

# Quelques précisions sur la biologie des stades larvaires de *Nicolla gallica* (R.-Ph. Dollfus 1941) R.-Ph. Dollfus 1958, Trématode Coitocaecidé

par Henri GRIZEL et Marc VIANEY-LIAUD

Laboratoire de Zoologie I (P<sup>r</sup> O. TUZET), Université des Sciences et Techniques du Languedoc,  
Place E.-Bataillon, F 34060 Montpellier, Cedex

## Résumé

Des sporocystes contenant des cercaires semblables à celles de *Nicolla gallica* ont été mis en évidence au niveau de la glande digestive de *Bythinella sp.* (Prosobranchie).

Des kystes métacercariens de *Nicolla gallica* ont été observés dans les gonades mâles et femelles des Amphipodes *Gammarus pulex* et *Gammarus pungenis*. Cette localisation particulière des métacercaires semble être en relation avec leur développement génital accéléré. Ce phénomène pourra sans doute être élucidé en utilisant la méthode de culture *in vitro* proposée.

## Summary

Sporocysts containing cercaria similar to those of *Nicolla gallica* have been observed in the digestive gland of *Bythinella sp.* (Prosobranchia).

Encysted metacercaria of *Nicolla gallica* exist in the male and female gonads of two Amphipods: *Gammarus pulex* and *Gammarus pulex*. This particular localisation of metacercaria seems to be linked with their early genital maturation. *In vitro* culture perhaps will allow to study the determination of this phenomenon.

Notre travail a porté sur des animaux récoltés à la source du Lez, près de Montpellier. Dans cette localité sont présents: le Gastéropode *Theodoxia fluviatilis*, l'Amphipode *Gammarus pulex* et le Poisson *Anguilla anguilla*.

L'examen des gonades de *Theodoxia fluviatilis* nous a permis de vérifier la présence de sporocystes contenant des cercaires cotylécercques caractéristiques du Trématode *Nicolla gallica*. Dans la cavité générale de *Gammarus pulex*, nous avons observé des métacercaires enkystées plus ou moins évoluées, appartenant au même parasite. La dissection de deux Anguilles a permis l'identification, au niveau de leur tube digestif, de trois spécimens adultes de *Nicolla gallica* dont l'utérus contenait des œufs. De toute évidence, le cycle de *Nicolla gallica*, tel qu'il est décrit par Dollfus (1959, 1960), passant par *Theodoxia fluviatilis*, *Gammarus pulex* et *Anguilla anguilla* peut se dérouler dans la station prospectée. Il est à noter que l'Anguille peut être un hôte définitif naturel.

Parmi la faune présente dans notre lieu de récolte, nous avons également constaté la présence, d'une part, d'innombrables petits Prosobranches du genre *Bythinella* présents sur les feuilles d'Elodée, d'autre part, des Amphipodes de l'espèce *Gammarus pulex*, coexistant avec l'espèce *Gammarus pulex*.

Parmi les nombreux *Bythinella* sp. (1) disséqués, certains ont montré au niveau de leur glande digestive (jamais dans la gonade) des sporocystes contenant des cercaires en voie d'évolution et quelques cercaires bien formées. Ces dernières, ainsi que les sporocystes, se sont révélées indistinguables quant à leur morphologie et à leur taille des cercaires et des sporocystes de *Nicolla gallica* habituellement présents chez *Theodoxia fluviatilis*.

Un examen attentif des Gammars apporte de nouveaux renseignements. Il apparaît, en effet, que les métacercaires enkystées ne parasitent pas uniquement la cavité générale de l'hôte; elles peuvent également occuper les gonades des Gammars mâles et femelles. On trouve généralement deux et quelquefois trois kystes par testicule, mais toujours un seul par ovaire. Chez les mâles, les métacercaires sont localisées à la partie antérieure du testicule, tandis qu'elles occupent principalement la portion médiane ou postérieure de l'ovaire des femelles. Il est à noter que chez un même Gammare les parasites peuvent occuper à la fois la cavité générale et les gonades.

Le tableau ci-contre a été établi à partir d'une récolte effectuée en janvier 1971, à la suite de laquelle 120 Gammars ont été disséqués, 30 d'entre eux seulement

(1) La détermination spécifique des *Bythinella* à l'aide de la Faune de France, Mollusques terrestres et fluviatiles (Germain, 1930), s'est révélée très difficile et peu sûre.

étant parasités. Il permet de comparer le développement de l'appareil génital mâle et femelle de *Nicolla gallica*, en fonction de la taille des kystes métacercariens et de leur localisation dans l'hôte.

De ce tableau, nous pouvons déduire que :

— bien qu'ayant jusqu'à présent, à notre connaissance, échappé aux observations des auteurs, la présence de kystes métacercariens de *Nicolla gallica* dans les gonades de *Gammarus pulex* et *G. pungenis* est un phénomène fréquent,

**Tableau.**

(les mesures sont exprimées en microns).

Etat sexuel de la métacercaire \ Localisation du kyste	Testicule	Ovaire	Cavité générale
Glandes génitales présentes ..	378 × 350 392 × 350 370 × 340		420 × 380 400 × 400 415 × 390 400 × 370
Spermatozoïdes présents dans la vésicule séminale .....	378 × 360 384 × 400 448 × 420 448 × 420 462 × 430	390 × 370 400 × 386	480 × 440 470 × 560 490 × 500 500 × 460 525 × 500 582 × 540
Ovocytes présents dans l'oviducte .....	480 × 460 504 × 504 513 × 530 575 × 550	460 × 430 462 × 462	548 × 548 543 × 530 630 × 500
Œufs présents dans l'utérus ..	672 × 650		

— les Gammares mâles voient leurs gonades plus souvent parasitées que les femelles,

— pour une taille du kyste comparable, il semble que l'évolution de l'appareil génital mâle et femelle de la métacercaire soit plus précoce lorsque celle-ci est intragonadique que lorsqu'elle est intracavitaire.

Ce dernier point a particulièrement retenu notre attention. On peut, en effet, penser que l'hôte, par un mécanisme qui reste à élucider agit sur l'évolution du parasite qui l'infeste. Si la localisation du parasite influe sur son développement sexuel, cela ouvre indiscutablement des perspectives nouvelles pour l'étude des relations hôte-parasite.

La gonade de l'hôte peut-elle être tenue pour responsable de l'accélération du développement de l'appareil génital de la métacercaire ? Nous pensons qu'il sera possible de répondre à cette question en suivant le devenir des parasites brutalement ôtés à l'influence de l'hôte et, éventuellement, en faisant agir divers extraits. Dans ce but, nous avons mis au point une technique permettant d'assurer la survie *in vitro* des métacercaires enkystées. Nous nous limiterons, dans cette note, à indiquer quelle est la méthode utilisée et quels sont les premiers résultats acquis.

La culture en milieu liquide a été choisie, car elle nous a semblé se rapprocher au maximum des conditions de vie naturelles du parasite.

Dans ces premières expériences, nous avons voulu réaliser des cultures qui permettent d'isoler totalement le parasite de toute éventuelle influence de l'hôte ; ceci nous a conduit à choisir l'utilisation d'un liquide de culture artificiel. Nous avons utilisé d'emblée un milieu riche en substances nutritives facilement assimilables, et dont la salinité se rapproche au maximum de celle du milieu intérieur des organismes dulçaquicoles.

Les kystes sont cultivés dans de l'hydrolysate de lactalbumine dilué au tiers et additionné de lévulinate de calcium. Dans 1 410 ml d'eau, on dilue un soluté concentré d'hydrolysate (70 ml) et 20 ml de lévulinate de calcium à 10 % ; pénicilline et colimycine sont ajoutées à la concentration de 200 U.I./ml de solution diluée. La salinité d'un tel mélange est de 3 ‰.

Les explantations ont porté uniquement sur des kystes métacercariens extraits des testicules de *Gammarus pulex*.

Les résultats obtenus sont actuellement trop peu nombreux pour être définitivement considérés comme acquis et demandent de toute évidence à être confirmés. Provisoirement, nous énonçons les constatations suivantes :

— le milieu de culture utilisé permet d'obtenir la survie *in vitro* des kystes métacercariens intratesticulaires de *Nicolla gallica* durant trois semaines au minimum (1) ;

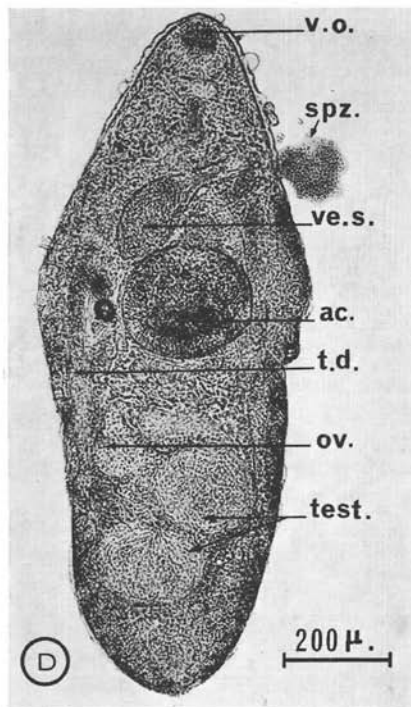
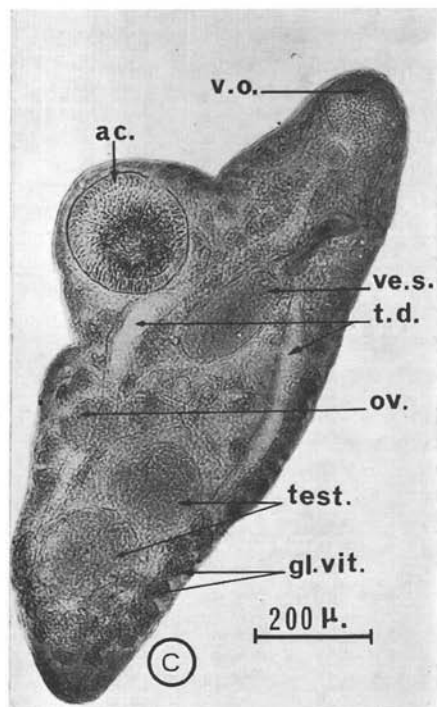
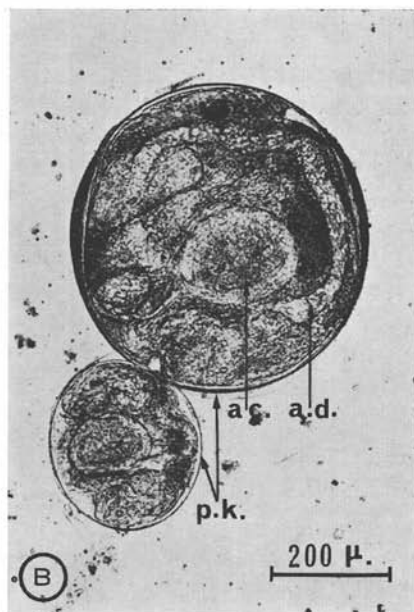
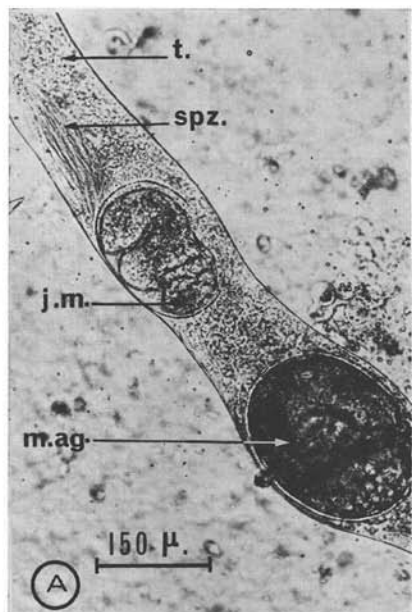
— les kystes subissent un léger accroissement de taille (50  $\mu$  en moyenne) et montrent, pour certains, une tendance à l'acquisition d'une forme ovale,

— les glandes vitellogènes, normalement peu développées chez la métacercaire, présentent une augmentation de volume très nette, deviennent fonctionnelles et émettent de nombreuses cellules vitellines dans les vitellogènes,

(1) Il est vraisemblable que le milieu utilisé pourrait convenir pour d'autres parasites d'hôte dulçaquicole ; pour notre part, nous avons pu cultiver dans les mêmes conditions durant neuf jours, une métacercaire enkystée de *Plagiorchioidea* infestant également *Gammarus pulex*.

---

FIG. A : Deux kystes métacercariens de *Nicolla gallica* dans le testicule de *Gammarus pulex* ; FIG. B : Métacercaires enkystées ; FIG. C : Métacercaire dékystée, extraite de la cavité générale de l'hôte. Coloration au carmin boracique ; FIG. D : Métacercaire dékystée, isolée du testicule de *Gammarus pulex*. Noter l'émission des spermatozoïdes. Montage *in vivo*



— il est impossible, lors de l'explantation, de connaître directement l'état sexuel de la métacercaire qui est enkystée ; la taille du kyste, qui est fonction du développement de la métacercaire, en donne cependant une idée approximative. Les métacercaires explantées, lorsqu'elles présentent un état sexuel avancé, conservent leurs produits génitaux durant toute l'expérience (spermatozoïdes, ovocytes, œufs dans l'utérus). Des métacercaires, que nous considérons au contraire comme immatures lors de l'explantation, montrent au 20<sup>e</sup> jour de culture une vésicule séminale bourrée de spermatozoïdes, alors que d'autres, bien qu'ayant grossi, ne présentent aucune évolution génitale.

Il apparaît que l'état génital d'une métacercaire évoluée sexuellement se maintient lorsque l'animal est isolé de son hôte. Il est probable qu'à ce stade l'hôte (et en particulier sa gonade) n'exerce pas d'action sur le développement sexuel du parasite.

Dans le cas de la culture des métacercaires immatures, les résultats sont contradictoires selon les individus. Chez les métacercaires dont l'évolution génitale se poursuit *in vitro*, il semble que l'hôte ne joue aucun rôle. On peut, au contraire, penser que celles qui n'évoluent pas sexuellement *in vitro* sont privées d'un facteur intervenant sur leur développement. Etant donnés les cas précédemment observés, il est peu probable que le milieu de culture soit incriminable, et c'est plus certainement une action due à l'hôte qui a fait défaut. Toutes les métacercaires que nous considérons comme immatures ne sont pas rigoureusement au même stade de développement. Il est possible que l'action de l'hôte ne s'exerce qu'à un moment donné de l'évolution de la métacercaire, durant un temps assez court, ce qui expliquerait les différences observées.

Il ne s'agit là, pour l'instant, que d'hypothèses qui demandent à être confrontées à d'autres résultats. Actuellement, rien n'indique que, s'il existe effectivement une action exercée par l'hôte sur la métacercaire, celle-ci provienne de la gonade.

La station que nous avons prospectée renferme les trois hôtes nécessaires pour que *Nicolla gallica* puisse accomplir son cycle. Les *Bythinella* présentes sur notre lieu de récolte montrent une glande digestive envahie par des sporocystes contenant des cercaires semblables morphologiquement à celles de *Nicolla gallica* occupant habituellement la gonade de *Theodoxia fluviatilis*. Bien que n'ayant pas réalisé les infestations expérimentales nécessaires, nous pensons qu'aux hôtes classiques décrits par Dollfus (1959, 1960), on peut adjoindre un nouveau premier hôte intermédiaire, *Bythinella* sp. Au niveau du deuxième hôte intermédiaire, les métacercaires ne se révèlent pas uniquement intracavitaires, mais occupent également fréquemment les gonades mâles et femelles de *Gammarus pulex* et *G. pungenis*. La localisation intragonadique de la métacercaire paraît liée à son développement sexuel précoce. Des précisions quant à ce dernier point pourront être acquises en utilisant la méthode de culture des kystes métacercariens que nous avons mise au point. Si une action de l'hôte (action hormonale, trophique, etc... ?) s'exerce sur le développement du parasite, et particulièrement son évolution sexuelle, sa mise en évidence *in vitro* devrait être plus aisée qu'*in vivo*.

**Bibliographie**

- DOLLFUS (R.-Ph.), 1959-1960. — Recherches expérimentales sur *Nicolla gallica* (R.-Ph. Dollfus, 1941) R.-Ph. Dollfus, 1958, sa cercaire cotylicerque et sa métacercarie progénétique. Observations sur la famille des *Coitocaecidae*, Y. Ozaki 1928, s.f. *Coitocaecinae*, F. Poche, 1926, *Trematoda Podocotyloidea* et sur les cercaires cotylicerques d'eau douce et marines. *Ann. Parasitol. hum. comp., Fr.*, 34 (5-6), 595-622 ; 35 (1-2), 65-117.
-