Étude ultrastructurale de l'ovogenèse chez *Trichinella spiralis* (Nématode Trichuroïde)

par C. HERBAUT *, C. SLOMIANNY **, A. VERNES ** et J. BIGUET **

* Université de Lille I, Laboratoire de Biologie animale, F 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex.

** INSERM U 42 Domaine du CERTIA, 369, rue Jules-Guesde, F 59650 Villeneuve d'Ascq.

RESUME. L'étude ultrastructurale de l'ovogenèse de *T. spiralis* permet de subdiviser la croissance ovocytaire en deux phases : une première phase marquée par une intense activité nucléolaire et le transfert de matériel vers le cytoplasme ; une seconde phase au cours de laquelle la masse cytoplasmique s'accroît et des réserves énergétiques (glycogène, lipides) apparaissent. L'ovocyte ne renferme pas de vitellus de nature protéique.

Ultrastructural study of oogenesis in *Trichinella spiralis*.

SUMMARY. The ultrastructural study of oogenesis in *T. spiralis* makes it possible to subdivide the oocytic growth into 2 phases : a first phase is characterized by an intense nucleolar activity and the transfer of nuclear material to the cytoplasm ; a second phase during which the cytoplasmic mass increases and energy reserves (glycogen, lipids) appear. The oocyte does not contain any protein vitellus.

Introduction

Le développement de la trichine au cours de la phase intestinale est particulièrement rapide, puisque l'animal atteint le stade adulte en une trentaine d'heures (Wu, 1957 et Gardiner, 1976), après avoir subi plusieurs mues (2 selon Shanta et Meero-

Accepté le 23 juin 1980.

vitch, 1967 ; 4 selon Kozek, 1971). L'accouplement pourrait survenir dès la 33^e heure (Gardiner, 1976). Compte tenu de ces observations, il nous a semblé intéressant d'étudier, à l'échelle ultrastructurale, l'évolution cytologique des cellules germinales depuis le stade larve musculaire jusqu'à la maturité sexuelle. Dans cet article, nous rapporteront nos résultats relatifs à l'ovogenèse.

Matériel et méthodes

Le cycle de *T. spiralis* est reproduit au laboratoire chez des souris de souche CBA ou C3HHe.

Les larves musculaires sont fixées dans des fragments de diaphragmes prélevés chez des souris trichinées depuis au moins un mois, selon la technique de Purkerson et Despommier (1974).

Pour l'étude des stades intra-intestinaux, les fixations interviennent 16, 24, 40, 48 ou 60 heures après l'infestation. Du glutaraldéhyde à 3 % dans un tampon cacodylate de sodium à 0,1 M est injecté en perfusion intracardiaque chez la souris. L'intestin est prélevé et fendu longitudinalement. Les vers sont pipetés et transférés dans le même fixateur pendant 1 h 30 à 2 heures à la température de 4°C. Ils sont ensuite lavés dans le tampon pendant 1 h 30 puis postfixés dans une solution d'OsO₄ à 1 % dans le tampon 0,1 M à pH 7,4, additionné de sucrose à 0,05 M. La déshydratation est effectuée dans les alcools successifs puis l'oxyde de propylène et les pièces sont incluses dans le mélange de Spurr. Les coupes, confectionnées à l'ultramicrotome Porter-Blum, sont contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, pour l'étude morphologique. La recherche de glycogène a été envisagée après application de la méthode de Seligman modifiée par Thiéry (1968). Les grilles sont observées au microscope Hitachi HU 11E.

Résultats

Rappelons tout d'abord que l'ovaire de *T. spiralis* est de type hlogonique (Wu, 1955 ; Thomas, 1965). Les ovogonies sont situées sur la paroi ventrale de la moitié postérieure de l'ovaire. La croissance ovocytaire s'effectue selon deux gradients : le premier, ventro-dorsal, est déjà visible chez la larve musculaire (Kozek, 1971) ; le second, postéro-antérieur, se met en place au cours du développement intra-intestinal.

Fig. 1. — Coupe d'ovogonie chez une larve musculaire femelle de *T. spiralis*. Dans le noyau (N) la chromatine est peu condensée, le cytoplasme (C) contient de nombreux ribosomes. $\times 13000$

Fig. 2 à 4. — Formation des extrusions nucléaires à partir du nucléole, au cours de la première phase de croissance ovocytaire. Constitution (fig. 2) d'un amas fibrillo-granulaire (flèche) à proximité du nucléole (nu). Accolement de ce matériel (fig. 3 et 4) à l'enveloppe nucléaire (flèches) et apparition dans le cytoplasme (fig. 4) des figures d'extrusions nucléaires (ex. n).

N : noyau ; C : cytoplasme ; fig. 2 : $\times 15000$; fig. 3 : $\times 28000$; fig. 4 : $\times 14000$.

Les ovogonies sont de petites cellules d'une taille de 3 à 4 μm au noyau sphérique. La chromatine, très dispersée, est peu discernable. Leur nucléole, également sphérique, présente une zone équatoriale constituée de fibrilles, bordée de chaque côté par la zone granulaire. Le cytoplasme, riche en ribosomes, renferme quelques amas mitochondriaux dispersés ; le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi sont peu développés (*fig. 1*).

La croissance ovocytaire peut être subdivisée en 2 phases : au cours de la première phase, les modifications structurales intéressent surtout le noyau ; le matériel cytoplasmique ne fait qu'accroître son volume. Pendant la seconde phase, l'activité nucléaire décroît et le cytoplasme présente de nouveaux constituants.

La morphologie générale des ovocytes en début de croissance est tout à fait comparable à celle des ovogonies. Lorsque la taille des cellules sexuelles atteint de 8 à 9 μm — c'est-à-dire chez les ovocytes les plus avancés de la larve musculaire, mais surtout chez les femelles en cours de développement intra-intestinal (stade 18 heures) — apparaît fréquemment, à proximité du nucléole, un amas fibrillogranulaire opaque aux électrons, d'un diamètre moyen de 0,5 μm (*fig. 2*). Cette formation semble migrer à travers le nucléoplasme jusqu'à l'enveloppe nucléaire à laquelle elle s'accroche. Elle est probablement à l'origine des extrusions nucléaires observées dans le cytoplasme de ces ovocytes (*fig. 3 et 4*).

Parallèlement, le nucléole s'accroît ; son diamètre passe de 1 à 3-4 μm au cours de cette première phase de croissance ovocytaire. Sa partie fibrillaire se développe en un réseau lâche alors que la partie granulaire occupe les mailles du réseau ainsi que toute la zone périphérique du nucléole.

Au niveau du cytoplasme, le matériel d'origine nucléaire est fréquemment entouré de mitochondries, dans la zone périnucléaire ; il se disperse ensuite rapidement. Il correspond vraisemblablement aux amas très basophiles décelés, en microscopie photomicroscopique, par le bleu de toluidine à pH 4,6. Le réticulum endoplasmique se développe alors que l'appareil de Golgi n'est constitué que de rares dictyosomes, de taille réduite. Les ribosomes sont nombreux, généralement libres.

A la fin de la première période de croissance, le diamètre ovocytaire est de 15 μm environ. Les cellules, tassées, ont une forme cuboïde. De nombreuses digitations engrenées les unes dans les autres hérissent la membrane plasmique (*fig. 5*) ; elles disparaissent chez l'ovocyte âgé.

Pendant la seconde phase de la croissance ovocytaire (cellules de 15 à 25 μm), observée uniquement chez les femelles en cours de développement intra-intestinal, la croissance volumétrique du noyau cesse. La morphologie nucléolaire n'évolue plus. Dans le cytoplasme apparaissent des granules de glycogène, essentiellement de type β ; régulièrement dispersés, ils sont toujours en quantité peu importante (*fig. 6*). Des globules lipidiques d'une taille de 0,5 à 0,8 μm se constituent et se répartissent uniformément dans le cytoplasme ovocytaire (*fig. 5*). Le réticulum granulaire se développe, mais de nombreux ribosomes restent libres.

Les ovocytes les plus âgés occupent la totalité de la lumière ovarienne. Ils présentent un noyau aux contours sinueux. Un dispositif très particulier les met en contact

Fig. 5. — Formation de microvillosités (mv) à la surface des ovocytes. Des gouttelettes lipidiques (gl) sont décelées chez les plus gros ovocytes. N : Noyau ; $\times 11000$.

Fig. 6. — Mise en évidence du glycogène (flèches) dans les ovocytes au cours de la seconde phase de croissance. N : noyau ; C : Cytoplasme ; $\times 46000$.

avec l'intestin postérieur : les lames basales, péri-intestinale et péri-ovarienne, fusionnent ; à ce niveau, le réticulum endoplasmique lisse ovocytaire s'hypertrophie. Le cytoplasme ovocytaire n'est plus séparé de la lumière intestinale que par la cuticule de l'intestin postérieur (Herbaut et coll., 1979). Très vite, cette structure disparaît et l'ovocyte passe dans le réceptacle séminal. La maturation nucléaire, bloquée en préméiose, s'achève après la fécondation.

Il convient de souligner que l'ovocyte de *T. spiralis* ne contient pas de vitellus de type protéique, contrairement à ce qui est décrit chez la plupart des espèces animales.

Signalons enfin la présence de lamelles annelées, sous forme d'amas de taille réduite, décelées quelle que soit la phase ovocytaire.

Discussion

La croissance ovocytaire chez *T. spiralis* est caractérisée par la succession de 2 phases d'activité, la première nucléaire, la seconde cytoplasmique.

Une intensification de l'activité nucléolaire est souvent décrite au cours de l'ovogenèse animale (Nørrevang, 1968 ; Favard-Sereno, 1968). Elle correspond vraisemblablement à l'élaboration en quantité importante des précurseurs ribosomiaux, qui participeraient à la formation des extrusions nucléaires (Dhainaut, 1970). Pour ces dernières, un rôle dans la multiplication mitochondriale a été suggéré et discuté (Clérot, 1969, 1979). Signalons que, chez *T. spiralis*, la multiplication mitochondriale ne semble pas très importante ; elle pourrait néanmoins être contrôlée par des substances d'origine nucléaire.

L'absence de réserves de nature protéique constitue la particularité la plus remarquable de l'ovogenèse de *T. spiralis*. Ni la rapidité de la maturation sexuelle, ni la viviparité ne l'expliquent. En effet, de nombreuses femelles de Nématodes, très prolifiques, sont susceptibles d'accumuler rapidement le vitellus protéique dans leurs ovocytes en croissance (Anyà, 1976 ; Wharton, 1979). D'autre part, chez certaines femelles vivipares, le vitellus protéique est présent dans les ovocytes (Raven, 1969 ; Busson-Mabillot, 1969). Seule la conjonction de deux phénomènes (rapidité de la croissance ovocytaire et viviparité) pourrait expliquer cette absence.

Bibliographie

- Anyà A.O. : Physiological aspects of reproduction in Nematodes. *Adv. Parasitol.*, 1976, 14, 267-351.
 Busson-Mabillot S. : Données récentes sur la vitellogenèse. *Année Biol.*, 1969, 8, 199-228.
 Clérot J.C. : Mise en évidence par histochimie ultrastructurale de l'émission de protéines par le noyau d'auxocytes de Batraciens. *J. Microsc.*, 1968, 7, 973-992.
 Clérot J.C. : Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons téléostéens cyprinidés. II. Etude autoradiographique à haute résolution de l'incorporation de phénylalanine tritiée et d'uridine tritiée. *Exp. Cell. Res.*, 1979, 120, 237-244.
 Dhainaut A. : Etude en microscopie électronique et par autoradiographie à haute résolution des extrusions nucléaires au cours de l'ovogenèse chez *Nereis pelagica* L. *J. Microsc.*, 1970, 9, 99-118.

- Favard-Sereno C. : Evolution des structures nucléolaires au cours de la phase d'accroissement chez le grillon. *J. Microsc.*, 1968, 7, 206-218.
- Gardiner C.H. : Habitat and reproduction behaviour of *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.*, 1976, 62, 865-870.
- Herbaut C., Slomianny C., Vernes A., Biguet J. : Spécialisation du réticulum endoplasmique au contact de l'intestin postérieur chez les ovocytes de *Trichinella spiralis* (Nématode, Trichuroïde). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 237-242.
- Kozek W.J. : The molting pattern of *Trichinella spiralis*. I. A light microscope study. *J. Parasitol.*, 1971, 57, 1015-1028.
- Nørrevang A. : Electron microscopic morphology of Oogenesis. *Int. Rev. Cytol.*, 1968, 23, 114-186.
- Purkerson M., Despommier D.D. : Fine structure of the muscle phase of *Trichinella spiralis* in the mouse. Third Internat. Conf. on Trichinellosis, C.W. Kim, édit., 1970, pp. 7-23.
- Raven A.O.P. : Oogenesis : the storage of developmental information. *Pergamon Press*, London, 1961, 274 p.
- Shanta C.S., Meerovitch E. : The life cycle of *Trichinella spiralis*. I. The intestinal phase of development. *Can. J. Zool.*, 1967, 45, 1255-1260.
- Thiéry J.P. : Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microsc.*, 1967, 6, 987-1018.
- Thomas H. : Beiträge zur Biologie und mikroskopischen Anatomie von *Trichinella spiralis* Owen 1835. *Zeit. Tropenmed. Parasitol.*, 1965, 16, 148-180.
- Wharton D.A. : Oogenesis and egg-shell formation in *Aspiculuris tetraptera* Schulz (Nematoda : Oxyuroidea). *Parasitology*, 1979, 78, 151-143.
- Wu L.Y. : Studies on *Trichinella spiralis* : Male and female reproductive systems. *J. Parasitol.*, 1955, 41, 1-8.
- Wu L.Y., Kingscote A.A. : Studies on *Trichinella spiralis*. II. Times of final molt, spermatozoa formation ovulation and insemination. *Can. J. Zool.*, 1957, 35, 207-211.