ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME XXXV

1960

N° 3

MÉMOIRES ORIGINAUX

SUR DEUX GRÉGARINES DU GENRE *MONOCYSTELLA* ENDOPARASITES DES PLANAIRES OCHRIDIENNES : *FONTICOLA OCHRIDANA* STANKOVIČ ET *NEODENDROCOELUM SANCTI-NAÛMI* STANKOVIČ

Par Pierre de PUYTORAC et Jean GRAIN

A. — Historique

La présence de Grégarines chez les Turbellariés, mentionnée pour la première fois par Schultze en 1851, a été reconnue ensuite par Hallez (1879) chez *Planaria fusca*, et par Keferstein (1896) chez *Leptoplana*.

Mais ces Sporozoaires, classés comme *Pleurozyga planariæ* par Mingazzini (1893), puis ramenés au genre *Lankesteria* par Labbé (1895), n'ont fait vraiment l'objet de quelques recherches constructives que depuis 1910.

A cette date, Swarczewsky étudie le cycle d'une *Lankesteria* sp., parasitant quatre espèces de Planaires du lac Baïkal, appartenant aux genres *Planaria* et *Sorocoelis*. Il décrit une gamogonie avec kyste se développant dans le parenchyme de l'hôte, et, en outre, ce qu'il considère comme une schizogonie, qu'il estime fréquente, et dont le point de départ serait une Grégarine enkystée solitaire, se divisant en nombreux petits corps uninucléés.

En 1921, Vandel signale, chez *Planaria lugubris* et *Planaria polychroa*, une *Lankesteria planariæ*, dont il observe la syzygie dans l'intestin, le couple passant ultérieurement dans le parenchyme de l'hôte, où se forme le kyste.

TABLEAU I

AUTEURS	ANNÉES	ESPÈCES DÉNOMMÉES	HÔTES	LIEUX DE RÉCOLTE DES HÔTES
Schultze.	1851	(<i>In</i> Valkanov).		
Hallez.	1878			
Mingazzini.	1893	<i>Pleurozyga planariæ</i> .	<i>Planaria fusca</i> .	
Keferstein.	1896		<i>Planaria torva</i> .	
Kosmanovic.	1898		<i>Leptoplana</i> .	
Beetson.	1903		<i>Geoplana steenstrupi</i> .	
			<i>Geoplana olivacea</i> .	
Swarczewsky.	1910	<i>Lankesteria</i> sp.	2 esp. <i>Planaria</i> - 2 esp. <i>Sorocoelis</i>	Lac Baïkal.
Monti.	1912	(<i>In</i> Valkanov).	<i>Planaria torva</i> .	
Dorner.	1913	(<i>In</i> Valkanov).		
Fuhrmann.	1916	<i>Rhynchocystis geoplana</i> .	<i>Geoplana becki</i> Fuhr. <i>Geoplana amagensis</i> Fuhr.	
Jansson.	1917		<i>Dendrocoelum lacteum</i> .	
Vandel.	1921	<i>Lankesteria planariæ</i> .	<i>Planaria polychroa</i> . <i>Planaria lugubris</i> .	Source du Letz. Montpellier (Oise).
Poisson.	1921	<i>Lankesteria cyclospori</i> .	<i>Cyclosporus maculatus</i> .	Luc-sur-Mer.
Valkanov.	1931-34	<i>Monocystella arndii</i> .	<i>Fonticola macedonica</i> Stank.	Sofia.
Georgevitch.	1939-40	<i>Monocystis plagiotomæ</i> . <i>Monocystis neodendrocoeli</i> . <i>Lankesteria neodendrocoelum</i> .	<i>Plagiotoma lemani</i> . <i>Dendrocoeles</i> indéterminés.	Lac d'Ochrid.

La même année, Poisson recueille des Polyclades marins (*Cyclosporus maculatus*), abondamment parasités par une Grégarine, dont la plus grande partie de la croissance est intracellulaire, dont la syzygie a lieu soit dans la lumière du tube digestif, soit dans l'épithélium intestinal, soit dans le parenchyme, et dont les gamontes mâle et femelle sont légèrement différents et les gamètes un peu anisogames.

Valkanov (1931) trouve, chez des Planaires, déterminées par Stankovič comme appartenant à l'espèce *Fonticola macedonica* Stank., mais tenues par de Beauchamp pour des *Fonticola albisima*, var. *dalmatica* Stank. et Kos., une Grégarine dont il précise, quelques années plus tard (1934), les différents stades du cycle. Ayant à sa disposition de nombreux kystes dans le parenchyme de ces Turbellariés, il s'attache particulièrement à l'étude de la gamétogénèse et de la sporogénèse et il prouve que la méiose s'effectue dans la spore, au cours de la première mitose métagamique. Il dissocie enfin cette espèce du genre *Lankesteria* et en fait le représentant d'un genre nouveau : *Monocystella*, caractérisé par l'« absence de forme fixe et par une gamétogénèse sans reliquat ».

Enfin, en 1951, Georgévitch mentionne brièvement la présence de Grégarines dans des Planaires du lac d'Ochrid (*Plagiostoma lemani* et différents *Dendrocoeles* non déterminés).

Ainsi, si des Grégarines ont été signalées, tant dans des Turbellariés d'eau douce que marins ou terrestres, la liste des hôtes reconnus jusqu'alors est néanmoins fort brève, en définitive (tableau I).

Aussi, ne nous paraît-il pas inutile de faire part de nos observations sur la présence de *Monocystella* chez des *Fonticola ochridana* Stank., et des *Neodendrocoelum Sancti-Naumi* Stank., Planaires endémiques strictes, des sources et des bords du lac d'Ochrid (Yougoslavie), lac bien connu par sa faune spéciale relique, ayant évolué depuis le « Pontien », en « vase clos ».

Ces Turbellariés ont été recueillis, par l'un de nous (de Puytorac), en 1956, au cours d'un séjour à la Station Biologique du lac d'Ochrid, grâce à une subvention du C.N.R.S. C'est là qu'ont été faites les observations vitales des Sporozoaires. La détermination des Turbellariés est due à l'obligeance du Professeur Stankovič.

Les *Fonticola ochridana* portent des Trichodines ectoparasites et hébergent, en outre, dans l'intestin, un Cilié *Haptophryidæ* : *Sieboldellina Stankoviči* de Puytorac.

B. — Recherches personnelles

Matériel et techniques :

Le matériel, fixé sur place au Bouin, au Flemming ou au formol, a été coloré sur coupes, par l'hématoxyline, le bleu polychrome de Unna, ou le Feulgen. Des imprégnations à l'argent ont été effectuées sur les Grégaires *in toto* obtenues par dilacération des hôtes.

I. — *MONOCYSTELLA* ENDOPARASITE DE *FONTICOLA OCHRIDANA*

Près de 70 % des *Fonticola* récoltées, sont parasitées, et, chez certaines Planaires, les Grégaires sont particulièrement abondantes, sans que puissent s'observer d'anomalies morphologiques particulières de ces Turbellariés, dont de nombreuses cellules digestives sont pourtant infestées.

a) Le trophozoïte :

Les jeunes trophozoïtes, de forme arrondie, sont toujours logés dans une cellule de l'épithélium intestinal, à son pôle inférieur, vers la membrane basale (fig. 1 a, b). Leur croissance peut s'y effectuer entièrement (fig. 1 c), mais elle peut aussi se poursuivre dans la lumière intestinale. Les formes adultes se trouvent ainsi, soit envacuolées dans la cellule-hôte, dont elles occupent la partie apicale seule ou toute la hauteur, soit dans la cavité digestive, totalement libres ou rattachées encore par leur extrémité à l'épithélium.

Adulte, cette Grégaire peut atteindre 150 à 200 μ de longueur sur 58 à 90 μ de largeur (fig. 1 d).

De forme générale ovoïde, elle présente alors une partie postérieure arrondie, centrée parfois par une légère proéminence, et une extrémité antérieure acuminée, munie d'un mucron, malaisément discernable *in toto*, sidérophile, de 1 à 2 μ de hauteur, situé plus ou moins en saillie au milieu d'une dépression périphérique, plus ou moins marquée et à bords grossièrement festonnés, évoquant le pseudoépimérite observé par Fuhrmann chez sa Grégaire, et qui lui avait fait rapprocher cette dernière du genre *Rhynchocystis*.

L'épicyte, épais, porte de nombreux plis, formant une striation longitudinale serrée, assez régulière, bien révélée par l'argent, partant de la dépression périphérique du mucron à la base de la proéminence postérieure.

L'endoplasme paraît homogène d'un bout à l'autre de la cellule et nous n'avons pu y distinguer de zone vacuolaire particulière antérieure, comme chez *Monocystella planariae* d'après Vandel, ou *Monocystella cyclospori* selon Poisson.

Le noyau sphérique, de 20 à 37 μ de diamètre maximum, subit, au cours de la croissance du trophozoïte, outre une augmentation de volume importante, des modifications structurales marquées.

Chez les formes jeunes, il contient un karyosome unique, volumineux, mais qui, au cours de l'accroissement du Sporozoaire, n'augmente pas de taille aussi vite que le noyau (fig. 1, 2). Des granulations sidérophiles, de plus en plus nombreuses, apparaissent, par contre, entre lui et la membrane nucléaire, tassées en un croissant, réparties en couronne, ou disséminées de plus en plus densément dans le karyoplasme (fig. 1 e).

FIG. 1. — Représentation schématique des différents stades de développement de la *Monocystella* observée dans l'épithélium intestinal de *Fonticola ochridana*. a : jeune trophozoïte ayant atteint le pôle basal de la cellule ; b : trophozoïte un peu plus âgé ; c : coupe transversale de Grégarine en croissance ; d : coupe longitudinale de Grégarine adulte ; e : syzygie ; f : sporocyste ; g : sporozoïte peu après sa pénétration dans la cellule-hôte ; lumière intestinale à gauche de la figure. Echelle : 40 μ .

FIG. 2. — Sporozoïte et jeunes trophozoïtes (flèches) parmi les diverses inclusions de la cellule.

Cette chromatine devient ainsi, progressivement, peu avant la syzygie, la partie la plus importante du noyau (fig. 1 e). Jusque-là, elle reste Feulgen-négative. Le karyosome est toujours hétérogène et complexe, avec une constitution réticulaire bien discernable, après fixation au Bouin ou au Flemming (fig. 3). Chez les individus jeunes, le réseau constitutif est intensément coloré en rouge par le Feulgen, et les nombreuses enclaves vacuolaires qu'il enserre sont nettement Feulgen-négatives et vivement colorées en vert par le vert-lumière. Au cours de l'accroissement du noyau et de l'apparition des granulations chromatiques dans le karyoplasme, il semble que le réticulum du karyosome devienne moins dense, et que sa réaction au Feulgen, tout en restant toujours positive, soit moins violente.

Nous avons observé dans l'endoplasme de certaines Grégarines des plages ou des granules colorables à l'hématoxyline. Ces chromidies sont peut-être du type des émissions

nucléaires signalées par de nombreux auteurs chez les Grégarines en général, et par *Valkanov* chez *Monocystella arndti* en particulier.

b) Syzygie :

Elle se produit précocement chez des individus qui peuvent même n'avoir qu'une soixantaine de microns de longueur.

Les deux gamontes s'accolent latéralement (fig. 4), parfois latéro-postérieurement, exceptionnellement en tête-bêche. Le couple se tient dans l'épithélium intestinal, dont les cellules sont plus ou moins détruites, tandis qu'une enveloppe de cellules aplaties le circonscrit et le sépare du mésenchyme d'une part, de la lumière intestinale d'autre part.

Bien que nous ayons pu observer de nombreux exemples de syzygie et des spores, dans aucune des Planaires examinées, nous n'avons pu trouver de kyste. Il est difficile de croire cependant que l'évolution, à ce stade, se poursuive en dehors de l'animal parasité, dans les *excreta*, car, dans toute la littérature des *Monocystella*, l'enkystement, la gamétogénèse et la sporogénèse sont décrits

FIG. 3. — Coupe transversale de Grégarine adulte passant par le noyau et mettant en évidence le karyosome réticulé. Gross. : 650.

FIG. 4. — Coupe transversale de Planaire, passant par une syzygie, incluse dans l'épithélium intestinal. Gross. : 420.

FIG. 5. — Coupe transversale de Grégarine, avec, latéralement, une section longitudinale de sporocyste, montrant la disposition des sporozoïtes et leur structure. Gross. : 850.

comme s'effectuant dans l'hôte même. C'est néanmoins là un point qu'il y aurait lieu de vérifier sur place.

Nous n'avons de même jamais remarqué de ces enkystements solitaires, reconnus tant chez les Monocystidés que chez les Polycystidés, et sur lesquels insiste Swarczewsky dans l'étude de sa *Monocystella*.

c) Sporocystes, sporozoïtes :

Les sporocystes, par contre, sont relativement fréquents dans nos préparations, envacuolés dans les cellules intestinales (fig. 5), parfois au nombre de deux ou trois dans une même cellule. De 23 à 26 μ de longueur sur 13 à 15 μ de large, c'est-à-dire bien plus grands que ceux de *Monocystella planariae* (5-6 $\mu \times 2,5-3 \mu$) ou des *Monocystella cyclospori* (5-5 $\mu \times 3 \mu$), ils sont réguliers, avec deux axes

de symétrie inégaux, perpendiculaires l'un à l'autre, elliptiques, à pôles semblables (fig. 6). Ce sont des sporocystes homopolaires, à paroi lisse, différents ainsi, non seulement par leur taille, mais aussi par leur morphologie, des sporocystes piriformes que décrit Vandel chez *Monocystella planariae* (1921) et que figure Grassé (1935) pour une *Monocystella* sp., parasite de *Geoplana*, mais semblables, par contre, à ceux de *Monocystella arndti* (Valkanov 1935). Dans les cas les plus favorables, nous avons pu y reconnaître l'existence d'une double membrane, l'une externe, épaisse, vivement colorable, l'autre mince, interne, peu chromatique. Chaque sporocyste renferme huit sporozoïtes et un reliquat cytoplasmique occupant la région centrale de la spore, formé d'un amas de petites granulations réfringentes.

Les sporozoïtes, allongés, pointus aux deux extrémités, orientés régulièrement selon l'axe longitudinal de la spore, et sur toute sa longueur, d'un diamètre moyen de 1,5 μ , ont un cytoplasme dense et un noyau médian. Feulgen-positif, hétérogène. La chromatine y est tassée en deux calottes opposées, en forme de croissant, ou en anneau continu (fig. 6).

FIG. 6. — Schéma d'une coupe longitudinale et d'une coupe transversale de sporocyste. Noter le reliquat cytoplasmique, la disposition des sporozoïtes et la structure de leur noyau. Echelle: 15 μ .

Le sporozoïte libéré (fig. 1) va au pôle anti-apical de la cellule-hôte et s'arrondit. Les plus jeunes formes que nous ayons trouvées mesurent $6\ \mu$ de diamètre. A ce stade, le cytoplasme reste dense et le noyau très chromatique est hétérogène (fig. 2). Peu après, une auréole claire apparaît, entourant un centre sidérophile : le karyosome, qui a déjà une structure réticulaire. Le cytoplasme est plus alvéolaire. La période d'accroissement est alors en cours.

d) Place systématique de cette *Monocystella*

Nous avons vu les raisons pour lesquelles cette Grégarine se différencie nettement des autres espèces, *Monocystella planariæ*, *Monocystella cyclospori*, et des *Monocystella* parasitant les *Geoplana*. Comme Valkanov ne donne ni la taille du trophozoïte de *Monocystella arndti*, ni celle des sporocystes, et comme, de notre côté, nous n'avons pas pu observer les kystes de notre *Monocystella*, nous ne pouvons pas reconnaître si cette dernière appartient à l'espèce *Monocystella arndti* ou s'il s'agit d'une forme nouvelle. Cette dernière hypothèse paraîtrait cependant la plus probable, car il s'agit de deux hôtes différents et, de plus, séparés par des territoires écologiques distincts, bien tranchés.

II. — *MONOCYSTELLA NEODENDROCOELI* GEORGÉVITCH.

60 % des *Neodendrocoelum Sancti-Naumi* étudiés sont parasités, avec plus ou moins d'abondance par cette Grégarine, logée dans les cæcums intestinaux et dont nous n'avons pu observer que les trophozoïtes.

a) Le trophozoïte :

Les jeunes stades de contour circulaire, puis ovoïdes et enfin piriformes, sont envacuolés dans les cellules de l'épithélium intestinal (fig. 7), où ils sont alors fixés par un mucron, petite saillie pointue, d'où rayonnent des côtes saillantes épaisses (fig. 7). Leur croissance ne s'effectue pas entièrement dans la cellule-hôte et ils peuvent se libérer dans la lumière digestive dès qu'ils atteignent 30 à $35\ \mu$ de longueur sur 14 à $16\ \mu$ de largeur.

A l'état adulte (fig. 8), cette Grégarine mesure $120\ \mu \times 40\ \mu$. De forme générale allongée, elle conserve une partie antérieure massive, à extrémité largement arrondie, munie de la pointe fixatrice de 1 à $2\ \mu$ de hauteur, et une partie postérieure effilée renforcée, dans sa terminaison, par des côtes plus marquées que sur le reste du corps ; cette partie postérieure est souvent repliée contre la partie antérieure.

FIG. 7. — Stade jeune de Grégarine envacuolée dans l'épithélium intestinal de *Neodendrocoelum*. Apex des *M. neodendrocoeli* (mucron et côtes).

FIG. 8. — Structure générale de *M. neodendrocoeli*.

L'endoplasme, riche en petites granulations réfringentes (fig. 8), contient des inclusions chromatiques, de forme diverse, et irrégulièrement disséminées, sans polarité bien définie.

Le noyau sphérique, de 15 à 25 μ de diamètre, situé dans la région médio-antérieure, contient un karyosome volumineux, également sphérique, de 7 à 8 μ de diamètre, de structure réticulaire, auquel s'adjoint parfois un autre karyosome, toujours plus petit, de 1 à 1,5 μ . Le karyoplasme est riche en empâtements de chromatine.

b) La syzygie :

Elle s'effectue dans la lumière intestinale, par accollement latéral, sur toute leur longueur, des deux gamontes. Parfois, trois individus accolés ont été observés. Ce cas a été signalé également par Swarczewsky chez sa *Monocystella*.

Nous n'avons pas trouvé de kyste.

c) Position systématique :

Cette forme nous paraît pouvoir être homologuée à la *Monocystella neodendrocoeli* que Georgévitch a observée « dans les tubes gastrovasculaires des différents Dendrocoeles », et sur laquelle il ne donne cependant que des indications vagues et sans valeur systématique.

III. — REMARQUE. POSITION DES MONOCYSTELLA DANS LA CLASSIFICATION DES GRÉGARINOMORPHES

En créant le genre *Monocystella*, Valkanov a eu le mérite de dissocier les Grégarines des Planaires, des *Lankesteria*, parasites de Tuniciers, dont elles étaient jusque-là tenues pour homologues. Le genre *Monocystella* doit certainement être maintenu.

Valkanov le considère comme appartenant aux *Monocystidæ* et, d'après la classification de Bathia (1930), basée sur la forme des sporocystes, c'est bien dans cette famille que certaines espèces de *Monocystella*, dont *Monocystella arndti*, et celle que nous décrivons, doivent effectivement se ranger, leurs sporocystes étant à pôles identiques.

Grassé (1953), cependant, considère les *Monocystella* comme des *Urosporidæ*. Selon les espèces, en effet, les sporocystes des *Monocystella* ont été décrits comme symétriques ou comme dissymétriques. S'agirait-il de formes hétérogènes groupées à nouveau sous un même vocable ? La question n'en serait peut-être d'ailleurs pas tranchée pour autant. En effet, si la *Monocystella arndti*, par exemple, est une *Monocystidæ* pour la morphologie des sporocystes, elle différerait nettement de ces dernières par l'absence de reliquat cytoplasmique, reliquat que Loubatières tient pour général chez les *Monocystidæ*. Nous pensons donc que les connaissances sur les Grégarines des Planaires sont encore trop fragmentaires pour que leurs caractéristiques générales et leur position systématique soient considérées comme résolues.

RÉSUMÉ

Sur les deux espèces décrites de *Monocystella*, parasites de Turbellariés, l'une, endoparasite du tube digestif de *Fonticola ochridana* Stank., pourrait être ou *Monocystella arndti* ou une espèce nouvelle ; l'autre, infestant *Neodendrocoelium Sancti-Naumi* Stank., semble pouvoir être homologuée à *Monocystella neodendrocoeli* Georgévitch.

BIBLIOGRAPHIE

- BATHIA (B. L.), 1930. — Synopsis of the genera and classification of Haplocytes Grégarines. *Parasit.*, 22, 156-157.
- BUSSON (B.), 1903. — Ueber einige Landplanarien. *Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss.-Wien*, 112, p. 375.
- FUHRMANN (O.), 1916. — Eine *Geoplana* parasitierende Grégarine. *Centralblatt f. Bakter. Parasit. und Inf.*, 77, p. 482-485.
- GEORGEVITCH (J.), 1951. — Contribution à la connaissance des Grégarines du lac d'Ochrid. *Bull. Acad. Scien. Serbe*, III, nouvelle série, classe des Sc. Méd., n° 1, p. 15-21.
- GRASSE (P. P.), 1953. — Sous-embranchement des Sporozoaires. *Traité de Zoologie*, I, fasc. II, p. 545-690.
- JANSSON (M.), 1907. — Parasitische Protozoa in darne von *Dendrocoelum lac-teum*. *Sprabol. Dist. Biol.*, 22, p. 337-340.
- KOSMANOVIČ, 1898. — Beitrag zur Kenntnis der Anatomie der Landplanarien. *Zeitschr. f. Wiss. Zool.*, 65.
- POISSON (R.), 1921. — *Lankesteria cyclospori* n. sp. Grégarine parasite de *Cyclosporus maculatus* (P. Hallez). *C.R. Soc. Biol.*, 85, p. 967-969.
- SWARCZEWSKY (B.), 1910. — Beobachtungen über *Lankesteria* sp., eine in Turbellarien des Baikalsees lebernde Grégarine. *Festschrift z. Sechzigst Gebur Richard Hertwigs*, I, p. 636-673.
- VANDEL (A.), 1921. — *Lankesteria planariæ*, Grégarine parasite des Planaires d'eau douce. *C.R. Soc. Biol.*, 84, p. 718-719.
- VALKANOV (A.), 1931. — Beitrag zum Kenntnis der parasitischen Mikrofauna der Bulgarischen tricladen. *Zool. Anz.*, 39, p. 262-263.
- VALKANOV (A.), 1934. — Untersuchungen über den entwicklungs-kreis eines Turbellarien parasiten (*Monocystella arndti*). *Zeitsch. f. Parasit.*, 7, p. 517-538.

(Centre de Biologie cellulaire, Faculté des Sciences, Clermont-Ferrand).