoint, entraînant les noyaux qui restent bien visibles. Puis se forme la paroi kystique qui, d'abord mince, s'épaissit jusqu'à la formation des gamontes (fig. 9, 10, 11, 12). Les mouvements de rotation peuvent durer deux à trois heures, puis ils ralentissent, la cloison les séparant devenant nettement visible. Au bout de quatre à cinq heures, le gamétokyste est formé.

3) Le gamétokyste et les gamètes

Le gamétokyste est sphérique, d'environ 120 μ de diamètre (fig. 12).

La paroi kystique épaisse d'environ 5 μ n'est pas homogène : elle semble constituée de plusieurs couches peu différenciables les unes des autres au stade de jeune gamétokyste. Ces couches deviennent de plus en plus distinctes au fur et à mesure de l'évolution du gamétokyste en sporokyste ; il est alors possible de décrire 3 couches :

- la plus interne, très mince entourant les gamontes ;
- la médiane, très épaisse et très réfringente ;
- l'externe, transparente, moins épaisse que la précédente.

Les gamontes semblent de taille équivalente, mais l'un paraît toujours plus réfringent que l'autre ; il est plus clair et pourrait être le gamonte femelle, le plus dense pouvant être le gamonte mâle (fig. 12). A l'intérieur des gamontes s'effectuent les mitoses progamiques très nombreuses et autour des noyaux qui viennent perler à la surface, s'individualisent les gamètes. A l'intérieur du kyste, parmi de nombreuses particules animées de mouvements browniens, ont lieu le brassage des gamètes et la fécondation.

En écrasant alors le gamétokyste, on peut observer les gamètes. Il existe une anisogamie très nette. Le gamète mâle (fig. 13), légèrement conique, mesure environ 6μ sur $4,5\mu$; il paraît constitué de deux parties : une tête globuleuse, plus ou moins granuleuse et un cône homogène, compact, se terminant par un flagelle relativement court mais dont les mouvements sont très rapides ; à l'extrémité opposée au flagelle se trouve un petit mamelon clair et réfringent pouvant correspondre à un rostre. Le gamète femelle (fig. 14) sphérique mesure 4 à $4,5\mu$ de diamètre ; il renferme quelques granules très clairs et réfringents surtout situés à la périphérie. Les gamètes mâles et femelles s'accolent et fusionnent par l'extrémité opposée au flagelle, pour former des zygotes sphériques de 5μ à 6μ de diamètre (fig. 15 et 16).

4) Le sporokyste et les spores

Les différentes couches de la paroi kystique deviennent bien visibles : l'externe (5μ), la médiane (7μ) et l'interne (1μ) (fig. 17).

A l'intérieur du kyste, le zygote sphérique va prendre une forme ovale pour devenir le sporocyste (fig. 18) où l'on peut voir jusqu'à une douzaine de granules réfringents. Puis à l'un des pôles du jeune sporocyste s'individualise un goulot (fig. 19), alors que les sporozoïtes se forment, au nombre de huit. Le sporocyste mûr, ovoïde, mesure environ 8μ de long sur 4μ de large ; il présente à une extrémité un petit rétrécissement, le goulot (fig. 20) dont l'ouverture s'élargit légèrement ; par ce goulot en forme d'entonnoir aplati sortiront les sporozoïtes.

La sporogenèse dure relativement longtemps (8 à 15 jours) et il est très difficile d'obtenir des sporocystes à complète maturité, la plupart des kystes, dégénérant en cours d'évolution.

B) DIAGNOSE

Trophozoïte du type monocystidé, de forme plutôt allongée atteignant 300 à 400 μ de long sur 30 à 45 μ de large. Syzygie avec mouvements de rotation. Anisogamie très marquée. Kystes sphériques d'environ 120 μ de diamètre. Spores ovoïdes de 8 μ sur 4 μ présentant un goulot à l'un des pôles. Parasite intestinal de Lineus viridis (Fabr.) Johnston trouvé sur les côtes du Boulonnais (Wimereux).

C) DISCUSSION

(Fig B)
D'après tous ces caractères, cette Grégarine monocystidée à région antérieure différenciée en mucron faisant ventouse à son sommet, peut être rattachée à la famille des Lecudinidae dont SCHREVEL (1969) a fait une étude complète. Du point de vue de la forme des trophozoïtes, cette Grégarine (250 - 350 μ) est intermédiaire entre la forme trapue (100 à 150 μ) de Lecudina tuzetae et Lecudina pellucida et la forme vraiment allongée de Lecudina elongata et Lecudina heterocephala (500 μ et plus). Chez notre espèce nous retrouvons aussi l'anisogamie caractéristique de toute la famille et le nombre élevé des spores chez les Lecudina. En raison de la grande spécificité parasitaire des Grégarines, il semble qu'à chaque hôte correspond un parasite. Il convient donc de considérer la nôtre comme une espèce nouvelle et nous proposons de la nommer Lecudina linei n. sp.

Il faut cependant noter que cette Grégarine rappelle celle décrite par MONTGOMERY en 1898 et trouvée dans l'intestin postérieur du Némerte Lineus gesserensis (O. F. Müller). Or, GONTCHAROFF (1951) a montré qu'en réalité cette dénomination recouvre 4 espèces distinctes dont Lineus viridis (Fabr.) Johnston, hôte de notre espèce. Le parasite observé par MONTGOMERY peut donc être notre Grégarine comme il peut en être une autre parasitant l'un des 3 autres Némertes groupés alors dans le seul genre Lineus gesserensis (O. F. Müller).

Fig. B : Cycle de la Grégarine Lecudina linei n. sp.,
parasite intestinal du Nemerte Lineus viridis
(Fabr.) Johnston.

-
- 1 : Trophozoïte - 2 : fin de syzygie avec
mouvements de rotation des gamontes -
 - 3 : enkystement des gamontes -
 - 4 : gamétokyste : individualisation des
gamètes mâles et femelles - 5 : gamète
femelle - 6 : gamète mâle - 7 : fécondation -
 - 8 : sporokyste avec jeunes sporocystes -
 - 9 : sporocyste ou spore - 10 : sporozoïte -
 - 11 : jeune trophozoïte.

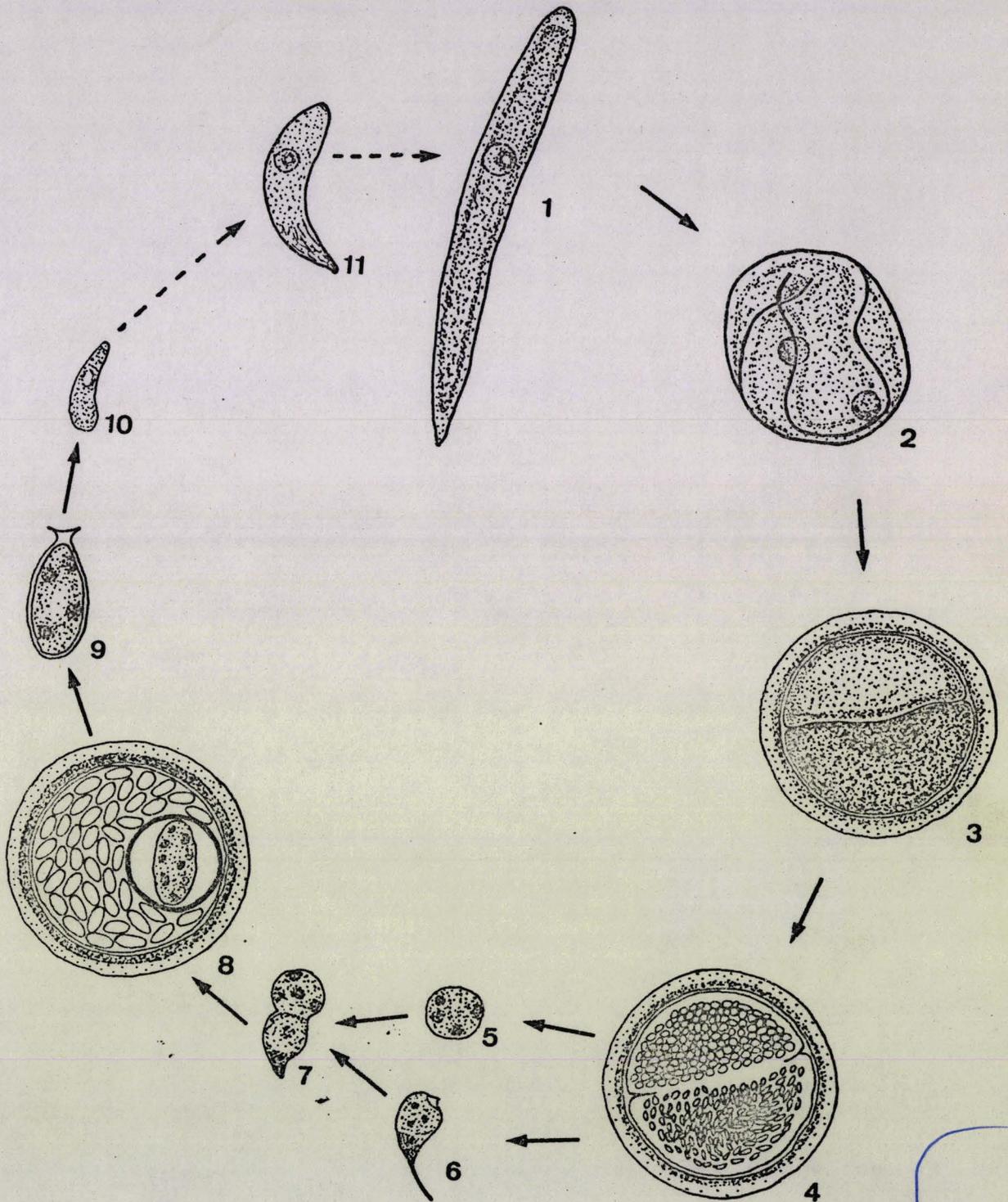


Fig B



TROISIEME PARTIE

ETUDE ULTRASTRUCTURALE DU TROPHOZOITE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp.

CHAPITRE III

ETUDE ULTRASTRUCTURALE DU TROPHOZOÏTE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp.

Un trophozoïte coupé transversalement à un niveau médian montre, de l'extérieur vers l'intérieur, 3 régions :

- la région corticale qui comprend essentiellement la paroi plissée délimitant ainsi l'épicyte, et une étroite bande cytoplasmique d'environ 0,5 à 1 μ d'épaisseur, l'ectoplasme.

- l'endoplasme se distinguant de l'ectoplasme par la présence de grains de réserves, surtout de paraglycogène.

- la région nucléaire.

Nous décrirons successivement l'ultrastructure d'un trophozoïte jeune en début de croissance et fixé à l'épithélium intestinal de l'hôte, et celle d'un trophozoïte adulte, libre dans la lumière du tube digestif.

A) STRUCTURE DU JEUNE TROPHOZOÏTE

Pendant une partie de son cycle, au début de la phase végétative, la Grégarine Lecudina linei est fixée aux cellules épithéliales intestinales de l'hôte.

1) Le mucron et le système de fixation du trophozoïte à la paroi intestinale

a) Chez le très jeune parasite

- Le mucron proprement dit :

En coupe, l'appareil de fixation consiste en un mucron, en forme de ventouse plus ou moins rétractée, qui s'accole à la cellule épithéliale hôte par une large zone de contact (fig. 26, 27, 28). Celle-ci, fortement opaque aux électrons, mesure environ 650 Å d'épaisseur et on ne peut y distinguer même à fort grossissement de structure précise. Cette zone

de contact constitue probablement un amalgame de la membrane propre de la cellule-hôte et des membranes formant la paroi de la Grégarine. A cet endroit les membranes subissent donc des modifications importantes entraînant la disparition des caractéristiques habituelles des "unit-membrane". L'intérieur du mucron (fig. 27, 28) paraît occupé par une zone claire en contact avec le cytoplasme de la région antérieure de la jeune Grégarine. Immédiatement sous la zone de contact avec l'hôte, on peut distinguer sur une épaisseur d'environ 500 à 600 Å, quelques fines fibrilles d'environ 50 Å - 60 Å de diamètre. De telles fibrilles se retrouvent abondamment d'ailleurs dans la cellule épithéliale - hôte.

Le mucron de Lecudina linei semble donc constitué de fines fibrilles plus ou moins entremêlées, entourant une zone centrale claire.

Observé au microscope électronique à balayage, ce mucron apparaît comme une sphère à paroi non différenciée en plis épicytaires qui caractérisent le reste du corps de la Grégarine (fig. 22 a). La base du mucron est marquée par un étranglement où viennent se terminer les plis épicytaires de la zone antérieure (fig. 22 a et 22 c). De même une petite déchirure nous a permis d'apercevoir sa structure plus ou moins alvéolaire. Nous avons également pu observer la région antérieure, arrachée à la base du mucron, d'un trophozoïte détaché de l'épithélium intestinal (fig. 22 b).

L'étranglement de la base du mucron est marqué par un bourrelet annulaire où aboutissent les plis épicytaires de la région antérieure de la Grégarine. En ce qui concerne la structure interne, de ce bourrelet partent vers le centre, une douzaine de lames environ qui convergent en une masse centrale. Ces lames paraissent anastomosées entre elles donnant un aspect alvéolaire et spongieux à cette zone. Cette structure rappelle celle décrite par ORMIERES (1972) chez Lankesteria parascidia, et celle que nous avons aussi observée au microscope électronique à balayage chez Lecudina pellucida (PRENSIER et VINCKIER, 1970 et observations personnelles).

- Région de l'épithélium intestinal hôte, surmontant le mucron :

Le mucron est coiffé par une région de la cellule épithéliale-hôte à cytoplasme modifié granulo-fibrillaire. De la zone de contact part un feutrage important de fines fibrilles qui peuvent traverser la presque totalité de la cellule-hôte (fig. 27, 28). Parmi ces fibrilles de 50-60 Å de diamètre, on observe également des microtubules de 150 Å de diamètre.

De part et d'autre de ce feutrage, et au-dessus de la zone antérieure de la jeune Grégarine, se trouve un amas de vésicules de taille variée, assimilables à des vacuoles résiduelles. Le parasitisme entraînerait donc des transformations cytoplasmiques dans la cellule-hôte. Cependant, si la Grégarine repousse fortement la membrane cellulaire-hôte, il n'y a pas véritablement pénétration du mucron dans la cellule épithéliale.

b) Chez le trophozoïte plus âgé

Nous n'avons observé ce stade que sur coupes semi-fines ou in vivo.

In vivo (fig. 21 a), le mucron a la forme d'un dôme pointu, et sous la zone de contact, au niveau de la zone antérieure, on peut distinguer une fine striation uniquement visible à ce niveau.

Sur coupes (fig. 21 b), immédiatement sous la zone de contact, on observe une zone claire paraissant vacuolaire, et sous celle-ci, la zone antérieure d'aspect lamellaire et dépourvue de grain de réserve ; sous cette dernière se trouve une zone très riche en grains de réserves, surtout de paraglycogène. Dans la cellule-hôte, surmontant le mucron, apparaît un cône très dense plus ou moins ramifié rappelant celui observé par ORMIERES chez Lankesteria parascidia ; autour de ce cône, on distingue une zone plus claire à cytoplasme granulo-fibrillaire.

2) Le "corps" du jeune trophozoïte

Cette structure est caractérisée par l'absence d'une part de paraglycogène et d'autre part de différenciation entre ectoplasme et endoplasme (fig. 27, 28, 29).

En ce qui concerne la zone corticale, le jeune individu est limité par une paroi à structure trimembranaire, structure générale chez les Sporozoaires (VIVIER et coll., 1970). Cette paroi, excepté dans la zone immédiatement sous-jacente au mucron, forme des plis caractérisant l'épicyte classique des Grégarines. Il faut noter qu'à ce très jeune stade, la membrane basale, n'existe pas encore.

D'un point de vue cytologique, il est possible de diviser le corps du jeune parasite en 3 régions.

a) Région antérieure

Sous le mucron, le cytoplasme est riche en granules denses et en microtubules (fig. 27, 28, 29, 30). Ces derniers, d'environ 130 - 150 Å de diamètre, sont disposés suivant l'axe longitudinal du trophozoïte et répartis isolément dans un cytoplasme très riche en ribosomes (fig. 30). Les granules ($0,07 \mu$ à $0,15 \mu$ de diamètre), de densité variable, sont limités par une membrane unitaire et ont un aspect homogène finement granuleux. Il est curieux d'observer des granules d'aspect identique mais de diamètre généralement plus grand ($0,3 \mu$) dans les cellules épithéliales environnantes (fig. 29 - 30).

b) Région moyenne

Faisant suite à la zone antérieure, son cytoplasme est riche en lames ergastoplasmiques et en vacuoles de $0,25 - 0,35 \mu$ de diamètre, à contenu clair (fig. 27, 28, 29). On y trouve également des granules denses mais en ^{moins} grande quantité.

c) Région postérieure

Cette zone est caractérisée par un cytoplasme très riche en ergastoplasme et en ribosomes. On y observe quelques granules denses, des dictyosomes, mais peu de vacuoles (fig. 29). Les dictyosomes (fig. 32) montrent des relations avec l'ergastoplasme : au pôle basal se trouvent des petites vésicules résultant du bourgeonnement de cisternes ergastoplasmiques et ces vésicules peuvent entrer en relation avec les saccules golgiens les plus proches. Les saccules (dont les 2 plus basaux sont dilatés) sont au nombre de 4 à 8 et leur concavité augmente vers le pôle apical. L'ergastoplasme (fig. 33) est parfois disposé en lames concentriques encerclant une structure à allure de vacuole et à contenu hétérogène granuleux.

d) Région moyenne à un stade plus âgé

A ce stade (fig. 31), la lame basale est différenciée ; des vacuoles apparaissent à la périphérie, prenant une disposition sous-corticale et différenciant ainsi l'endoplasme de l'ectoplasme où des microtubules et des mitochondries sont visibles. Dans l'endoplasme, on note toujours

l'absence de paraglycogène mais il existe des globules lipidiques et de longues lames ergastoplasmiques situées près de formations granulaires hétérogènes énigmatiques qui paraissent contenues dans des vacuoles.

3) Discussion

Nous savons depuis BRASIL (1909) que le mucron des Lecudinidae fonctionne comme une ventouse, ce qui suggère l'existence d'un système contractile. Celui-ci pourrait donc être représenté par les fibrilles entrecroisées que nous avons rencontrées au niveau du mucron. Ces fibrilles sont comparables à celles décrites dans les myonèmes de Péririches (FAURE-FREMIET et coll., 1962) et entrent dans la catégorie des microfibrilles constitutives de certains systèmes contractiles définies par De PUYTORAC (1965). De telles fibrilles ont déjà été observées au niveau des mucrons de Lecudina pellucida (SCHREVEL et VIVIER, 1966), Lecudina tuzetae (SCHREVEL, Thèse 1969), Lankesteria barretti et Lankesteria culicis (VAVRA, 1969). Cependant dans le cas présent, nous avons également observé des fibrilles semblables dans la cellule-hôte dans le prolongement du mucron ; elles touchent le mucron mais l'opacité de cette zone de contact ne permet pas de déceler s'il y a véritablement jonction entre les fibrilles et les membranes modifiées de cette zone, ou même si les fibrilles traversent cette zone ; ceci paraît cependant peu vraisemblable. Cette structure peut s'apparenter à celle des desmosomes avec leurs épaississements et tonofilaments de part et d'autre. Les fibrilles dans la cellule épithéliale-hôte sont probablement dues au parasitisme, réaction induite par le contact du mucron avec la cellule-hôte. Un système fibrillaire très important pouvant traverser toute la cellule renforcerait donc considérablement l'adhérence du mucron à la cellule épithéliale. Parmi ces fibrilles, on note également la présence de quelques microtubules de 130 - 150 Å de diamètre, identiques à ceux observés dans la région antérieure de la Grégarine. Divers auteurs ont également trouvé des microtubules dans des cellules intestinales parasitées par des Gregarinidae (LOUBES et coll., 1971, DEVAUCHELLE, 1968 qui explique la présence de ces microtubules par le déplissement des villosités dans lesquelles ils se trouvaient auparavant) et des Lankesteria (VAVRA, 1969). HILDEBRAND (Thèse de 3ème cycle 1972) a observé dans la cellule-hôte intestinale parasitée par la Grégarine Didymophyes gigantea, des microtubules mais aussi une couche fibrillaire extrêmement dense et comme cet auteur, nous pensons qu'il faut plutôt chercher l'origine de ces formations dans une réaction de la cellule attaquée. La croissance du trophozoïte terminée, les systèmes fibrillaires de la cellule-hôte et du mucron cessent toute fonction et la Grégarine se détache de l'épithélium intestinal pour se retrouver libre dans la lumière de l'intestin.

Les vésicules résiduelles situées de part et d'autre du mucron et du système fibrillaire sont comparables à celles observées dans le cône d'épithélium intestinal surmontant la région antérieure de Lecudina pellucida et n'affectent que la région du tissu de l'hôte attaquée par le mucron. En effet nos images montrent la structure anormale de cette zone : les vésicules résiduelles semblent matérialiser l'action destructrice du mucron sur la cellule-hôte. Le fait qu'il n'y ait pas réellement pénétration du mucron dans la cellule épithéliale suggère une action enzymatique de la part de la jeune Grégarine.

Il est curieux de constater la présence dans les cellules épithéliales, de granules d'aspect identique à ceux du trophozoïte. Ces substances, puisées dans la cellule-hôte après action d'enzymes émises par le jeune individu, et dont le mode de passage au travers de la paroi du mucron est inconnu, pourraient donc être à l'origine des granules denses observés dans le parasite. Cela pourrait également expliquer leur plus grand nombre dans la zone antérieure que dans les autres zones où, à des différences morphologiques se superposeraient également des différences physiologiques. Il faut aussi noter l'abondance de vacuoles à contenu clair susceptibles, comme le pensent SCHREVEL et VIVIER (1966) chez Sycia inopinata de véhiculer de l'eau et des substances dissoutes. L'absence de paraglycogène et la rareté des dictyosomes et des mitochondries, contrastent avec la grande abondance de ribosomes et d'ergastoplasme. On peut donc penser, comme le suggère DEVAUCHELLE à propos des Grégarines du Tenebrio molitor (1968) que les granules denses, dont la nature est inconnue serviraient de matières premières à l'élaboration du paraglycogène qui reste la forme essentielle de réserve chez les Grégarines et même les Sporozoaires.

B) STRUCTURE DU TROPHOZOÏTE ADULTE

1) L'épicyte

L'épicyte définit l'architecture de la surface du trophozoïte et il est ici constitué par des plis. On distingue ainsi dans l'ectoplasme 2 régions : le cytoplasme épicytaire, compris dans les plis, et le cytoplasme sous-épicytaire situé entre le précédent et l'endoplasme.

a) Observation au microscope électronique à balayage

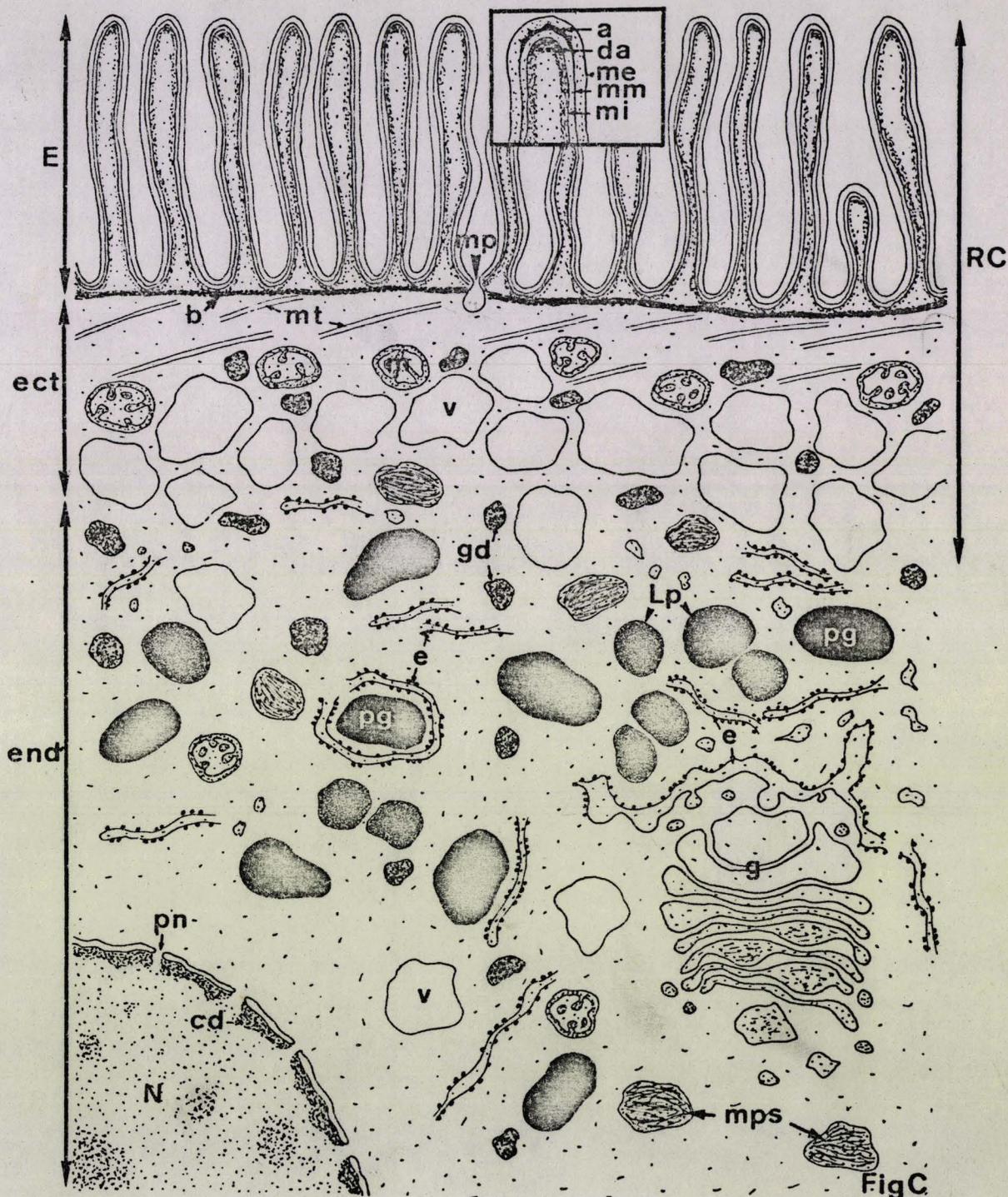
Chez Lecudina linei, la surface du trophozoïte montre de très nombreux plis longitudinaux courant d'un pôle à l'autre de la Grégarine, mucron non compris (fig. A). Cependant certains plis sont plus courts et n'occupent que la partie médiane, plus renflée du parasite, et où ils paraissent plus nombreux qu'aux extrémités. Comme nous l'avons observé en microscopie photonique, la Grégarine a une forme légèrement arquée, surtout dans la moitié postérieure dont l'extrémité est plus effilée que l'antérieure. Les plis suivent un axe longitudinal relativement droit sur environ les 3/4 antérieurs de l'individu et prennent une direction spiralée dans la région postérieure (fig. A et 25 a, b). En effet cette extrémité semble avoir subi une torsion de presque 180°. Les plis eux-mêmes ne sont pas droits mais présentent des "ondulations" plus ou moins régulières, suggérant l'existence de mouvements ondulatoires de l'épicyte.

Dans la région antérieure, l'épicyte se différencie en plis à partir de l'étranglement situé juste sous le mucron (fig. 22 c). Au départ, les plis paraissent légèrement plus amples, comme dilatés, donnant l'impression d'une petite collerette d'environ 2 à 3 μ de large, autour de la Grégarine ; cela rappelle, en moins net, la collerette observée dans la région médiane du corps chez Lecudina tuzetae (observations personnelles) et décelable en microscopie photonique (SCHREVEL, thèse 1969). Dans cette zone très antérieure, les plis ne partent pas tous du même niveau et ^{ne} présentent pratiquement pas "d'ondulations" sur environ 7 à 8 μ . Puis sur presque tout le reste du corps (fig. 22 d à 25 d) les plis paraissent animés de mouvements ondulatoires, sauf à l'extrémité postérieure où seuls certains d'entre eux sont "ondulés" (fig. 25 a, b, c, d). Ces mouvements affectent tous les plis : ainsi 2 plis situés côte à côte sont étroitement accolés en certains endroits et séparés en d'autres, ceci irrégulièrement d'une extrémité à l'autre de la Grégarine ; il en est de même pour tous les plis : on ne peut donc parler ici, comme VAVRA et SMALL (1969) de "vagues ondulantes" se déplaçant d'avant en arrière. A l'extrémité postérieure, la Grégarine s'amincissant, les plis beaucoup plus serrés et droits, sont disposés en paquets de 4 à 5 séparés par un ou deux plis "ondulés" (fig. 25 b, c, d) ; certains de ces plis (fig. 25 d) aboutissent directement au pôle postérieur du trophozoïte, alors que d'autres convergent entre eux en V peu avant ce pôle où il ne semble pas y avoir de papille différenciée.

Fig. C :

Organisation ultrastructurale de Lecudina linei.

a : arceaux apicaux - b : lame basale -
cd : couche dense - da : densifications
apicales - E : épicyte constitué de plis
épicytaires longitudinaux - e : ergasto-
plasme - ect : ectoplasme - end : endoplasme -
g : Golgi - gd : granule dense -
Lp : globule lipidique - m : mitochondrie -
me : membrane externe - mm : membrane moyenne -
mi : membrane interne (de la paroi de la
Grégarine) - mps : inclusion de type muco-
polysaccharidique - mt : microtubule -
N : noyau - pg : paraglycogène -
pn : pore nucléaire - RC : région corticale -
v : vacuole.



305
1111E

Parfois, entre les plis, dans le fond des cuvettes ainsi formées on peut apercevoir des petits ponts ou travées (fig. 22 d, 24 d, f) comme il en a déjà été observés, chez d'autres Grégarines (VAVRA et SMALL, 1969 ; PRENSIER et VINCKIER, 1970 ; observations personnelles, SCHREVEL, 1972).

b) Observation au microscope électronique à transmission

- La paroi

En coupe, les plis, d'environ 0,7 à 0,9 μ de haut, sont limités par une paroi de 500 μ d'épaisseur. Cette paroi est formée de 3 membranes tripartites (ou "unit-membrane" de ROBERTSON) selon le schéma classique de 2 feuillets denses entourant une zone centrale claire. Ainsi nous distinguons (fig. 39, 40) :

- une membrane externe d'environ 80 Å d'épaisseur, dont le feuillet extérieur est plus épais et dense.
- une membrane moyenne de 75 Å dont les feuillets denses sont moins nets et qui est séparée de la précédente par un espace clair de 160 à 220 Å.
- une membrane interne, de 80 Å d'épaisseur, à feuillet interne plus épais et plus dense et située à environ 80 Å de la membrane moyenne.

Cette structure particulière de la paroi est maintenant considérée comme générale chez de nombreux Sporozoaires (VIVIER et coll. 1965, 1970 ; VIVIER, 1968).

A l'apex des plis, nous retrouvons comme chez Lecudina pellucida, Lecudina tuzetae, diverses Mono et Tricystidées, des "arceaux apicaux" sur la membrane moyenne entre celle-ci et la membrane externe, et des "densifications apicales" souvent réparties en 2 couches et placées sous la membrane interne (fig. 39, 40) ; elles sont toujours plus développées que les arceaux apicaux qui sont relativement peu importants. Sur des coupes obliques des sommets des plis (fig. 39) on distingue des structures rectilignes continues dans le sens de l'allongement des plis ; ces structures correspondent certainement aux densifications apicales de la couche sous-jacente interne.

Le feuillet de la membrane externe, en contact avec l'extérieur peut être tapissé par un léger feutrage de fins filaments osmiophiles évoquant les images de glycocalyx. Ceci est particulièrement net au niveau des plis de la région antérieure de la Grégarine (fig. 40, 41).

On pourrait rapprocher cette substance du mucus de l'intestin de l'hôte mais la fig. 41 montre qu'elle est localisée uniquement sur le pourtour des plis, c'est-à-dire non seulement à leur sommet mais également entre eux. Ce revêtement pourrait être assimilable au "cell-coat" étudié par SCHREVEL (1972).

Certaines micrographies (fig. 35, 38, 43) montrent entre les plis, l'existence de quelques sphérules semblables à celles observées chez Lecudina tuzetae (SCHREVEL, thèse 1969), mais nos clichés ne nous permettent pas de dire si elles sont dues ou non à des évaginations de la membrane externe de la paroi.

Quoique toujours organisés sur le même type, les plis, en coupe transversale montrent des fluctuations tant de longueur et largeur, que de forme. Parfois, certains plis sont nettement plus courts que ceux qui les entourent (fig. 35, 40, 41) mais il doit s'agir là des extrémités de plis plus courts. Sur presque tout le corps de la Grégarine, les plis semblent avoir la même forme, c'est-à-dire relativement longs et étroits, excepté dans la région antérieure (fig. 40, 41) où ils sont légèrement plus courts et plus dilatés ; ceux-ci pourraient correspondre aux plis plus amples, observés sous le mucron, au microscope électronique à balayage (fig. 22 c).

- Le cytoplasme épicytaire

Le cytoplasme épicytaire a un aspect clair et est dépourvu de toute inclusion : on n'y observe jamais ni mitochondrie, ni dictyosome, ni ergastoplasme, ni vacuole, ni granule dense (fig. 34, 35, 38, 39, 43, 44). Cependant certains plis font exception : ainsi dans la région antérieure, le cytoplasme des plis "plus dilatés" décrits précédemment peut contenir des granules denses semblables à ceux observés dans l'ectoplasme (fig. 40, 41).

- Les micropores

Au fond des sillons, entre les plis, on peut observer en coupe transversale des petits orifices clairs d'environ 250-300 Å de diamètre entourés de plusieurs cercles sombres correspondant aux membranes de la paroi (fig. 46). Ces "trous" dénommés micropores (VIVIER et SCHREVEL, 1964) ont été signalés chez toutes les Grégarines étudiées et d'une façon très générale chez tous les groupes de Sporozoaires (VIVIER et coll., 1970). Ils correspondent souvent au goulot de petites vésicules résultant de

l'invagination de la membrane externe de la paroi.

2) L'ectoplasme

a) La "basale"

L'ectoplasme est limité extérieurement par une couche dense appelée "basale" d'environ 200 Å d'épaisseur et tangente à la base des plis (fig. 35, 38, 39, 40, 41). Granuleuse et finement fibrillaire, elle apparaît plus opaque entre les plis qu'au niveau de ceux-ci où elle n'est pas toujours visible (fig. 40, 41). Nous l'avons observée, avec plus ou moins de netteté sur toutes les coupes examinées.

b) Les microtubules

Dans l'ectoplasme, immédiatement sous la "basale", il existe une mince bande de cytoplasme d'environ 800 - 1000 Å d'épaisseur, riche en ribosomes, sans inclusion, mais où l'on rencontre de nombreux microtubules (fig. 34, 35, 38, 39). Ces microtubules, d'environ 170 Å de diamètre, sont de direction toujours perpendiculaire à l'allongement et à l'axe des plis (fig. 46), et s'ils paraissent rectilignes et courts sur les coupes, ils ceignent en réalité la Grégarine. Ils sont toujours isolés et indépendants les uns des autres : on ne peut reconnaître dans leur groupement une organisation bien définie et si au départ, à la base des plis ils donnent l'apparence d'une strate plus ou moins régulière, divers organites tels que mitochondries et parfois granules denses viennent s'intercaler entre eux (fig. 46). Relativement nombreux dans les régions moyenne et postérieure de la Grégarine, ils le sont beaucoup moins dans la région antérieure (fig. 40, 41).

c) Organites cytoplasmiques

- Les mitochondries sont identiques à celles se trouvant dans l'endoplasme (fig. 34, 35, 38, 46). ; dans l'ensemble, elles sont assez abondantes.

- On peut parfois observer dans l'ectoplasme quelques granulations denses "Gd" (fig. 35, 45) comme dans l'endoplasme (fig. 34, 35, 38, 45, 46).

- Dans les régions moyenne et postérieure de la Grégarine, la limite ectoplasme - endoplasme est marquée par l'accumulation de nombreuses vacuoles "sous-corticales" (fig. 34, 36, 38, 43, 44, 45). Ces vacuoles, de taille variable et de contour assez irrégulier ont une forme plus ou moins sphérique de 0,2 - 0,5 μ de diamètre. Limitées par une membrane classique, elles ont toujours un contenu homogène très clair. Leur agencement n'est pas régulier mais leur originalité réside en leur disposition périphérique en une strate, à une ou plusieurs vacuoles les unes au-dessus des autres, ceinturant l'endoplasme de la Grégarine où de telles vacuoles sont plus rares.

3) L'endoplasme : les inclusions cytoplasmiques

L'endoplasme est caractérisé par la présence de grains de réserves, par glycogène surtout. Outre ces réserves, le cytoplasme est très riche en ribosomes, et en réticulum granulaire composé de nombreuses vésicules et de courts canalicules souvent groupés en amas denses (fig. 34, 38). On y trouve également des dictyosomes et quelques mitochondries.

a) Les mitochondries

Plus ou moins sphériques, elles sont de petite taille (0,2 μ environ) et du type couramment rencontré chez les Sporozoaires. Si la membrane interne peut parfois former quelques crêtes ou tubules comme chez les mitochondries classiques, elle forme surtout des vésicules ampoulées (fig. 34, 38) présentant généralement une opacité légèrement plus forte que celle de la matrice où elles baignent. Ces mitochondries sont relativement peu abondantes et plus ou moins isolées dans l'endoplasme.

b) L'appareil de Golgi

Il est constitué de dictyosomes épars dans l'endoplasme (fig 38). Leur structure est classique : empilement de saccules entourés de vésicules d'aspect varié (fig 36) ; ils montrent une polarité nette et sont en relation avec l'ergastoplasme. Au pôle basal, les cisternes ergastoplasmiques bourgeonnent des petites vésicules qui vont se jeter dans les saccules golgiens tout proches (fig. 36, 47); ceci témoigne des échanges entre saccules golgiens et cisternes ergastoplasmiques. Les saccules sont au nombre de 7 - 8, leurs extrémités formant peu de vésicules ; généralement

les 2 premiers saccules basaux sont très dilatés, les autres, vers le pôle apical étant beaucoup plus aplatis et légèrement concaves (fig. 36).

c) Les inclusions de type mucopolysaccharidique

On peut observer dans l'endoplasme, des vésicules ovoïdes de taille variable (0,05 à 0,4 μ de diamètre) réparties plus ou moins isolément et remplies d'un réseau dense de fins filaments présentant des points plus denses (fig. 34, 38). Après réaction positive à la technique de THIERRY (1967, 24^h de T C H), on peut penser à l'existence de mucopolysaccharides. Des vésicules semblables ont d'ailleurs été observées chez Lecudina tuzetae (SCHREVEL, 1969). Leur formation semble liée à l'activité des dictyosomes : certains saccules apicaux légèrement dilatés en leur centre contiennent une substance analogue à celle des vésicules de type mucopolysaccharidique. Il y aurait donc des transferts possibles entre ces vésicules, les dictyosomes et l'ergastoplasme. La quantité de ces inclusions varie d'une coupe à l'autre, mais elle est particulièrement importante chez les Grégarines parasitées par la Microsporidie Nosema vivieri où ils forment, dans le cytoplasme, de véritables plages (fig. 108-109).

d) Le paraglycogène

Il constitue la matière de réserve essentielle des Grégarines. Les grains de forme très variable (ovoïde, reniforme, lobé) peuvent atteindre à 2 μ de long sur 0,5 à 1 μ de large et, après double fixation et double coloration apparaissent noirs avec une zone périphérique plus sombre et une zone centrale plus claire (fig. 34, 47). Les grains sont toujours situés dans des zones riches en ribosomes et certains peuvent être partiellement ou même totalement encerclés par une lame ergastoplasmique, ce qui traduit probablement des rapports métaboliques (fig. 47).

e) Les inclusions lipidiques

Des globules denses et homogènes de 0,2 à 0,5 μ de diamètre sont répartis isolément ou par groupe de 3 ou 4 dans le cytoplasme (fig. 38). Ces globules, limités par une membrane unitaire, colorables au Noir Sudan B sur coupes semi-fines et retrouvés chez d'autres Grégarines parasites d'Annélides Polychètes peuvent être considérés comme de nature lipidique.

f) Les granules denses

A côté de toutes ces inclusions déjà décrites, on peut trouver des petites masses ($0,2 \mu$ de diamètre) opaques aux électrons, de densité variable et limitées par une membrane unitaire (fig. 34, 35, 45, 47). Leur contenu, de nature inconnue est finement granuleux ; mais certains peuvent être très denses et leur aspect granulaire n'est plus visible. Ces granules "Gd" situés préférentiellement dans la zone antérieure de la Grégarine, sont les seuls grains observés dans les très jeunes stades.

g) Organites à structure myélinique

Il s'agit de formations particulières grossièrement sphériques (fig. 34) dont le diamètre varie entre 2 et $4,5 \mu$. Elles sont constituées par quelques membranes concentriques qui entourent des portions de cytoplasme, riches en ribosomes. Certaines très importantes ($4,5 \mu$ de diamètre) sont limitées par de nombreuses membranes plus ou moins circulaires alors que d'autres, plus petites (2μ de diamètre) ne le sont que par quelques-unes seulement. La nature et la signification de ces formations sont énigmatiques, mais il pourrait s'agir de stades végétatifs de la Microsporidie Nosema vivieri n. sp. n'ayant pu poursuivre leur développement et qui dégénèrent, peut-être à cause de réactions défensives de l'hôte.

h) Fibres tubulaires

Nous avons parfois observé, à la périphérie de l'endoplasme sous les vacuoles sous-corticales, des fibres tubulaires d'environ $300-350 \text{ \AA}$ de diamètre, disposées suivant l'axe longitudinal de la Grégarine et groupées en amas de 5 à 10 unités (fig. 45). Ces fibres tubulaires ne semblent pas être en relation les unes avec les autres et rappellent, par leur taille, les fibrilles des myonèmes de Selenidium (VIVIER et SCHREVEL, 1964), mais elles ne sont pas incluses dans des systèmes hexagonaux et elles ne sont pas corticales. Il faut signaler que ces fibres n'ont pas été observées sur toutes les coupes.

4) La zone antérieure de la Grégarine

Située immédiatement sous le mucron, cette zone limitée par des plis légèrement "dilatés", à cytoplasme épicytaire pouvant contenir des granules denses, est caractérisée par l'absence de différenciation entre ectoplasme et endoplasme (fig. 41). Le cytoplasme est très riche en ribosomes et l'appareil de Golgi y est très développé. En effet, les dictyosomes d'aspect un peu particulier (fig. 41 - 42), sont constitués par un empilement de 2, 3 ou 4 saccules très aplatis et concaves mais dilatés en ampoules à leurs extrémités. Les ampoules (et parfois le saccule entier alors moins aplati) contiennent une substance granuleuse assez dense mais relativement hétérogène. Ces ampoules donnent naissance à des vésicules limitées par une membrane unitaire qui évolueront vraisemblablement en granules denses d'environ $0,15 \mu$ de diamètre. Vers l'intérieur de la Grégarine, la densité de ces dictyosomes diminue, alors que les vacuoles ($0,4 \mu$ de diamètre) à contenu clair deviennent plus nombreuses. Tout ceci indique donc une grande activité métabolique de cette zone antérieure, activité qui aboutit surtout à la formation de granules denses de nature inconnue (mais probablement protéique) qui vont se répartir dans tout le trophozoïte.

5) Le noyau

Sphérique d'environ 30μ de diamètre, il possède 1 ou 2 nucléoles de $8 - 9 \mu$ de diamètre.

a) L'enveloppe nucléaire

Sa structure est classique : d'environ 350 \AA d'épaisseur, elle est formée de 2 membranes unitaires de $75 - 80 \text{ \AA}$ espacées de 200 \AA environ et percée de nombreux pores (fig. 52 - 53). Ces pores paraissent dépourvus de diaphragme et on ne retrouve pas, en coupe tangentielle (fig. 51) la structure décrite par VIVIER (1967). La membrane interne de l'enveloppe est tapissée du côté nucléaire par une couche dense granuleuse de $400 - 500 \text{ \AA}$ d'épaisseur ; cette couche n'est pas régulière mais tassée en petits amas (fig. 52 - 53).

b) Le nucléoplasme

Assez homogène, relativement dense mais d'apparence très granuleux et légèrement filamenteux, il présente des agglutinations plus ou moins compactes où il n'est pas possible de définir des structures.

En coupe semi-fine (fig. 48, 49, 50), le nucléoplasme apparaît uniforme alors que le nucléole présente une zone centrale compacte tandis que la périphérie se "vacuolise" en zones plus claires.

6) Discussion

Cette étude montre que dans l'ensemble, la Grégarine Lecudina linei n. sp. diffère peu par sa structure, des autres Lecudinidae déjà étudiées (VIVIER, 1968 ; SCHREVEL, 1969 ; SCHREVEL et VIVIER, 1966).

a) La zone corticale

- La paroi

La structure particulière de la paroi des Grégarines, signalée pour la première fois par VIVIER et SCHREVEL (1964) à propos des Selenidiidae et retrouvée depuis chez de nombreuses autres espèces Monocystidées et Polycystidées, Archigrégarines et Eugrégarines ne peut être mise en doute et est considérée comme un caractère de base des stades végétatifs de Sporozoaires (VIVIER et coll., 1964, 1965, 1970, VIVIER, 1969). Cette enveloppe est constituée de 3 membranes unitaires : la membrane externe toujours visible et le complexe membranaire interne constitué de 2 membranes parfois si intimement accolées l'une à l'autre qu'il est très difficile de les distinguer comme l'indiquent VIVIER et coll. (1970). Toutefois chez notre espèce, celles-ci sont nettement séparées. Cette structure trimembranaire a été également observée chez de nombreuses Coccidies et si elle est différente chez certaines Eimeria et chez certains groupes (Hémosporidies, Piroplasmes) on peut penser qu'il s'agit là de variations évolutives en rapport avec le mode de vie.

- L'épicyte

Les plis épicytaires sont connus chez la plupart des Grégarines, excepté chez les Seleniidiidae qui possèdent des bombements (VIVIER et SCHREVEL, 1964, 1966, SCHREVEL, 1969, 1971) et certaines Monocystidées d'Oligochètes où il s'agit plutôt de digitations plus ou moins irrégulières (WARNER, 1968, VINCKIER, 1969). Toutes ces variations de forme et de disposition des plis, d'ordre spécifique et même évolutif montrent la grande variété des organisations possibles de la zone corticale chez les Grégarines.

Chez Lecudina linei la structure des plis épicytaires est identique à celle décrite chez d'autres Lecudinidae (VIVIER, 1968 ; SCHREVEL, 1969). La seule différence se situe au niveau de la zone antérieure où il est possible d'observer des granules denses dans le cytoplasme épicytaire comme c'est le cas chez Echinomera hispida (DEVAUCHELLE, 1968), Stylocephalus (DESSPORTES, 1969) ou certaines Monocystidées (VINCKIER et VIVIER, 1968 ; VINCKIER, 1969) (où en plus on peut aussi trouver des mitochondries).

En ce qui concerne la forme du trophozoïte, le microscope électronique à balayage a permis de déceler la torsion affectant la partie postérieure, comme chez Nematocystis elmassiani (VAVRA et SMALL, 1969) où la torsade est cependant répartie sur tout l'individu. De même à l'extrémité postérieure, il n'y a pas de papille différenciée au point de convergence des plis comme il en existe une chez cette même espèce.

VIVIER (1968), lors de son étude ultrastructurale de la Grégarine Lecudina pellucida attribue aux plis la possibilité de mouvements natatoires responsables du déplacement par glissement du parasite. Ces mouvements seraient provoqués soit par les arceaux apicaux, soit par les densifications apicales situées au sommet des plis, ou même par les deux, ces formations pouvant être des faisceaux de protéines contractiles. Les travaux d'HILDEBRAND (Thèse de 3ème cycle, 1972), semblent confirmer cette hypothèse. En effet, selon des résultats récents obtenus chez cette même espèce (observations personnelles) et chez d'autres (VAVRA et SMALL, 1969), au microscope électronique à balayage, nous pouvons admettre cette hypothèse pour les Grégarines qui possèdent des plis épicytaires ondulatoires leur permettant de se déplacer par glissement. VAVRA et SMALL (1969) ont démontré que ces ondulations des plis ne sont pas des artéfacts de fixation et que les Grégarines possédant des plis non ondulatoires n'exécutent aucun mouvement de translation, ceci ayant été également observé par HILDEBRAND (1972).

chez Didymophyes gigantea, où seul le deutomérite, exécutant des mouvements de glissement montre des plis ondulatoires. Cependant nos observations chez Lecudina linei montrent qu'une Grégarine ne se déplaçant pas (puisque fixée à l'épithélium intestinal) peut posséder des plis ondulatoires. Il faut alors attribuer à ces ondulations un autre rôle que celui de translation et on peut penser qu'il s'agit là d'un phénomène permettant de créer à la surface du parasite un courant qui renouvelle le liquide intestinal en contact direct avec la paroi du trophozoïte. De plus, les plis accroissent considérablement la surface de la Grégarine, facilitant ainsi les échanges entre le parasite et le contenu intestinal. Cela laisse également supposer qu'outre la nutrition à partir des cellules épithéliales par l'intermédiaire du mucron, il y aurait nutrition par la surface du corps, soit par osmotrophie comme le suggèrent GRASSE et THEODORIDES (1959), PRENSIER (1971) soit un phénomène de phagocytose ou de pinocytose (VIVIER et SCHREVEL, 1964 ; VIVIER, 1968 ; SCHREVEL, 1969).

- L'ectoplasme et ses inclusions

. La lame basale

Signalée pour la première fois par GRASSE et THEODORIDES (1959) chez diverses Grégarines, la lame basale a été retrouvée chez de nombreuses autres espèces. Cependant elle ne peut être considérée comme générale puisqu'elle manque chez certaines Grégarines : Echinomera hispida (DEVAUCHELLE, 1968), diverses Monocystidées parasites d'Oligochètes (VINCKIER et VIVIER, 1968 ; VINCKIER, 1969 ; WARNER, 1968) ; lorsqu'elle existe, son développement est parfois difficile à préciser (VIVIER, 1968 ; SCHREVEL, 1969). Cette lame serait de nature fibrillaire et constituée d'un réseau de fibrilles disposées dans le sens transversal chez Lecudina tuzetae (SCHREVEL, 1969), dans le sens longitudinal chez Didymophyes gigantea (HILDEBRAND, 1972). Sa signification est inconnue mais selon HILDEBRAND (1972), elle pourrait représenter avec les arceaux apicaux et les myonèmes ectoplasmiques un 3ème système intervenant dans les mouvements chez les Grégarines.

. Les microtubules sous-pelliculaires

Le rôle de ces microtubules observés dans l'ectoplasme de nombreuses Grégarines a souvent été discuté. Chez les Eugrégarines, ces formations paraissent isolées et indépendantes les unes des autres et l'hypothèse généralement avancée est qu'ils constitueraient un renforcement de la paroi. HILDEBRAND (1972) après des expériences d'extraction à la glycérine pense qu'ils n'ont aucun rôle dans la contraction dont il faudrait plutôt rendre responsable, chez Didymophyes gigantea, les myonèmes constitués de fibrilles. Chez Lecudina linei, nous avons signalé que ces éléments tubulaires sont relativement abondants à la périphérie de la Grégarine, alors que sur le vivant le trophozoïte n'est pratiquement pas sujet à des contractions et des mouvements cytoplasmiques ; il n'est donc pas impossible tant que leur contractilité n'est pas démontrée que leur rôle soit celui de "cytosquelette", l'individu gardant cependant une certaine souplesse. Par contre chez les Selenidiidae, les microtubules constituent un système nettement organisé et bien défini (VIVIER et SCHREVEL, 1964 ; SCHREVEL, 1969, 1971) dénommé par les auteurs "myonème" et dont la fonction n'est pas encore établie avec certitude. Le problème complexe de la contractilité des Grégarines (et des structures responsables) reste donc posé. De même chez d'autres Protozoaires, si dans certains groupes tels que les Euglénomonadines (MIGNOT, 1966) et de nombreux Flagellés (JOYON et MIGNOT, 1969), les auteurs nient la contractilité des systèmes sous-cuticulaires, il existe des cas comme celui des axostyles des Oxymonadines (GRASSE, 1956 ; CLEVELAND et GRIMSTONE, 1964) où les systèmes microtubulaires sont contractiles.

. Les mitochondries et les vacuoles sous-corticales

On rencontre dans l'ectoplasme des mitochondries conformes au type général observé chez les Sporozoaires et dont la structure est interprétée comme en rapport avec le mode de vie partiellement anaérobie de ces parasites (VIVIER et SCHREVEL, 1964 ; VIVIER et coll., 1965 ; VIVIER, 1966 ; SCHREVEL, 1969, 1971).

Quant au rôle des vacuoles sous-corticales et à la signification de leur disposition périphérique, nos recherches ne nous permettent pas encore de le savoir. Cependant DESPORTES (1969) chez des Stylocephalus signale que des vacuoles digestives apparues à la limite

ectoplasme - endoplasme auraient certainement pour origine les liquides et les substances dissoutes absorbées au niveau de l'épicyte. Chez Lecudina linei ces vacuoles sont entourées, sur leur face ectoplasmique par des mitochondries et sur leur face endoplasmique par de nombreux ribosomes, de l'ergastoplasme riche en vésicules, elles-mêmes à proximité de dictyosomes. Tout ceci pourrait donc témoigner de synthèses actives s'effectuant à partir du contenu des vacuoles.

b) L'endoplasme et les inclusions cytoplasmiques

L'endoplasme, comme chez beaucoup d'autres Grégarines, est surtout caractérisé par la présence de réserves (paraglycogène), mais les organites cellulaires y sont également très nombreux.

- L'Appareil de Golgi

Sa structure est différente suivant qu'il se trouve dans le "corps de la Grégarine" ou dans la zone antérieure sous-jacente au mucron, et cette différence structurale traduit probablement une différence métabolique. Dans le premier cas, les dictyosomes sont de structure classique rencontrée chez les Sporozoaires et ils semblent se former à partir de lames du reticulum endoplasmique (VIVIER, 1965 ; VIVIER et HENNERE, 1965 ; VIVIER et coll., 1965 ; VIVIER et SCHREVEL, 1966, SCHREVEL, 1969). Nous avons également observé leur relation avec les vésicules ^{de type} mucopolysaccharidique (SCHREVEL, 1969). Dans la région antérieure les dictyosomes ont une structure différente et moins complexe : les saccules très aplatis se dilatant aux extrémités, en ampoules à contenu dense ; aucune relation avec le reticulum endoplasmique n'est visible. Ces dictyosomes paraissent participer activement à l'élaboration des granules denses de nature inconnue qui se répartiront dans toute la Grégarine. Cette zone très riche en Golgi est donc le siège d'une très grande activité de synthèse.

- Les inclusions de type mucopolysaccharidique

L'aspect identique du contenu de certains saccules golgiens et de celui des vésicules de type mucopolysaccharidique laisse supposer outre des relations morphologiques, des relations physiologiques. Le problème qui reste posé est donc de savoir dans quel sens se font ces

échanges : il est probable que l'appareil de Golgi participe à l'élaboration de ces inclusions et THIERY (1969) a bien mis en évidence le rôle de l'ergastoplasme et de l'appareil de Golgi dans la synthèse de ces grains de sécrétion dans les cellules du tractus digestif du Rat ou de la Souris. Cependant DANIELS (1964), à propos des dictyosomes de l'amibe, émet l'hypothèse d'une migration d'inclusions cytoplasmiques en direction de l'appareil de Golgi. Selon SCHREVEL (1969), la présence de ces enclaves correspond probablement à un stockage en prévision de la formation de la coque kystique au cours de la reproduction. Cet auteur (1972) montre également chez Gregarina blaberae et Lecudina tuzetae que les inclusions cytoplasmiques polysaccharidiques sont en relation avec la région corticale indiquant ainsi une sortie ou une entrée de matériel.

Il serait cependant intéressant de connaître la signification de la grande abondance de ces réserves chez les Lecudina linei parasitées par Microsporidie Nosema vivieri. Deux hypothèses sont alors possibles : l'hyperparasitisme interromprait le déroulement normal du cycle et il y aurait accumulation de ces réserves ne pouvant alors être utilisées à la formation de la coque kystique (mais ce phénomène de "castration" parasitaire reste à démontrer), ou bien, il orienterait le métabolisme de la Grégarine vers une abondante synthèse de ces inclusions. Nos recherches ultérieures résoudreont peut-être ce problème.

- Le paraglycogène

La présence de paraglycogène a été montrée, au moins à certains stades, chez de nombreuses Grégarines et Coccidies.

Nous avons vu que chez Lecudina linei, les réserves polysaccharidiques (ainsi que les mitochondries) sont absentes des très jeunes trophozoïtes. Ce phénomène a également été constaté chez d'autres espèces : chez Diplauxis hatti (VIVIER et coll., 1969 ; PRENSIER, 1971), elles sont très peu abondantes et non visibles par les techniques classiques ; elles n'apparaissent qu'en fin de stade 2 chez les Gregarinidae du Tenebrio molitor (DEVAUCHELLE, 1968) et au stade IV chez Didymophyes gigantea (HILDEBRAND, 1972). De même VIVIER et HENNERE (1965) constatent que le paraglycogène, rare chez les jeunes trophozoïtes de la Coccidie Coelotropha durchoni, apparaît abondamment lorsque les individus ont atteint une certaine taille. Nous n'avons observé ces réserves que dans le "corps" de la Grégarine : le mucron et la zone antérieure en sont dépourvues, comme chez Lecudina pellucida (SCHREVEL et VIVIER, 1966) et Lecudina tuzetae (SCHREVEL, 1969). Cependant chez les Dicystidées telles que Sycia inopinata (SCHREVEL et VIVIER, 1966 ; SCHREVEL, 1969) et les Tricystidées : diverses Gregarina (DEVAUCHELLE, 1968) et Stylocephalus (DESSPORTES, 1969), les auteurs ont observé des polysaccharides dans l'épimérite par l'intermédiaire duquel la Grégarine est fixée à l'épithélium intestinal.

SCHREVEL (1969, 1970, 1971) a précisé les caractères cytochimiques du paraglycogène chez les Grégarines et Coccidies et prouve qu'il n'est pas possible de l'assimiler ni au glycogène, ni à l'amidon. Chez Eimeria, RYLEY et coll. (1968) ont démontré qu'il s'agit d'une amylopectine. De même, chez Gregarina blaberae, le polysaccharide de réserve dénommé précédemment paraglycogène a ainsi été identifié à de l'amylopectine (MERCIER et coll., 1972). Les résultats obtenus sur l'étude du mécanisme d'élaboration de ces réserves glucidiques sont fragmentaires et toutes les hypothèses émises demandent confirmation. Le mode d'utilisation de ces réserves par le Sporozoaire n'est pas mieux connu si ce n'est qu'il est lié à la fourniture d'énergie au parasite et peut permettre de régulariser son métabolisme en fonction des apports nutritionnels et des besoins énergétiques variables.

- Les inclusions lipidiques

Elles ont surtout été observées chez les Grégarines parasites d'Annélides Polychètes (SCHREVEL, 1969 ; PRENSIER, 1971) mais elles existent également chez d'autres espèces (DESPORTES, 1969 ; VINCKIER, 1969 ; LOUBES et BOUIX, 1970). Leur élaboration et leur signification restent énigmatiques mais elles laissent supposer une autre source énergétique possible notamment au cours de certaines phases du cycle (gamétogenèse - sporulation). DESPORTES (1969, 1970) constate^{que} chez les Stylocephalus elles occupent presque tout le cytoplasme des gamètes et des spores. WILSON et FAIRBAIRN (1961) pensent que pendant la dormance des spores d'Eimeria, l'énergie proviendrait des lipides, et PRENSIER (1971) émet l'hypothèse à propos de Diplauxis hatti de leur utilisation au cours des synthèses de membranes pendant la gamétogenèse.

QUATRIEME PARTIE

ETUDE D'UN CAS D'HYPERPARASITISME : NOSEMA VIVIERI (V. D. et P.),

MICROSPORIDIE PARASITE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp.

CHAPITRE IV

ETUDE D'UN CAS D'HYPERPARASITISME : NOSEMA VIVIERI (V. D. et P.) MICROSPORIDIE PARASITE DE LA GREGARINE LECUDINA LINEI n. sp.

Depuis bien longtemps l'existence de parasites des Grégarines était connue. La microscopie photonique n'avait pas toujours permis d'en définir la nature exacte ; les études ultrastructurales ont permis d'en avoir une idée plus précise et c'est ainsi qu'ont été décrits :

- des bactéries (DEVAUCHELLE, 1967 ; DESPORTES, 1969) ;
- des Microsporidies (VIVIER, 1965 ; HILDEBRAND et VIVIER, 1970) ;
- des éléments à position systématique incertaine :
 - . parasite de nature indéterminée se résolvant en granules de 200 à 240 Å de diamètre (GRASSE et THEODORIDES, 1959) ;
 - . inclusions particulières d'allure bactérienne ou mycoplasmaïque chez une Monocystis (Observations personnelles) ;
 - . filament d'origine inconnue (HILDEBRAND, 1972).

En étudiant la Grégarine Lecudina linei n. sp., nous avons pu observer une Microsporidie hyperparasite dont l'étude ultrastructurale a permis de mettre en évidence un certain nombre de caractères originaux.

A) HISTORIQUE

Les premières Microsporidies parasites de Grégarines ont été décrites par LEGER et DUBOSCQ (1909) à propos de Nosema frenzelinae et de Perezia lankesteriae, respectivement hyperparasites de Cephaloïdophoras conformis (du tube digestif du crabe Pachygrapsus marmoratus) et Lankesteria ascidia (du tube digestif de l'Ascidie Ciona intestinalis). Cependant en 1897, CAULLERY et MESNIL soupçonnant qu'il s'agit d'un type nouveau d'organismes créent le genre Metchnikovella n. g. parasite de Grégarines, et ce n'est qu'en 1965 que VIVIER, étudiant l'ultrastructure de la spore de

Metchnikovella hovassei, hyperparasite de la Grégarine Lecudina pellucida (du tube digestif du Polychète Perinereis cultrifera) établit l'appartenance des Metchnikovellidae aux Microsporidies. En 1909, HESSE signale aussi chez Monocystis mitis (de l'intestin de l'Oligochète Fridericia polycheta) la présence d'une Metchnikovella plus tard dénommée par MESNIL (1915) Metchnikovella hessei. Puis de 1909 à 1955, de nombreuses autres Microsporidies appartenant aux genres Metchnikovella, Amphiamblys, Amphiacantha, ont été décrites chez des Grégarines de Polychètes. VIVIER (1973), dans un Ouvrage sur "Les Microsporidies des Protozoaires" en dresse la liste complète. Plus récemment (1967), CODREANU avec Plistophora hyperparasitica et CORBEL avec Metchnikovella martojai ont décrit des Microsporidies hyperparasites des Grégarines Enterocystis rhithrogenae (de l'intestin de l'éphémère Rhithrogena semicolorata) et Gregarina cousinae (de l'intestin du Grillon Gryllus assimilis). Puis HILDEBRAND et VIVIER (1970) ont étudié en microscopie électronique, le sporoblaste de Metchnikovella wohlfarthi n. sp. parasite de la Grégarine Lecudina tuzetae (de l'intestin du Polychète Nereis diversicolor). Chez les Nemertes, MONTGOMERY (1898) chez une Grégarine de Lineus gesserensis, et AWERINZEW (1908, 1909) chez une Grégarine de Amphiporus ont décrit et représenté des figures dont on peut penser qu'il s'agissait d'une Microsporidie. Nous-mêmes, chez la Grégarine Lecudina linei n. sp. de l'intestin de Lineus viridis, avons observé une nouvelle Microsporidie, Nosema vivieri (V. D. et P., 1970) (*) dont nous allons en étudier le développement.

B) ETUDE ULTRASTRUCTURALE DU DEVELOPPEMENT DE NOSEMA VIVIERI

L'observation des coupes de Grégarines parasitées montre un certain nombre de stades correspondant aux étapes du développement de la Microsporidie (fig. 55) : formes uninucléées, binucléées, sporoblastes et spores. Ces différents stades semblent être répartis au hasard dans la partie médiane de l'hôte. Dans une même Grégarine, on rencontre généralement les différents stades de la sporogonie, avec prédominance de spores (fig. 54 et 55). Nous examinerons successivement les stades végétatifs puis ceux de la sporogénèse.

(*) - Ainsi dénommée, en hommage à Monsieur E. VIVIER, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de Lille.

1) Phase végétative

Les stades végétatifs, épars dans le cytoplasme de l'hôte, sont uninucléés (= schizontes) (fig. 56 et 57). Puis ils vont se diviser plusieurs fois (phase de multiplication des schizontes) pour aboutir à la formation des sporoblastes. La caryocinèse précédant la cytodierèse, il est possible d'observer également des formes binucléées (fig. 58).

a) Les formes uninucléées

En contact direct avec le cytoplasme de la Grégarine-hôte, elles sont limitées par une paroi simple constituée d'une seule membrane unitaire (fig. 56 et 57). Elles présentent une morphologie très constante. De taille variant de 2 à 3,5 μ de long sur 1,5 à 3 μ de large, elles sont plus ou moins ovoïdes, leurs contours étant cependant assez irréguliers. Le cytoplasme contient essentiellement 2 types d'inclusions : des ribosomes et des systèmes membranaires. Les ribosomes, sont très abondants et semblent identiques à ceux de la Grégarine-hôte. Certains ribosomes peuvent être associés à du réticulum endoplasmique pour former de l'ergastoplasme typique souvent disposé en 3 ou 4 strates parallèles à la surface du noyau. Des petites vacuoles, de taille variable, peuvent être éparses dans le cytoplasme. Parfois, près du noyau, on peut observer un amas (plus rarement deux) de petites vésicules d'environ 250 à 300 Å de diamètre, assimilable à un appareil de Golgi très primitif. (Ce "Golgi" sera bien visible dans les stades plus âgés).

Le noyau, assez volumineux et le plus souvent ovoïde (environ 1,5 et 1 μ de grand et petit diamètre) occupe toujours une position excentrée. Il montre une enveloppe nucléaire typique avec ses 2 membranes munies de rares pores, et un nucléoplasme homogène sans nucléole ni chromatine nettement différenciée ; il ne semble pas y avoir de centrosome.

Nous n'avons jamais observé de grains de réserves ni de mitochondries ce qui paraît être caractéristique des Microsporidies et probablement lié au mode de vie anaérobie de ces parasites.

b) Phase de multiplication des schizontes

A côté des formes uninucléées, nous avons souvent rencontré des formes en cours de division.

En général, le noyau qui va se diviser s'allonge légè-

rement (fig. 57) et peut atteindre 2μ de long sur $0,8 \mu$ de large (fig. 58). Parfois il peut même prendre une forme légèrement lobée. Puis à 2 pôles opposés du noyau, mais toujours dans le plus petit diamètre, l'enveloppe nucléaire s'invagine en une dépression dont le fond s'épaissit ; il n'est alors plus possible de distinguer cette enveloppe nucléaire qui semble s'estomper à cet endroit. Ces 2 pôles diamétralement opposés apparaissent donc comme les "centres cinétiques" qui polarisent le fuseau de division. En effet, de ces pôles partent, divergeant dans le nucléoplasme, les fibres fusoriales du fuseau de division. Au sein du nucléoplasme et disposés le long de ces fibres fusoriales de 150 \AA de diamètre, on peut observer quelques amas vraisemblablement chromatinien (fig. 58 et 59). Il faut noter que ce fuseau de division, allongé selon le plus petit diamètre du noyau occupe toujours une position excentrée, c'est-à-dire qu'il partage le nucléoplasme en 2 parties très inégales (fig. 58, 59, 60). La caryodiérèse doit être très rapide car nous n'avons pas encore pu la surprendre. L'enveloppe nucléaire persiste pendant toute la durée de la division, ce qui rappelle la division type pleuromitose acentriolaire ou plus précisément le type "cryptomitose" (HOLLANDE, 1972).

Ainsi pendant cette phase de multiplication, nous pouvons observer des formes binucléées (fig. 58 et 62), les 2 noyaux montrant de nouveau et simultanément des fuseaux de division (fig. 58). Cependant nous n'avons jamais observé, à quel stade que ce soit, de diplocaryon, c'est-à-dire 2 noyaux étroitement accolés, tel que l'ont décrit VAVRA (1965), COSTE-MATHIEZ et MANIER (1967), SPRAGUE, VERNICK et LLOYD (1968), SPRAGUE et VERNICK (1969), WEIDNER (1970), VAVRA et UNDEEN (1970) chez d'autres Microsporidies du genre Nosema.

Le schizonte se divise donc plusieurs fois avant de donner les sporoblastes. Nous ne pouvons préciser le nombre exact de divisions successives que subissent ces sporontes, mais d'après certaines figures (fig. 66), il semble qu'il soit au minimum de 3. Comme nous l'avons déjà signalé, lors de ces divisions, la caryodiérèse précède toujours la cytotiérèse, ce qui aboutit à la formation de figures lobées, polynucléées (fig. 61, 62), pouvant rappeler des figures plasmodiales, mais où l'on reconnaît les futurs sporoblastes presque individualisés. La cytotiérèse se fait par étranglement (fig. 58, 61, 62) : la membrane cellulaire épaissie à ce niveau forme 2 invaginations opposées qui vont à la rencontre l'une

e : ergastoplasme - FP : filament polaire -
N : noyau - P : paroi - Pl : polaroplaste lamellaire -
Pv : polaroplaste vésiculaire - spo : sac polaire -
v̄ : vacuole - ve : vésicule provenant de dilatations
du reticulum endoplasmique - vg : vésicules
golgiennes - zi : zone d'insertion du filament
sur le sac polaire

a : Dans le jeune sporoblaste, un amas de petites
vésicules (flèche), dont le contenu deviendra
de plus en plus opaque, apparaît près du noyau.
Près de cet amas, assimilable à un Golgi
primitif se trouvent des vésicules provenant
de dilatations du reticulum endoplasmique.

b : Entre le noyau et le "Golgi", se différencie
une grande vésicule dont le contenu, peu dense
au début, deviendra de plus en plus opaque ;
il s'agit là de l'ébauche du sac polaire qui
est en relation avec une grande vacuole et
les vésicules golgiennes.

c et d : Le filament polaire, qui se forme par coa-
lescence des vésicules golgiennes, s'insère
sur le sac polaire avec, à ce niveau, renfor-
cement de la base du filament. La zone externe
du filament est constituée de 2 membranes
unitaires.

e : Le sac polaire a migré à un pôle du sporoblaste
et prend la forme d'une "ancree" qui "coiffe" le
polaroplaste lamellaire, celui-ci entourant le
polaroplaste vésiculaire. Le filament polaire
possède sa structure définitive : il est limité
par une seule membrane unitaire.

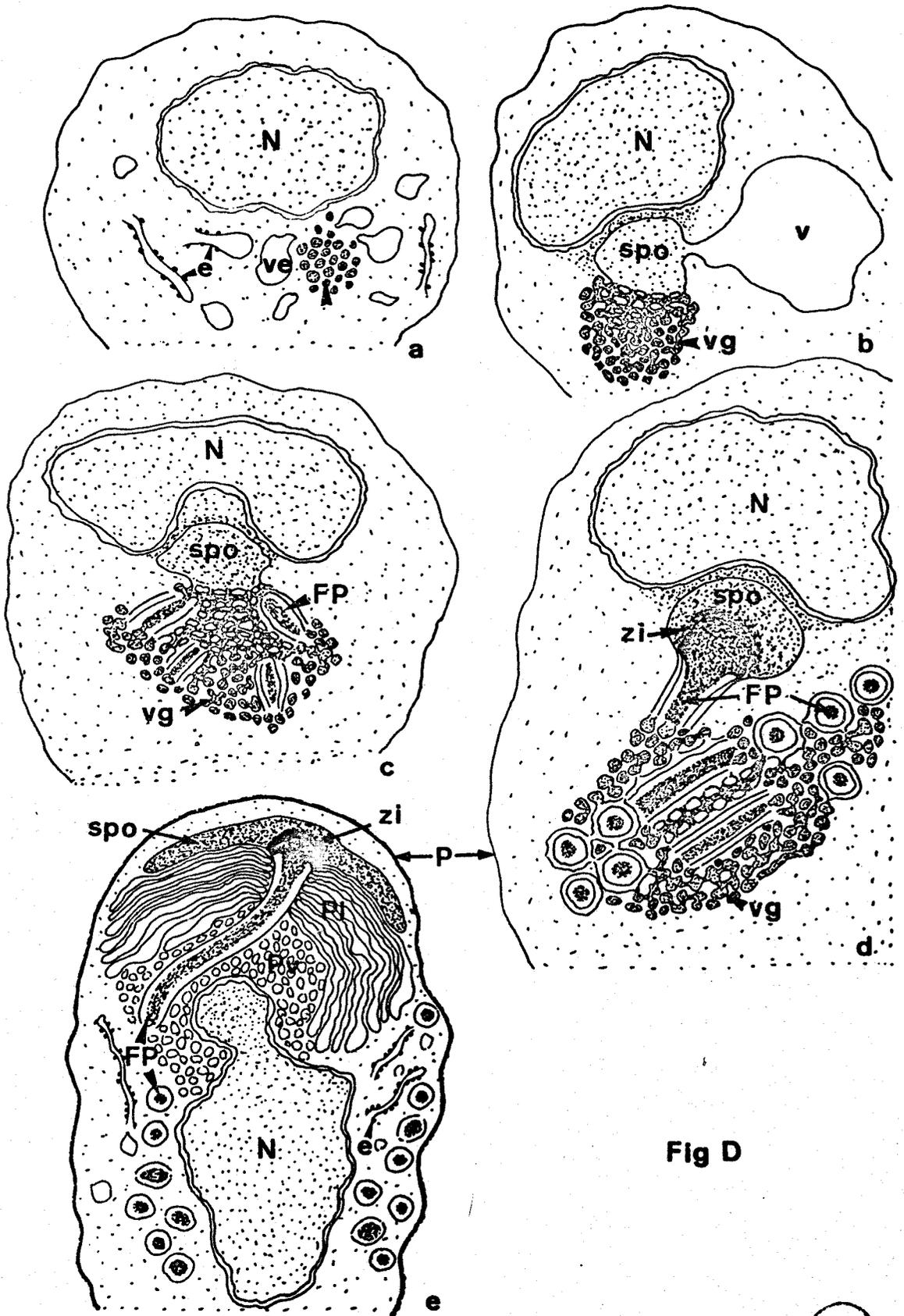


Fig D

de l'autre (fig. 61, 62). Ces divisions, se faisant dans n'importe quel plan de l'espace, aboutissent à la formation de "rosettes" ou de "grappes" d'individus uninucléés (fig. 63, 66). En s'individualisant, les sporoblastes peuvent laisser entre eux des formations vésiculaires (fig. 63, 64, 66); mais il s'agit peut-être de reliquats cytoplasmiques.

2) Phase sporogonique

Les jeunes sporoblastes peuvent se disperser dans le cytoplasme hôte ou rester groupés. Dans ce 2ème cas, il est intéressant de noter que tous les individus d'un même groupe sont au même stade de développement (fig. 63, 65, 66). Il semble donc y avoir un synchronisme dans le développement des sporoblastes issus d'un même schizonte, chaque sporoblaste évoluant en une seule spore. C'est à ce stade de sporoblaste que va commencer à s'élaborer le filament polaire.

a) Les sporoblastes : origine et formation du filament polaire

Le filament polaire est une sorte de "fouet" caractéristique de la spore dans laquelle, ancré à l'extrémité antérieure, il s'enroule en spirale autour du noyau et du cytoplasme dans la moitié postérieure. Il permet en se dévaginant, la transmission du parasite.

Dans les jeunes sporoblastes (fig. 62, 63, 64), on observe souvent près du noyau, un groupe de petites vésicules, à contenu plus ou moins dense, assimilable selon VAVRA (1965) à un appareil de Golgi primitif. Nous n'avons pu observer l'origine de ces vésicules, mais leur position périnucléaire suggère qu'elles pourraient dériver de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire ; une origine semblable du Golgi a été observée chez divers Sporozoaires et dans des cellules embryonnaires de sauterelle (KESSEL, 1971). Nous n'avons jamais observé de relation entre ces "vésicules golgiennes" et le reticulum endoplasmique. Ces vésicules sont à l'origine du filament polaire.

L'élaboration du filament polaire semble commencer par l'apparition dans le cytoplasme d'une grande "vésicule" à contenu peu dense et limitée par une seule membrane unitaire (fig. 67). Elle est toujours située entre le noyau, dans une dépression de celui-ci, et l'amas de vésicules golgiennes (fig. 67, 68, 69, 70). Il est intéressant de remarquer qu'à ce stade (fig. 67 et 68) l'aspect du contenu de cette "vésicule" ressemble étrangement à celui du nucléoplasme tout proche. Cet "organite" est en

relation avec une grande vacuole à contenu très clair et séparée de cette dernière par un petit étranglement (fig. 68 et 69). Celle-ci semble être disposée latéralement par rapport à l'axe noyau - "vésicule" - Golgi. Si cette formation, qui sera à l'origine du sac polaire, semble indépendante du noyau et de l'enveloppe nucléaire, elle paraît être, par contre, en relation avec les vésicules golgiennes (fig. 67, 68, 69). Nos observations ne nous permettent pas de préciser l'origine exacte de ce futur sac polaire. Le point d'insertion du filament polaire sur le sac polaire se formera à l'endroit où les vésicules golgiennes "communiquent" avec ce sac dont le contenu deviendra de plus en plus opaque au fur et à mesure que se formera le filament polaire. La région du filament polaire formée en premier paraît être sa zone d'insertion sur le sac polaire dont le contenu n'est encore que peu dense (fig. 70). Puis le filament polaire se formera par coalescence des petites vésicules golgiennes sur l'origine desquelles nous reviendrons dans la discussion. Ces vésicules se disposent en un manchon cylindrique englobant la zone centrale dense du filament (fig. 71 à 73 et 76 à 82) qui semble être élaborée à partir du contenu de ces vésicules golgiennes. A ce stade, le filament polaire d'environ 1 150 Å de diamètre est constitué de 2 cylindres emboîtés séparés par une zone claire de 170 Å d'épaisseur (fig. 76, 77) : l'externe épais de 250 Å est constitué de 2 membranes unitaires séparées par une zone opaque aux électrons, et l'interne de 500 Å de diamètre est plein et constitué d'une matière très dense.

Ce diamètre du filament polaire en formation semble être variable d'un sporoblaste à l'autre ; nous avons ainsi constaté qu'il est généralement compris entre 1 000 et 1 600 Å selon les individus, la dimension la plus courante se situant entre 1 100 et 1 200 Å. A ce stade de développement le filament polaire semble donc limité par deux membranes unitaires classiques de 80 Å d'épaisseur, elles-mêmes séparées par un espace clair d'environ 80 Å également. Au fur et à mesure que se forme le filament, le sac polaire limité par une seule membrane unitaire s'éloigne du noyau pour gagner le pôle opposé du sporoblaste. En ce qui concerne l'insertion du filament sur le sac polaire, nos observations ne nous permettent pas encore d'en préciser la structure exacte. Cependant la zone centrale dense du filament (fig. 71, 72, 76) pénètre en s'évasant à l'intérieur du sac polaire dont la membrane limitante semble en continuité avec la membrane externe du filament polaire (fig. 71, 72, 76). La membrane interne du

filament paraît pénétrer dans le sac polaire et limiter la zone centrale dense renflée à ce niveau où il y aurait également disparition de la zone claire (fig. 74 et 76). Il y aurait donc un renforcement basal du filament au niveau de sa membrane interne (fig. 74). Il semble également qu'à la limite sac polaire - filament, dans la zone claire de ce dernier, du matériel dense rayonne de la zone centrale vers la membrane limitante (fig. 75). Le sac polaire, jusqu'alors de forme globuleuse va ensuite s'aplatir (fig. 83 à 90) pour prendre dans la spore la forme d'une "ancré" tandis que son contenu devient très dense. En même temps, une structure nouvelle apparaît : le polaroplaste. Comme chez Heterosporis finki, cet organite est constitué de 2 parties d'origine probablement différente : le polaroplaste lamellaire et le polaroplaste vésiculaire. La différenciation du polaroplaste lamellaire doit être extrêmement rapide car nous n'avons pu encore observer les stades correspondant à son élaboration. Ainsi lorsque le filament polaire est entièrement élaboré (fig. 83 à 90), un système de membranes, empilées les unes sur les autres, apparaît sous le sac polaire, englobant la base du filament. Il est difficile de préciser le mode d'empilement de ces membranes, mais nous avons pu constater que lâche au début, il se resserre de plus en plus au fur et à mesure de l'évolution du sporoblaste (fig. 83 à 90 et fig. 97, 98), pour aboutir dans la spore à une structure lamellaire compacte en forme de cloche ; celle-ci est percée au centre de sa partie convexe d'un orifice par où passe le filament polaire (fig. 100, 101, 105, 106, 107). Cette structure est l'homologue du "cavum" décrit par SPRAGUE et coll. chez Nosema sp. Le sac polaire se trouve ainsi placé entre la paroi du sporoblaste ou de la spore et ce "cavum" sur lequel il semble "s'appuyer". L'origine de ces membranes n'est pas connue et il n'est pas possible de dire si elles dérivent de membranes ergastoplasmiques ou de saccules empilés les uns sur les autres. Cependant il faut noter que, dès qu'apparaît le polaroplaste lamellaire, la grande vacuole observée lors du début de la formation du filament polaire n'est plus visible, et le filament polaire a un diamètre d'environ 1 000 Å, sauf à sa base, près du sac polaire où il est légèrement plus grand (fig. 88). Ce diamètre peut d'ailleurs varier selon les individus, entre 950 et 1050 Å. D'autre part, à partir de ce stade le filament polaire ne semble plus limité que par une seule membrane unitaire, comme dans la spore. Simultanément apparaît entre le noyau et le futur "cavum", et plus ou moins englobé par celui-ci, un amas de petites vésicules constituant le polaroplaste vésiculaire (fig. 83 à 86). L'origine de ces vésicules est également

Fig. E : Sporoblaste en fin d'évolution se transformant
en spore

(La paroi s'épaissit et le polaroplaste lamellaire
devient de plus en plus compact).

e : ergastoplasme - F P : filament polaire -
N : noyau - P : paroi - Pl : polaroplaste lamellaire -
Pv : polaroplaste vésiculaire - spo : sac polaire -
vp : vacuole postérieure.

a : coupe transversale au tiers antérieur.

b : coupe transversale dans la région postérieure.

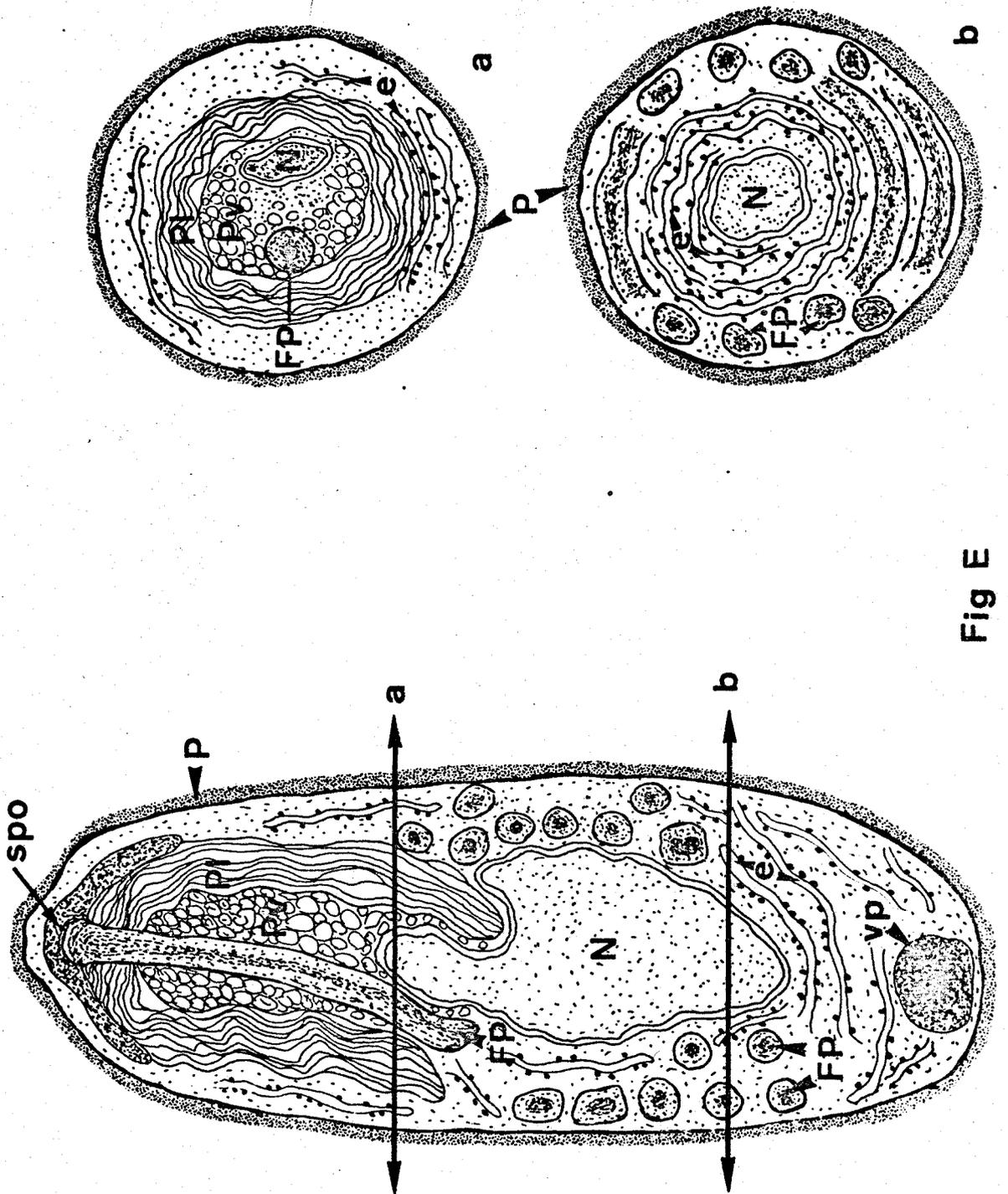


Fig E

énigmatique, mais peut-être dérivent-elles des vésicules golgiennes restantes après la formation du filament polaire, ou du réticulum endoplasmique.

Lors de l'évolution du sporoblaste en spore, le noyau est repoussé dans la moitié postérieure de la cellule (fig. 83, 84, 85, 86, 97). Il ne semble pas avoir une forme bien définie ; en général ce noyau est lobé et l'un des lobes peut se trouver dans le "cavum" avec le polaroplaste vésiculaire (fig. 85, 86, 98).

Au pôle opposé au sac polaire, se différencie également un nouvel organite, la vacuole postérieure (fig. 91 à 96) déjà décrite par SCHUBERT chez Heterosporis finki ; SPRAGUE et coll. avaient déjà observé une structure analogue chez Nosema sp. Au pôle postérieur du sporoblaste, se groupent des petites vésicules à contenu dense (fig. 91) et parfois à côté d'une vacuole (fig. 92) ; ces vésicules rappellent les vésicules golgiennes à l'origine du filament polaire. Elles semblent fusionner pour former des masses denses plus importantes (fig. 87, 93, 94, 95) qui finalement formeront dans la spore un seul organite, la vacuole postérieure (fig. 96, 105, 106). Celle-ci semble limitée par une seule membrane (fig. 96 et 103) comme le filament polaire, et il est curieux de constater sur la fig. 96 l'aspect identique que présentent le filament polaire et la vacuole postérieure. C'est pourquoi il serait intéressant de savoir si ces deux organites sont ou non en relation. Nos observations ne nous permettent pas pour l'instant de répondre à cette question.

b) Les spores

En fin d'évolution, la paroi du sporoblaste commence à s'épaissir : une couche dense vient s'apposer sur la face externe de la membrane cytoplasmique (fig. 87, 97, 98). Puis une zone plus claire vient s'insérer entre cette zone dense et la membrane du sporoblaste (fig. 99 à 107). Ainsi la paroi de la spore de 700 à 800 Å d'épaisseur montre 3 composantes (fig. 100, 101, 102, 105, 106, 107) : la membrane cytoplasmique proprement dite de 80 Å d'épaisseur, une zone moyenne claire de 200 à 250 Å d'épaisseur et une zone externe sombre d'environ 350 à 450 Å de large. L'épaisseur de cette paroi semble plus ou moins uniforme tout autour de la spore, parfois amincie au niveau du sac polaire (fig. 100), mais cela n'est pas général.

Comme cela a déjà été signalé chez les Microsporidies, pour une même espèce, nous avons trouvé ici des spores de taille assez différente pour que nous puissions parler de "macrospores" et "microspores". Les macrospores (fig. 104, 105), très allongées, mesurent environ 6μ de long sur $0,7 \mu$ de large ; elles semblent être exceptionnelles car nous ne les avons rencontrées qu'une seule fois mais en grand nombre. Les microspores, les plus nombreuses et les plus communément observées sont ovoïdes ($2,7 \mu$ sur $1,2 \mu$) (fig. 100 à 103 et fig. 106, 107). Ces deux types de spores ne diffèrent que par la taille, car elles ont la même structure.

En ce qui concerne leur interprétation, 2 hypothèses sont possibles : soit que les macrospores appartiennent à une espèce différente (ce qui paraît peu vraisemblable), soit qu'il s'agit d'une anomalie.

Dans le cas où macrospores et microspores appartiendraient à la même espèce, nous considérerons que la spore "normale" est la microspore puisque la plus fréquemment observée. Le tiers antérieur ou parfois la moitié de la spore est occupée par le polaroplaste lamellaire ou "cavum" en forme de cloche à ouverture basale rétrécie ne permettant que le passage du filament polaire (fig. 100) ; sa structure lamellaire très compacte mesure environ 1 100 à 1 200 Å d'épaisseur. Dans la macrospore (fig. 105) le "cavum" n'occupe qu'une partie beaucoup plus restreinte de la spore (environ le sixième), et son ouverture basale est beaucoup plus large. Ce polaroplaste lamellaire est coiffé, dans sa partie supérieure, par le sac polaire en forme "d'ancre" (fig. 100, 101, 106, 107) dont le contenu paraît uniformément dense ; cependant la fig. 106 nous montre, dans ce sac polaire, des "structures linéaires denses" rappelant celles observées par JENSEN et WELLINGS chez Glugea stephani.

Du sac polaire part le filament polaire qui perce le "cavum", traverse le polaroplaste vésiculaire et vient s'enrouler en spirale, dès qu'il est sorti de cette "cloche", sous la membrane plasmique, entourant le cytoplasme et le noyau unique situés dans la partie postérieure de la spore ; il peut ainsi effectuer jusqu'à 12 tours de spire.

Le cytoplasme de la spore apparaît constitué exclusivement de membranes ergastoplasmiques et de ribosomes (fig. 97, 98, 99, 102, 106, 107). On n'y distingue jamais ni mitochondries, ni grains de réserves.

A l'extrémité postérieure de la spore, diamétralement opposée au sac polaire, se trouve la "vacuole postérieure" (fig. 105, 106).

3) Rapports hôte - parasite

Dans une Grégarine on peut trouver tous les stades de l'évolution de la Microsporidie, mais nous ignorons si l'infection peut amener la mort de l'hôte. S'il y a relativement peu de Grégarines parasitées, elles le sont toujours abondamment. De même il serait intéressant de savoir si les Grégarines infestées s'accouplent et s'enkystent normalement et s'il n'y aurait pas un phénomène de "castration" parasitaire. Mais le matériel très peu abondant rend cette étude difficile.

Un caractère cytologique important des Microsporidies est l'absence de réserves et surtout de mitochondries; ceci certainement en rapport avec le mode de vie anaérobie de ces parasites. On peut donc supposer que le parasite tire son énergie d'une autre façon et aux dépens de l'hôte.

Les formes végétatives de Nosema vivieri, limitées par une simple membrane cellulaire classique sont en contact direct avec le cytoplasme de l'hôte ; nous n'avons pas observé au niveau de la membrane du parasite de structures pouvant témoigner de l'existence d'échanges hôte- parasite. VIVIER et SCHREVEL (1973) ont décrit chez Metchnikovella hovassei des digitations de la paroi du parasite accolées à certaines structures du cytoplasme de l'hôte suggérant une absorption directe d'éléments nutritifs de l'hôte par le parasite. WEIDNER (1970) constate que les formes végétatives de Nosema sp. sont souvent entourées de cisternes du reticulum endoplasmique des hémocytes dans lesquels elles se trouvent. YOUSSEF et HAMMOND (1971) observent une accumulation des mitochondries de la cellule-hôte à la surface des jeunes schizontes de Nosema apis. SPRAGUE et VERNICK (1968) ont observé une continuité entre la membrane cellulaire des jeunes stades de Glugea weissenbergi et le reticulum endoplasmique de la cellule-hôte. LOM et CORLISS (1967) suggèrent que chez Plistophora hypheobryconis les réactions enzymatiques se situeraient au niveau de "petits assemblages de lamelles ergastoplasmiques et de vésicules à surface lisse". VIVIER et SCHREVEL (1973) pensent que Metchnikovella hovassei "tire son énergie d'un phénomène de glycolyse anaérobie à partir du glucose puisé chez l'hôte".

Fig. F : Cycle de la Microsporidie Nosema vivieri

e : ergastoplasme - FP : filament polaire - N : noyau -
P : paroi - Pl : polaroplaste lamellaire - Pv : polaroplaste
vésiculaire - spo : sac polaire - v : vacuole -
vg : vésicules golgiennes - vp : vacuole postérieure -
vs : formations vésiculaires.

Phase végétative :

- 1 : forme uninucléée (schizonte).
- 2 et 3 : multiplication des schizontes.
 - 2 : forme binucléée.
 - 3 : les divisions successives d'un schizonte aboutissent à la formation des sporoblastes souvent disposés en groupe ou en "rosette".

Phase sporogonique :

Chaque sporoblaste évolue en une seule spore.

- 4 et 5 : sporoblastes : formation du filament polaire et des différents organites de la spore.
- 5 : spore.

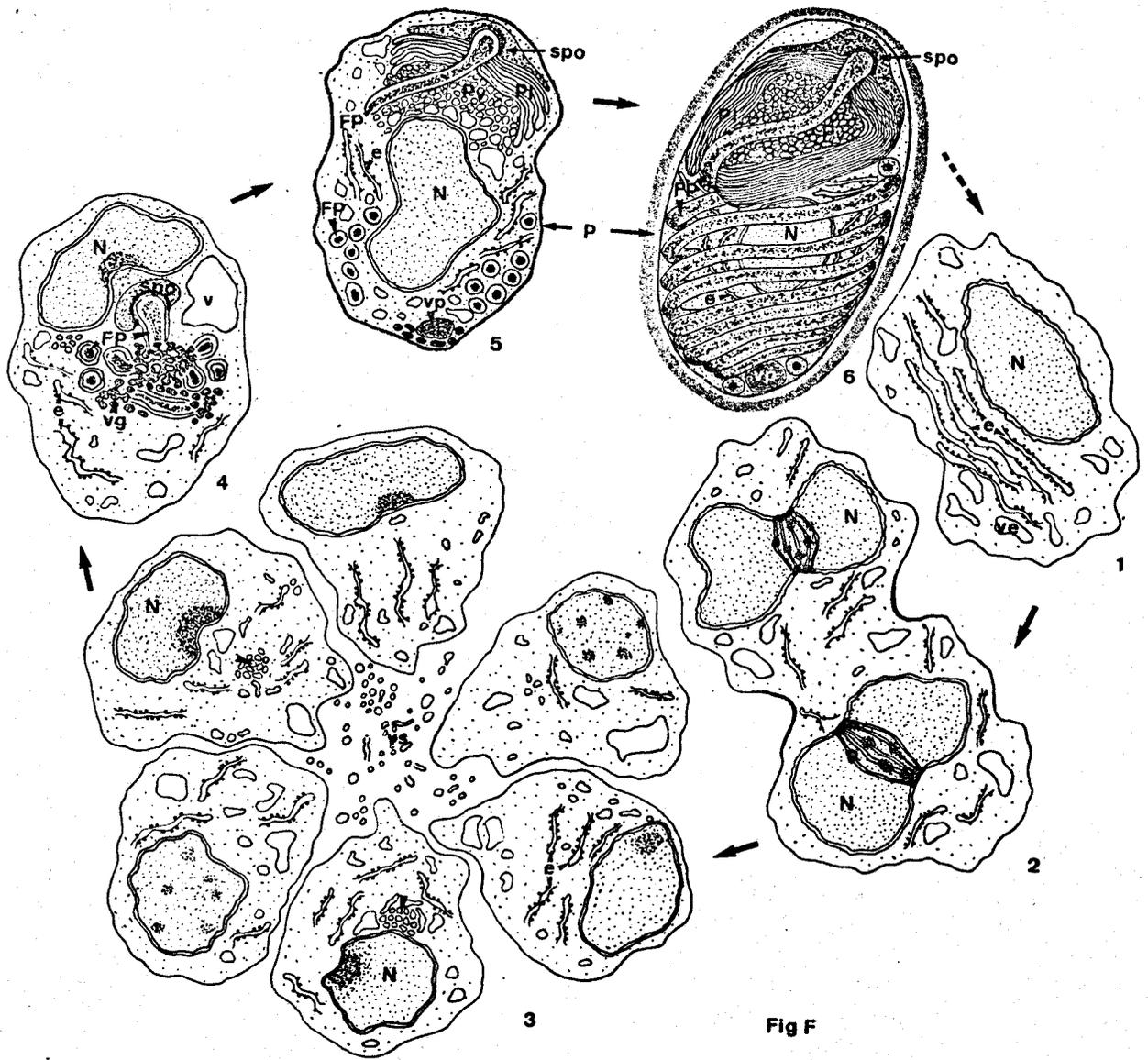


Fig F

Dans le cytoplasme de la Grégarine parasitée par Nosema vivieri nous avons observé, principalement autour des formes végétatives de la Microsporidie des plages d'inclusions à structure filamenteuse (fig. 108 et 109), qui sont, comme nous l'avons déjà dit, de type mucopolysaccharidique. Ces granules sont moins abondants chez les Grégarines indemnes, ce qui suggère qu'ils sont peut-être effectivement une conséquence du parasitisme. Ceci ne constitue évidemment pas une preuve et le problème de savoir comment se font ces échanges hôte-parasite reste posé.

4) Résumé des caractères cytologiques de la Microsporidie Nosema vivieri

Ces principaux caractères cytologiques, parmi lesquels nous retrouvons certains caractères généraux des Microsporidies, sont :

1) Chez les formes végétatives

- Forme uninucléée (= schizonte) limitée par une simple membrane plasmique classique, en contact direct avec le cytoplasme de l'hôte.

Cytoplasme totalement dépourvu de mitochondries et de grains de réserves, mais riche en ribosomes et membranes de type granulaire (ergastoplasme) et agranulaire (reticulum endoplasmique), celles-ci souvent sous forme de petites vacuoles. Un amas de petites vésicules représente peut-être un appareil de Golgi primitif, à l'origine du filament polaire.

- Ces schizontes vont se diviser plusieurs fois : c'est la schizogonie. Les noyaux plus ou moins sphériques subissent des mitoses du type "cryptomitose" (HOLLANDE, 1972), sans disparition de l'enveloppe nucléaire, acentriolaires avec fuseau intranucléaire entre 2 centres cinétiques placés au fond de dépressions de l'enveloppe nucléaire.

- Absence de stade plasmodial.
- Absence de pansporoblaste.
- Ces divisions aboutissent à la formation de sporoblastes.

2) Chez les sporoblastes et spores

Chaque sporoblaste évolue en une seule spore.

La spore montre :

- Une paroi épaisse constituée de 3 couches ;
- Dans le tiers antérieur, le polaroplaste lamellaire coiffé du sac polaire d'où part le filament polaire.
- Dans les 2 tiers postérieurs, le filament polaire qui, ayant traversé le polaroplaste, s'enroule en spirale, sous la paroi, autour d'une masse cytoplasmique renfermant un noyau unique, riche en ribosomes et membranes ergastoplasmiques mais dépourvu de mitochondries et de réserves.
- A l'extrémité postérieure de la spore se trouve la "vacuole postérieure".

5) Diagnose

- Microsporidie à spores ovoïdes ($2,5 - 3 \mu$ sur $1 - 1,5 \mu$) munies d'un filament polaire. Chaque sporoblaste évolue en une seule spore. Absence de stade plasmodial et de pansporoblaste.

- Hôte : la Grégarine Lecudina linei n. sp. parasite intestinal du Némerte Lineus viridis (Fabr.) Johnston.

- Lieux de récolte : Littoral boulonnais (Wimereux).

C) DISCUSSION

1) Position systématique

Nous avons proposé pour cette Microsporidie nouvelle, parasite de la Grégarine Lecudina linei n. sp. (de l'intestin du Némerte Lineus viridis), le nom de Nosema vivieri (V. D. et P.). En se référant au chapitre sur les Microsporidies d'après POISSON dans le Traité de Zoologie (1953, publié sous la direction de P. P. GRASSE), et suivant les essais de classification de STEPELL (1909), LEGER et HESSE (1922), KUDO (1924), TUZET et coll. (1971), SPRAGUE (1973), il semble que notre parasite soit une Nosematidae du genre Nosema.

Le genre Nosema est en effet caractérisé par l'existence d'un seul filament polaire dans la spore plus ou moins ovoïde ou piriforme, et le fait qu'un seul sporoblaste forme toujours une seule spore. De même la famille des Nosematidae est "apansporoblastique" et la sporogonie de notre espèce s'effectue également sans pansporoblaste.

La taille de Nosema vivieri étant plus grande que chez Nosema frenzelinae et l'hôte étant ici une Grégarine monocystidée, nous sommes donc bien en présence d'une espèce nouvelle, différente de celle-ci. Comme nous l'avons déjà fait remarquer, les Némertiens du genre Lineus gesserensis (O. F. Müller) hôtes de la Grégarine dans laquelle MONTGOMERY (1898) a observé et représenté des inclusions ovoïdes ou sphériques que nous pouvons interprétées comme des spores de Microsporidie, ont été répartis par GONTCHAROFF (1951) en 4 espèces distinctes dont Lineus viridis (Fabr.) Johnston. Il apparaît que la Grégarine Lecudina linei n. sp. de ce Némerte parasitée par la Microsporidie Nosema vivieri n. sp. est très voisine de celle étudiée par cet auteur.

En microscopie électronique, chez diverses Nosema comme Nosema sp., Nosema nelsoni, Nosema apis, Nosema bombycis, Nosema orthocladii, Nosema locustae, Nosema cuniculi, Nosema oryzaephili, Nosema algerae, Nosema whitei, les auteurs ont décrit, après la forme uninucléée, un stade à "diplocaryon" (c'est-à-dire à 2 noyaux accolés) qui peut subsister pendant le reste du cycle. Selon SPRAGUE et CALI, ce diplocaryon est caractéristique du genre Nosema. Cependant chez Pleistophora sp. (Pleistophoridae) SZOLLOSI a décrit un diplocaryon. Au cours de notre étude sur Nosema vivieri nous n'avons jamais observé de diplocaryon et les sporoblastes sont uninucléés, ce qui rapprocherait cette Microsporidie du genre Encephalitozoon; mais chez celle-ci un sporoblaste donne toujours 2 spores alors qu'un sporoblaste de Nosema vivieri évolue en une seule spore. LOM et WEISER (1969) ont néanmoins

admis que dans le genre Nosema un sporoblaste pouvait produire 2 spores. De par son développement la Microsporidie que nous avons étudiée est très proche des Nosematidae du genre Nosema et c'est pourquoi nous l'avons classée dans ce genre. Selon SPRAGUE (1973) elle ne serait pas une Nosema puisqu'elle ne possède, à aucun stade, de diplocaryon ; cet auteur pense qu'il s'agirait plutôt d'une Perezia (qui sporule comme les Nosema), dont on ne sait pas, vu le peu de travaux effectués sur ce genre, si elle possède ou non 1 ou 2 noyaux (= diplocaryon). Il est donc possible que des études complémentaires nous contraignent d'adopter un autre genre ou bien créer un nouveau pour notre Microsporidie.

Actuellement les critères de la systématique ne sont pas suffisamment bien définis et évoluent sans cesse avec les données nouvelles apportées par les études ultrastructurales.

2) Organitogenèse

Dans l'ensemble les aspects ultrastructuraux que nous avons envisagés ici sont comparables avec les travaux précédents effectués sur Nosema laphygamae par WEISER, sur Nosema bombycis par ISHIHARA, Nosema locustae par HUGER, Nosema spelotremae par STANIER et coll., Nosema cuniculi par PETRI et SCHIDT, Nosema sp. par SPRAGUE et coll., Nosema nelsoni et Glugea sp. par SPRAGUE et VERNICK, Glugea weissenbergi par VERNICK et coll., Nosema algerae par VAVRA et UNDEEN, Nosema orthocladii par COSTE-MATHIEZ et MANIER, Nosema sp. par WEIDNER, Nosema abis par YOUSSEF et HAMMOND, Nosema whitei par MILNER, sur plusieurs espèces du genre Thelohania, Plistophora ou Mrazekia, sur Caudospora simulii par VAVRA, sur Thelohania californica par KUDO et DANIELS, Plistophora hyphessobryconis par LOM et CORLISS, Mrazekia lumbriculi par De PUYTORAC, Metchnikovella hovassei par VIVIER, Metchnikovella wohlfarthi par HILDEBRAND et VIVIER, Plistophora simulii et Tuzetia infirma par MAURAND, Heterosporis finki par SCHUBERT, Thelohania trichostegiae, Thelohania bicortex et Congourdella rhyacophilae par BAUDOIN, Telomyxa glugeiformis par CODREANU et VAVRA, Encephalitozoon cuniculi par SPRAGUE et VERNICK, Pleistophora sp. par SZOLOSZI, Glugea stephani par JENSEN et WELLINGS.

Cependant quelques particularités méritent d'être soulignées : la paroi formée par une seule membrane unitaire en contact direct avec le cytoplasme de l'hôte, la structure du filament polaire qui lors de sa formation possède un diamètre plus grand que dans la spore, et l'existence de 2 types de spores .

a) La paroi et la limite hôte - parasite

Chez Nosema vivieri, pendant une grande partie du cycle, la cellule n'est limitée que par une seule membrane unitaire ; celle-ci est en contact direct avec le cytoplasme de l'hôte et sans aucune relation avec lui, contrairement à d'autres Nosematidae qui sont isolées dans une vacuole ; cette paroi ne commence à s'épaissir que chez les sporoblastes âgés, en fin d'évolution. Chez Nosema apis il en est de même, mais autour de la cellule - parasite il y a toujours, en certains endroits, concentration d'organites de la cellule-hôte, et principalement des mitochondries. Chez Nosema algerae, dès les plus jeunes stades, une couche dense de matériel amorphe recouvre la membrane unitaire comme chez la Nosema sp. du crabe Callinectes sapidus (SPRAGUE et coll., 1968 ; WEIDNER, 1970) où le sporoblaste est recouvert d'une pellicule extramembranaire dense avec des microtubules disposés perpendiculairement à la surface du parasite ; chez Telomyxa glugeiformis, une couche, constituée de petites vésicules ou de cisternes irrégulières aplaties, qui peuvent même être en contact avec la membrane du schizonte, entoure ce dernier. Chez les Metchnikovellidae, les sporoblastes se trouvent dans une "vacuole parasitaire" considérée comme un pansporoblaste. Le développement d'Encephalitozoon cuniculi se fait dans une vacuole de la cellule-hôte. Chez Glugea sp., la membrane de la future "vacuole de sporogénèse" entoure tout le parasite, ceci étant caractéristique des stades de plasmodies. Chez Nosema vivieri, il n'y a pas de stade plasmodial comme chez les Metchnikovella ou autres Microsporidies du genre Glugea, Pleistophora ou Plistophora, Tuzetia, Mrazekia, Caudospora, Thelohania, Heterosporus ; cependant si nous avons observé des stades à 2 ou plusieurs noyaux, il est vraisemblable que cela est dû à un décalage entre caryodièrese et cytodiérèse plutôt qu'à l'existence d'un véritable stade plasmodial ; les stades à plusieurs noyaux sont donc éphémères puisqu'à chaque fois que nous les avons observés les sporoblastes étaient presque individualisés.

Nous n'avons pas vu les tubules que VAVRA et BAUDOIN ont décrits dans le pansporoblaste du genre Thelohania, ni les microtubules pelliculaires observés sur la couche externe de la paroi des spores de Nosema nelsoni par SPRAGUE et coll., de Nosema sp. par WEIDNER, de Plistophora debaisieuxi par VAVRA. Chez Nosema vivieri, nous avons trouvé entre les sporoblastes issus des divisions d'un même schizonte uninucléé, des formations plus ou moins vésiculaires et peut-être même tubulaires rappelant celles décrites par VAVRA chez Plistophora simulii et Thelohania corethrae. L'origine de ces formations est inconnue mais elles paraissent principalement lors de l'individualisation des sporoblastes. Ces sporoblastes issus d'une même forme uninucléée sont souvent disposés en "rosettes" ou en "chaines" et sont tous au même stade de développement (il y aura d'ailleurs synchronisme dans leur évolution ultérieure). Ce phénomène a également été constaté par JENSSEN et WELLINGS chez Glugea stephani.

b) Le filament polaire et le polaroplaste

Dans le jeune sporoblaste se différencie un organite important : le filament polaire. Celui-ci tire vraisemblablement son origine d'une structure assimilable à un appareil de Golgi primitif, comme l'avait signalé VAVRA dès 1965. En effet, très tôt (c'est-à-dire dès la forme uninucléée), nous voyons apparaître, très près du noyau, un amas de petites vésicules dont le contenu devient de plus en plus dense, à partir desquelles se formera le filament polaire. Ces vésicules, probablement issues de l'enveloppe nucléaire, vont fusionner pour former une "vacuole" de diamètre variable et inégal à contenu mal défini : c'est là la première manifestation de l'élaboration du filament polaire. Cette "vacuole" qui évoluera par la suite en sac polaire, semble l'équivalent du canal intraprotoplasmique décrit par VAVRA et coll. chez Plistophora debaisieuxi. Elle peut aussi confluer avec des cisternes du reticulum endoplasmique, d'où cette grande vacuole en relation avec le futur sac polaire. Cette "vacuole" toujours située dans une dépression de l'enveloppe nucléaire va, par sa face opposée au noyau, "bourgeonner" des petites vésicules à contenu dense, constituant un reticulum vésiculeux golgien ; ces vésicules seront à l'origine du filament polaire proprement dit. Il est donc possible que la zone centrale dense du filament provienne de la condensation du contenu de ces vésicules. D'après WEIDNER, chez Nosema sp., le filament polaire aurait

une double origine : condensation de matériel dense dans des saccules golgiens et enveloppement de ce matériel par du reticulum endoplasmique; le matériel central dense du filament apparaît dans des saccules cytoplasmiques du jeune sporoblaste ; puis une membrane interne encercle ce matériel et une membrane externe élaborée à partir du reticulum endoplasmique enveloppe le tout.

Chez Nosema vivieri nous n'avons jamais observé de relation entre la membrane externe et le reticulum endoplasmique (comme chez Nosema sp. (WEIDNER, 1970). SZOLLOSI chez Pleistophora sp. décrit le filament polaire comme se formant à partir d'un complexe golgien archaïque qui proviendrait du reticulum endoplasmique hypertrophié dont les membranes parallèles "s'interconnectent" tandis que du matériel dense apparaît dans leur lumière. YOUSSEF et HAMMOND pensent également que le filament polaire de Nosema apis a une double origine : golgienne et ergastoplasmique. D'après les observations de JENSEN et WELLINGS le filament polaire de Glugea stephani serait formé à partir de matériel nucléaire et de produits de sécrétion des cisternes périnucléaires, du reticulum endoplasmique et du complexe golgien. D'après ces auteurs, le filament polaire se différencie en 3 séquences : la base du filament, (c'est-à-dire la partie qui se raccordera au sac polaire), apparaît en premier, issu d'un corps dense d'origine nucléaire. Puis la partie antérieure du filament se forme à partir de matériel dense localisé dans des cisternes périnucléaires et dans du reticulum endoplasmique. Ces 2 parties du filament progressent l'une vers l'autre et fusionnent, et la partie postérieure du filament polaire s'élabore à partir de la région postérieure du complexe golgien, dont la région antérieure serait à l'origine du sac polaire. Il résulte donc de ces travaux que la formation du filament polaire est un phénomène très complexe dont le rôle principal est certainement tenu par le complexe golgien.

A sa formation, le filament polaire de Nosema vivieri a un diamètre d'environ 1 100 à 1 200 Å, alors que dans la spore ce diamètre n'est plus que de 1 000 Å. De même dans la spore, ce filament n'est limité que par une seule membrane unitaire comme chez les autres Microsporidies. Or nous avons vu qu'en se différenciant, la zone externe du filament était constituée de 2 membranes. Il semble donc que le filament

perde une membrane (la plus externe), lors de la transformation du sporoblaste en spore. Ceci pourrait expliquer la diminution de diamètre du filament dans la spore. Il faut noter que la "partie" de cette membrane externe se situerait au moment où le polaroplaste lamellaire se forme ; en effet dès que celui-ci est formé, le filament polaire possède sa structure définitive, c'est-à-dire celle qu'il aura dans la spore. De même la grande vacuole initiale semble avoir disparu ou s'être résorbée. Il n'est donc pas impossible de penser, à titre d'hypothèse, que le système membranaire du polaroplaste lamellaire provienne du système membranaire externe du filament et de cette grande vacuole initiale. De même, VAVRA (1968), SPRAGUE et VERNICK (1969), pensent que l'arrangement du polaroplaste lamellaire serait associé à la synthèse du filament polaire. D'après WEIDNER (1970), le polaroplaste serait une élaboration du reticulum endoplasmique ; les travaux de MAURAND (1966), LOM et CORLISS (1967), SPRAGUE et coll. (1968, 1969), COSTE-MATHIEZ et MANIER (1968) vont également dans ce sens. Chez Nosema vivieri nous n'avons jamais observé de relation entre reticulum endoplasmique et polaroplaste lamellaire, la mise en place de ce dernier étant très rapide. D'après SZOLLOSI (1970), le polaroplaste lamellaire représente les restes "réorganisés" du complexe membranaire golgien, de même pour JENSEN et WELLINGS (1972) il se formerait à partir de la région antérieure du complexe golgien.

c) La vacuole postérieure

A l'extrémité postérieure de la spore se trouve une inclusion dense, la "vacuole postérieure" déjà observée chez d'autres Microsporidies. Elle serait l'équivalent de ce que SPRAGUE (1969) a dénommé "Inclusion body" chez Nosema sp., ou de la "Posterior vesicle" décrite par ISHIHARA (1968) chez Nosema bombycis. SCHUBERT (1969) chez Heterosporis finki parle également d'une vacuole postérieure, peu dense, non délimitée par une membrane et contenant du matériel dégénéré. Cependant chez Nosema vivieri cette vacuole, dans la spore est entourée, comme le filament, d'une membrane unitaire. Il ne nous est pas possible de préciser si elle est en relation ou non avec le filament ; mais si cela était, elle pourrait alors jouer un rôle dans l'extrusion de ce filament polaire. C'est pourquoi il serait très intéressant de connaître exactement la structure de l'extrémité du filament polaire dans la spore.

3) La spore

Il apparaît, d'après les travaux déjà effectués sur différentes espèces de Microsporidies, que la spore présente une grande homogénéité de structure. La paroi est donc constituée de la membrane cytoplasmique, et d'une zone dense externe séparées par une zone claire. L'intérieur de la spore peut être divisé en 2 régions : une région antérieure comprenant le sac polaire avec le système "d'ancrage" du filament, le polaroplaste lamellaire englobant le polaroplaste vésiculaire, et une région postérieure où le filament polaire s'enroule en spirale autour du noyau et du cytoplasme riche en ribosomes et membranes ergastoplasmiques. En moyenne la région antérieure occupe un tiers de la spore et la postérieure les deux autres tiers. Le rôle du polaroplaste lamellaire n'est pas défini ; peut-être sert-il de charpente au filament polaire, ou plus vraisemblablement, comme l'ont déjà suggéré LOM et VAVRA (1963), joue-t-il un rôle plus actif dans l'évagination du filament polaire : en effet ces auteurs ont observé un gonflement du polaroplaste avant l'extrusion du filament. Ce gonflement pourrait provoquer une augmentation de pression dans la spore et amorcer ainsi la sortie du filament polaire.

Il est également intéressant de noter la possibilité de trouver à côté des spores normales, des spores beaucoup plus allongées mais gardant la structure classique. SPRAGUE (1968) avait également signalé chez la Nosema sp. du crabe Callinectes sapidus la présence de spores bacilliformes d'origine inconnue. Nous ne pouvons donner une explication à ce phénomène qui avait déjà été signalé chez d'autres Microsporidies. Il est peu probable qu'il s'agisse là d'une autre espèce et chez Thelohania ovata et Plistophora ehrenbaumi, les auteurs pensent que le polymorphisme des spores est en rapport avec une différenciation plus ou moins précoce des sporoblastes dans le pansporoblaste : en effet les pansporoblastes tétra-sporés donnent de plus grandes spores que les pansporoblastes octosporés ou polysporés. De même chez Perezia lankesteriae, LEGER et DUBOSCQ ont observé certaines grandes spores très allongées qui seraient l'unique produit d'un pansporoblaste et auraient la valeur de 2 spores. Cette interprétation n'est plus valable ici, chaque sporoblaste ne donnant qu'une seule spore. Chez Glugea danilewskyi et Plistophora bufonis, selon GUYENOT et coll. il y aurait une double sporogénèse, l'une macronucléée, l'autre

micronucléée, cette dernière étant de nature parthénogénétique ; mais tout cela n'est pas sûr. Il apparaît cependant que toutes ces grandes spores allongées ne sont pas le résultat normal de la sporogénèse et peuvent être considérées comme accidentelles.

4) Le cycle

Tel que nous venons de le décrire, le cycle de la *Microsporidie Nosema vivieri* n. sp., comme les autres espèces connues, comporte 2 phases : une phase végétative avec multiplication schizogonique et une phase sporogonique avec la formation de la spore.

La transmission du parasite se fait par l'intermédiaire des spores vraisemblablement libérées à la mort de l'hôte. Le filament polaire de ces spores, pour une raison inconnue (le pH alcalin du liquide environnant selon ISHIHARA, 1967) peut se dévagner (phénomène rapide et brutal) et transpercer la paroi d'un hôte éventuel se trouvant à proximité ; par le tube creux qu'il constitue alors, la masse cytoplasmique et le noyau de la spore sont "injectés" dans un nouvel individu (OHSHIMA, 1937 ; WEST, 1960 ; LOM et VAVRA, 1963 ; ISHIHARA, 1968, LOM, 1971). Ainsi le développement débute avec la forme uninucléée dénommée par les anciens auteurs "germe amoéboïde". Quant aux phénomènes de la sexualité et de la réduction chromatique, ils ont donné lieu, en microscopie photonique, à de nombreuses controverses et leur existence n'est toujours pas établie ; de même la microscopie électronique, n'a pas encore permis d'observer des images pouvant suggérer de tels processus. De nombreux problèmes restent donc à résoudre.

RESUME ET CONCLUSION

L'étude que nous avons entreprise nous a permis d'étudier à la fois un parasite de Nemerte : la Grégarine Lecudina linei n. sp., et un hyperparasite hébergé par cette dernière : la Microsporidie Nosema vivieri (V. D. et P.).

Dans son ensemble, le cycle de Lecudina linei n. sp. paraît conforme à celui donné par SCHREVEL (1969) à propos du genre Lecudina MINGAZZINI (1891), genre qui jusqu'alors n'était décrit que chez des Annélides Polychètes. Cet auteur ne signale cependant que 2 formes chez les trophozoïtes : massive ou allongée alors que l'espèce étudiée ici présente plutôt une morphologie intermédiaire. Nous avons retrouvé chez celle-ci, les caractères généraux des Grégarines et avons constaté que sa structure diffère peu de celle des autres Lecudinidae déjà connues. Mais parmi les caractères originaux, il faut signaler :

- Le mucron qui, observé au microscope électronique à balayage, a la forme d'une sphère à paroi non différenciée en plis épicytaires, séparée de la zone antérieure du trophozoïte par un étranglement.



- La zone antérieure du trophozoïte est limitée par une paroi différenciée en plis épicytaires légèrement dilatés dont le cytoplasme peut contenir quelques granules denses. Le cytoplasme de cette zone, où il y a absence de différenciation entre ectoplasme et endoplasme est très riche en dictyosomes.

- La structure du "corps" de la Grégarine est caractérisée, à la limite ectoplasme-endoplasme, par la disposition périphérique de vacuoles sous-corticales.

- La torsion affectant l'extrémité postérieure de la Grégarine a pu être décelée grâce à la microscopie électronique à balayage.

Cette Grégarine, dont le trophozoïte est constitué d'un seul segment à région antérieure différenciée en mucron servant à la fixation et à la nutrition, est donc une Monocystidée véritable. L'observation au microscope électronique à balayage a également montré que les plis sont animés de mouvements ondulatoires, même chez un individu fixé, mouvements dont il faut probablement voir l'origine dans le système fibrillaire existant au sommet des plis. Ceci confirme l'hypothèse émise par

VIVIER (1968) : chez les trophozoïtes libres, ce sont les ondulations des plis épicytaires qui sont responsables du déplacement des Lecudinidae.

La Grégarine Lecudina linei n. sp. peut-être elle-même parasitée par la Microsporidie Nosema vivieri dont nous avons pu étudier le développement et l'ultrastructure qui présentent quelques caractères originaux.

- Les stades végétatifs (schizontes), intracytoplasmiques, sont en contact direct avec le cytoplasme de la Grégarine. Le noyau est toujours en position excentrique et leur cytoplasme est dépourvu de mitochondries et d'inclusions de réserves. Au cours de la division, il y a persistance de l'enveloppe nucléaire, ce qui rappelle la division de type pleuromitose acentriolaire (cryptomitose, HOLLANDE 1972).

- Ces schizontes qui se divisent plusieurs fois, donnent naissance à des groupes d'individus (sporoblastes) parfois disposés en "rosette" et, pendant la transformation sporoblastique, semble régner un synchronisme entre tous les individus d'un même groupe ou d'une "rosette".

- Chaque sporoblaste évolue en une seule spore. C'est à ce stade que se différencie le filament polaire. Celui-ci est formé par coalescence de petites vésicules d'origine "golgienne" et apparaît à partir d'une grande vésicule située contre le noyau. Il est composé de 3 zones concentriques : une zone externe (240 Å) limitée de chaque côté par une membrane unitaire, une zone claire (150 Å) vers le centre, et au milieu, un axe opaque aux électrons (400 Å). Au cours de la maturation de ce filament, le sac polaire, issu de la vésicule périnucléaire, migre vers le pôle opposé du sporoblaste ; c'est alors que se différencie le polaroplaste lamellaire.

- Dans la spore mature, le filament polaire n'est plus limité que par une seule membrane unitaire qui pourrait être en relation avec la vacuole postérieure apparue en fin de sporogénèse. Si généralement, les spores de forme ovoïde mesurent environ 2,7 μ sur 1,2 μ , il est parfois possible d'observer des spores bacilliformes de 6 μ sur 0,7 μ (= macrospores).

Il semble que la présence, dans le cytoplasme de la Grégarine-hôte, d'un grand nombre de vésicules à structure très filamenteuse qui réagissent positivement au test de Thiery, soit liée à l'hyperparasitisme.

Mais si nous avons pu mettre en évidence la structure particulière de ce Protozoaire et établir l'origine et la formation du filament polaire, de nombreux problèmes se posent encore : ainsi, l'origine du polaroplaste lamellaire, le mode de nutrition de ce parasite, le processus d'infestation et d'extrusion du filament polaire, les relations hôte-parasite, sont peu ou mal connus. Nous espérons qu'une étude plus approfondie de cette espèce ou d'autres voisines, permettra de répondre à quelques-unes de ces questions.

En résumé, cette Microsporidie se présente à tous ses stades comme un élément uninucléé, y compris la spore. Dans ses grandes lignes, l'ultrastructure cellulaire de ce parasite correspond à celle qui a été déjà aperçue chez d'autres Microsporidies, mais en plus son étude a révélé avec une particulière netteté divers faits originaux intervenant dans la multiplication (division cellulaire et évolution nucléaire) et dans l'organitogenèse des structures de la spore (sac et filament polaire en particulier).

Le problème essentiel qui apparaît au sujet de cet hyperparasite concerne la détermination générique car il touche à la fois le cycle et la cytologie. En effet la détermination des Microsporidies était basée sur des critères établis à partir de la microscopie photonique, lesquels ont été complètement bouleversés par les apports de la microscopie électronique, si bien qu'aujourd'hui, les critères relatifs au cycle et ceux relatifs à la structure des différents stades ne sont pas toujours concordants ; et il semble que ce soit le cas pour les Microsporidies qui peuvent s'incorporer au genre Nosema. Par ailleurs, les observations ultrastructurales sur les Microsporidies sont encore très insuffisamment avancées pour permettre d'avoir une vue nette et claire des éléments à prendre en considération. Dans le cas de la Microsporidie étudiée ici, les caractères ultrastructuraux que nous avons établis ne sont pas, sur quelques points, en accord avec certaines observations d'autres auteurs au sujet du genre Nosema. Néanmoins en absence de données comparatives étendues et valables, il nous semble prudent de conserver, au moins à titre provisoire, un tel nom de genre pour l'hyperparasite de Lecudina linei, ceci dans l'attente de données équivalentes sur les autres genres et espèces de Microsporidies.

Cette analyse du développement d'une Microsporidie laisse donc en suspens de nombreux problèmes qu'une étude morphologique seule ne peut résoudre. Mais elle constitue cependant la base nécessaire pour aborder l'étude de certains phénomènes biologiques importants et apporter ainsi, aussi bien du point de vue cytologie générale et comparée (et en même

temps systématique), que physiologie cellulaire, des résultats nouveaux sur ce groupe encore très mal connu des Microsporidies, ainsi que sur les relations avec les cellules-hôtes et les conditions de l'hyperparasitisme.

BIBLIOGRAPHIE

- AKAO S. (1969). - Studies on the ultrastructure of Nosema cuniculi, a microsporidian parasite of rodents.
Jap. J. Parasit., 18, 8-20.
- AWERINZEW S. (1908). - Ueber die Gregarinen aus dem Darne von Amphiporus sp.
Zool. Anz., 33, 685-687.
- AWERINZEW S. (1909). - Studien über parasitische Protozoan. III. Beobachtungen über die Vorgängen der Schizogonie bei gregarinen aus dem Darne von Amphiporus sp.
Arch. f. Protistenk., 16, 71-80.
- BALL G. H. (1969). - Organisms living on and in Protozoa.
In Research in Protozoology, vol. 3, T. T. Chen edit., Pergamon press, 565-718.
- BAUDOIN J. (1969). - Sur l'ultrastructure de la région antérieure de la Grégarine Ancyrophora puytoraci B.
Protistologica, V (3), 431-439.
- BAUDOIN J. (1969). - Nouvelles espèces de Microsporidies chez des larves de Trichoptères.
Protistologica, V (3), 441-446.
- BEAMS H. W. et KESSEL R. G. (1968). - The Golgi Apparatus : Structure and Function.
Int. Rev. Cytol., 23, 209-276.
- 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 (2), 136-146.
- BRASIL L. (1909). - Documents sur quelques Sporozoaires d'Annélides.
Arch. f. Protistenk., 16, 107-142.

BURKE J. M. (1970). - A microsporidian in the epidermis of Eisenia foetida (Oligochaeta).

J. Invertebrate Pathol., 16, 145-147.

CALI A. (1970). - Morphogenesis in the genus Nosema.

3rd Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, College Park, Maryland.

CAULLERY M. et MESNIL F. (1897). - Sur un type nouveau (Metchnikovella n. g.) d'organismes parasites des Grégarines.

C. R. Soc. Biol., 10e série, 4, 960-962.

CAULLERY M. et MESNIL F. (1914). - Sur les Metchnikovellidae et autres Protistes parasites des Grégarines d'Annélides.

C. R. Soc. Biol., 77, 2, 527-532.

CAULLERY M. et MESNIL F. (1919). - Metchnikovellidae et autres protistes parasites des Grégarines d'Annélides.

Ann. Inst. Pasteur, 33e année, 4, 32 p.

CLEVELAND L. R. et GRIMSTONE A. V. (1964). - The fine structure of the flagellate Mixotricha paradoxa and its associated microorganisms.

Proc. Roy. Soc., 3, 159, 668-686.

CODREANU R. (1960). - Electron microscope study on the cytology of a microsporidian spore by means of ultrathin sectioning.

J. Insect. Pathol., 2, 84-105.

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, T. III, fasc. 3, 351-352.

CODREANU R., POPA A. L. et VOICULESCU R. (1965). - Données sur l'ultrastructure des spores de Microsporidies.

Bull. Apicole, 8, 5-16.

CODREANU R. and VAVRA J. (1970). - The structure and ultrastructure of the microsporidian Telomyxa glugeiformis Leger and Hesse 1910, parasite of Ephemera danica (Müll) nymphs.
J. Protozool., 17 (3), 374-384.

CORBEL J. C. (1966). - Contribution à l'étude des Grégarines d'Orthoptères
Thèse, Faculté des Sciences, Paris.

CORBEL J. C. (1967). - Metchnikovella martojai n. sp. (Microsporidie Metchnikovellidae) parasite d'une Grégarine de gryllide.
Protistologica, t. III, fasc. 4, 365-68.

COSTE-MATHIEZ F. et MANIER J. F. (1968). - Nosema orthodadii n. sp. (Microsporidian-Nosematidae) parasite of Orthocladus lignicola larvae (Diptera - Chironomidae).
Bull. Soc. Zool. de France, 93, 1, 127-133.

DANIELS E. D. (1964). - Origin of the Golgi system in amoebae.
Z. Zellf., 64, 38-51.

DAVENPORT R. (1968). - A consideration of the chemical nature of the polaroplast of Nosema sp. in the musculature of Callinectes sapidus.
N R I ref. N° 68-57.

DESPORTES I. (1969). - Ultrastructure et développement des Grégarines du genre Stylocephalus.
Ann. Sci. Nat. Zool., Paris, 12e série, XI, 31-96.

DESPORTES I. (1970). - Ultrastructure des Grégarines du genre Stylocephalus ; la phase enkystée.
Ann. Sci. Nat. Zool., Paris, 12e série, XII, 73-170.

DESPORTES I. et THEODORIDES J. (1969). - Ultrastructure de la Grégarine Callynthrochlamys phronimae Frenzel ; étude comparée de son noyau avec celui de Thalicola salpae (Frenzel) (Eugregarina).
J. Protozool., 16 (3), 449-460.

DEVAUCHELLE G. (1967). - Présence révélée par la microscopie électronique d'inclusions particulières chez deux Grégarines tricystidées.
C. R. Soc. Biol., 161, 2188-2190.

DEVAUCHELLE G. (1968). - Contribution à l'étude du développement de quelques Grégarines Tricystidées.

Thèse 3ème cycle, Faculté des Sciences, Lille.

DEVAUCHELLE G. (1968). - Etude de l'ultrastructure de Gregarina polymorpha (Hamm) en syzygie.

J. Protozool., 15, 629-636.

DEVAUCHELLE G. (1968). - Etude ultrastructurale du développement des Grégarines du Tenebrio molitor L.

Protistologica, T. IV, fasc. 3, 313-332.

DUBREMETZ J. F. (1970). - Contribution à l'étude cytologique et ultrastructurale d'Eimeria necatrix Johnson (1930) (Coccidiomorpha - Eimeriidae) parasite du poulet domestique (Gallus - gallus L.).

D. E. A., Université des Sciences et Techniques de Lille.

DUBREMETZ J. F. (1973). - Etude ultrastructurale de la mitose schizogonique chez la Coccidie Eimeria necatrix (Johnson 1930).

J. U. R. (sous presse).

ERICKSON B. W., J. R., VERNICK S. H. and SPRAGUE V. (1967). - Observations on spores of Glugea sp. using shadow casting and electron microscopy.

Amer. Zool., 7 (4), 777-778.

ERICKSON B. W. JR., VERNICK S. H. and SPRAGUE V. (1968). - Electron microscope study of the everted polar filament of Glugea weissenbergi (Microsporida, Nosematidae).

J. Protozool., 15 (4), 758-761.

FAVARD P. (1969). - The Golgi apparatus.

Dans Handbook of Molecular Cytology, Lima de Faria A., ed., North Holland Publishing Company, Amsterdam, 1130-1155.

GONTCHAROFF M. (1951). - Biologie de la régénération et de la reproduction chez quelques Lineidae de France.

Ann. Sc. Nat. Zool., 13, 149-235.

GRASSE P. P. (1953). - Classe des Grégarinomorphes.

Traité de Zoologie, Masson et Cie, edit., Paris, 1, fasc. 2, 550-690.

GRASSE P. P. (1956). - L'ultrastructure de Pyrsonympha vertens (Zooflagellata Pyrsonymphina). Les flagelles et leur coceptation avec le corps, l'axostyle contractile, le paraxostyle, le cytoplasme.
Arch. Biol., Paris, 67, 595-611.

GRASSE P. P. et THEODORIDES J. (1959). - Recherches sur l'ultrastructure de quelques Grégarines.
Ann. Sci. Nat. Zool., 12e série, 1, 237-252.

HESSE E. (1909). - Contribution à l'étude des Monocystidées des Oligochètes.
Arch. Zool. exp. gen., 43, 27-301.

HILDEBRAND H. F. (1972). - Contribution à l'étude de l'ultrastructure et du mécanisme de la contraction de la Grégarine Didymophyes gigantea Stein, parasite intestinal de la larve du Scarabeide Oryctes nasicornis L.
Thèse 3e cycle, Université des Sciences et Techniques de Lille.

HILDEBRAND H. et VIVIER E. (1971). - Observations ultrastructurales sur le sporoblaste de Metchnikovella wohlfarthi n. sp. (Microsporidies), parasite de la Grégarine Lecudina tuzetae.
Protistologica, t. VII, fasc. 1, 131-139.

HOLLANDE A. (1972). - Le déroulement de la cryptomitose et les modalités de la ségrégation des chromatides dans quelques groupes de Protozoaires.
Ann. Biol., T. XI, fasc. 9-10, 427-466.

HUBERT M. (1971). - Sur la présence de Microsporidies chez Cylindroillus tentonicus (Pocock) (Myriapode - Diplopode).
Bull. Soc. Zool. de France, 96, 4, 495-499.

HUGER A. (1960). - Electron microscope study on the cytology of a microsporidian spore by means of ultrathin sectioning.
J. Insect. Pathol., 2, 84-105.

HUGER A. (1960). - Elektronenmikroskopische analyse der innenstruktur von mikrosporidiensporen.
Naturwissenschaften, 47, 68-70.

- HUGER A. (1961). - Sporentierchen als insektenfeinde I. Elektronenmikroskopische untersuchungen über bau - und lebensweise der mikrosporidien. Umschau, 9, 270-272.
- ISHIHARA R. (1968). - Some observations on the fine structure of sporoplasm discharged from spores of a microsporidian, Nosema bombycis. J. Invert. Pathol., 12, 245-258.
- ISHIHARA R. (1970). - Fine structure of Nosema bombycis (Microsporidia, Nosematidae), developing in the silkworm Bombyx mori - I. Bull. Coll. Agr. et Vet. Med., Nihon University, 27, 84-91.
- JENSEN H. M. and WELLINGS S. R. (1970). - The formation of the polar filament of a microsporidian parasite. Anat. Rec., 160, 324.
- JENSEN H. M. and WELLINGS S. R. (1972). - Development of the polar filament-polaroplast complex in a microsporidian parasite. J. Protozool., 19 (2), 297-305.
- JOYON L. et MIGNOT J. P. (1969). - Données récentes sur la structure de la cinétide chez les Protozoaires Flagellés. Année Biologique, 8, 1-52.
- KESSEL R. G. (1971). - Origin of the Golgi apparatus in Embryonic cells of the Grasshopper. J. Ultrastructure Research., 34, 260-275.
- KIRBY H. Jr (1941). - Organisms living on and in Protozoa. In Protozoa in Biological Research, Calkins G. N. and Summers F. M. edit., Columbia Univ. Press, 890-1008.
- KRAMER J. P. (1960). - Observations on the emergence of the microsporidian sporoplasm. J. Insect Pathol., 2, 433-439.
- KUDO R. R. (1924). - A biologic and taxonomic study of Microsporidia. Illinois Biol. Monogr., vol. 9, 1-268.

KUDO R. R. et DANIELS E. W. (1963). - An electron microscope study of the spore of a microsporidian, Thelohania californica.

J. Protozool., 10, 112-120.

LEGER L. et DUBOSCQ O. (1909). - Sur une Microsporidie parasite d'une Grégarine.

C. R. Acad. Sci. Paris, T. 138, p. 733-734.

LEGER L. et DUBOSCQ O. (1909). - Perezia lankesteriae n. g. n. sp. Microsporidie parasite de Lankesteria ascidiae (Ray Lank).

Arch. Zool. Exp. Gén., 5e série, vol. 1, Notes et Revue n° 3, p. LXXXIX à XCIII.

LEGER L. et HESSE E. (1922). - Microsporidies bactériiformes et essai de systématique du groupe.

Ibiden, vol. 174, 327-329.

LIU T. P., DARLEY J. J. and DAVIES D. M. (1971). - Preliminary observations on the fine structure of the pansporoblast of Thelohania bracteata Strickland 1913 (Microsporidia, Nosematidae) as revealed by freeze-etching electron microscopy.

J. Protozool., 18 (4), 592-596.

LIU T. P. and DAVIES D. M. (1972). - Organization of frozen-etched Thelohania bracteata Strickland 1913 (Microsporidia, Nosematidae) emphasizing the fine structure of the posterior vacuole.

Parasitology, 64, 341-346.

LOM J. (1972). - On the structure of the extruded Microsporidian polar filament.

Z. Parasitenk., 38, 200-213.

LOM J. and CORLISS J. O. (1967). - Ultrastructural observations on the development of the microsporidian protozoon Plistophora hypnessobryconis Schaperclaus.

J. Protozool., 14 (1), 141-152.

LOM J. et VAVRA J. (1961). - Niektóre wyniki badan nad ultrastruktura spor pasozyta ryb Plistophora hypnessobryconis (Microsporidia).

Wiad. Parazyt., 7, 828-832.

- LOM J. et VAVRA J. (1963). - The mode of sporoplasm extrusion in microsporidian spores.
Acta Protozool., 1, 81-90.
- LOUBES C. et BOUIX G. (1970). - Recherches cytologiques et cytochimiques sur le genre Diplocystis Kunstler 1892 (Eugregarina Diplocystidae).
Bull. Soc. Zool. Fr., 95, N° 4, 837-46
- LOUBES Cl., 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. Ultrastructure du céphalin.
Bull. Soc. Zool. de France, 96 (4), 519-30.
- MACGREGOR H. C. et THOMASSON P. A. (1965). - The fine structure of two archigregarines, Selenidium fallax and Ditrypanocystis cirrulati.
J. Protozool., 12 (3), 438-443.
- MARSZALEK D. S. et SMALL E. B. (1969). - Preparation of soft biological specimens for scanning electron microscopy. Scanning Electron Microscopy (1969).
Proc. 2nd An. Scanning Electron Microscope Symposium. II T Res. Inst., Chicago, Ill., U. S. A.
- MAURAND J. (1966): - Plistophora simulii (Lutz et Splendore 1904), Microsporidie parasite des larves de Simulium: cycle, ultrastructure, ses rapports avec Thelohania bracteata (Strickland, 1913).
Bulletin de la Société Zoologique de France, tome 91, n° 4, p. 621.
- MAURAND J., FIZE A., FENWICK B. et MICHEL R. (1971). - Etude au microscope électronique de Nosema infirmum Kudo 1921, Microsporidie parasite d'un copépode cyclopoïde; création du genre nouveau Tuzetia à propos de cette espèce.
Protistologica, t. VII, fasc. 2, 221-225.
- MERCIER C., SCHREVEL J. et STARK J. R. (1972). - The storage polysaccharide (paraglycogen) of the Gregarine Gregarina blaberae: cytology and biochemistry.
Comp. Bioch. and Phys. (sous presse).
- MIGNOT J. P. (1966). - Structure et ultrastructure de quelques Euglenomonadines.
Protistologica, 2, 51-117.

- MILNER R. J. (1972). - Nosema whitei, a microsporidian pathogen of some species of Tribolium. II - Ultrastructure.
J. Invert. Pathol., 19 (2), 239-247.
- MINGAZZINI P. (1891). - Gregarine monocistidae nuove o poco conosciute, de Golfo di Napoli.
Rend. Acad. Lincei, 4, 467-474.
- MINGAZZINI P. (1893). - Contributo alla conoscenza degli Sporozoi.
Ric. Lab. Anab. Norm. Univ. Roma, 3, 31-35.
- MONTGOMERY T. H. (1898). - Comparative cytological studies with especial regard to the morphology of the nucleolus.
J. Morphology, 15, 265-582.
- ORMIERES R. (1972). - Etude ultrastructurale des Lankesteria, Eugrégarines parasites de Tuniciers. Comparaison avec les "Lankesteria" parasites de Diptères.
C. R. Acad. Sc. Paris, 274, 3254-57.
- ORMIERES R. et DAUMAL J. (1970). - Etude ultrastructurale de la partie antérieure d'Epicavus araecoceri Ormières et Daumal, Eugrégarine parasite du Coléoptère Anthribidae araecerus fasciculatus de Geer.
Protistologica, T. VI, fasc. 1, 97-111.
- OSHIMA A. (1966). - Emergence mechanics of sporoplasma from the spore of Nosema bombycis and the action of filament during evagination.
Jap. J. Zool., 15, 203-220.
- OSHIMA A. (1966). - On morphological and physical matter of the filament and spore membrane of Nosema bombycis.
Jap. J. Zool., 15, 183-202.
- OSHIMA K. (1970). - On the autogamy of nuclei and the spore formation of Nosema bombycis.
3rd Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, College Park, Maryland.
- PARDUCZ B. (1966). - Ciliary movement and coordination in ciliates.
Int. Rev. Cytol., 211, 91-127.

- PETRI M. and SCHIDT T. (1966). - On the ultrastructure of Nosema cuniculi in the cells of Yoshida rat ascites sarcoma.
Acta Pathol. Microbiol. Scandinav., 66, 437-446.
- POISSON R. (1953). - Ordre des Microsporidies.
Traité de Zoologie, Masson et Cie, edit., Paris, 1, fasc. 2, 1042-1070.
- POPA A., CODREANU R., VOIGULESCU R., JONESCU M., PETROVICI A.,
SERBAN M. et CRISAN J. (1967). - Contribution à l'étude de l'ultrastructure des spores de Nosema apis Z.
Bull. Apicole 9, 5-8.
- PORCHET-HENNERE E. (1967). - Etude des premiers stades de développement de la Coccidie Coelotropha durchoni.
Zeitsch. f. Zellf., 80, 556-569.
- PORCHET-HENNERE E. (1969). - Observations sur la cytologie, l'ultrastructure et la physiologie de quelques Coccidies parasites d'Annélides polychètes.
Thèse, Faculté des Sciences, Lille.
- PRENSIER G. (1970). - Premières observations ultrastructurales sur la formation des sporozoïtes à partir du sporoblaste chez Diplauxis hattii.
C. R. Acad. Sci. Paris, 270, 100-103.
- PRENSIER G. (1970). - Structure de la paroi du sporoblaste et origine du complexe membranaire interne du sporozoïte de Diplauxis hattii, (Grégarine Monocystidée) démontrées par la microscopie électronique.
C. R. Acad. Sci. Paris, 271, 2329-2331.
- PRENSIER G. (1971). - Contribution à l'étude ultrastructurale des différents stades du cycle de Diplauxis hattii (Grégarine Monocystidée) parasite de Perinereis cultrifera Grube.
Thèse 3ème cycle, Faculté des Sciences, Lille.
- PRENSIER G. et VINCKIER D. (1970). - Premières observations sur quelques Sporozoaires au microscope électronique à balayage.
IXe Réunion Annuelle des Protistologues de langue française.

PUYTORAC P. De (1961). - L'ultrastructure du filament polaire invaginé de la Microsporidie Mrazekia lumbriculi Jirovec, 1936.

C. R. Acad. Sc., 253, 2600-2602.

PUYTORAC P. De (1962). - Observations sur l'ultrastructure de la Microsporidie Mrazekia lumbriculi Jirovec.

J. Microscopie, 1, 39-46.

REGER J. F. (1967). - The fine structure of the gregarine Pyxinoides balani parasitic in the barnacle Balanus tintinnabulum.

J. Protozool., 14 (3), 488-497.

REGER J. F., BARNETTE A. et POGER M. P. (1967). - Observations on an unusual membrane complex found in gregarines in the barnacle Balanus tintinnabulum.

J. Ultrastruct. Res., 18, 422-427.

RICHARDS C. S. et SHEFFIELD H. G. (1970). - Unique host relations and ultrastructure of a new microsporidian of the genus Coccospora infecting Biomphalaria glabrata.

3rd Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, College Park, Maryland.

RYLEY J. F., BENTLEY H., MANNERS D. J. et STARK J. R. (1969). - Amylopectin, the storage polysaccharide of the Coccidia Eimeria brunetti and E. tenella.

J. Parasitol., 55, 839-845.

SCHNEIDER A. (1875). - Contribution à l'étude des Grégarines des Invertébrés de Paris et de Roscoff.

Arch. Zool. Exp., IV, 493-604.

SCHOLTYSECK E. et DANEEL R. (1962). - Ueber die Feinstruktur der Spore von Nosema apis.

Deutsch. Entomol. Ztschrift, 9, 471-476.

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 (3), 391-410.

SCHREVEL J. (1969). - Recherches sur le cycle des Lecudinidae, Grégarines parasites d'Annélides Polychètes.

Protistologica, T. V, fasc. 4, 561-588.

SCHREVEL J. (1969). - Biologie, Cytologie, Physiologie des Grégarines parasites d'Annélides Polychètes.

Thèse Faculté des Sciences, Lille.

SCHREVEL J. (1969). - Etude ultrastructurale et cytochimique du paraglycogène, réserve glucidique des Sporozoaires.

J. Microscopie, 8, 83 a.

SCHREVEL J. (1970). - Etude de cytochimie ultrastructurale sur les polysaccharides des Grégarines.

2e Congrès International de Parasitologie, Washington, J. Parasitology, 56, 308-309.

SCHREVEL J. (1970). - Recherches ultrastructurales et cytochimiques sur le paraglycogène réserve glucidique des Grégarines et Coccidies.

J. Microscopie, 9, 593-610.

SCHREVEL J. (1971). - Observations biologiques et ultrastructurales sur les Selenidiidae et leurs conséquences sur la systématique des Gregarinomorphes.

J. Protozool., 18 (3), 448-470.

SCHREVEL J. (1971). - Facteurs contrôlant la reproduction des Grégarines. Etude de l'enkystement de la Grégarine intestinale, Lecudina tuzetae schr., parasite de Nereis diversicolor O. F. Müller (Annélide Polychète).

Protistologica, T. VII, fasc. 4, 439-450.

SCHREVEL J. (1971). - Contribution à l'étude des Selenidiidae parasites d'Annélides polychètes. II. - Ultrastructure de quelques trophozoïtes.

Protistologica, T. VII, fasc. 1, 101-130.

SCHREVEL J. (1971). - Les polysaccharides de réserve chez les Sporozoaires. Ann. Biol., T. X, Fasc. 1-2, 32-51.

SCHREVEL J. (1972). - Les polysaccharides associés à la surface cellulaire des Grégarines (Protozoaires parasites). I - Ultrastructure et Cytochimie.

J. Microscopie, 15 (1), 21-40.

SCHREVEL J. et VIVIER E. (1965). - Aspects ultrastructuraux et cytochimiques du mucron et de l'épimérite de quelques Grégarines parasites d'Annélides Polychètes.

Progress in Protozoology, Second International Conference of Protozoology, London, 147-148.

SCHREVEL J. et VIVIER E. (1966). - Etude de l'ultrastructure et du rôle de la région antérieure (mucron et épimérite) de Grégarines parasites d'Annélides Polychètes.

Protistologica, T. II, fasc. 3, 17-28.

SCHUBERT G. (1969). - Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Sporoten- und Sporentwicklung der Mikrosporidienart Heterosporis finki.

Z. Parasitenk., 32, 80-92.

SCHUBERT G. (1969). - Ultracytologische Untersuchungen an der Spore der Mikrosporidienart Heterosporis finki, gen. n., sp. n.

Z. Parasitenk., 32, 59-79.

SMALL E. B. et MARSZALEK D. S. (1969). - Scanning electron microscopy of fixed, frozen and dried Protozoa.

Science, 163, 1064-5.

SPRAGUE V. (1968). - The fine structure of Nosema sp. Sprague, 1965 (Microsporida, Nosematidae) with particular reference to stages in sporogony.

J. Invert. Pathol., 12, 105-117.

SPRAGUE V. (1968). - The golgi complex of Microsporida and its role in spore morphogenesis.

Amer. Zool., 8, 823-824.

SPRAGUE V. (1970). - Taxonomy of Microsporidia.

2nd International Congress of Parasitology.

The Journal of Parasitology, vol. 56, n° 4, August 1970, section II, part I, p. 327.

SPRAGUE V. (1972). - Classification of the Microsporidia.

469th meeting of the Helminthological Society of Washington at College Park (20 Oct. 1972).

- SPRAGUE V., ORMIERES R. and MANIER J. F. (1972). - Creation of a new genus and a new family in the Microsporida.
J. Invertebrate Pathol., 20, 228-231.
- SPRAGUE V. et VERNICK S. H. (1967). - Transformation of the sporoblast into the microsporidian spore.
J. Protozool., 14 (Suppl.), 29.
- SPRAGUE V. et VERNICK S. H. (1968). - The Golgi complex of Microsporidia and its role in spore morphogenesis.
Am. Zool., 8, 4, 824 (abstract n° 405).
- SPRAGUE V. et VERNICK S. H. (1968). - Observations on the spores of Pleistophora gigantea (Thélohan, 1895) Swellengrebel, 1911, a Microsporidian parasite of the Fish Crenilabrus melops.
J. Protozool., 15 (4), 662-665.
- SPRAGUE V. et VERNICK S. H. (1968). - Light and electron microscope study of a new species of Glugea (Microsporida, Nosematidae) in the 4-Spined Stickleback Apeltes quadracus.
J. Protozool., 15 (3), 547-571.
- SPRAGUE V. et VERNICK S. H. (1969). - Light and electron microscope observations on Nosema nelsoni Sprague, 1950 (Microsporida, Nosematidae) with particular reference to its golgi complex.
J. Protozool., 16 (2), 264-271.
- SPRAGUE V. and VERNICK S. H. (1971). - The ultrastructure of Encephalitozoon cuniculi (Microsporida, Nosematidae) and its taxonomic significance.
J. Protozool., 18 (4), 560-569.
- STANIER J. E., WOODHOUSE M. A. et GRIFFIN R. L. (1968). - The fine structure of the spore of Nosema spelotremae, a Microsporidian parasite of a Spelotrema metacercaria encysted in the crab Carcinus maenas.
J. Invertebrate Pathol., vol. 12, n° 1, 73-82.
- SZOLLOSI D. (1970). - Development of a microsporidian spore.
Anat. Rec., 166, 387.

SZOLLOSI D. (1971). - Development of Pleistophora sp. (Microsporidian) in eggs of the polychaete Armandia brevis.

J. Invertebrate Pathol., 18, 1-15.

THIERY J. P. (1967). - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique.

J. Microscopie, 6, 987-1018.

THIERY J. P. (1969). - Rôle de l'appareil de Golgi dans la synthèse des mucopolysaccharides. Etude cytochimique. I. - Mise en évidence de mucopolysaccharides dans les vésicules de transition entre l'ergastoplasme et l'appareil de Golgi.

J. Microscopie, 8, 689-708.

TUZET O. et GALANCAU V. (1968). - Ultrastructure des rhizoïdes de la Grégarine Grebnickiella gracilis Bhatia (Pterocephalus nobilis Schneider, Nina gracilis Grebnicki).

C. R. Acad. Sci. Paris, 266, 1401.

TUZET O., MAURAND J., FIZE A., MICHEL R. et FENWICK B. (1971). - Proposition d'un nouveau cadre systématique pour les genres des Microsporidies.

C. R. Acad. Sci. Paris, ser. D, 272, 1268-1271.

VAVRA J. (1965). - Recent contributions to the morphology and development of some Microsporidia.

Progress in Protozoology. Intern. Congr. Ser. 91, Excerpta Medica Foundation, 66-67.

VAVRA J. (1965). - Etude au microscope électronique de la morphologie et du développement de quelques Microsporidies.

C. R. Acad. Sc. Paris, 261, p. 3467-3470.

VAVRA J. (1968). - The fine structure of the mucus coating of microsporidian spores.

J. Protozool., 15 (Suppl.), 26.

VAVRA J. (1968). - Ultrastructural features of Candospora similii Waiser (Protozoa : Microsporidia).

Folia Parasitol., 15, 1-9.

VAVRA J. (1969). - Lankesteria barretti n. sp. (Eugregarinida, Diplocystidae), a Parasite of the Mosquito Aedes triseriatus (Say) and a review of the genus Lankesteria Mingazzini.

J. Protozool., 16 (3), 546-570.

VAVRA J. (1972). - Detection of polysaccharides in microsporidian spores by means of the periodic acid-thiosemicarbazide-silver proteinate test.

J. Microscopie 14, 357-360.

VAVRA J., JOYON L. et De PUYTORAC P. (1966). - Observations sur l'ultrastructure du filament polaire des Microsporidies.

Protistologica, Tome II, fasc. 2, 109-112.

VAVRA J. et MacLAUGHLIN R. E. (1970). - The fine structure of some developmental stages of Mattesia grandis McLaughlin (Sporozoa, Neogregarinida), a parasite of the Boll Weevil Anthonomus grandis Boheman.

J. Protozool., 17 (3), 483-496.

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 (4), 745-757.

VERNICK S. H., SPRAGUE V. et LLOYD B. J. Jr. (1969). - Further observations on the fine structure of the spores of Glugea weissenbergi (Microsporida, Nosematidae).

J. Protozool., 16 (1), 50-53.

VINCKIER D. (1969). - Organisation ultrastructurale corticale de quelques Monocystidées parasites du ver Oligochète Lumbricus terrestris L.

Protistologica, T. V, fasc. 4, 505-517.

VINCKIER D., DEVAUCHELLE G. et PRENSIER G. (1970). - Nosema vivieri n. sp. (Microsporidae, Nosematidae) hyperparasite d'une Grégarine vivant dans l'intestin d'un Némerte.

C. R. Acad. Sc. Paris, 270, 821-823.

VINCKIER D., DEVAUCHELLE G. et PRENSIER G. (1971). - Etude ultrastructurale du développement de la Microsporidie Nosema vivieri (V. D. et P., 1970).

Protistologica, T. VII, fasc. 2, 273-287.

VINCKIER D. et VIVIER E. (1968). - Organisation ultrastructurale corticale de la Grégarine Monocystis herculea.

C. R. Acad. Sc. Paris, 266, 1737-1739.

VIVIER E. (1965). - Etude, au microscope électronique, de la spore de Metchnikovella hovassei n. sp. ; appartenance des Metchnikovellidae aux Microsporidies.

C. R. Acad. Sc. Paris, 260, 6982-6984.

VIVIER E. (1965). - Présence de microtubules intranucléaires chez Metchnikovella hovassei Vivier.

J. Microscopie, vol. 4, n° 4, 559-562.

VIVIER E. (1965). - Sur quelques particularités de certains organites cytoplasmiques (Mitochondries et appareil de Golgi).

Coll. Micr. Elect. Marseille, J. Microscopie, 4, 168-169.

VIVIER E. (1966). - Variations ultrastructurales du chondriome en relation avec le mode de vie chez des Protozoaires.

Proc. 6th Intern. Congr. Electr. Microscopy, Kyoto, 2, Biology, Ryozi Uyeda ad., Mazuren Co., Tokvo, 247-8.

VIVIER E. (1966). - Observations ultrastructurales sur la Microsporidie Metchnikovella hovassei Vivier.

J. Protozool., 13, suppl., p. 41.

VIVIER E. (1967). - Observations ultrastructurales sur l'enveloppe nucléaire et ses "pores" chez des Sporozoaires.

J. Microscopie, 6, 371-390.

VIVIER E. (1967). - Contribution des recherches ultrastructurales à la connaissance du mécanisme de la locomotion chez les Grégarines.

J. Microscopie, 6 (4), 87 a.

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. (1973). - Les Microsporidies des Protozoaires.

Dans Biology and Systematics of the Microsporidia (SPRAGUE V. et VAVRA J.),
Academic Press (sous presse).

VIVIER E. et HENNERE E. (1965). - Ultrastructure des stades végétatifs de la
Coccidie Coelotropha durchoni.

Protistologica, T. I, fasc. 1, 89-104.

VIVIER E., HENNERE E. et SCHREVEL J. (1965). - Etude de quelques caractères
ultrastructuraux communs à diverses Grégarines et Coccidies.

2nd Int. Conf. Protozool. London, Research in Protozoology. Excerpta Medica
Congr., série n° 91, 151-152.

VIVIER E. et PETITPREZ A. (1968). - Les ultrastructures superficielles et
leur évolution au niveau de la jonction chez les couples de Diplauxis hatti,
Grégarine parasite de Perinereis cultrifera.

C. R. Acad. Sc. Paris, 266, 491-493.

VIVIER E. et PETITPREZ A. (1968). - Le complexe membranaire superficiel et
son évolution lors de l'élaboration des individus fils chez Toxoplasma gondii.

J. Cell Biol., 43 (2), 329-342.

VIVIER E. et PETITPREZ A. (1969). - Observations ultrastructurales sur
l'hématozoaire Anthemiosoma garnhami et examen des critères morphologiques
utilisables pour la taxonomie chez les Sporozoaires.

Protistologica, T. V, fasc. 3, 363-379.

VIVIER E., PETITPREZ A. et PRENSIER G. (1969). - Recherches sur les polysac-
charides et les lipides chez la Grégarine Diplauxis hatti ; observations en
microscopie électronique.

C. R. Acad. Sci., 268, 1197-1199.

VIVIER E. et SCHREVEL J. (1964). - Etude au microscope électronique d'une
Grégarine du genre Selenidium, parasite de Sabellaria alveolata L.

J. Microscopie, 3, 651-670.

VIVIER E. et SCHREVEL J. (1966). - Les ultrastructures cytoplasmiques de
Selenidium hollandei n. sp. Grégarine parasite de Sabellaria alveolata L.

J. Microscopie, 5, 213-228.

VIVIER E. et SCHREVEL J. (1973). - Etude en microscopie photonique et électronique de différents stades du cycle de Metchnikovella hovassei et observations sur la position systématique des Metchnikovellidae.
Protistologica, T. IX, fasc. 1 (sous presse).

VIVIER E., SCHREVEL J. et HENNERE E. (1964). - L'ultrastructure de la paroi de quelques Sporozoaires, ses rapports avec certains organites cytoplasmiques, son rôle possible dans la nutrition.
Proceedings of the 1st Int. Congress of Parasitology - Tamburini Editore Milano, 290-291.

VIVIER E., DEVAUCHELLE G., PETITPREZ A., PORCHET-HENNERE E., PRENSIER G., SCHREVEL J. et VINCKIER D. (1970). - Observations de cytologie comparée chez les Sporozoaires. I - Les structures superficielles chez les formes végétatives.
Protistologica, T. VI, fasc. 1, 127-150.

WALSH R. D., Jr et CALLAWAY C. S. (1969). - The fine structure of the gregarine Lankesteria culicis parasitic in the yellow fever mosquito Aedes aegypti.
J. Protozool., 16 (3), 536-545.

WARNER F. D. (1968). - The fine structure of Rhynchocystis pilosa (Sporozoa, Eugregarinida).
J. Protozool., 15 (1), 59-73.

WEIDNER E. (1970). - Ultrastructural study of microsporidian development. I - Nosema sp. Sprague 1965 in Callinectes sapidus Rathbun.
Z. Zellforsch., 105, 33-54.

WEISER J. (1959). - Nosema laphygamae n. sp. and the internal structure of the microsporidian spore.
J. Insect. Pathol., 1, 52-59.

WEISER J. (1964). - On the taxonomic position of the genus Encephalitozoon levaditi, Nicolau et Schoen, 1923 (Protozoa : Microsporidia).
Parasitology, 54, 749-751.

WEISSENBERG R. (1970). - Some remarks upon the taxonomy of the genera Glugea and Nosema (Protozoa, Microsporida).

2nd International Congress of Parasitology.

The Journal of Parasitology, vol. 56, n° 4, section II, part I, p. 363.

WILSON P. A. G. et FAIRBAIRN D. (1961). - Biochemistry of sporulation in Oocysts of Eimeria acervulina.

J. Protozool., 8, 410-416.

YOUSSEF N. N. and HAMMOND D. M. (1971). - The fine structure of the developmental stages of the microsporidian Nosema apis Zander.

Tissue and Cell; 3 (2), 283-294.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ DES
SCIENCES ET TECHNIQUES
DE LILLE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE
EN BIOLOGIE CELLULAIRE

par

Daniel VINCKIER

ETUDE DES CYCLES ET DE L'ULTRASTRUCTURE DE

LECUDINA LINEI n. sp. (GREGARINE PARASITE DE NEMERTE)

ET DE SON PARASITE, LA MICROSPORIDIE *NOSEMA VIVIERI* (V.D. et P.)

ANNEXE

(Planches)

LEGENDE

- a : arceaux apicaux.
b : basale.
ba : bourrelet annulaire.
c : caryosome.
c : paroi kystique (coque).
c. e : couche externe }
c. m : couche moyenne } de la paroi kystique
c. i : couche interne }
cd : couche dense (sous l'enveloppe nucléaire).
cm : zone à cytoplasme modifié de la cellule-hôte).
CH : cellule-hôte
da : densifications apicales.
e : ergastoplasme.
ect : ectoplasme.
end : endoplasme.
E : épicyte.
f : flagelle.
ft : fibre tubulaire.
g : goulot (du sporocyste).
g : Golgi.
gd : granule dense.
Lp : inclusion lipidique.
M : organite à structure myélinique.
m : mitochondrie.
me : membrane externe }
mm : membrane moyenne } de la paroi de la Grégarine.
mi : membrane interne }
mi : micropore.
mps : inclusion de type mucopolysaccharidique.
mt : microtubule.
mu : mucron.
N, n : Noyau.
pc : Structure d'allure paracristalline.

.../...

pg : paraglycogène.
pn : pore nucléaire.
ra : région antérieure.
rp : région postérieure
s : sporocyste, spore.
sd : saccule dilaté.
v : vacuole.
vr : vésicule résiduelle.
vs : vésicule ergastoplasmique.
vd : vésicule d'origine golgienne.
zc : zone de contact.

LE CYCLE : OBSERVATIONS SUR LE VIVANT (MICROSCOPE A CONTRASTE
INTERFERENTIEL, SAUF LES FIG. 3, 4, 5, 6, MICROSCOPE A CONTRASTE DE PHASE).

Fig. 1 : Vue d'un jeune trophozoïte. Noter la forme arquée, avec l'extrémité antérieure arrondie et l'extrémité postérieure effilée.
x 300.

Fig. 2 : La région postérieure d'un jeune trophozoïte montrant une "striation" correspondant probablement à un plissement de la paroi.
x 1 200.

Fig. 3, 4, 5 : Trophozoïtes de forme variée.
x 180.
x 180.
x 160.

Fig. 6 : Vue d'un trophozoïte adulte. Noter l'endoplasme granuleux, l'ectoplasme plus clair et le noyau avec un caryosome. Les extrémités sont toujours arrondies pour l'antérieure, plus effilées pour la postérieure.
x 600.

Fig. 7 : Fin de syzygie : les individus accolés se mettent à tourner sur eux-mêmes.
x 250.

Fig. 8, 9, 10, 11 : Fin de syzygie et formation du gamétokyste.
Les gamontes continuent à tourner sur eux-mêmes en s'arrondissant et s'entourent d'une coque de plus en plus épaisse.
x 370.

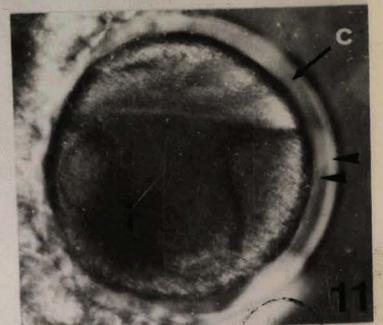
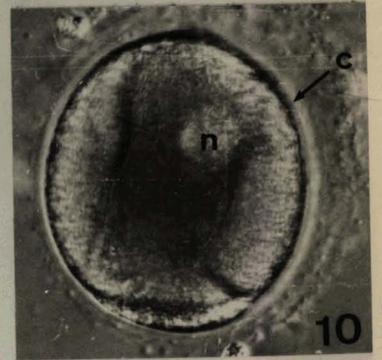
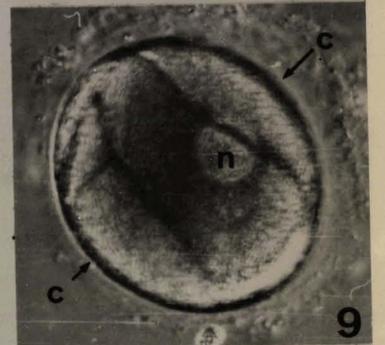
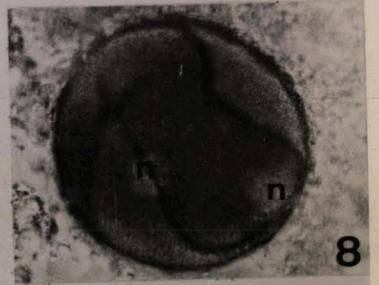
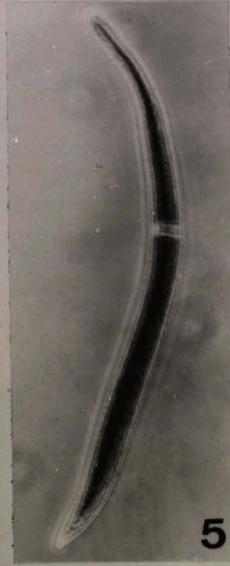
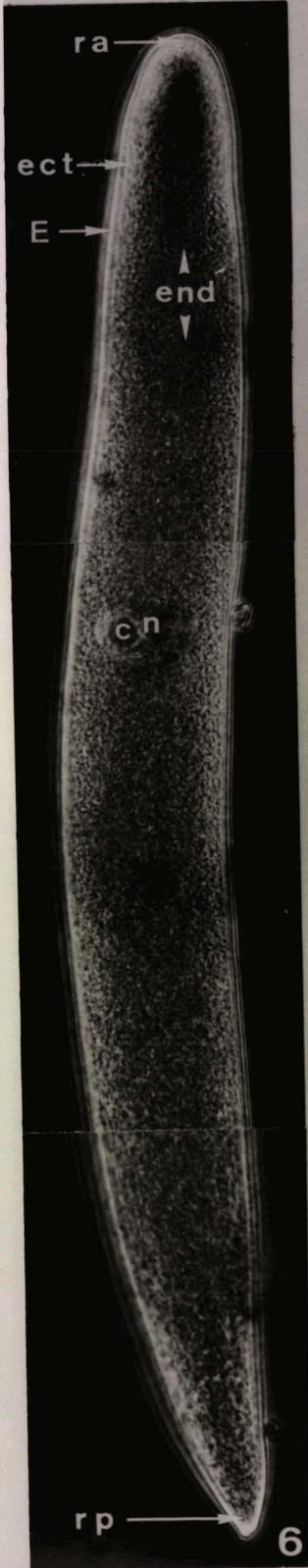
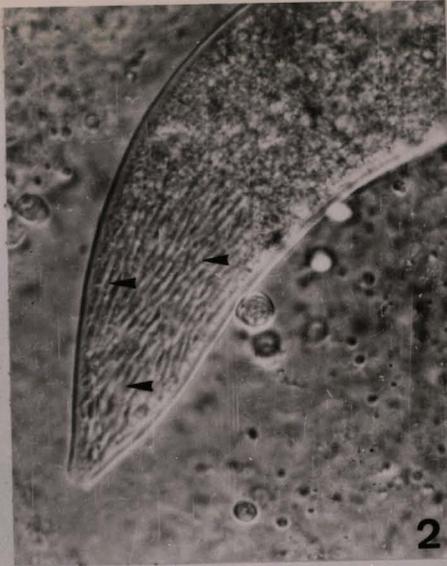


Fig. 12 : Gamétokystes. Les gamontes sont entourés d'une épaisse coque. Le plan de séparation (flèches) des gamontes est bien visible et légèrement incurvé.
x 300.

Fig. 13 : Gamète mâle constitué de 2 parties : région antérieure globuleuse avec rostre (index) et région postérieure conique (flèche) avec son court prolongement flagelliforme.
x 1 400.

Fig. 14 : Gamètes femelles sphériques.
x 1900.

Fig. 15 et 16 : Zygotes
x 1 800.
x 2 200.

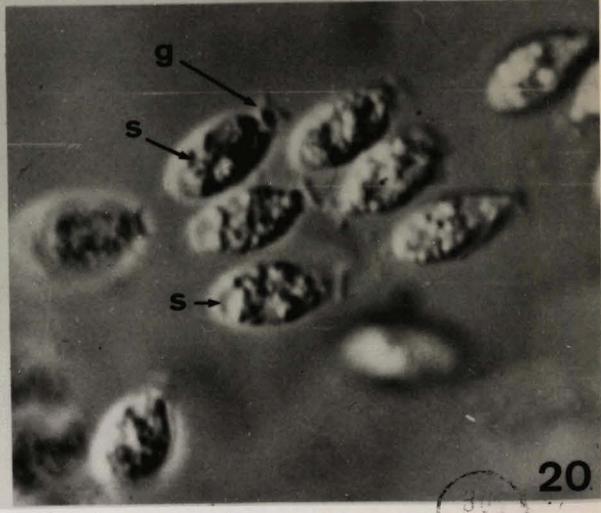
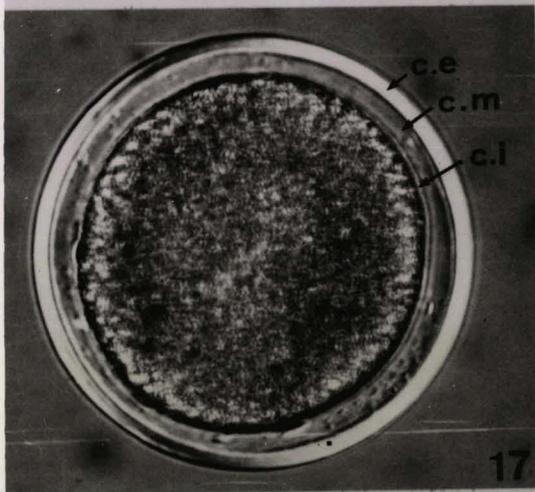
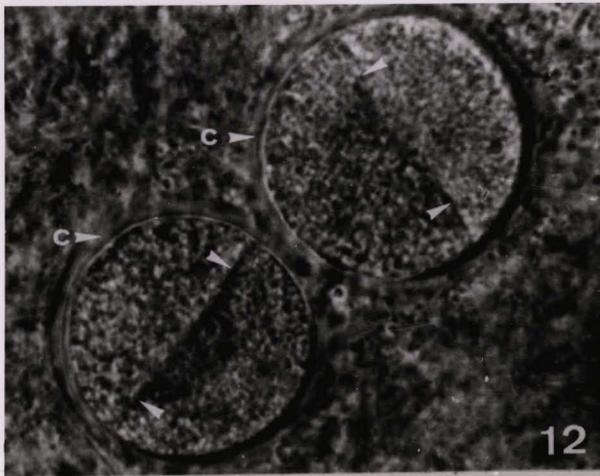
Fig. 17 : Sporokyste. Les 3 couches de la coque kystique sont bien visibles.
x 500.

Fig. 18 : Sporokyste avec sporocystes ovoïdes (flèches).
x 1 400.

Fig. 19 : Sporocystes : début de différenciation d'un goulot à l'un des pôles.
x 1 200.

Fig. 20 : Spores ovoïdes dont l'un des pôles est différencié en goulot.
x 2 400.





30
1952

LE MUCRON ET LA ZONE ANTERIEURE (EPICYTE) (MICROSCOPE ELECTRONIQUE
A BALAYAGE, SAUF FIG. 21 a, MICROSCOPE INTERFERENTIEL et
FIG. 21 b, EN COUPE).

Fig. 21 a : La région antérieure et le mucron observés sur
le vivant. Noter les fines striations de la
région antérieure.
x 900.

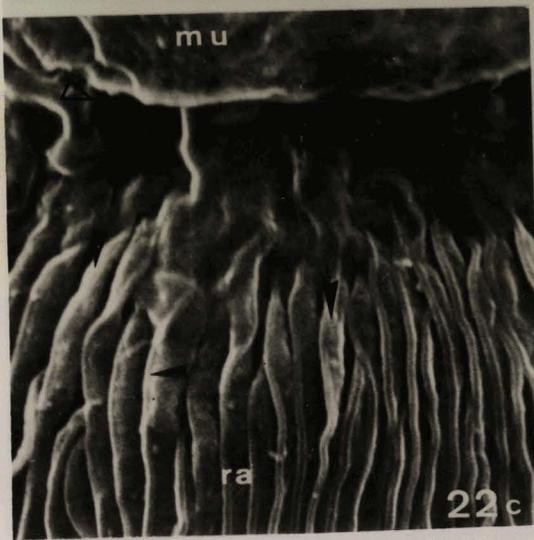
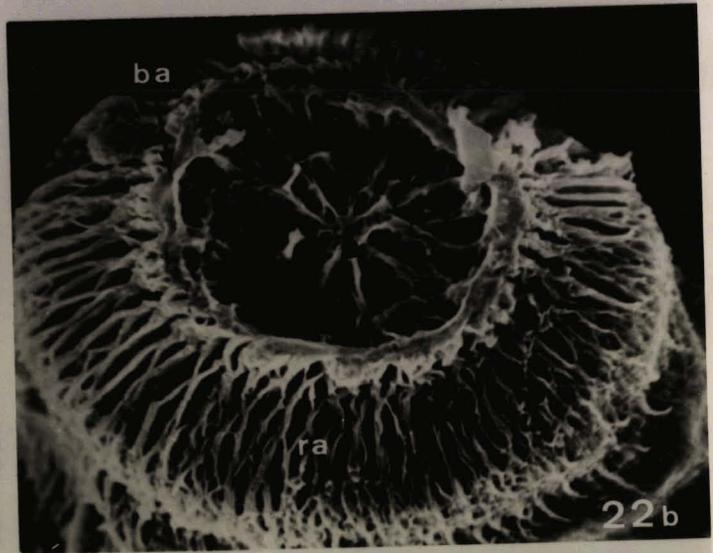
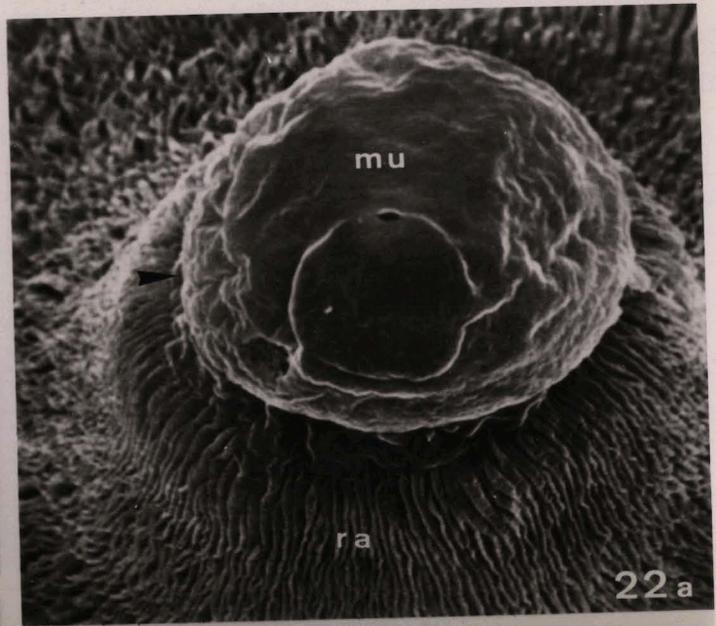
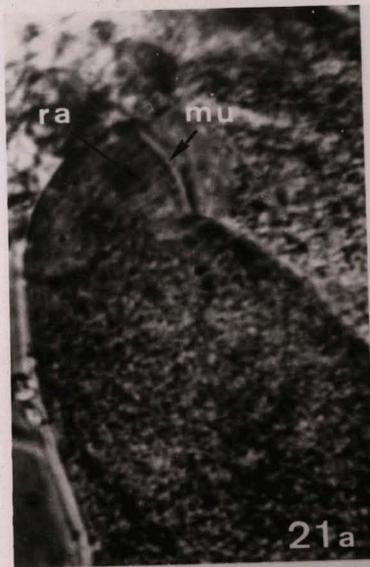
Fig. 21 b : Coupe d'un trophozoïte fixé à l'épithélium
intestinal-hôte. La zone de contact du mucron
est surmonté d'un cône à cytoplasme modifié.
Noter l'aspect clair de la région antérieure
et l'aspect granuleux avec grains de réserves
(flèches) du reste de la Grégarine.
x 750.

Fig. 22 a : Le mucron : de forme grossièrement sphérique,
sa paroi ne présente pas de plis épicytaires.
Sa limite avec la région antérieure est marquée
par un étranglement (flèche).
x 2 900.

Fig. 22 b : La région antérieure : le mucron a été arraché
au niveau de l'étranglement ou bourrelet
annulaire. Noter la structure "alvéolaire" ou
"spongieuse" de cette zone.
x 2 000.

Fig. 22 c : La région antérieure : les plis épicytaires
partent de l'étranglement situé sous le mucron.
Noter la plus grande amplitude des plis à leur
départ (flèches).
x 8 700.

Fig. 22 d : La région antérieure : les plis, plus nombreux
ondulent. On peut parfois observer entre les
plis la sécrétion de "mucus" (flèche).
x 9 600.



L'EPICYTE (MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE)

Fig. 23 : Vue d'ensemble de la région moyenne de la Grégarine.
x 1 600.

Fig. 24 a,b,c,d : La région moyenne du trophozoïte. Noter les mouvements ondulatoires des plis et la sécrétion de "mucus" (flèches) au fond des cuvettes entre les plis.
x 4 500 - x 4 800 - x 10 100 - x 17 500.





SMILE

L'EPICYTE (MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE)

Fig. 24, e, f : La région moyenne du trophozoïte.
Plus on se rapproche de l'extrémité postérieure,
plus les plis se resserrent et les ondulations
s'atténuent.
x 4 800 - x 9 600.

Fig. 25 : La région postérieure du trophozoïte.

- fig. 25 a : Remarquer la torsion de l'extrémité
postérieure effilée.

x 2 800.

- fig. 25 b, c : Les plis très serrés sont groupés
en paquets et seuls quelques-uns
d'entre eux sont encore ondulés.

x 5 100 - x 9 100.

- fig. 25 d : Les plis convergent vers l'extrémité
postérieure, où il n'y a pas
différenciation de papille.

x 22 500.





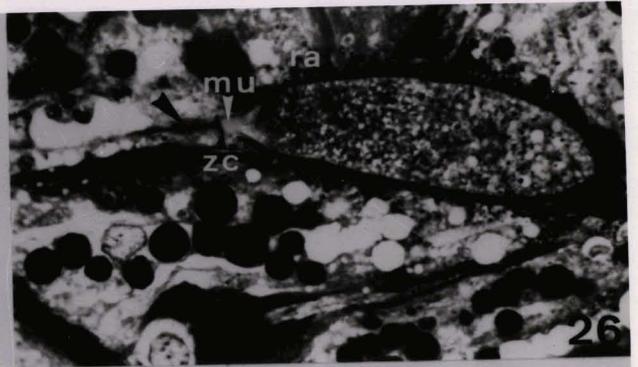
515
LIVE

STRUCTURE D'UN JEUNE TROPHOZOITE FIXE A L'EPITHELIUM INTESTINAL

Fig. 26 : En coupe semi-fine. Noter l'aspect clair du mucron, qui semble se prolonger dans la cellule-hôte par une sorte de "filament".
x 2 100.

Fig. 27 et 28 : Le mucron repousse la membrane de la cellule-hôte sans pénétrer dans celle-ci. Noter l'épaisseur de la zone de contact et l'aspect clair du mucron. Dans la cellule-hôte, au-dessus du mucron, se trouve un amas de fines fibrilles (flèches) avec de part et d'autre, des vésicules résiduelles. Dans le trophozoïte, remarquer surtout les microtubules, les granules denses, les vacuoles et l'absence de paraglycogène. La paroi de la zone antérieure située sous le mucron n'est pas plissée.
x 15 000 - x 12 000.





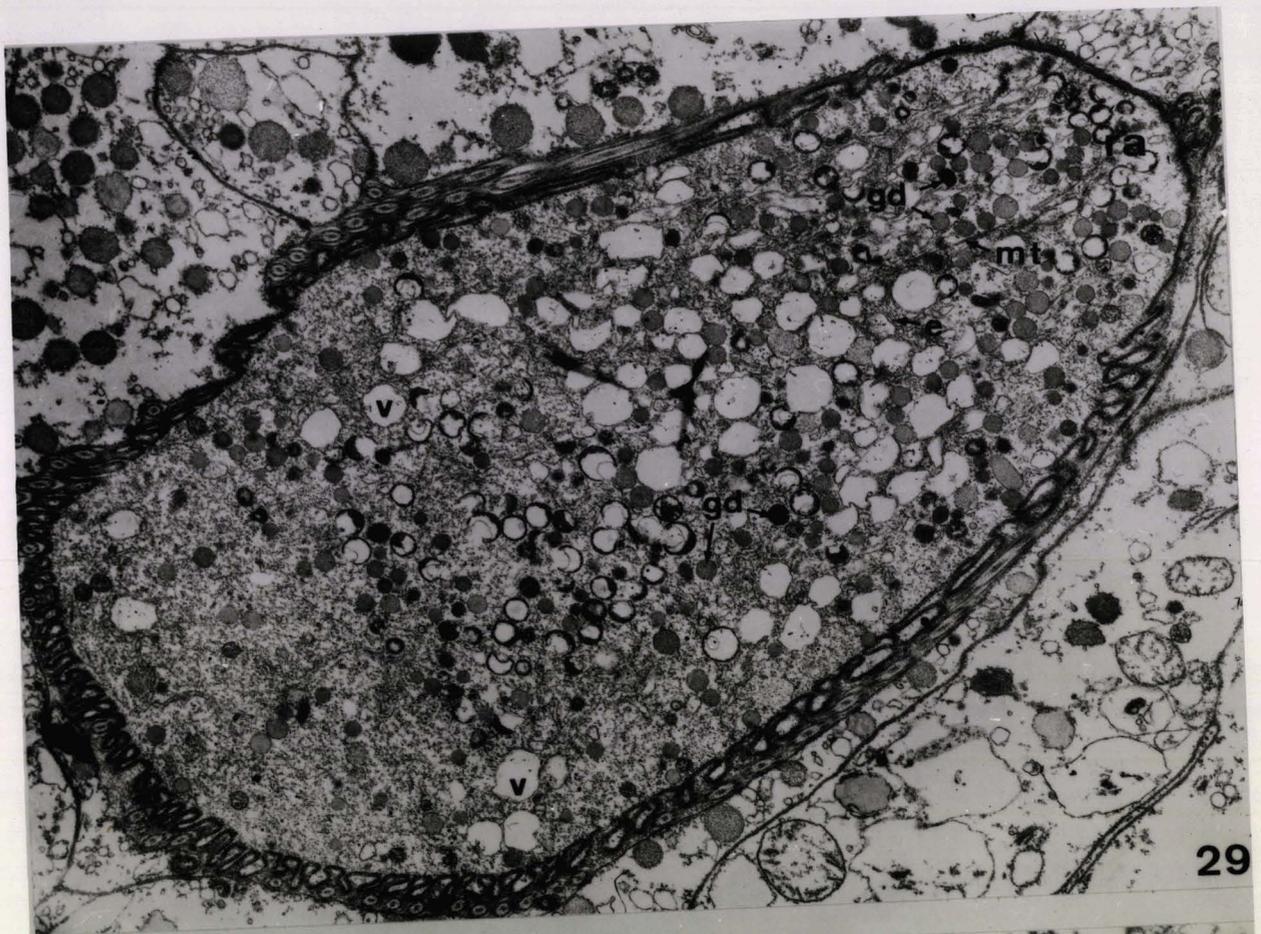
105
1977

STRUCTURE D'UN JEUNE TROPHOZOITE

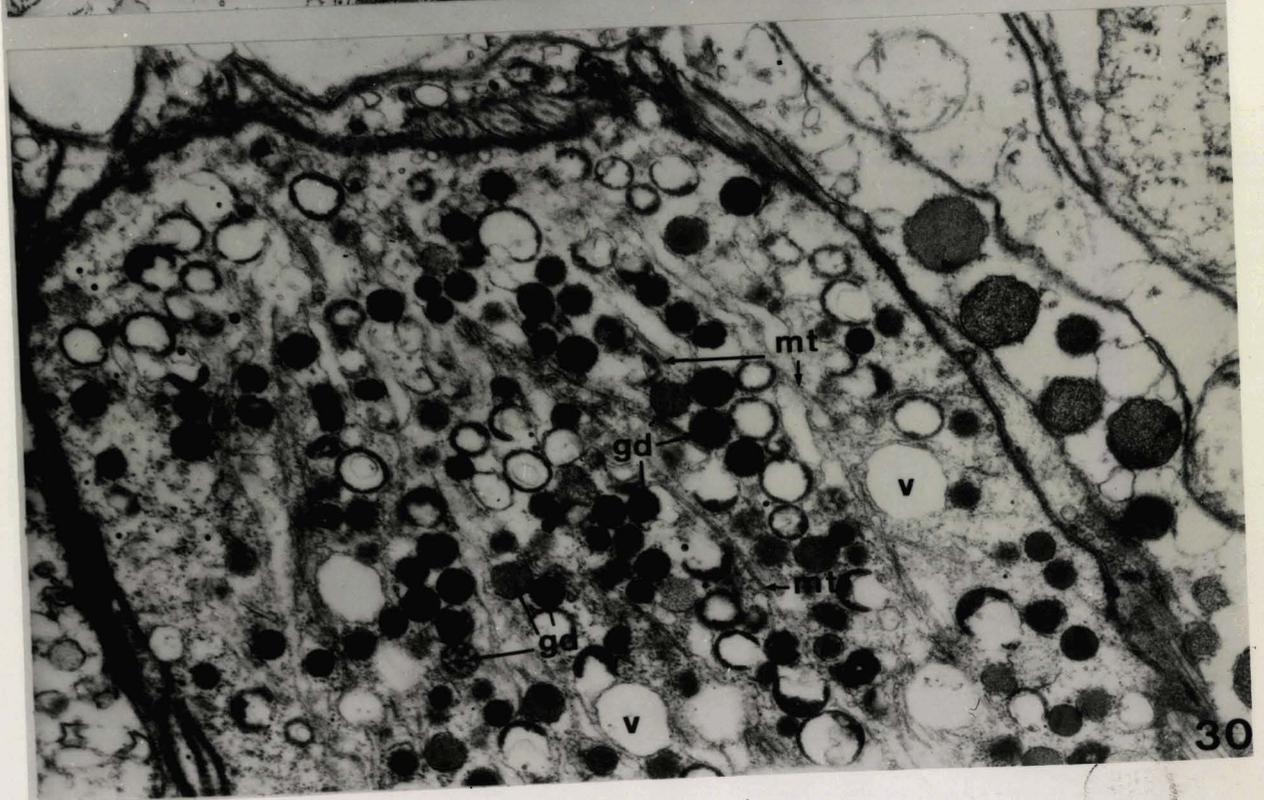
Fig. 29 : Remarquer la grande richesse en ribosomes du cytoplasme, l'absence de différenciation entre ectoplasme et endoplasme, de lame basale et de paraglycogène. Morphologiquement il est possible de distinguer 3 régions : une zone antérieure riche en granules denses et en microtubules, une zone moyenne comprenant des vacuoles et des granules denses et une zone postérieure riche en ergastoplasme avec quelques vacuoles et quelques granules denses.
x 19 000.

Fig. 30 : La zone antérieure. Noter les granules de densité variable et les nombreux microtubules. La paroi ne paraît pas plissée et la lame basale est absente.
x 44 000.





29



30

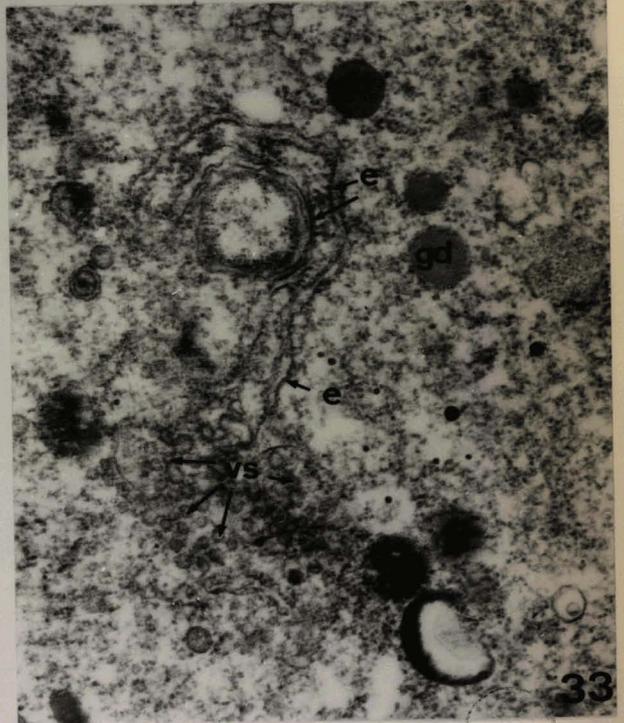
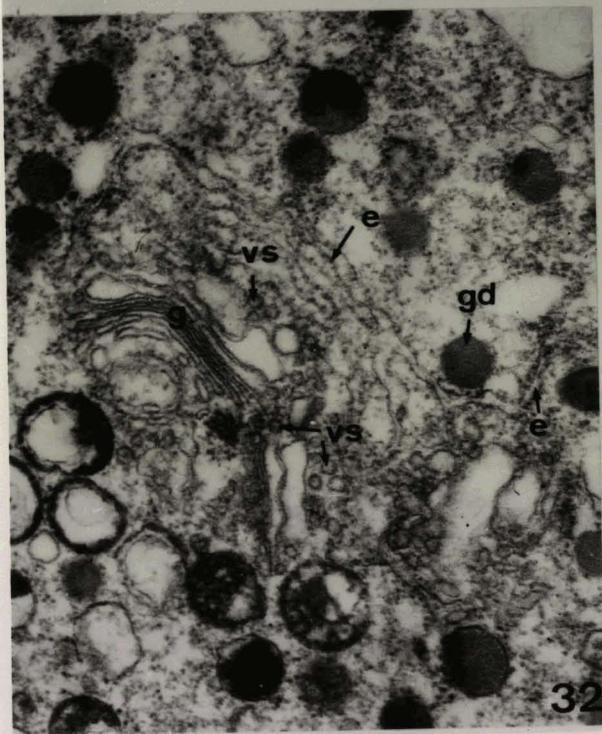
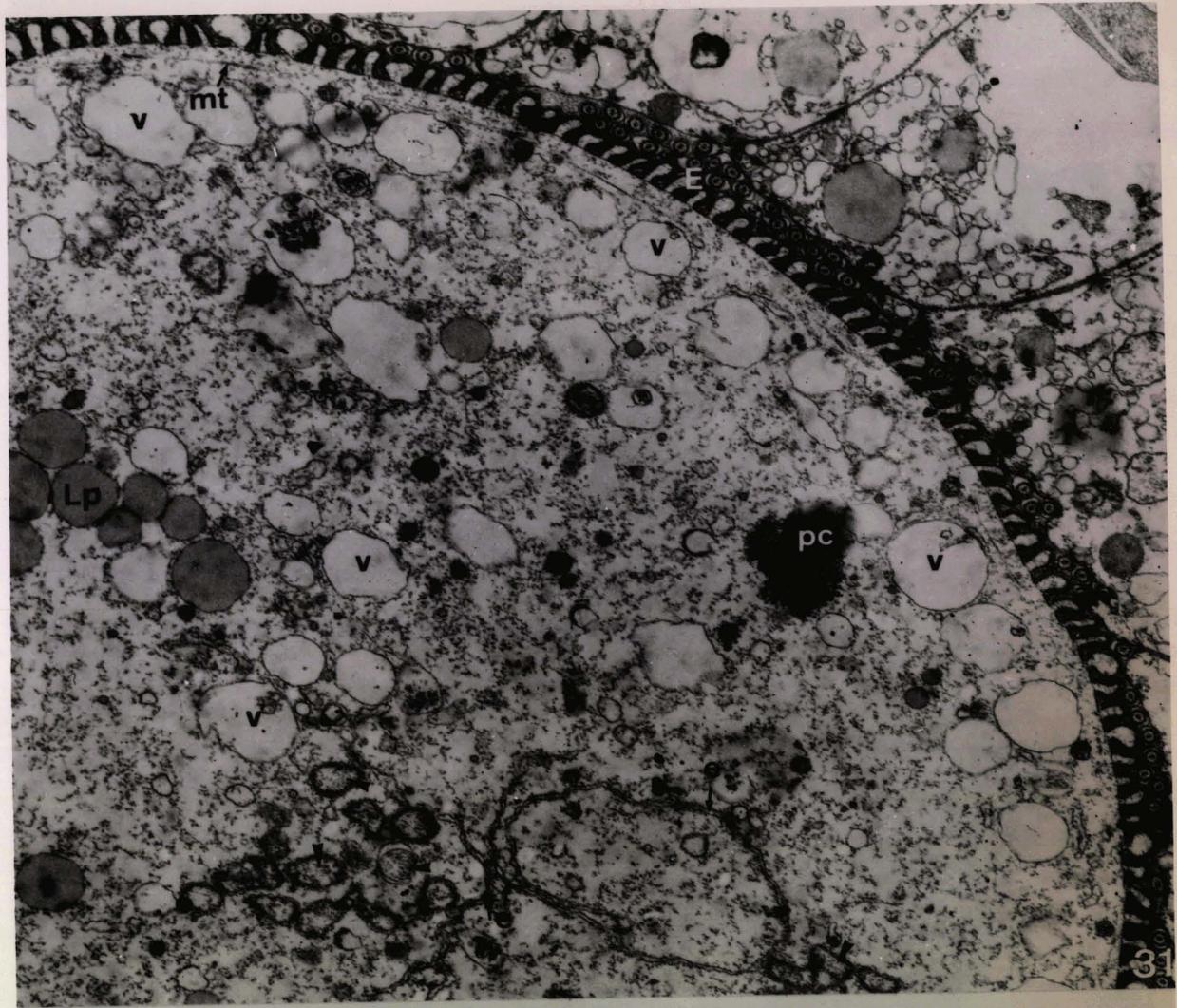
STRUCTURE D'UNE JEUNE TROPHOZOITE

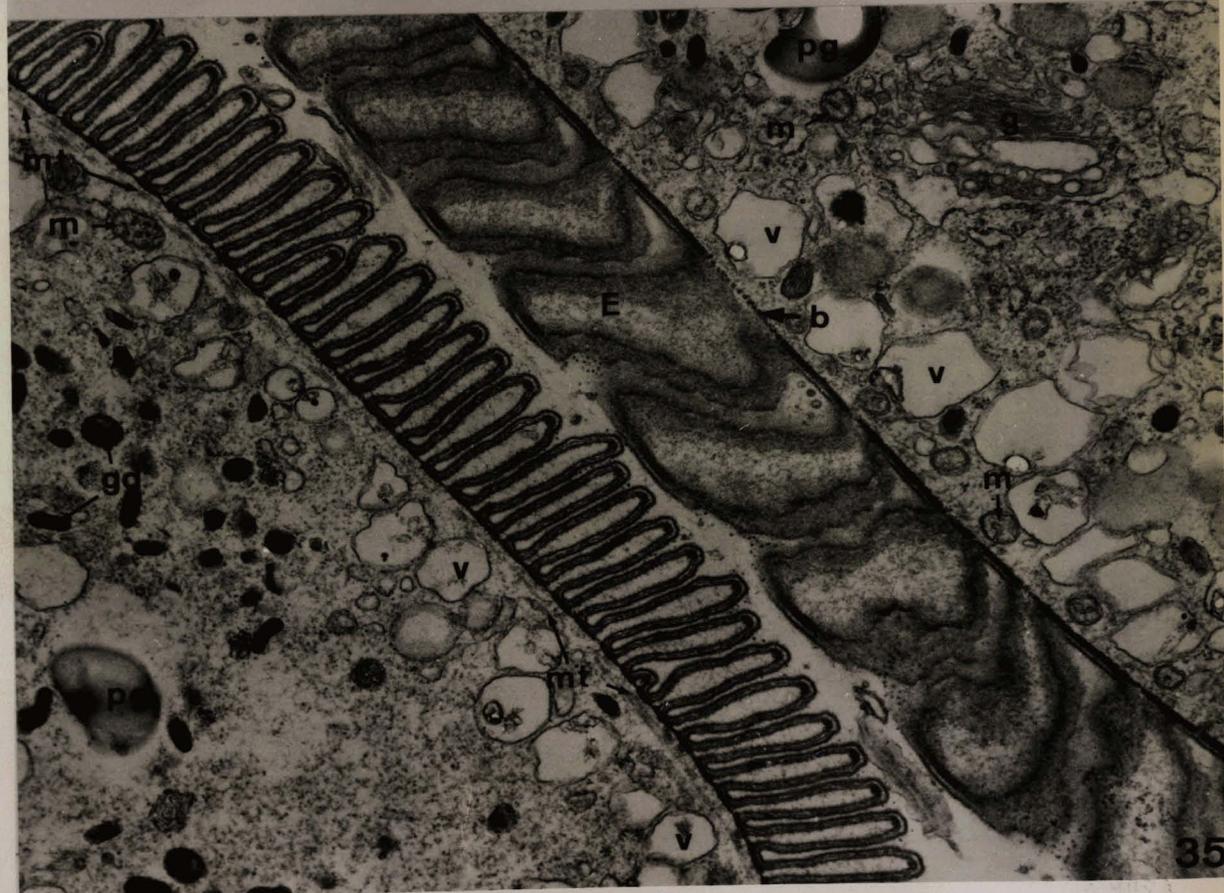
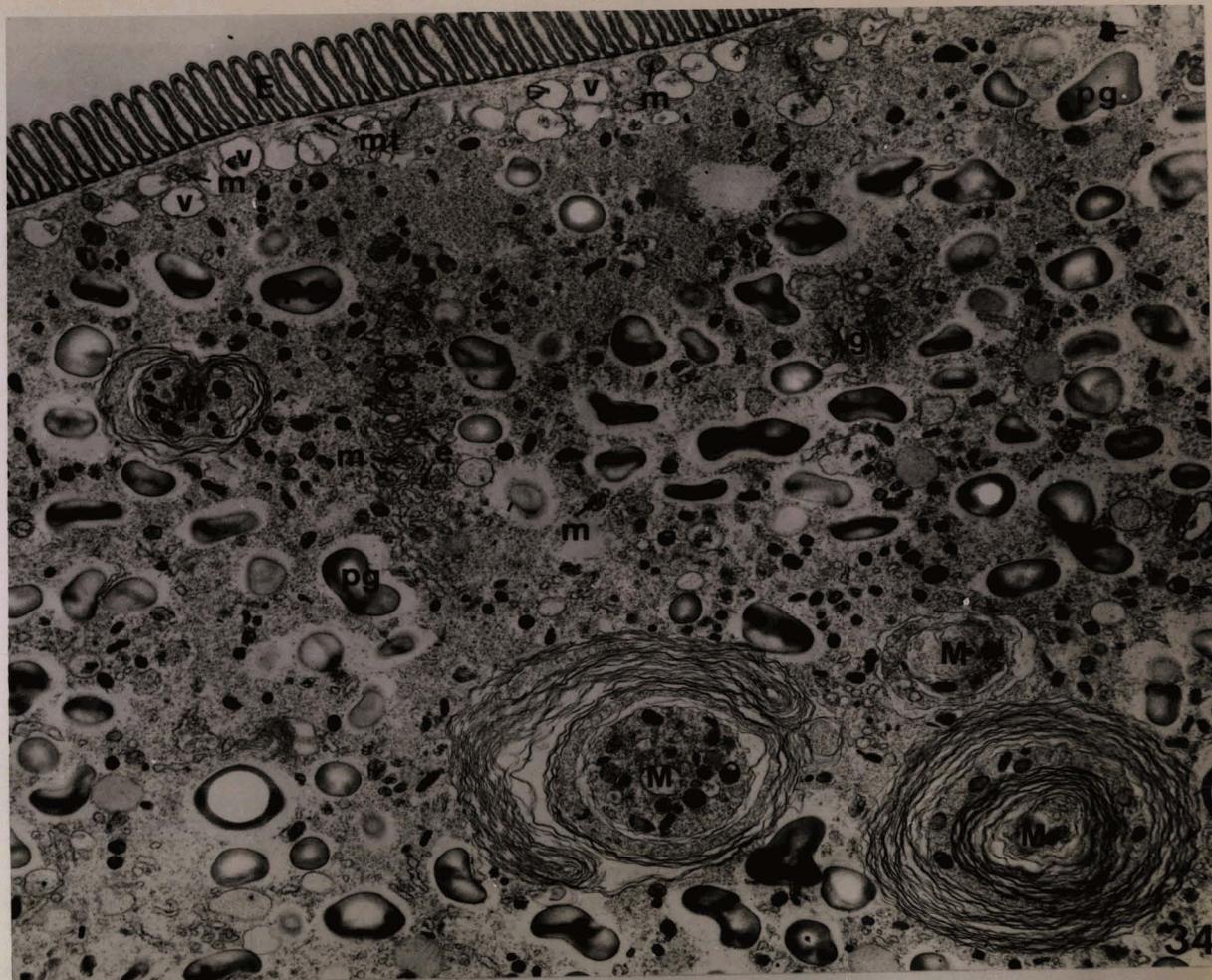
Fig. 31 : A un stade plus âgé, on notera la disposition périphérique des vacuoles, marquant le début de la différenciation entre ectoplasme (avec la lame basale et des microtubules) et l'endoplasme (avec des lames ergastoplasmiques, des vacuoles et des inclusions lipidiques). Une structure d'allure paracristalline et des "vacuoles" à contenu granuleux peuvent être observées.
x 32 500.

Fig. 32 : L'appareil de Golgi. Remarquer près du pôle basal des dictyosomes, de petites vésicules provenant vraisemblablement des lames ergastoplasmiques avoisinantes.
x 57 000.

Fig. 33 : Lames ergastoplasmiques entourant une "vacuole" à contenu hétérogène et granuleux. Noter les nombreuses petites vésicules en relation avec l'ergastoplasme.
x 57 000.





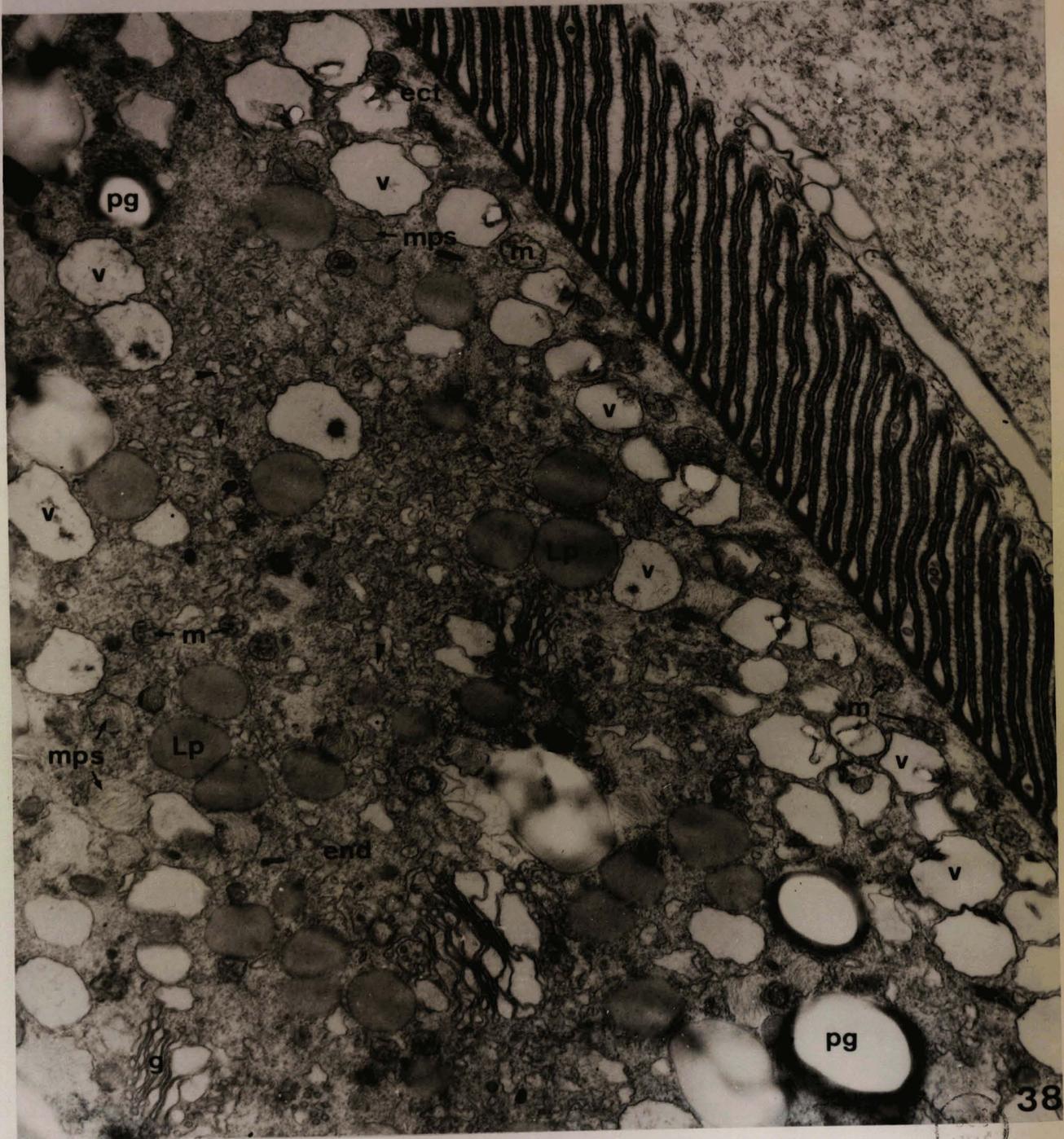
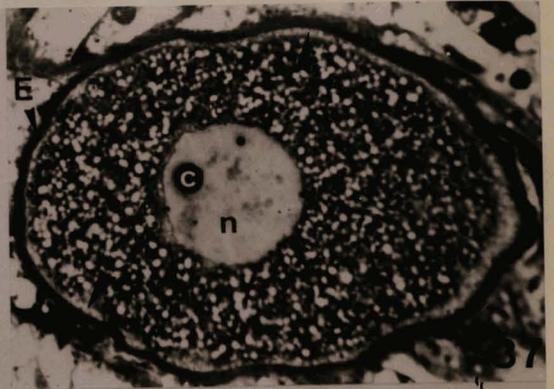
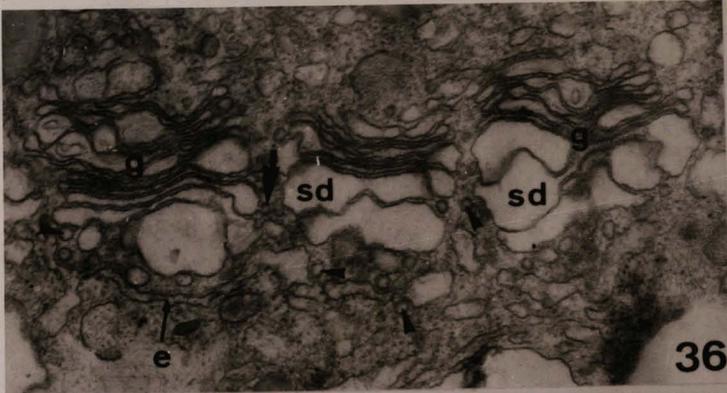


STRUCTURE DU TROPHOZOITE

Fig. 36 : Le Golgi. Chaque dictyosome est constitué d'un empilement de saccules dont les plus basaux sont très dilatés. Remarquer à ce pôle basal, les relations entre saccules, vésicules ergastoplasmiques et ergastoplasme. Certains saccules apicaux, dilatés en leur centre peuvent contenir un feutrage de fins filaments semblable à celui des vésicules de type mucopolysaccharidique.
x 71 000.

Fig. 37 : Coupe transversale semi-fine au niveau de la région nucléaire : le noyau sphérique avec un caryosome. Sous l'épicyte, noter la zone claire (flèches) correspondant probablement à la strate de vacuoles sous-corticales.
x 1 100.

Fig. 38 : L'endoplasme. Remarquer les nombreuses vésicules ergastoplasmiques (flèches), les globules lipidiques, le golgi, les vésicules de type mucopolysaccharidique et quelques vacuoles à contenu clair. Sous l'épicyte, l'ectoplasme est riche en mitochondries et vacuoles sous-corticales.
x 67 000.



EMBL

STRUCTURE DU TROPHOZOITE : LA REGION CORTICALE

Fig. 39 : L'épicyte. La paroi limitant les plis est constituée de 3 membranes unitaires : externe, moyenne et interne. Au sommet des plis, noter sous la membrane interne les densifications apicales, et dans l'ectoplasme, la basale et les microtubules. Le cytoplasme épicytaire est vide de toute inclusion.
x 48 000.

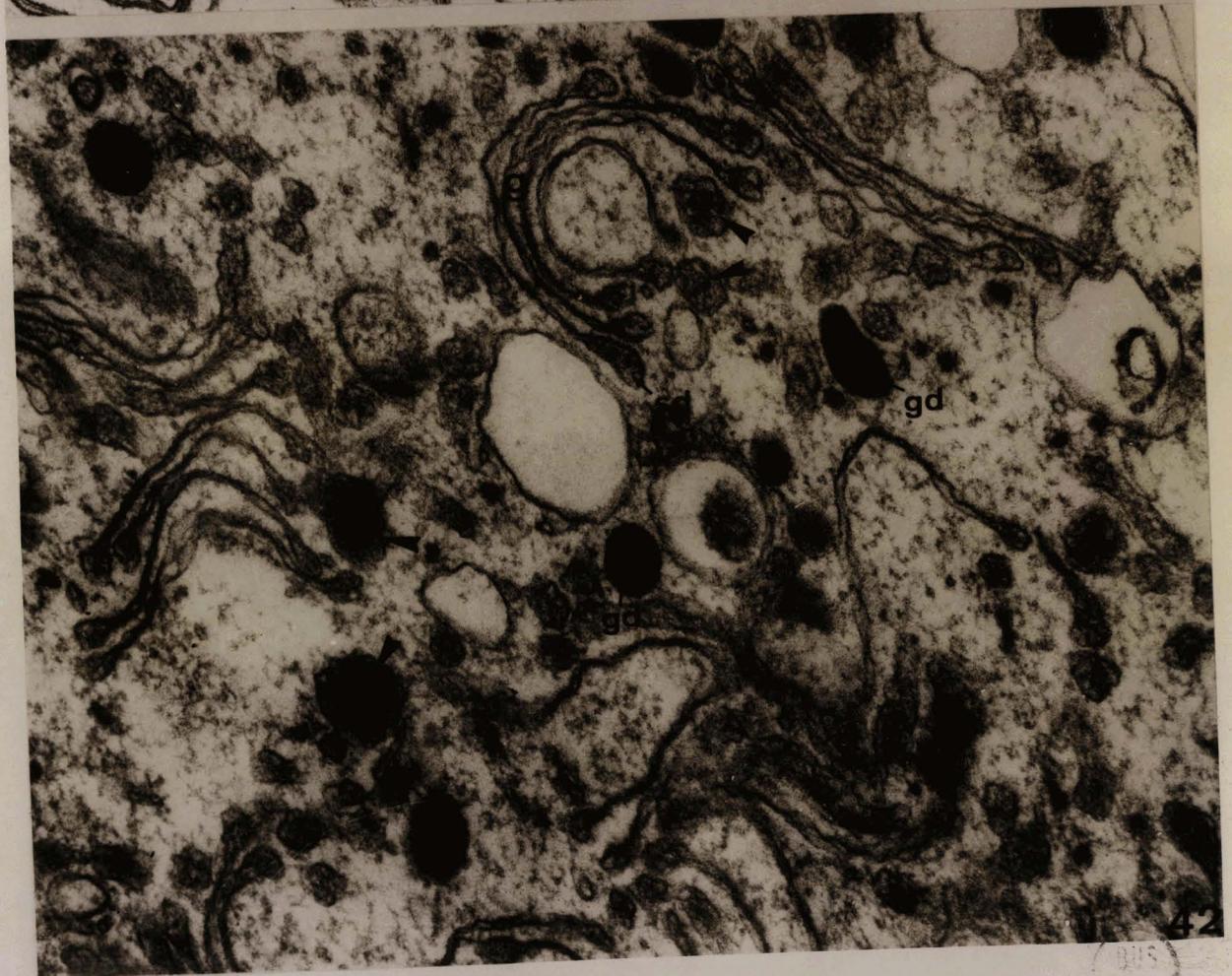
Fig. 40 : L'épicyte au niveau de la zone antérieure. Les plis sont légèrement dilatés et il peut y avoir des granules denses dans le cytoplasme épicytaire. Remarquer les arceaux apicaux entre les membranes moyenne et externe, et les densifications apicales sous la membrane interne.
x 67 000.



STRUCTURE DU TROPHOZOITE : LA ZONE ANTERIEURE

Fig. 41 : Le cytoplasme de la zone antérieure est riche en granules denses et en dictyosomes. Remarquer l'absence de différenciation entre ectoplasme et endoplasme, et la présence de granules denses dans le cytoplasme épicytaire.
x 29 000.

Fig. 42 : Détail de la zone antérieure. Les dictyosomes sont constitués par un empilement d'environ 4 saccules très aplatis et incurvés, dilatés à leurs extrémités, et donnant naissance à des vésicules à contenu granuleux plus ou moins dense (flèches).
x 67 500.



DUS
1965

STRUCTURE DU TROPHOZOITE

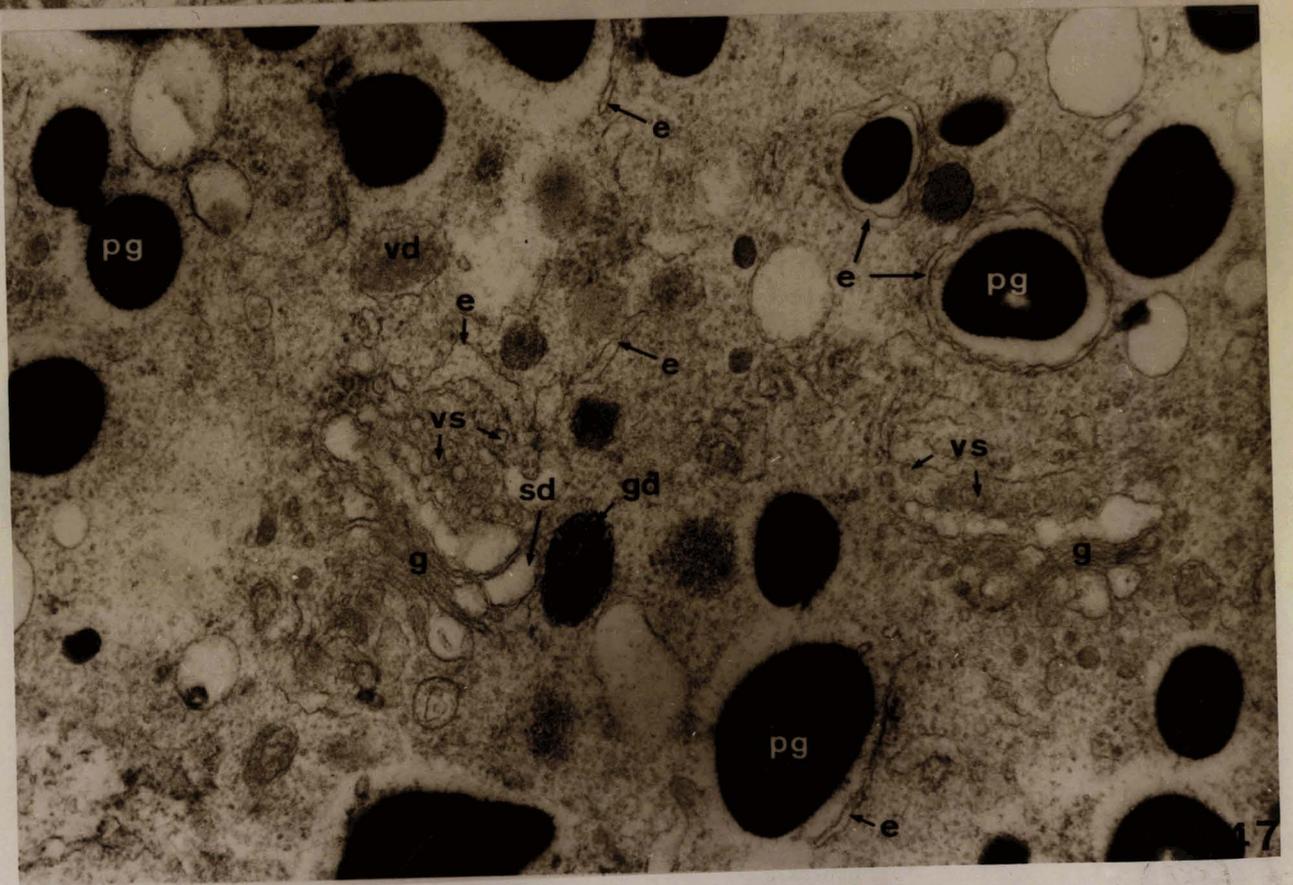
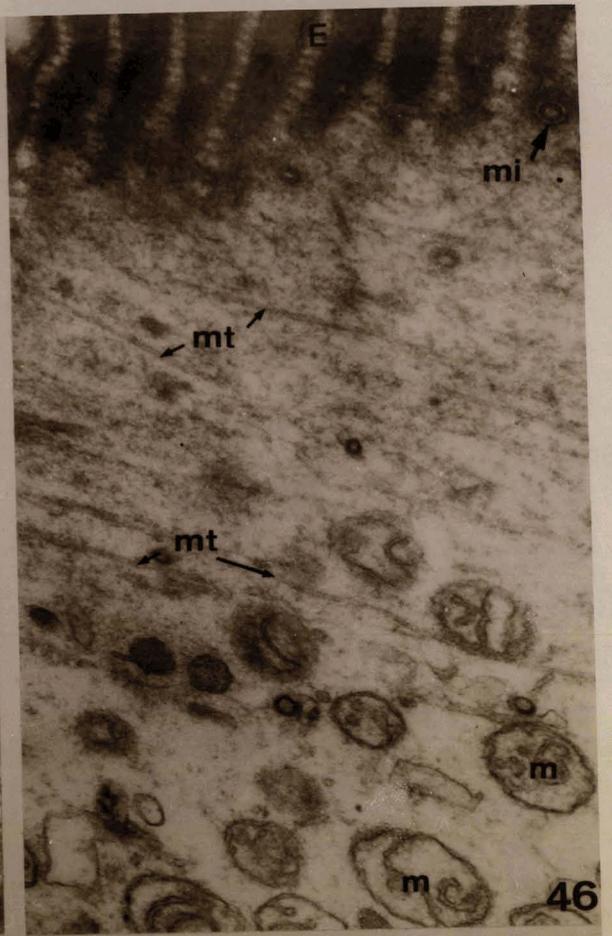
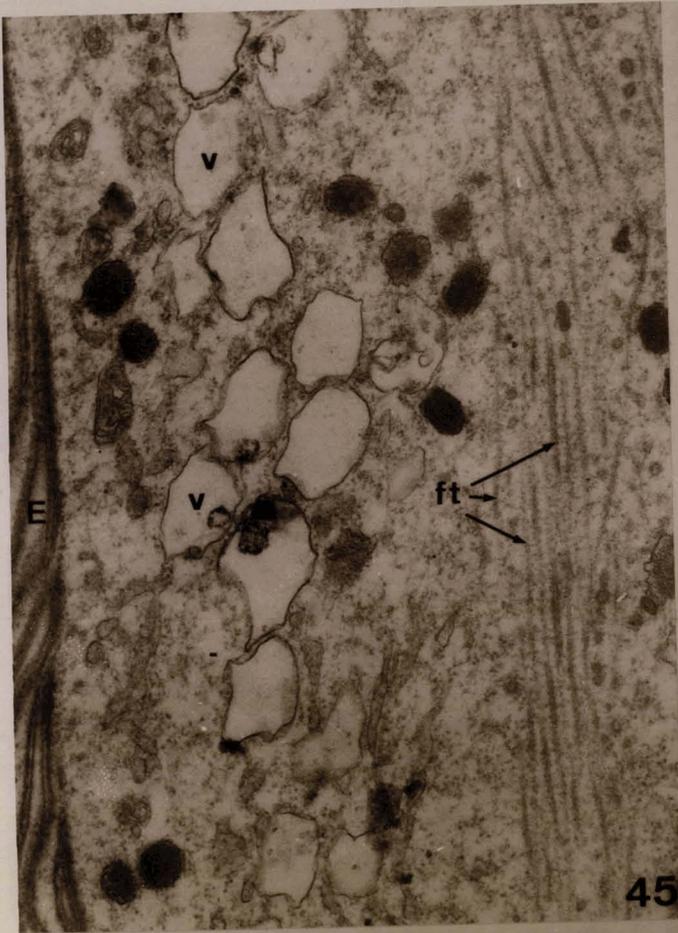
Fig. 43 : Coupe oblique (presque tangentielle) dans la région moyenne-postérieure, montrant la grande abondance des vacuoles sous-corticales. Noter, dans l'ectoplasme, les nombreuses mitochondries et les microtubules, et dans l'endoplasme quelques inclusions lipidiques et de type mucopolysaccharidique. On peut parfois observer entre les plis, des petites sphérules d'origine inconnue.
x 14 000.

Fig. 44 : Coupe oblique dans la région postérieure montrant, dans l'endoplasme, quelques spores de la Microsporidie Nosema vivieri, et l'ergastoplasme relativement abondant.
x 7 500.



STRUCTURE DU TROPHOZOITE

- Fig. 45 : A la périphérie de l'endoplasme, sous les vacuoles sous-corticales, on peut parfois observer des paquets de fibres tubulaires.
x 23 500.
- Fig. 46 : Les microtubules . Ils sont généralement de direction perpendiculaire à l'axe des plis. Remarquer les mitochondries à crêtes longitudinales et ampoulées, et dans le fond des sillons, entre les plis, les micropores.
x 45 500.
- Fig. 47 : L'endoplasme. Les grains de paraglycogène (amylopectine) de forme globuleuse peuvent être entourés de lames ergastoplasmiques. Remarquer les relations entre ergastoplasme et dictyosomes par l'intermédiaire de petites vésicules ergastoplasmiques. Des vésicules plus grandes, à contenu diffus, pourraient provenir de ce Golgi.
x 47 500.



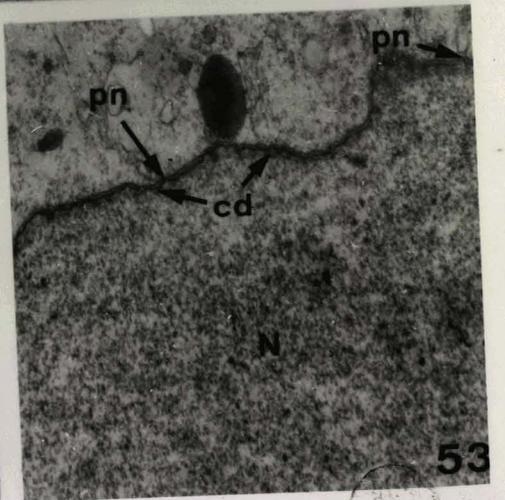
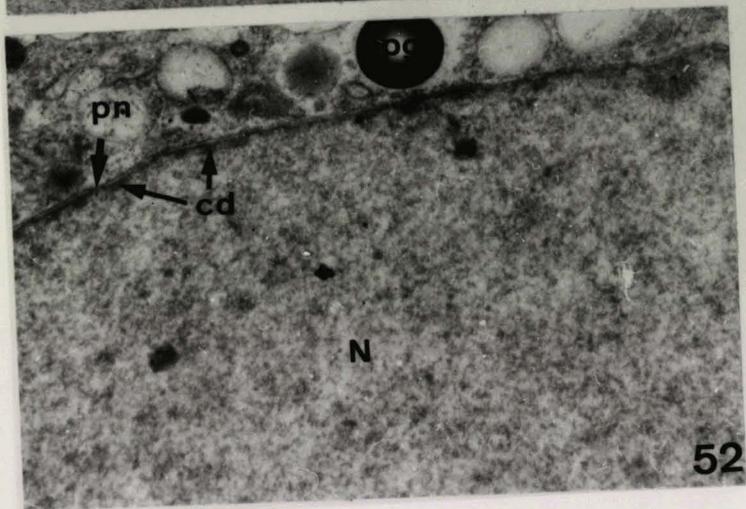
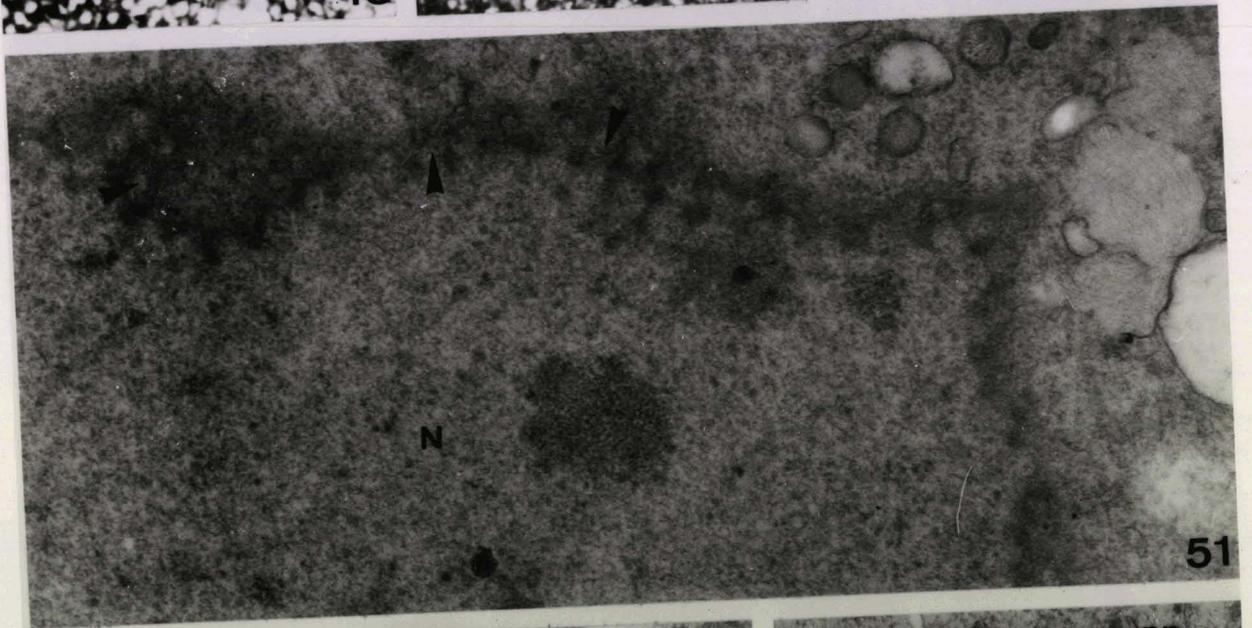
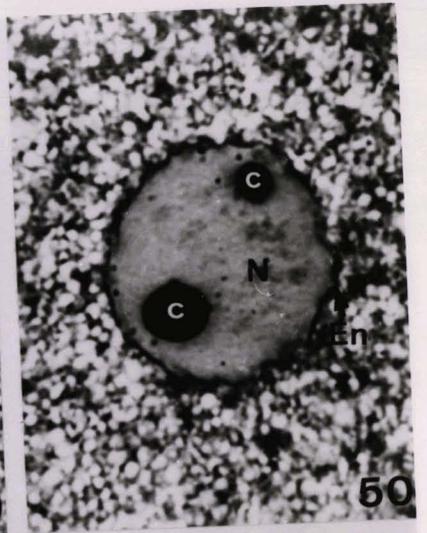
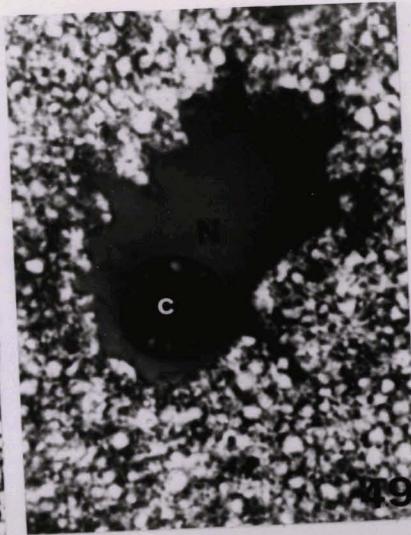
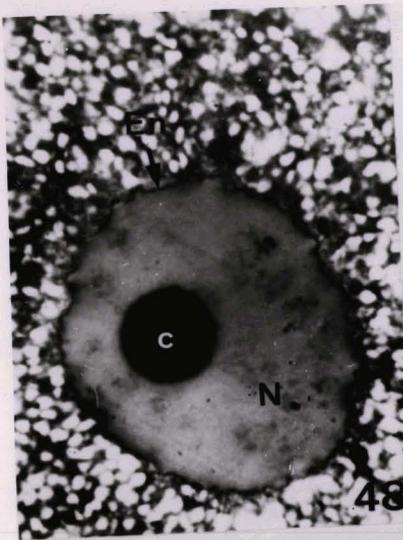
STRUCTURE DU TROPHOZOITE : LE NOYAU

Fig. 48, 49, 50 : Coupes semi-fines montrant le noyau avec 1 ou 2 caryosomes. Remarquer (fig. 49), la structure alvéolaire du caryosome.
x 1 500 - x 1 500 - x 100.

Fig. 51 : Enveloppe nucléaire (en coupe tangentielle) avec les pores nucléaires (flèches).
x 50 000.

Fig. 52 et 53 : Coupes transversales montrant le noyau délimité par une enveloppe à 2 membranes, doublée intérieurement par une mince couche dense.
x 22 000 - x 18 000.





APR 1960

DEVELOPPEMENT ULTRASTRUCTURAL DE LA MICROSPORIDIE NOSEMA VIVIERI

LEGENDE

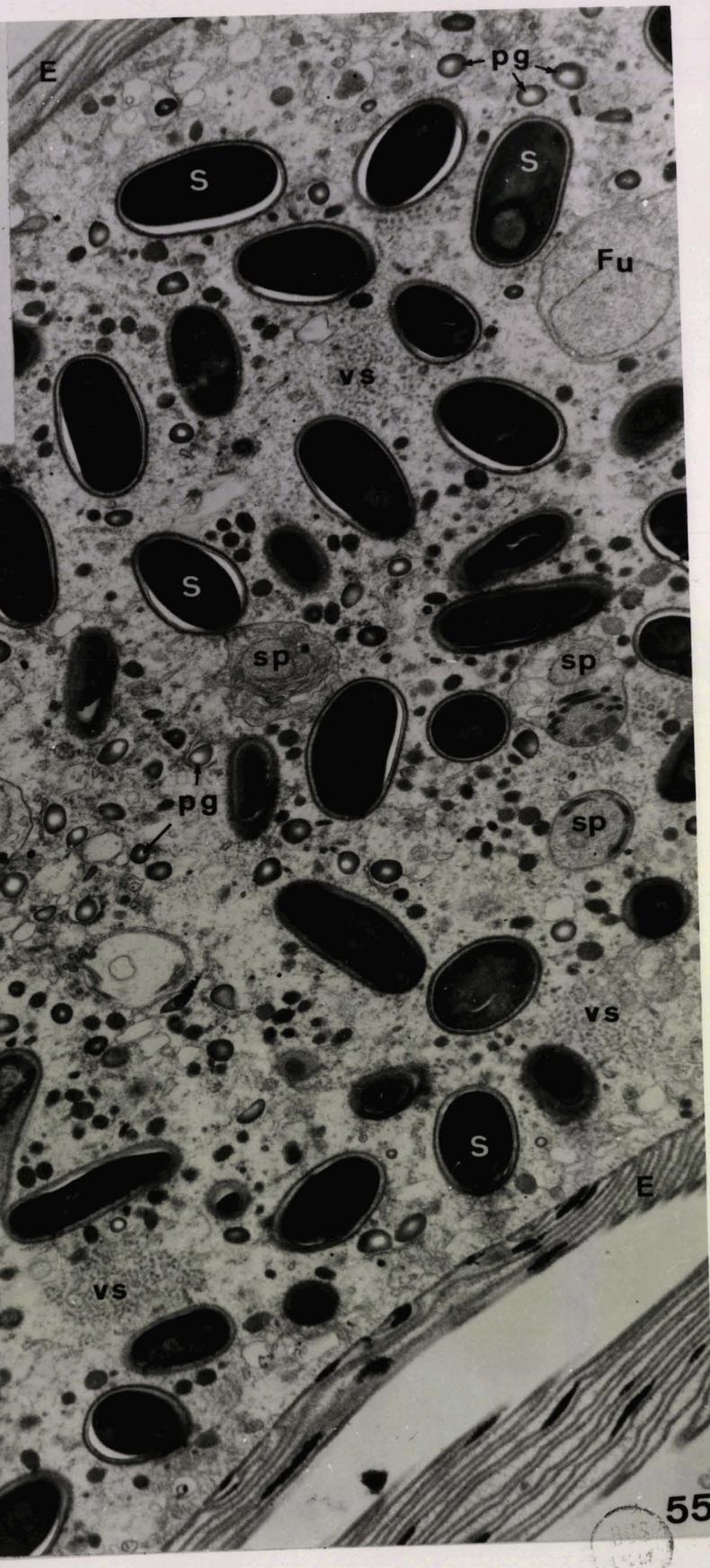
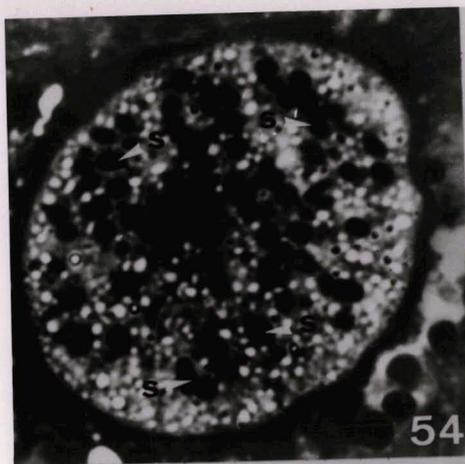
- C : amas chromatiniens.
E : épicyte.
En : enveloppe nucléaire.
e : ergastoplasme.
FP : filament polaire.
Fu : Forme uninucléée.
ft : fibre tubulaire.
g : Golgi.
Ms : macrospore.
mps : inclusion de type mucopolysaccharidique.
mf : fibre fusoriale.
N : noyau.
P : paroi.
Pl : polaroplaste lamellaire.
Pv : polaroplaste vésiculaire.
pg : paraglycogène.
s : spore.
sp : sporoblaste.
spo : sac polaire.
v : vacuole.
vs : vésicule.
vg : vésicule golgienne.
vp : vacuole postérieure.
ze : zone externe
zm : zone moyenne } du filament polaire
zc : zone centrale }
zi : zone d'insertion du filament polaire
sur le sac polaire.

VUE D'ENSEMBLE

Fig. 54 : Coupe transversale semi-fine d'une Grégarine parasitée. Remarquer dans l'endoplasme, les nombreuses spores de la Microsporidie.
x 1 800.

Fig. 55 : Coupe oblique d'un trophozoïte de Lecudina linei parasité par la Microsporidie Nosema vivieri. Remarquer dans l'endoplasme, les différents stades du développement de l'hyperparasite : formes uninucléées, sporoblastes et spores. Noter également entre ces stades les nombreuses formations vésiculaires et parfois tubulaires.
x 9 500.



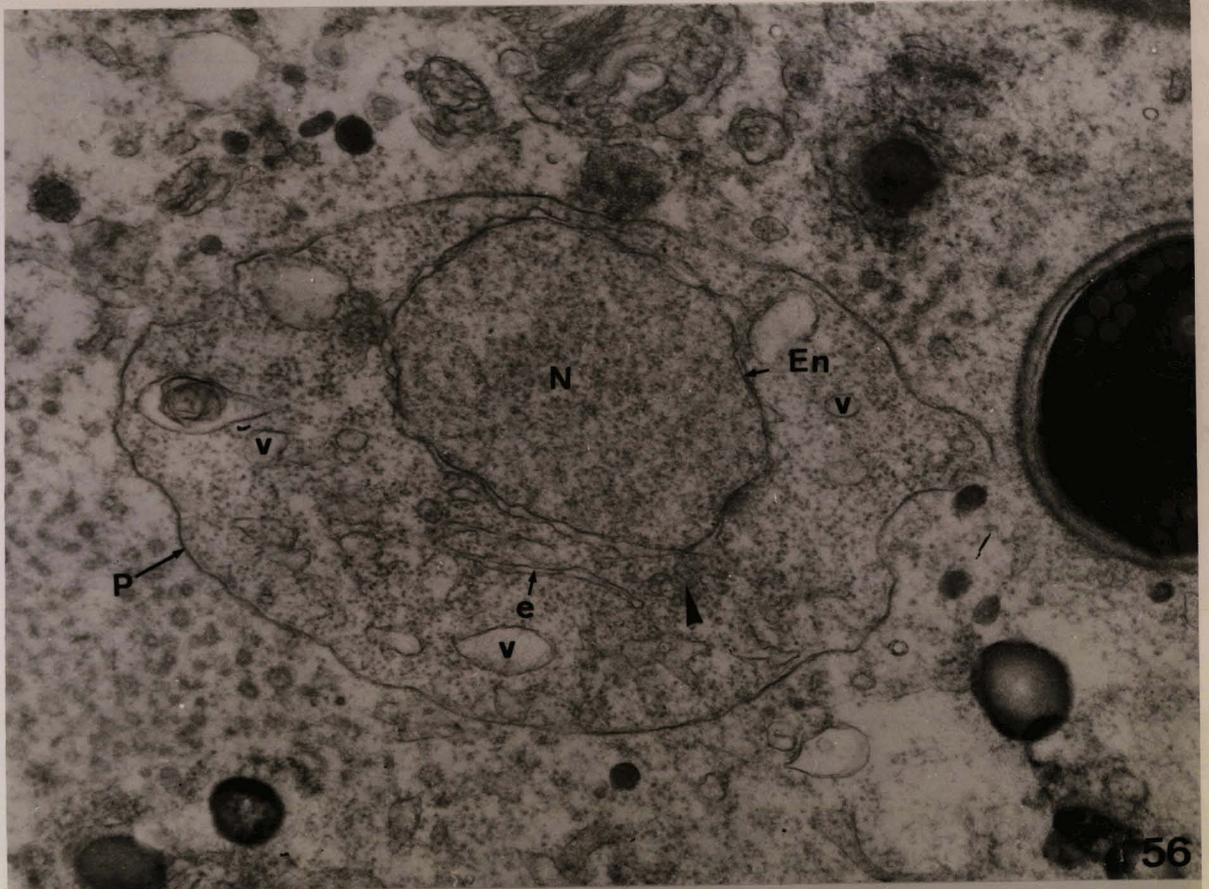


PHASE VEGETATIVE

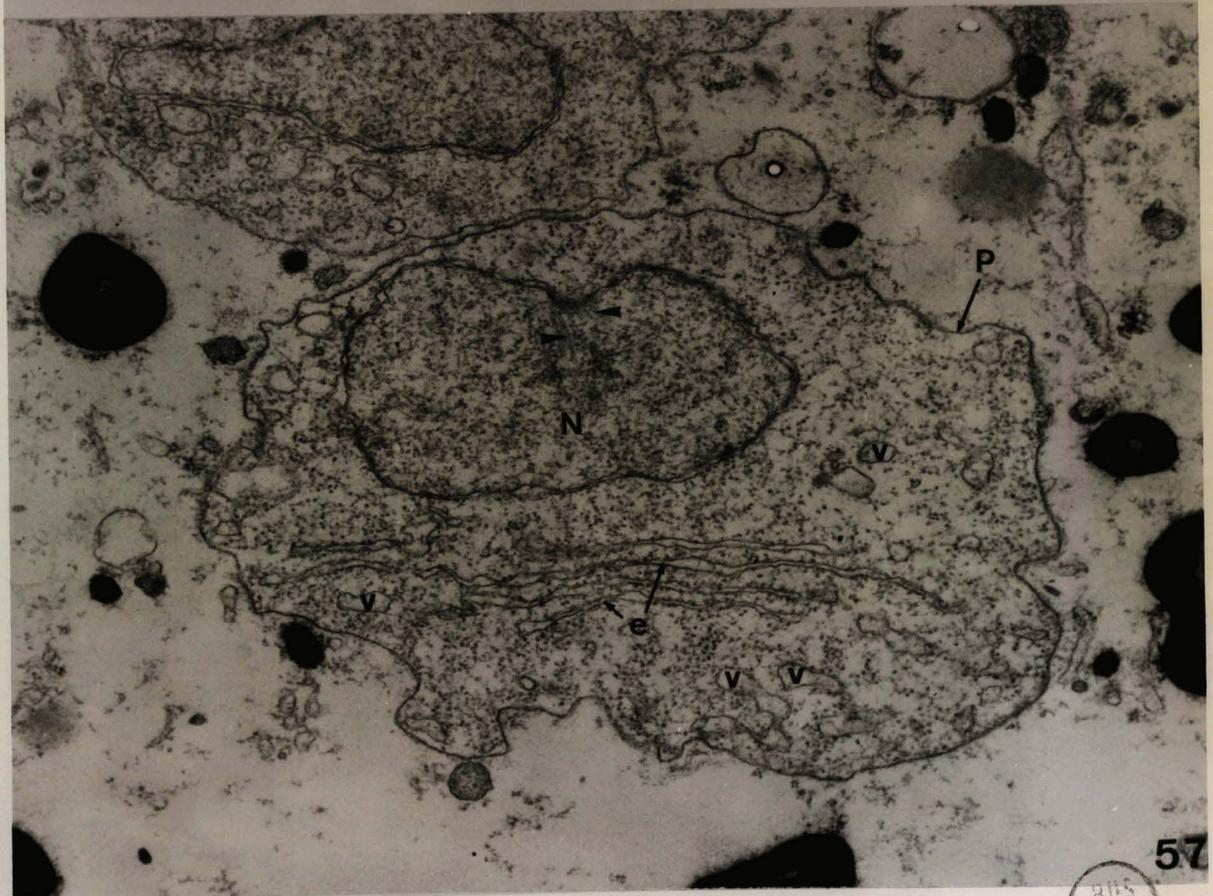
Fig. 56 et 57 : Formes uninucléées (schizontes). En contact direct avec le cytoplasme de l'hôte, leur paroi est formée d'une seule membrane unitaire. Le noyau, excentré, est limité par une enveloppe nucléaire constituée de 2 membranes. Noter dans le cytoplasme riche en ribosomes, les lames ergastoplasmiques disposées parallèlement à l'enveloppe nucléaire, et le reticulum endoplasmique souvent dilaté en "vésicules". On peut parfois distinguer près du noyau, un amas de petites vésicules (flèches fig. 56). Le noyau de la fig. 57 est en voie de division.

x 37 000 - x 32 000.





56



57

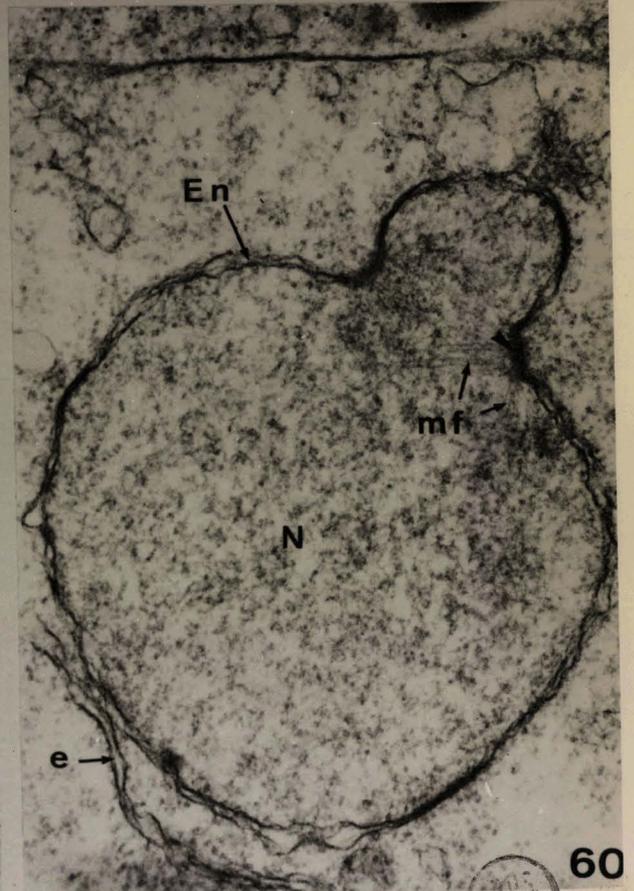
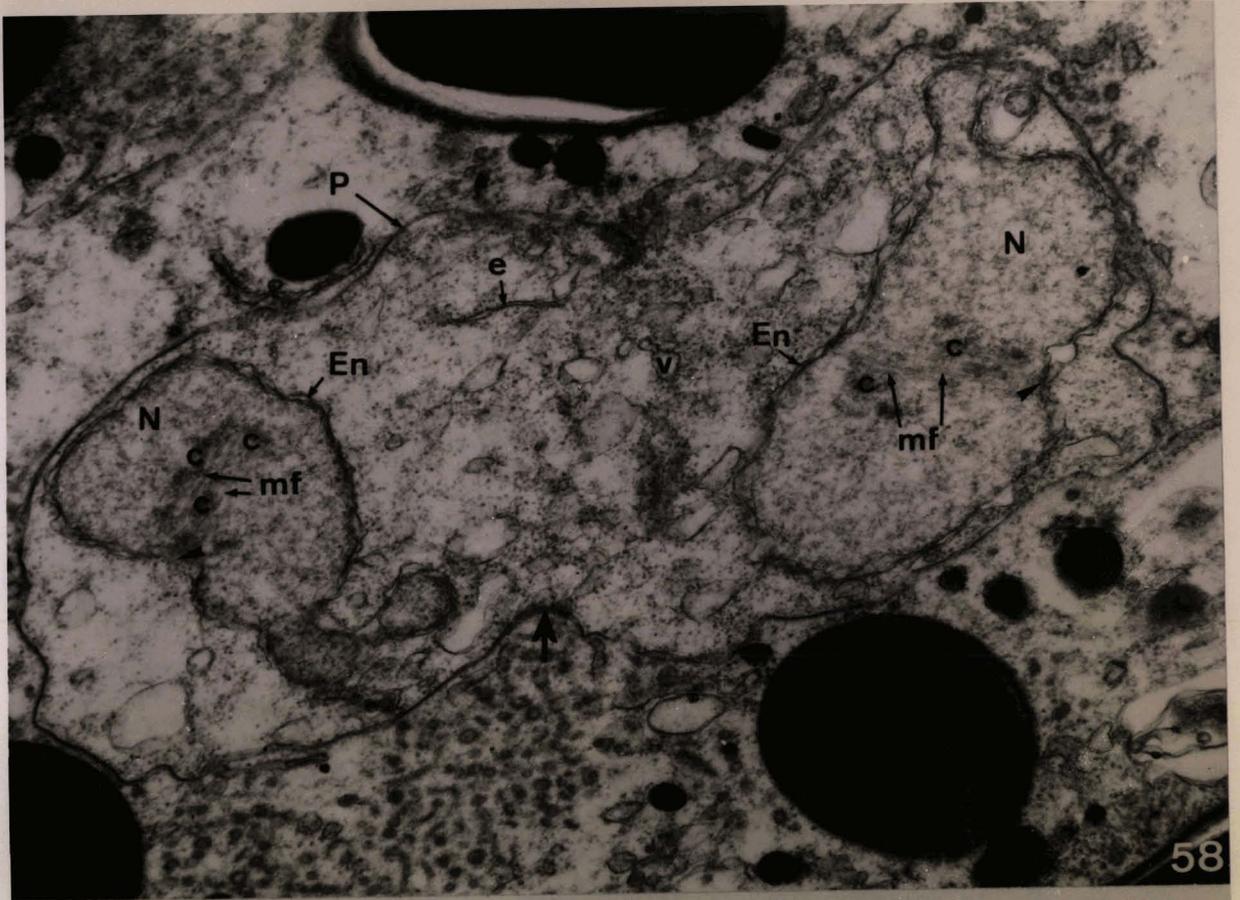


PHASE VEGETATIVE

Fig. 58 : Forme binucléée, dont les 2 noyaux sont en cours de division. Remarquer sur les fibres fusoriales, quelques amas chromatinien. La caryodiérèse précède toujours la cytodière ; celle-ci semble s'effectuer par étranglement avec, à ce niveau, un léger épaississement de la paroi (flèche).
x 32 500.

Fig. 59 et 60 : La division nucléaire. Elle semble s'effectuer suivant un type pleuromitose acentriolaire (Cryptomitose). Les fibres fusoriales avec quelques amas chromatinien s'insèrent sur le fond de dépressions de l'enveloppe nucléaire épaissie à cet endroit (flèches). Noter la position souvent excentrée du fuseau qui se forme toujours dans l'axe du plus petit diamètre du noyau.
x 60 000 - x 50 000.

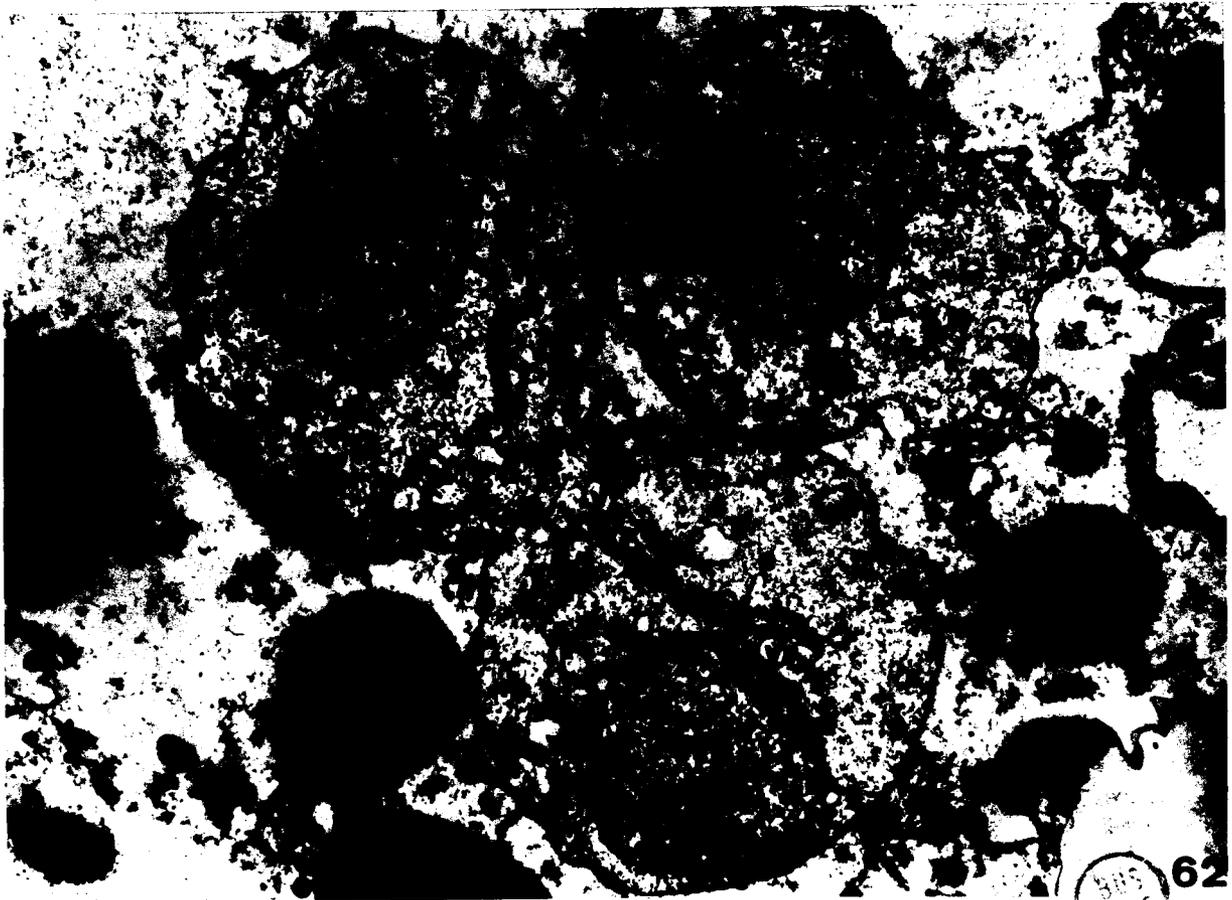
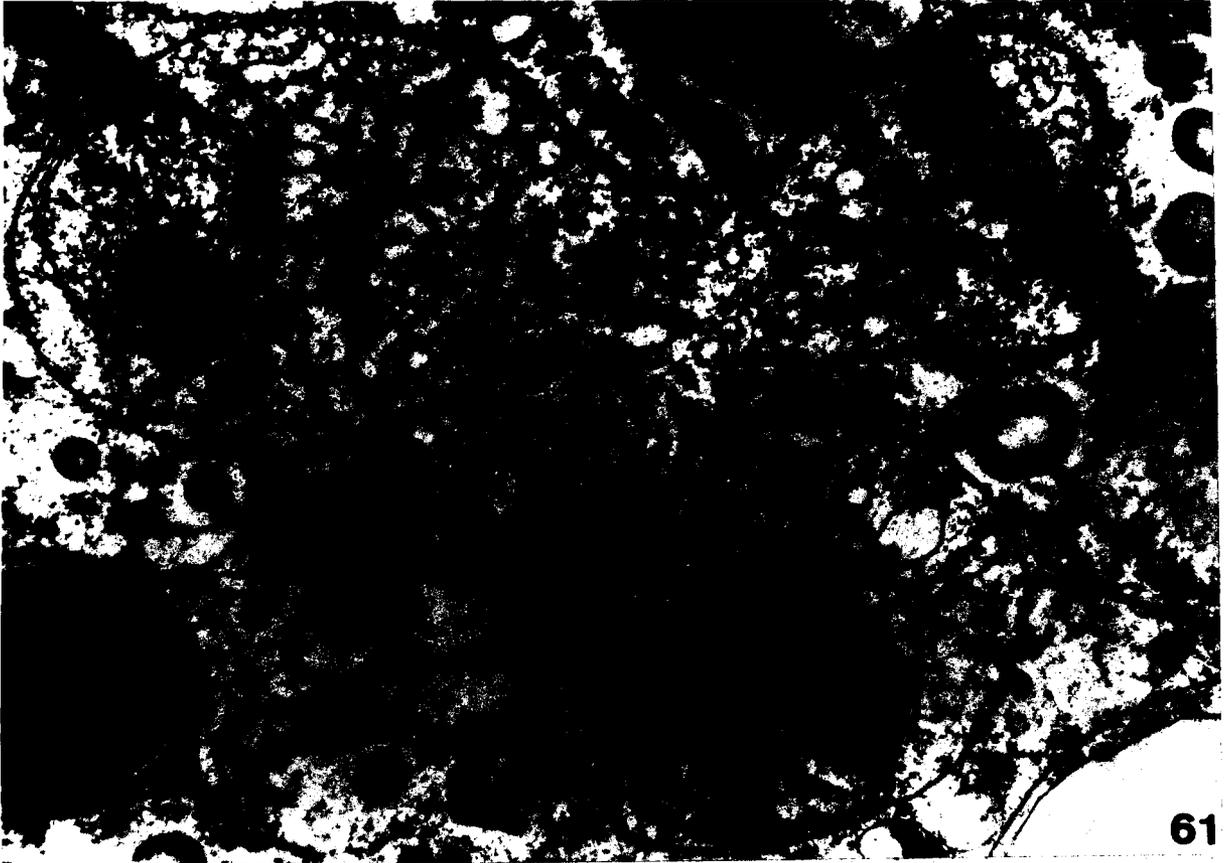




PHASE VEGETATIVE

Fig. 61 et 62 : Phase de multiplication des schizontes. La caryodiérèse précédant la cytodière, il est possible d'observer des formes multinucléées. La cytodière semble se faire par étranglement avec épaissement de la paroi à cet endroit (flèches). Remarquer le cytoplasme riche en ergastoplasme et en grandes "vésicules" provenant de dilatations du reticulum endoplasmique. x 26 000 - x 20 000.





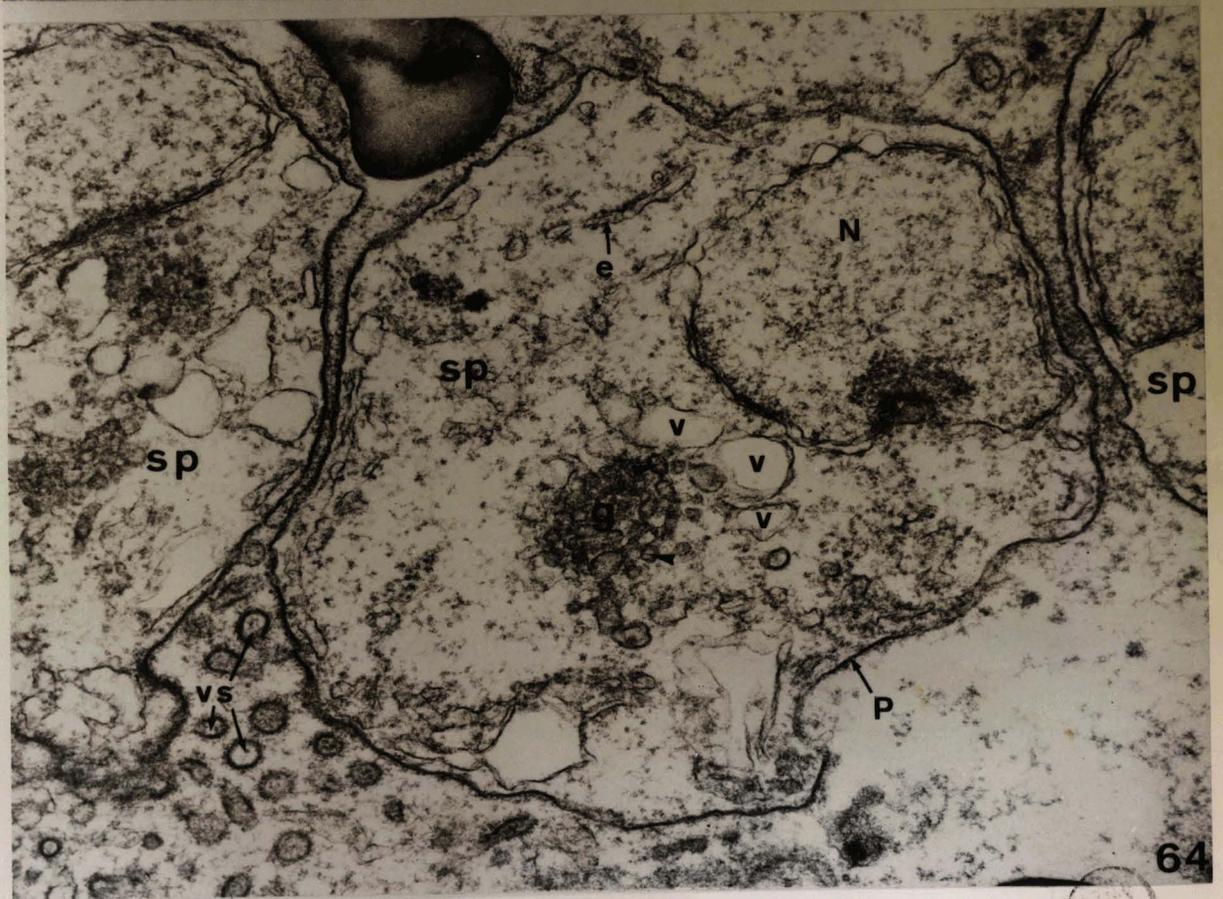
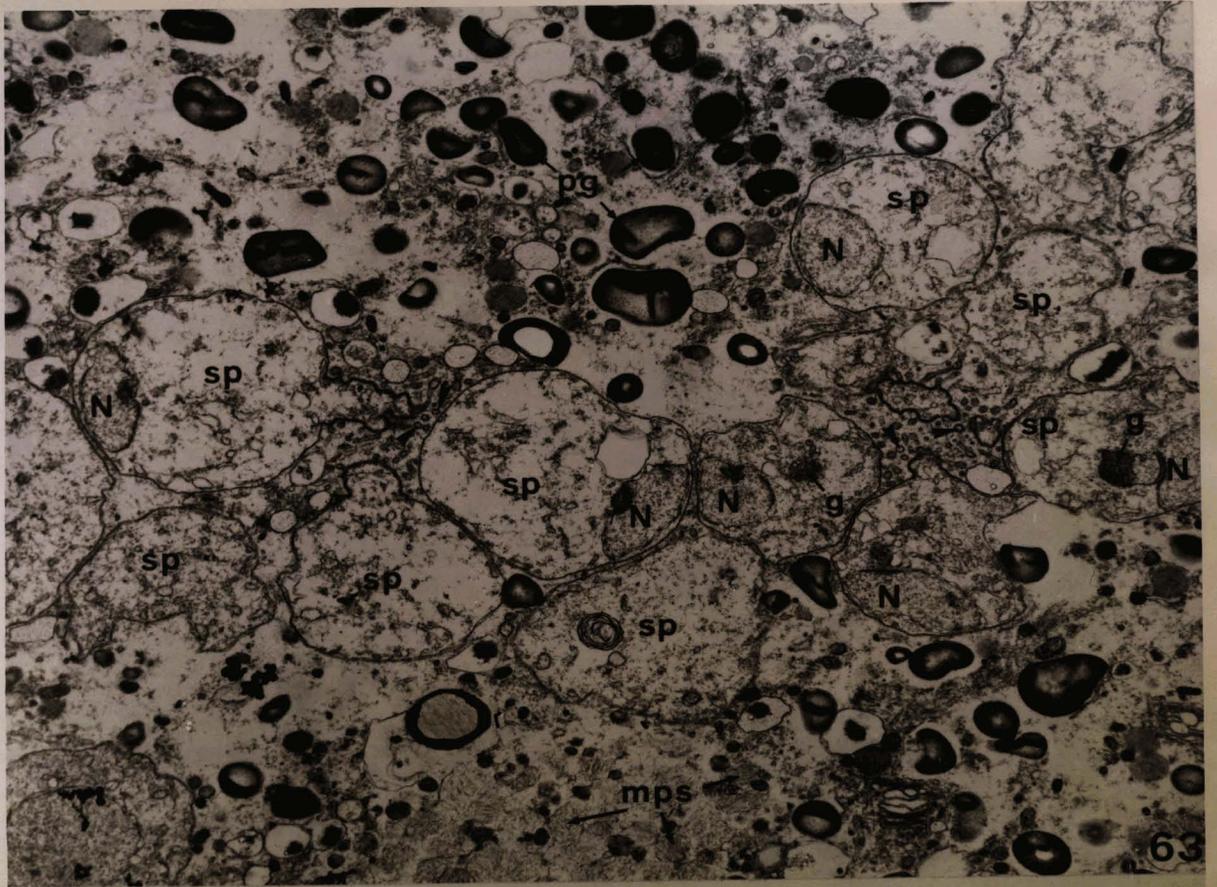
615
5115
1115

PHASE SPOROGENIQUE

Fig. 63 : Les divisions successives des schizontes aboutissent à la formation de groupes de cellules ou sporoblastes qui évolueront chacun en une spore. Noter entre ces jeunes sporoblastes, les formations vésiculaires.
x 9 000.

Fig 64 : Un jeune sporoblaste avec près du noyau quelques grandes vésicules et un amas de petites vésicules à contenu plus ou moins dense assimilable à un golgi primitif.
x 45 000.



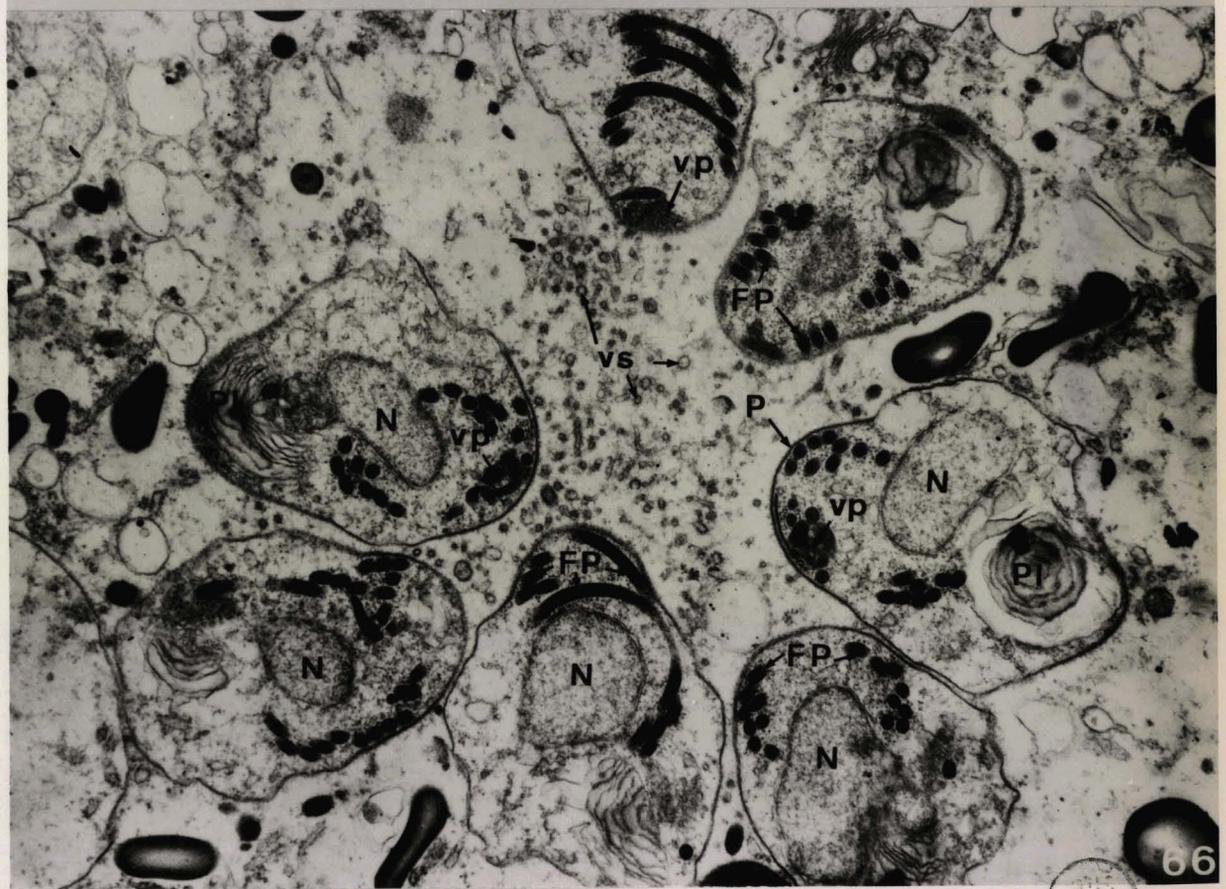
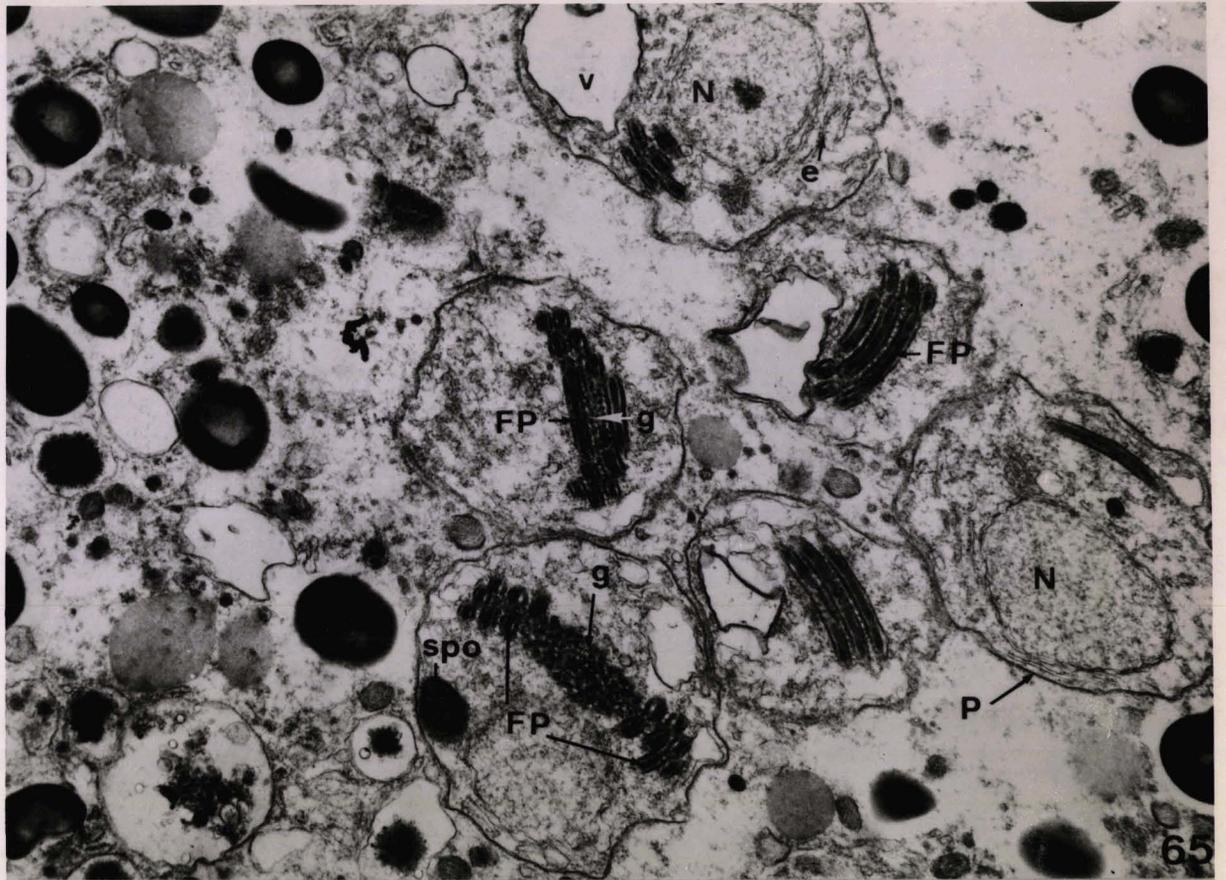


PHASE SPOROGONIQUE

Fig. 65 : Les sporoblastes d'un même groupe sont au même stade de développement. Ils résultent probablement des divisions successives d'un même schizonte.
x 19 000.

Fig. 66 : Les sporoblastes issus d'un même schizonte peuvent être disposés en "rosette". Noter leur même degré de différenciation et leur orientation vers le centre de la "rosette" occupé par des formations vésiculaires.
x 17 500.





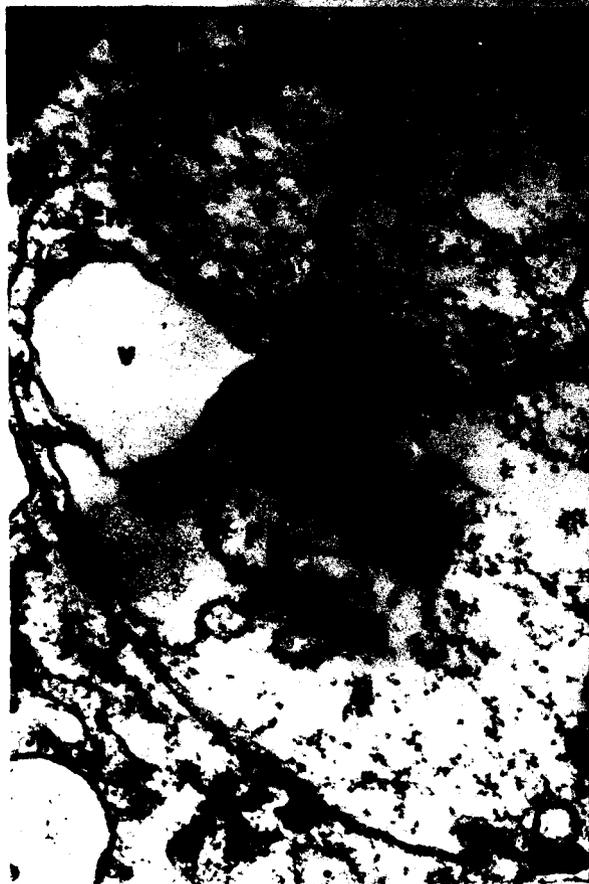
PHASE SPOROGENIQUE : FORMATION DU FILAMENT POLAIRE

Fig. 67 : Dans le jeune sporoblaste, l'élaboration du filament polaire semble commencer par l'apparition dans le cytoplasme, d'une grande "vésicule" située entre le noyau, dans une dépression de l'enveloppe nucléaire, et un amas de petites vésicules golgiennes à contenu très dense. Cette grande "vésicule" est à l'origine du sac polaire.
x 36 000.

Fig. 68 et 69 : Ce futur sac polaire est en relation, d'une part avec une grande vacuole à contenu clair, et d'autre part avec les petites vésicules golgiennes à contenu dense.
x 35 000 - x 44 000.

Fig. 70 : Le filament polaire, au début de sa formation, pénètre dans le sac polaire où il s'insérera.
x 52 000.



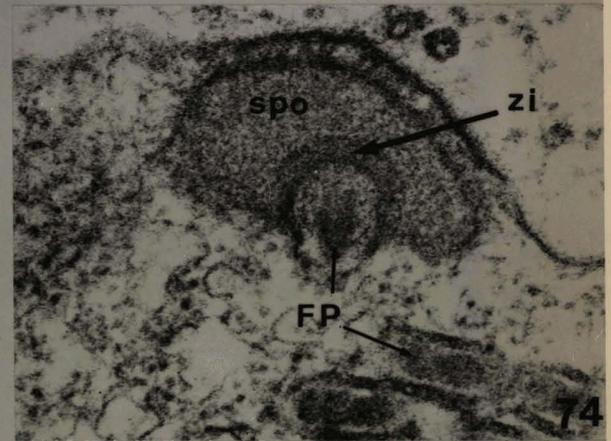
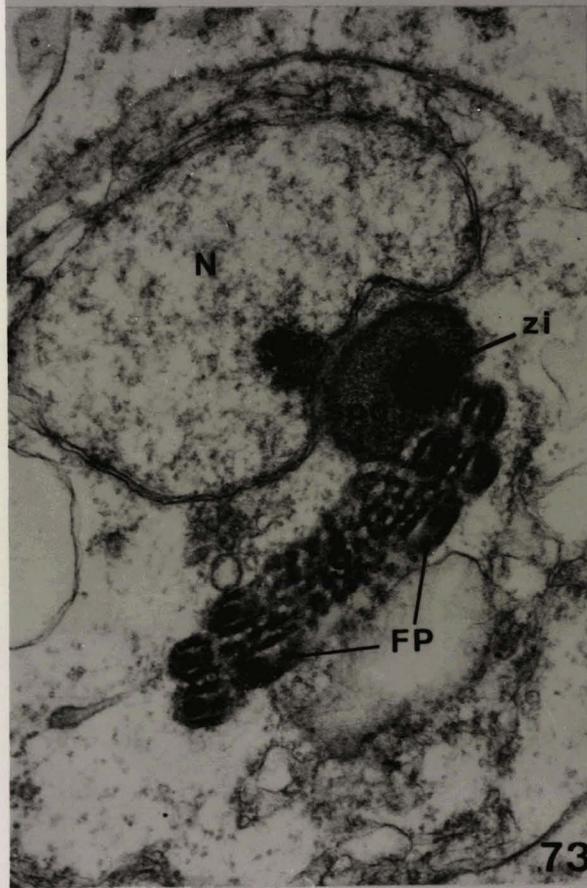
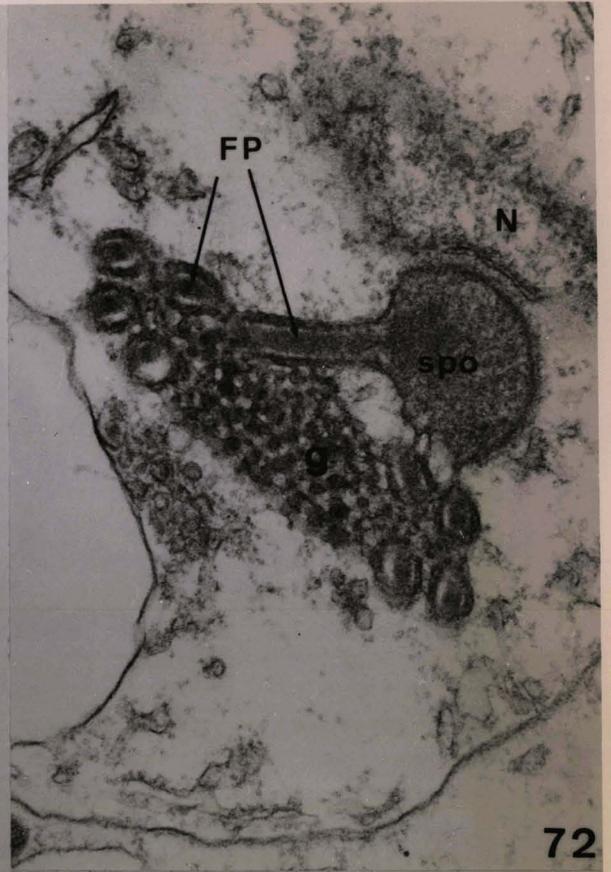
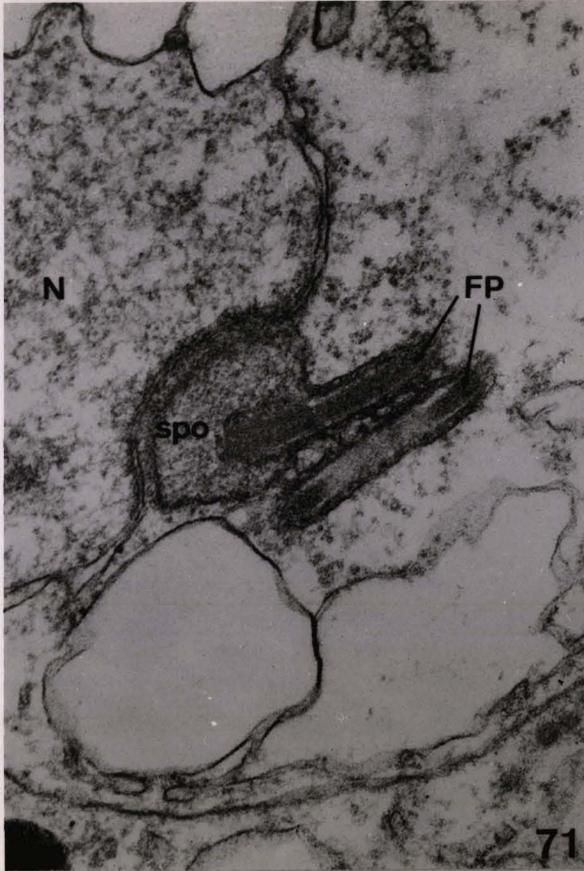


11111

PHASE SPOROGENIQUE : FORMATION DU FILAMENT POLAIRE

Fig. 71, 72 et 73 : Le contenu du sac polaire devient de plus en plus dense. La membrane externe du filament est en continuité avec celle du sac polaire où pénètre la zone centrale plus dense du filament qui s'élargit à ce niveau.
x 60 000 - x 52 000 - x 50 000.

Fig. 74 et 75 : Zone d'insertion du filament sur le sac polaire avec renforcement basal à ce niveau. Noter la présence de matériel disposé d'une manière plus ou moins rayonnante, dans la zone moyenne, entre la zone centrale dense et la zone externe du filament. Le sac polaire, de forme globuleuse, va s'aplatir de plus en plus.
x 90 000 - x 60 000.

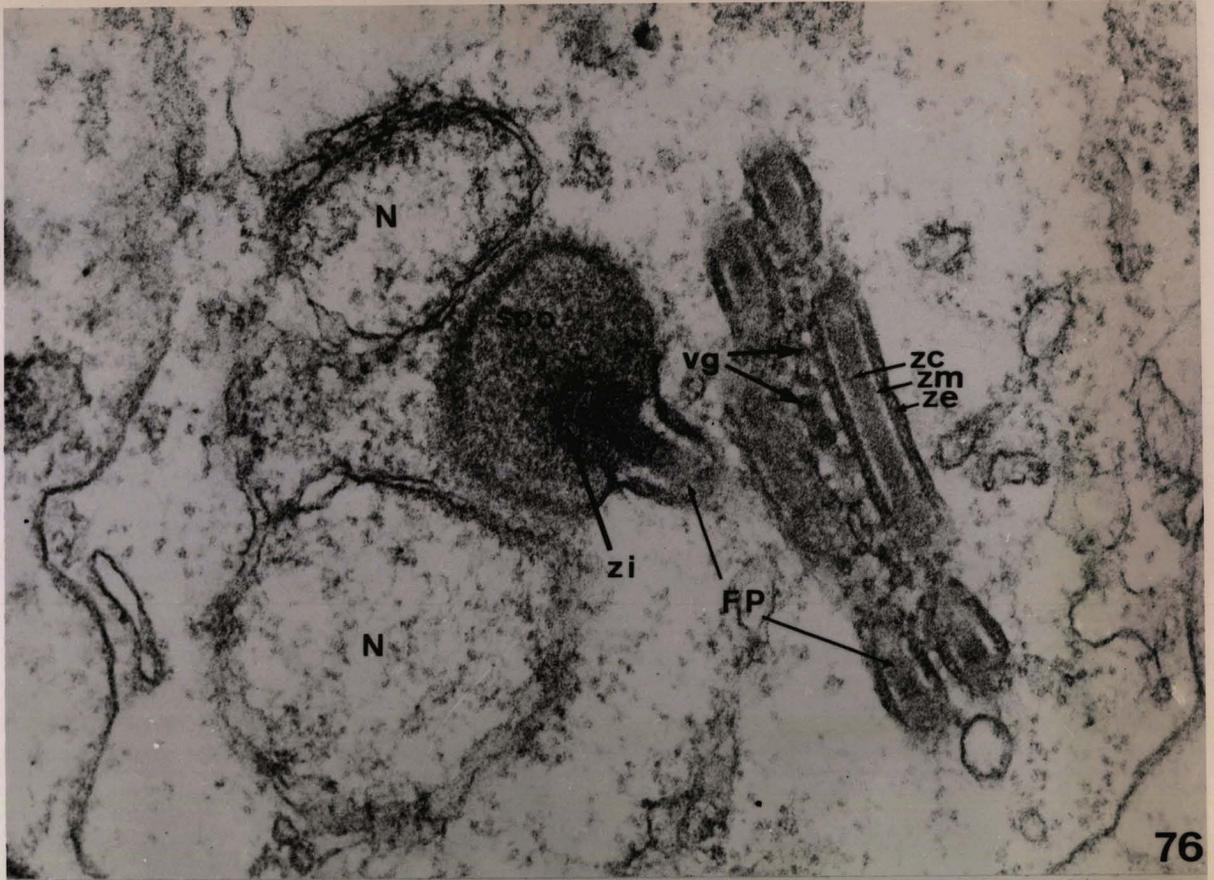


915
1126

PHASE SPOROGONIQUE : FORMATION DU FILAMENT POLAIRE

Fig. 76 et 77 : Le filament polaire se forme par juxtaposition et coalescence des vésicules golgiennes. Ce filament est formé de 3 zones : une zone centrale dense, une zone moyenne claire et une zone externe constituée de 2 membranes unitaires.
x 50 000 - x 60 000.





76



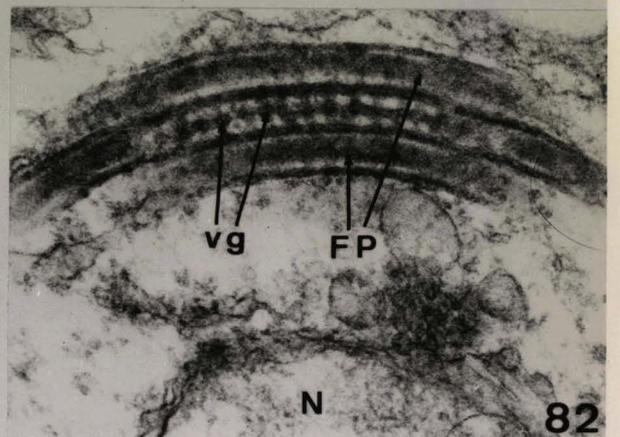
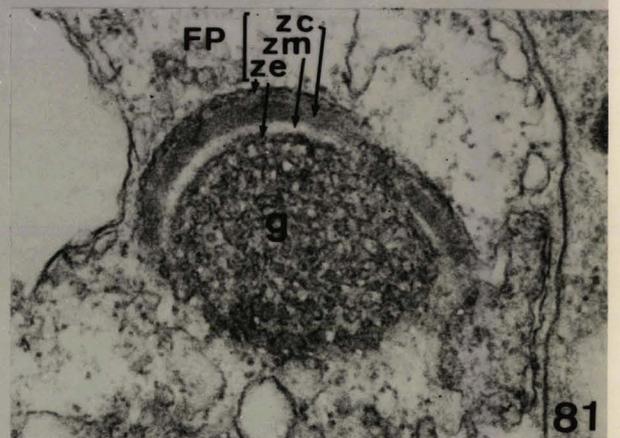
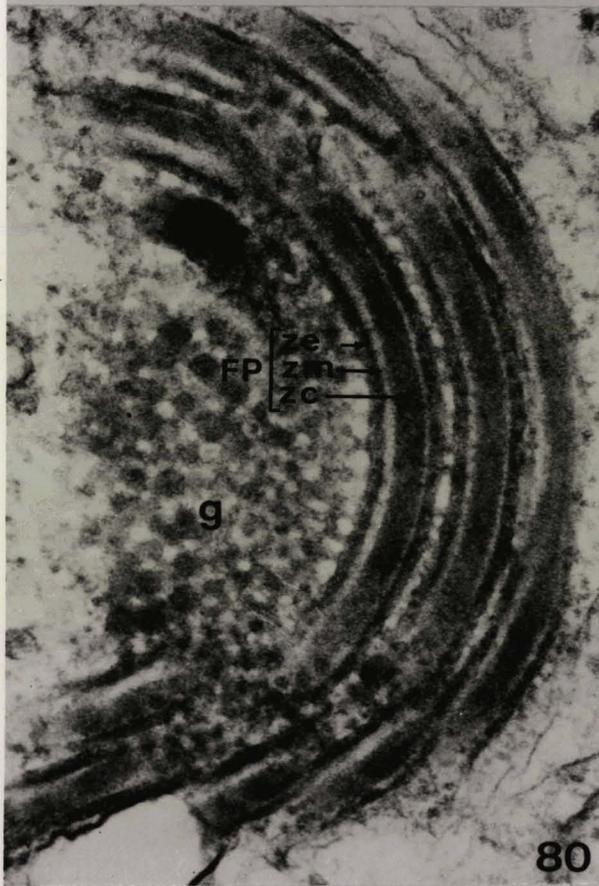
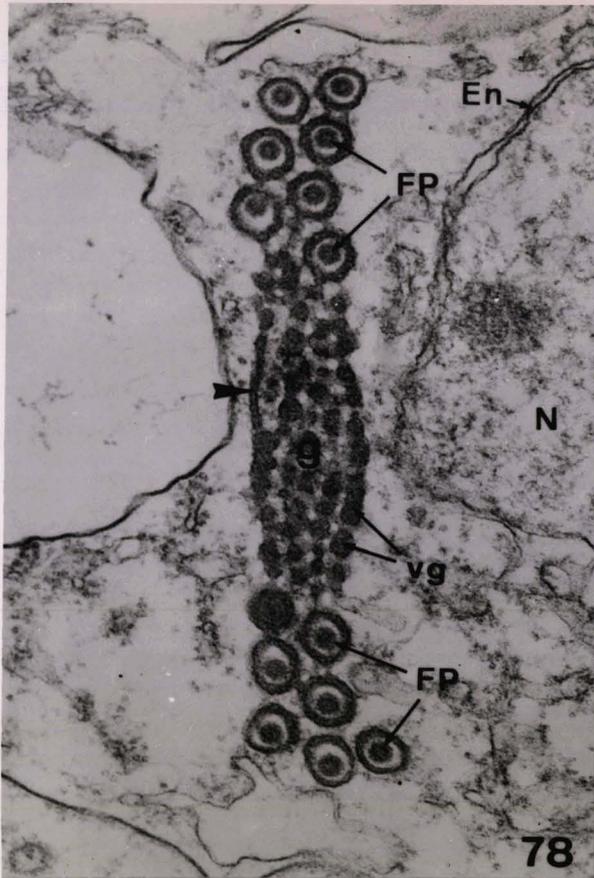
77



PHASE SPOROGENIQUE : FORMATION DU FILAMENT POLAIRE

Fig. 78 - 79 - 80 - 81 - 82 : Formation du filament polaire par
coalescence des vésicules golgiennes.
x 60 000 - x 57 000 - x 78 000 - x 60 000 -
x 64 000.





PHASE SPOROGONIQUE : LES SPOROBLASTES

Fig. 83, 84, 85 et 86 : Le sac polaire qui a migré à un pôle de la cellule (opposé au noyau) prend la forme d'une "ancre". Entre celui-ci et le noyau est apparu le polaroplaste lamellaire entourant la base du filament, le polaroplaste vésiculaire et parfois une partie du noyau. Noter le léger épaissement de la paroi du sporoblaste.
x 42 000 - x 44 000 - x 40 000 - x 40 000.



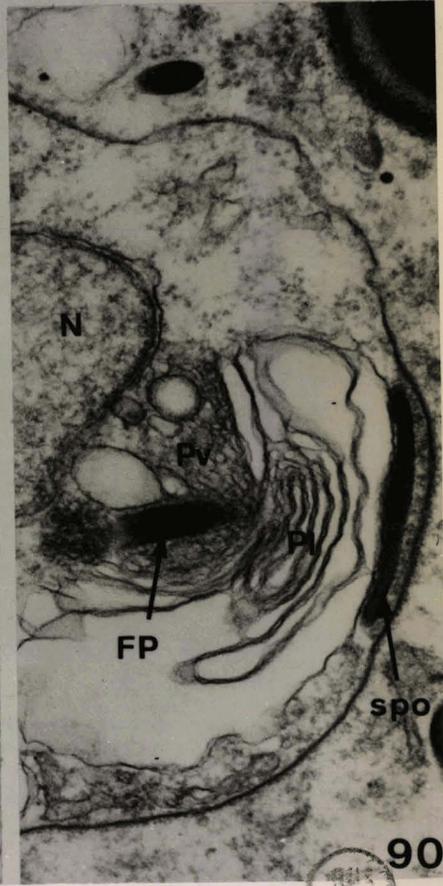
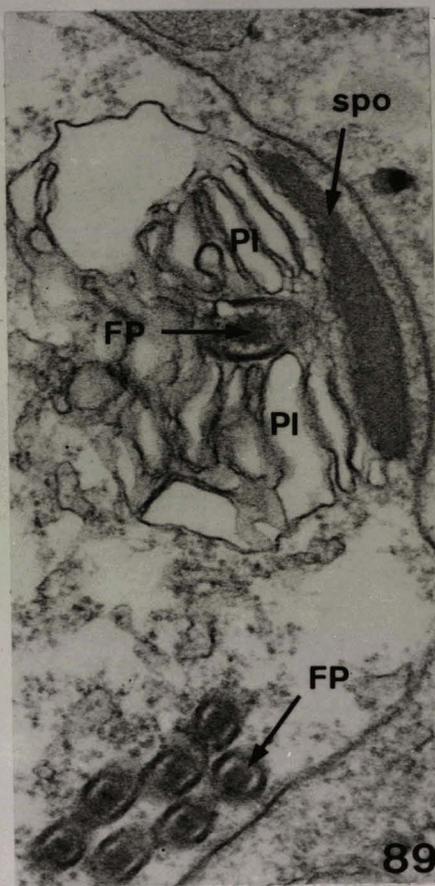
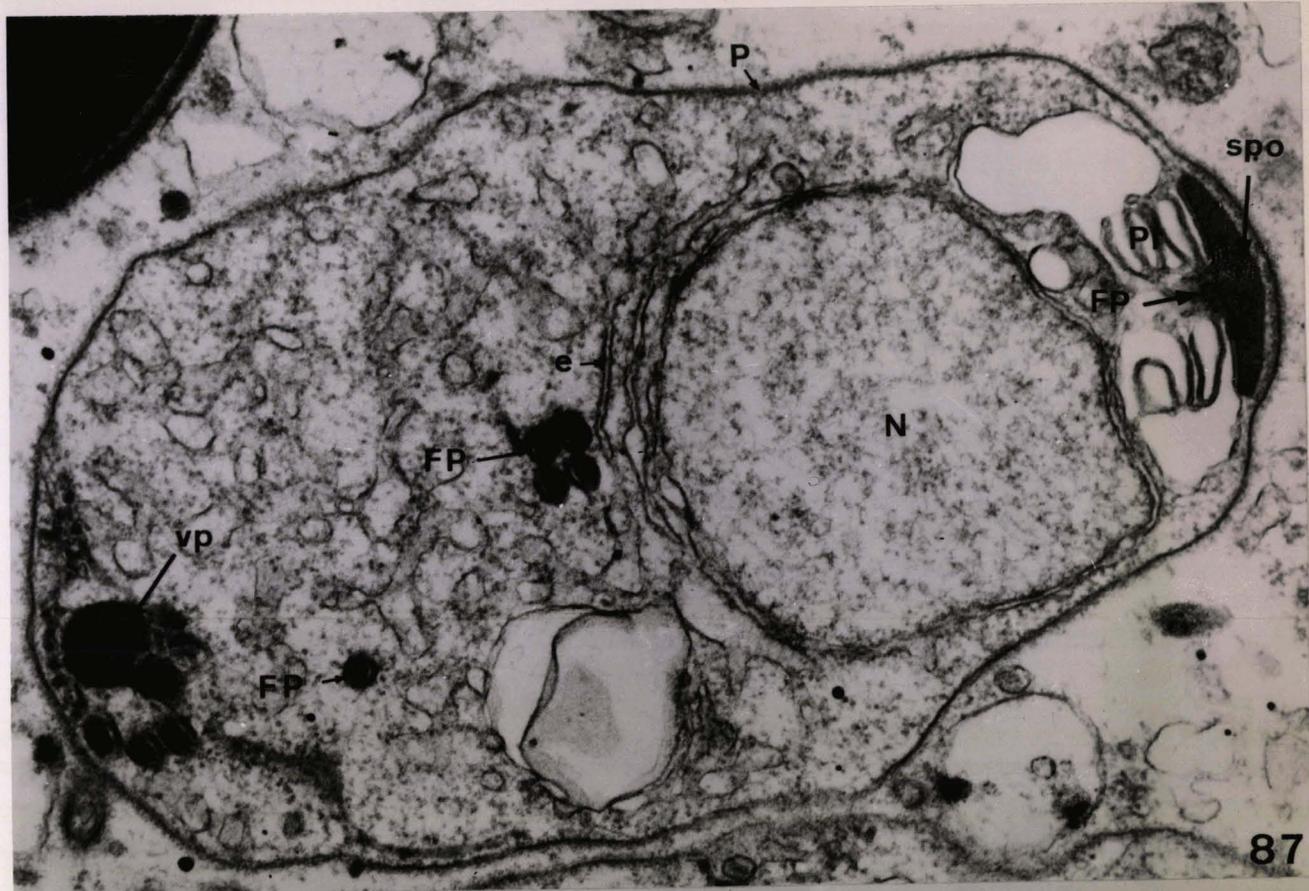
US
FILE

PHASE SPOROGONIQUE : LES SPOROBLASTES

Fig. 87 : Le sporoblaste prend une forme ovoïde avec, à un pôle, le sac polaire et le polaroplaste lamellaire, et au pôle opposé, la vacuole postérieure.
x 60 000.

Fig. 88, 89, 90 : Le sac polaire avec la base du filament qui est entourée du polaroplaste lamellaire dont l'empilement exact des membranes est difficile à préciser.
x 52 000 - x 62 000 - x 46 000.





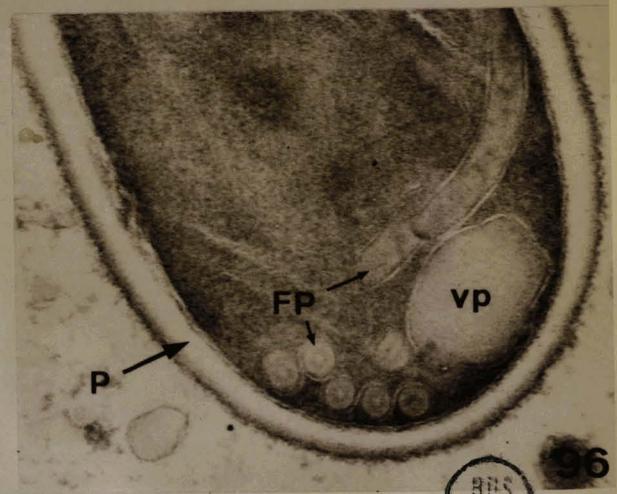
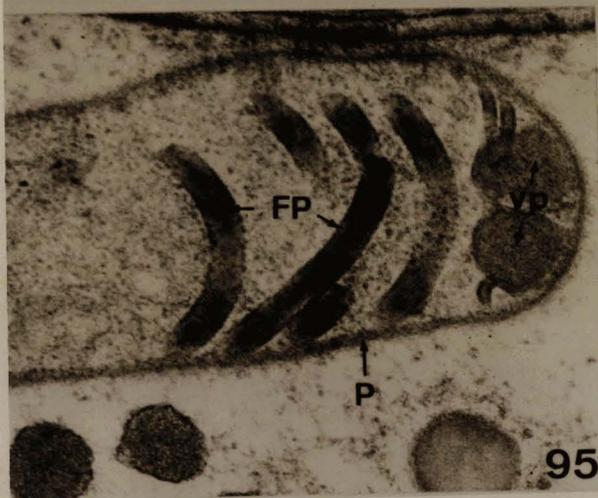
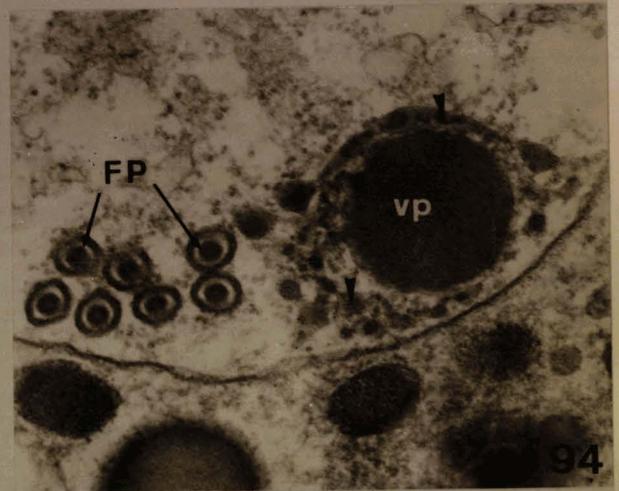
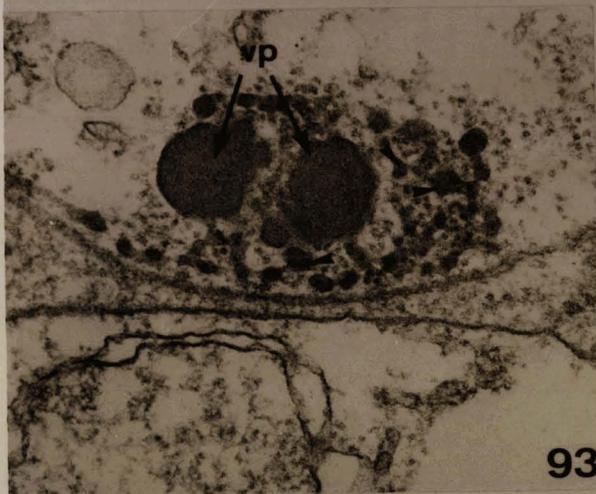
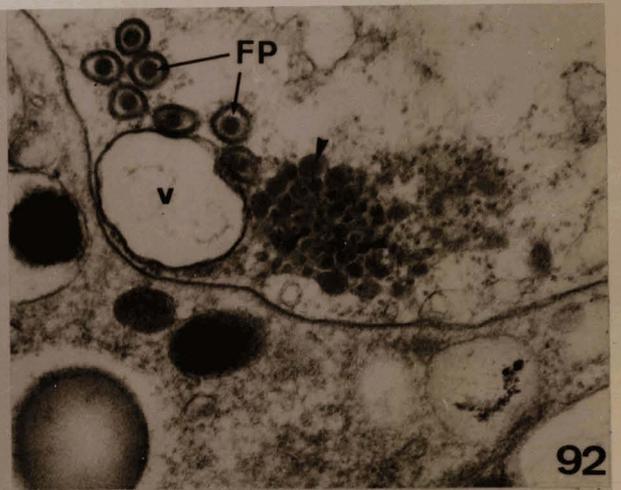
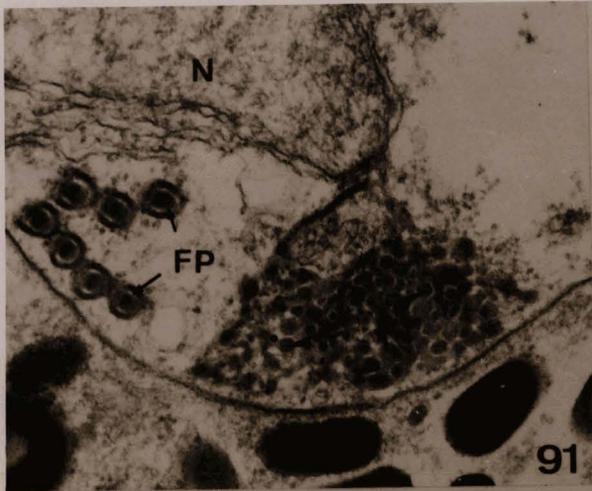
PHASE SPOROGONIQUE : LES SPOROBlastES ET
FORMATION DE LA VACUOLE POSTERIEURE

Fig. 91, 92, 93, 94, 95, 96 : La vacuole postérieure, située au pôle opposé au sac polaire semble se former par coalescence de vésicules à contenu dense.

x 46 000 - x 46 000 - x 56 000 -

x 56 000 - x 47 500 - x 56 000.





BUS
HALL

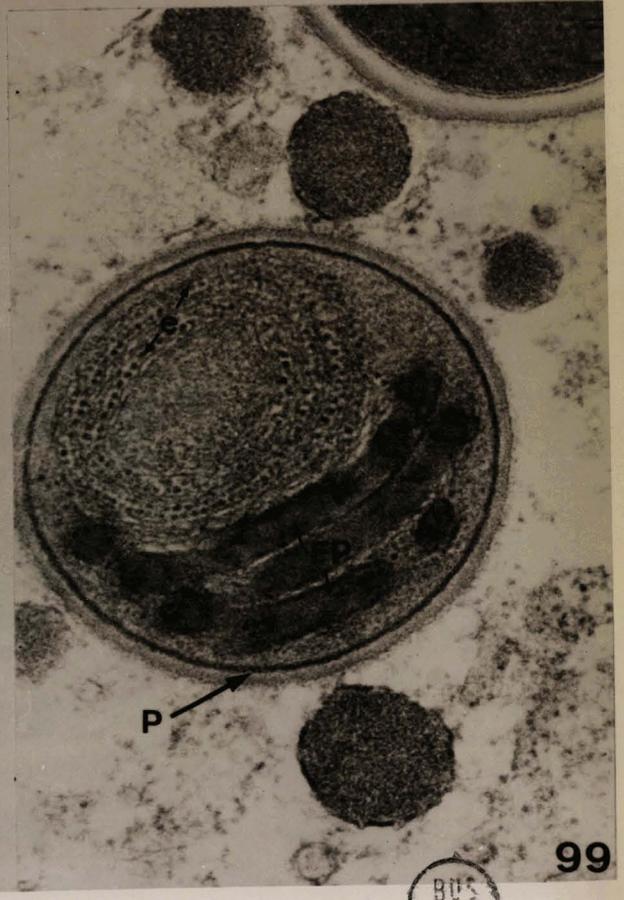
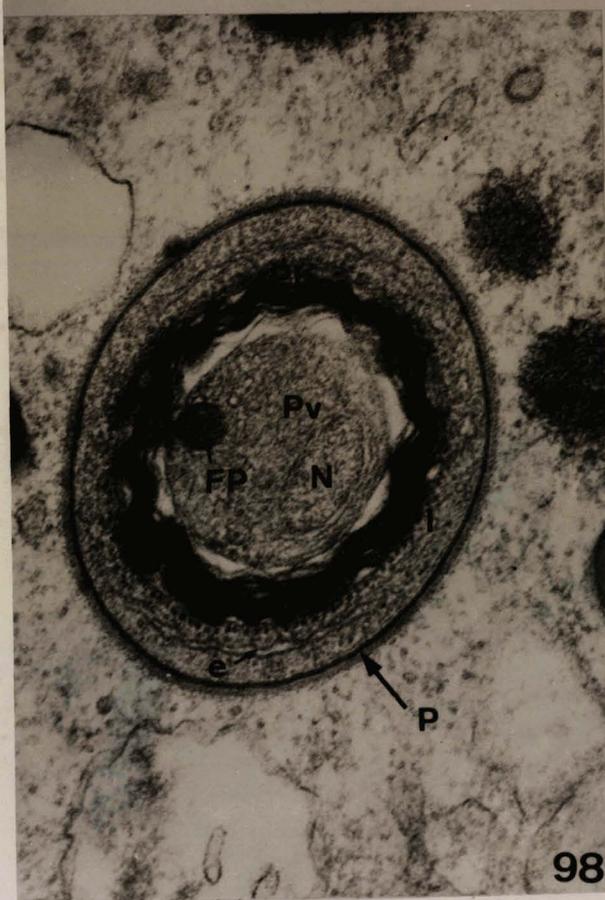
PHASE SPOROGONIQUE : LES SPOROBLASTES

Fig. 97 : Le sporoblaste va évoluer en spore. La paroi s'épaissit par apposition d'une couche dense sur la membrane plasmique. Le polaroplaste lamellaire dont les membranes "se resserrent" prend la forme d'une cloche entourant la base du filament et le polaroplaste vésiculaire.
x 57 000.

Fig. 98 : Coupe transversale au niveau du polaroplaste lamellaire. Celui-ci entoure le filament, le polaroplaste et un lobe du noyau.
x 64 000.

Fig. 99 : Coupe transversale dans la région postérieure. Le cytoplasme est très riche en lames ergastoplasmiques.
x 64 000.





BUS
LILLE

PHASE SPOROGENIQUE : LES SPORES

Fig. 100 : Coupe oblique (légèrement tangentielle), montrant le sac polaire, le filament qui traverse le polaroplaste lamellaire de structure compacte et le polaroplaste vésiculaire avant de s'enrouler en spirale sous la paroi.
x 47 500.

Fig. 101 : Détail de la région antérieure. Le sac polaire, limité par une membrane unitaire (flèches), "coiffe" le polaroplaste lamellaire de structure compacte. La paroi est constituée de 3 zones : la membrane plasmique, une zone claire et une couche dense externe.
x 112 000.

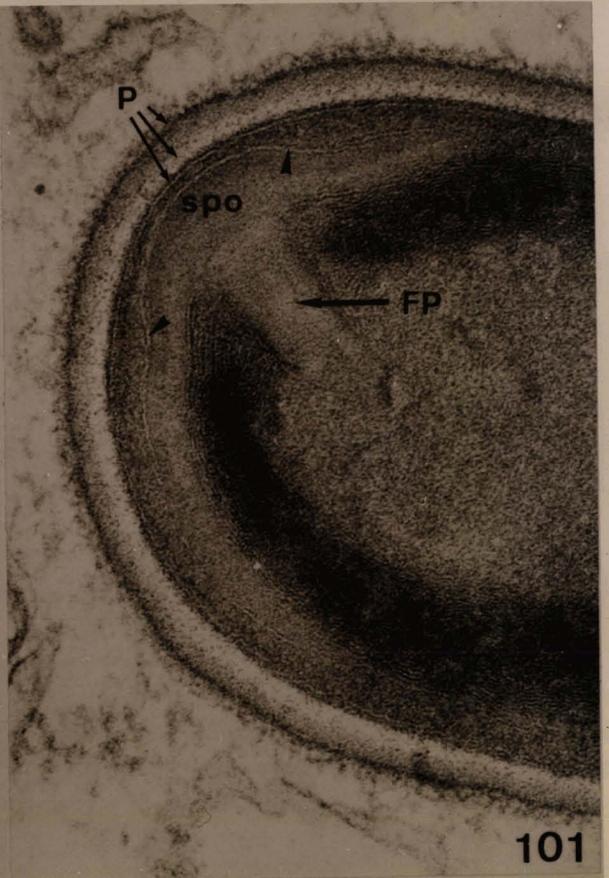
Fig. 102 : Coupe transversale dans la région postérieure. Noter le cytoplasme riche en ergastoplasme et le filament polaire limité par une seule membrane unitaire.
x 72 500.

Fig. 103 : Coupe transversale au niveau de la vacuole postérieure ; celle-ci est limitée par une membrane de type unitaire.
x 76 000.





100



101



102



103



1177
962

Des spores dites "anormales" (macrospores) ont
pu être observées. ^{celle} Noter leur forme beaucoup
plus allongée que des spores classiques.
x 60 000.

Fig. 104 :

PHASE SPOROGONIQUE : LES SPORES



PHASE SPOROGONIQUE : LES SPORES

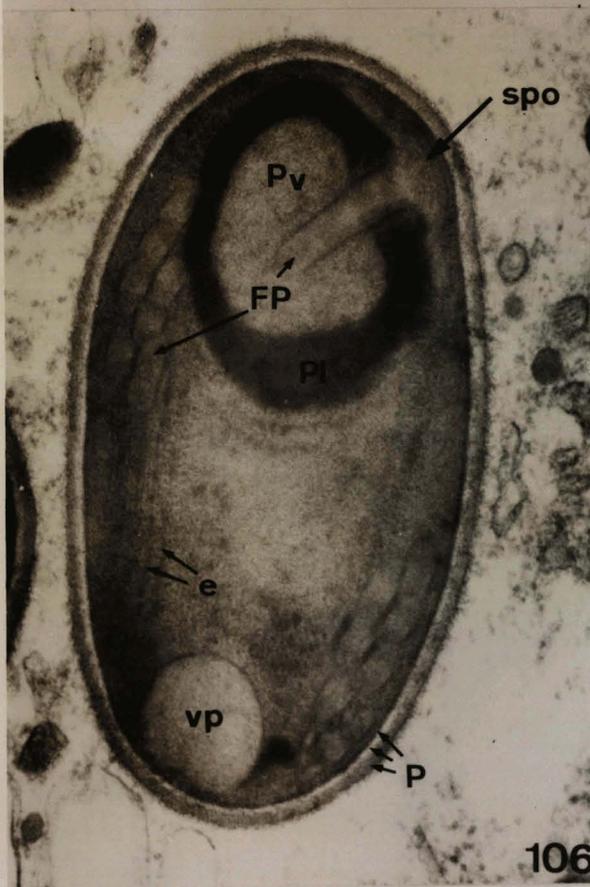
Fig. 105 : Les macrospores. Leur structure paraît semblable à celle des spores classiques. Noter le cytoplasme riche en lames ergastoplasmiques.
x 24 500.

Fig. 106 et 107 : Coupes longitudinales de spores "normales".
Le tiers antérieur est occupé par le sac polaire et les polaroplastes lamellaire et vésiculaire entourant la base du filament. Dans les 2 tiers postérieurs se trouvent le filament polaire, le cytoplasme riche en ergastoplasme et la vacuole postérieure (le noyau n'est pas visible ici).
x 55 000 - x 40 000.

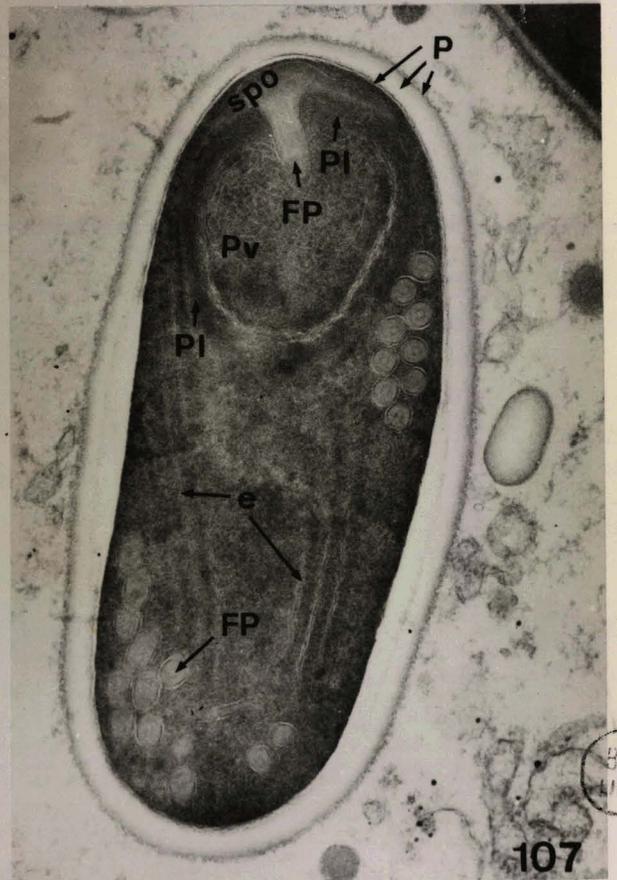
298
1951



105



106



107

BUS
HILLE

Fig. 108 : Remarquer dans le cytoplasme des Grégarines parasitées, les nombreuses inclusions de type mucopolysaccharidique.

Fig. 109 : Les inclusions de type mucopolysaccharidique, sont constituées d'un enchevêtrement de fins filaments présentant des densifications plus opaques.



