ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT LARVAIRE DE *ANGUILLICOLA CRASSUS* (DRACUNCULOIDEA, NEMATODA) CHEZ UN CYCLOPIDAE DE LA RÉGION PARISIENNE

A. J. PETTER, Y. A. FONTAINE, N. LE BELLE

RÉSUMÉ. Le développement larvaire de *Anguillicola crassus*, nématode parasite de la vessie gazeuse des Anguilles, est étudié expérimentalement chez une espèce de Copépodes Cyclopidae d'un étang de la région parisienne (*Acanthocyclops robustus*).

A la température de 20 à 22° C, les œufs éclosent dans l'eau, libérant des larves du 2^e stade entourées de la mue du 1^{er} stade. Ingérées par les Cyclopidae, les larves se débarrassent de la mue du 1^{er} stade et entreprennent une croissance rapide dans l'haemocoel. La 2^e mue a lieu après 12 jours d'infestation.

Ingérées par des Guppys (*Lebistes reticulatus*) avec des Copépodes infestés, les larves du 3^e stade gagnent la cavité générale où elles sont retrouvées vivantes après plus d'un mois d'infestation, entourées par une épaisse gaine fibreuse réactionnelle.

A une température variant de 1 à 13° C pendant la durée de l'expérience, les larves ingérées par les Cyclopidae ne montrent aucune croissance et meurent après environ un mois d'infestation.

Une description est donnée des 3 premiers stades larvaires.

Mots-clés : *Anguillicola crassus*. Nématodes. *Anguilla*. Cyclopidae. *Acanthocyclops robustus*.

A study of the larval development of *Anguillicola crassus* (Dracunculoidea, Nematoda) in a species of Cyclopidae from the Paris area.

SUMMARY. The larval development of *Anguillicola crassus*, a parasite of the swimbladder of eels, was experimentally studied in a Cyclopidae (Copepoda) from the Paris area: *Acanthocyclops robustus*. At 20-22° C, the eggs hatched in water, releasing second-stage larvae surrounded by the cuticle of the first-stage. When ingested by Cyclopidae, the larvae lost the first-stage cuticle and grew quickly in the haemocoel. The second moult took place on day 12 post-infestation. When infected Copepods were ingested by Guppies (*Lebistes reticulatus*), the third-stage larvae entered the body-cavity of the fish. After one month, most of the larvae were alive, surrounded by a thick fibrous sheath. At a temperature varying from 1 to 13° C during the experiment, the larvae did not grow in Cyclopidae and died after about a month. A description is given of the first-, second- and third-stage larvae.

Key-words : *Anguillicola crassus*. Nematoda. *Anguilla*. Cyclopidae. *Acanthocyclops robustus*.

Introduction

Depuis quelques années, les Anguilles de divers pays d'Europe se trouvent parasitées par des Nématodes du genre *Anguillicola* (voir Peters et Hartmann,

Laboratoire des Vers associé au CNRS, Museum national d'Histoire naturelle, 61, rue Buffon, F 75231 Paris Cedex 05.

Laboratoire de Physiologie générale et comparée, Museum national d'Histoire naturelle, 7, rue Cuvier, F 75231 Paris Cedex 05.

Accepté le 9 mai 1989.

1986, Taraschewski et coll., 1987). Ce genre était connu précédemment uniquement en Extrême-Orient, en Australie et en Nouvelle-Zélande, et la brusque apparition du parasite en Europe pourrait s'expliquer par l'introduction éventuelle d'Anguilles provenant de ces pays (Paggi et coll., 1982, Peters et Hartmann, 1986).

Moravec et Taraschewski (1988) ont effectué une révision du genre, qui comprend actuellement 5 espèces, dont 2 ont été identifiées en Europe, une espèce japonaise, *A. crassus* Kuwahara, Niimi et Itagaki, 1974, et une espèce néo-zélandaise, *A. novaezealandiae* Moravec et Taraschewski, 1988.

En France, *A. crassus* a été signalée pour la première fois en Camargue (Dupont et Petter, 1988) ; en automne 1988, sa présence a été constatée au Laboratoire de Physiologie du Museum national d'Histoire naturelle, chez des Anguilles argentées provenant d'étangs du Nord de la France.

Les *Anguillicola* adultes vivent dans la vessie gazeuse de l'hôte ; leur cycle biologique a été étudié au Japon et en Chine par Kuwahara, Niimi et Itagaki, 1975, Hirose, Sekino et Egusa, 1976 (*A. crassus*), Puqin et Yuru, 1980 et Huang, 1981 (*A. globiceps*) ; ces auteurs ont obtenu le développement des larves jusqu'au 3^e stade chez plusieurs espèces de Copépodes Cyclopidae.

Étant donné l'extension qu'a prise le parasitisme en Europe, et les conséquences que cela peut entraîner pour les élevages d'Anguilles, il nous a paru intéressant d'étudier les conditions dans lesquelles le cycle biologique de *A. crassus* peut s'effectuer dans les eaux européennes.

Dans un premier temps, nous donnons une description du déroulement du cycle biologique chez une espèce de Copépodes Cyclopidae fréquente dans les eaux douces françaises, *Acanthocyclops robustus*, et étudions les possibilités de survie des 3^{es} stades larvaires chez de petits Poissons.

Matériel et méthodes

Les femelles mûres d'*Anguillicola crassus* ont été recueillies le 11 janvier 1989 et le 24 janvier 1989 chez des Anguilles argentées (*Anguilla anguilla* Linné) provenant d'étangs du Nord de la France, et conservées au Laboratoire de Physiologie générale et comparée du MNHN.

Les utérus contiennent des œufs embryonnés. Ils sont dilacérés et les œufs libérés placés dans de petits cristallisoirs contenant de l'eau de mare.

Infestation des Copépodes : Des Cyclopidae appartenant à l'espèce *Acanthocyclops robustus* (Sars, 1863), pêchés dans un étang de Isles-les-Villenoy (Seine-et-Marne) sont placés dans les cristallisoirs contenant les œufs, soit à la température du laboratoire (20 à 22° C), soit à la température extérieure sur la fenêtre du laboratoire (température variant entre 1 et 13° C pendant la durée de l'expérience).

Après 2 jours d'infestation, les Cyclopidae sont retirés des cristallisoirs contenant les larves et placés dans des cristallisoirs non infestés.

Les Cyclopidae placés à la température du laboratoire sont examinés chaque jour jusqu'à l'obtention de larves du 3^e stade. Les Cyclopidae placés à la température extérieure sont examinés régulièrement pendant 20 jours, puis le 37^e jour et le 49^e jour d'infestation.

Infestation des Poissons : 5 Guppys [(*Lebistes reticulatus* (Peters))] provenant d'un aquarium du Laboratoire des Vers du MNHN sont placés le 30 janvier 1989 dans un petit aquarium à la température du laboratoire avec une vingtaine de Cyclopidae infestés. Dès le lendemain, on ne trouve plus aucun Cyclopidae dans l'aquarium.

Résultats

I — DEUXIÈMES STADES LARVAIRES DANS L'UTÉRUS DES FEMELLES MURES D'*Anguillicola crassus*

Les utérus des femelles contiennent des œufs à coque mince mesurant 90-100/75-90 μm , renfermant des larves repliées en spirale ou en cercle (*fig. 1, A*). Ces larves sont des larves du 2^e stade, entourées par la mue du 1^{er} stade, qui forme une enveloppe lâche autour d'elles (*fig. 1, B*).

Elles mesurent de 230 à 290 μm , avec une largeur maximale de 20 μm ; l'extrémité antérieure est conique et munie d'une dent larvaire apicale ; la paroi interne de l'extrémité antérieure de l'œsophage est faiblement sclérotisée sur une longueur de 5 μm ; les contours du tube digestif sont difficiles à distinguer ; l'œsophage est enflé en massue à l'extrémité postérieure et mesure de 80 à 100 μm ; le corps présente à environ 100 μm de l'extrémité antérieure une zone riche en granulations réfringentes, longue d'environ 60 μm ; la queue est longue et effilée (40 à 70 μm).

II — ÉVOLUTION DES LARVES DU 2^e STADE DANS L'EAU

La plupart des œufs placés dans les cristallisoirs à la température du laboratoire sont éclos le lendemain de l'expérience : les larves sont entourées de la cuticule du 1^{er} stade, fixées sur le fond du cristallisoir et s'agitent constamment.

Par contre, les œufs placés à la température extérieure n'éclosent pas avant 7 à 8 jours.

III — DÉVELOPPEMENT DES LARVES DANS LES CYCLOPIDAE

A. — A LA TEMPÉRATURE DU LABORATOIRE (20-22° C).

La plupart des Cyclopidae examinés au cours de l'expérience sont infestés, le nombre de larves dans un Cyclopidae varie de 2 à une vingtaine, avec une moyenne de 8 ; dès le lendemain de l'expérience, les larves sont principalement localisées dans le céphalo-thorax, quelques-unes se trouvent dans l'abdomen.

FIG. 1. — *Anguillicola crassus*. A, œuf dans l'utérus d'une femelle. B, larve du 2^e stade éclore dans l'eau, entourée de la mue du 1^{er} stade. C à H, larves du 2^e stade dans les Cyclopidae: C, après un jour d'infestation; D, E, après 3 jours d'infestation: D, larve entière; E, extr. ant., vue latérale; F, après 6 jours d'infestation; G, après 9 jours d'infestation, région ant.; H, après 10 jours d'infestation, région post.; I, J, K, larves du 3^e stade dans les Cyclopidae: I, larve entière (a: aile latérale); J, extr. ant., vue médiane; K, extr. ant., vue latérale. L, M, larves du 3^e stade dans les Guppys: L, larve libre dans le tube digestif (un jour d'infestation); M, larve encapsulée dans la cavité générale (35 jours d'infestation). A, B, C, D, F, G, H, I, L, éch. 100 µm; E, J, K, éch. 50 µm; M, éch. 200 µm.

1 — Deuxièmes stades larvaires

Les larves observées après un jour d'infestation ne sont plus entourées de la cuticule du 1^{er} stade ; elles présentent le même aspect que les larves précédentes (fig. 1, C) ; chez certaines, la dent larvaire n'est plus en position apicale.

Après 2 jours d'infestation, la plupart des larves présentent une extrémité antérieure arrondie, globuleuse, séparée du corps par un léger rétrécissement ; la dent larvaire n'est plus en position apicale, mais située dorsalement à la base du renflement antérieur ; la bouche s'ouvre dans un court tube à paroi sclérotisée entouré par l'œsophage dans son tiers postérieur ; le corps est riche en granulations réfringentes (fig. 1, D, E).

Durant les 8 premiers jours d'infestation, les larves grandissent sans modifications de forme, les contours du tube digestif deviennent plus nets, l'œsophage apparaît nettement rhabditoïde, l'intestin se charge en granulations (fig. 1, F).

Après 8 jours d'infestation, on observe une ébauche de mue à l'extrémité caudale (fig. 1, H), et l'apparition de 3 petites pièces réfringentes en croissant au niveau du tiers antérieur de l'œsophage (fig. 1, G).

La longueur des 2^{es} stades varie de 220 à 800 μm ; la croissance est surtout importante entre le 5^e jour et le 10^e jour d'infestation (fig. 2 et tableau I).

2 — Troisièmes stades larvaires

Après 12 jours d'infestation, les premières larves du 3^e stade apparaissent, enroulées en spirale ou en cercle dans l'haemocoèle, et à partir du 13^e jour d'infestation, la plupart des larves sont au 3^e stade.

FIG. 2. — Croissance des larves d'*Anguillicola crassus* chez les Cyclopidae. Nb.J : nombre de jours d'infestation ; L : longueur des larves (en μm) ; chaque point correspond à un spécimen.

TABLEAU I. — Dimensions de quelques larves d'*Anguillicola crassus* prises à différents jours d'infestation (μm).

	2emes stades				3emes stades			
					dans les Cyclopidae		dans les Guppys	
nombre de jours d'infestation	3	6	9	12	13	19	2	16
longueur totale	290	410	730	740	820	630	730	970
largeur maximale	20	30	35	35	30	30	30	35
oesophage:								
longueur totale	105	140	220	250	250	200	220	245
1ère partie						60	70	65
2ème partie						140	150	180
extr. ant.-anneau nerveux					105	80	90	95
extr. ant.-pore excréteur					112	112	130	170
queue	65	78	110	90	75	60	75	90
extr. post.-ébauche génitale							200	250

Les 3^{es} stades larvaires (*fig. 1, I*) sont munis d'étroites ailes latérales, l'extrémité antérieure, conique, présente une ornementation sclérifiée constituée de 2 pièces latérales en forme de V renversé ; les extrémités postérieures des 2 pièces se rejoignent 2 à 2 sur les axes médians où elles sont prolongées par une petite pièce rectangulaire (*fig. 1, J, K*) ; l'oesophage présente 3 lobes antérieurs ; il est divisé en une courte portion antérieure d'aspect hyalin et une longue portion postérieure d'aspect granuleux ; il s'ouvre dans l'intestin par 3 valvules ; l'intestin est riche en granulations de réserve, absentes seulement dans une courte portion au voisinage du rectum ; la queue est plus courte que dans le stade précédent et terminée par un petit appendice dorsal.

Elles mesurent de 530 à 950 μm , avec une moyenne de 760 μm (13 larves mesurées) et ne grandissent pas dans les Cyclopidae : les larves recueillies après 19 jours d'infestation ne sont pas plus grandes en moyenne que celles recueillies après 13 jours (*fig. 2* et *tableau I*).

B. — A LA TEMPÉRATURE EXTÉRIEURE (1 à 13° C).

La plupart des Cyclopidae examinés sont infestés. Les larves sont localisées dans l'haemocoel ; elles ne montrent aucune croissance pendant la durée de l'expérience. A partir du 9^e jour d'infestation, la plupart présentent une extrémité antérieure arrondie, avec la dent larvaire située à la base du renflement antérieur.

Les larves examinées pendant les 20 premiers jours d'infestation sont vivantes et remuent dans l'haemocoel ; les examens sont alors interrompus ; lors de deux nouveaux examens pratiqués le 37^e jour et le 49^e jour d'infestation, toutes les larves sont immobiles et semblent mortes, certaines présentent des altérations de leurs organes internes.

IV — INFESTATION DES GUPPYS

Les Guppys sont examinés respectivement après 2 jours, 9 jours, 16 jours, 24 jours et 35 jours d'infestation (*tableau II*).

TABLEAU II. — Infestation des Guppys
par les 3^{es} stades larvaires d'*Anguillicola crassus*.

Nombre de jours d'infestation	Nombre de larves récoltées		Localisation des larves		Longueur des larves (µm)
	libres	entourées d'une gaine	tube digestif	cavité générale	
2	6		+		440-730 (592) [4]
9	6	2		+	800-1050 (922) [5]
16	2	8		+	550-970 (778) [6]
24		1		+	880 [1]
35	2	6		+	850-980 (915) [2]

() : moyenne des longueurs.

[] : nombre de larves mesurées.

Tous les Guppys sont infestés par des larves du 3^e stade, le nombre de larves par Guppy variant de 1 à 10.

Au 2^e jour d'infestation, les larves sont trouvées libres dans le tube digestif. Au-delà du 9^e jour, elles sont toutes localisées dans la cavité générale. A partir du 16^e jour, le plus grand nombre sont entourées d'une épaisse gaine fibreuse réactionnelle ; la plupart sont vivantes dans la gaine et remuent activement une fois libérées.

Les 3^{es} stades chez les Guppys présentent la même structure que chez les Cyclopidae, les organes internes sont très visibles, on distingue l'ébauche génitale sous forme d'une petite masse de cellules à environ 200 µm de l'extrémité caudale ; l'intestin est riche en granulations de teinte brune (*fig. 1, L*). Ces larves ne grandissent pas de manière appréciable chez les Guppys (*tableau II*).

Conclusion

Suivant nos observations, le cycle biologique de *Anguillicola crassus* chez l'hôte intermédiaire se déroule donc de la manière suivante :

A la température de 20 à 22° C, les œufs issus de l'utérus des femelles mûres éclosent dans l'eau, libérant des larves du 2^e stade entourées de la mue du 1^{er} stade. Ingerées par des Cyclopidae, ces larves se débarrassent de la mue du 1^{er} stade et se rendent dans l'haemocoel, où elles entreprennent une croissance rapide. La deuxième mue a lieu après 12 jours d'infestation ; les larves du 3^e stade s'enroulent en spirale ou en cercle dans l'haemocoel et ne montrent aucune croissance dans les Cyclopidae.

Si les Cyclopidae infestés sont ingérés par des Guppys, les larves du 3^e stade libérées gagnent la cavité générale où après une quinzaine de jours, la plupart sont entourées d'une gaine fibreuse réactionnelle ; après plus d'un mois d'infestation, de nombreuses larves sont vivantes et en parfait état dans leurs gaines.

A une température variant de 1 à 13° C pendant la durée de l'expérience, les larves ingérées par les Cyclopidae ne montrent aucune croissance et meurent après environ un mois d'infestation.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Hirose et coll., 1976, qui décrivent le cycle biologique de *Anguillicola crassus* au Japon chez *Eucyclops serrulatus*.

Ce cycle est très voisin, aussi bien en ce qui concerne la morphologie des stades larvaires que les étapes du cycle, de celui de *A. globiceps* donné par Puqin et Yuru, 1980 ; comme le remarquent ces auteurs, les jeunes larves du 2^e stade sont plus grandes chez *A. globiceps* que chez *A. crassus*. D'autre part, les larves atteignent le 3^e stade chez l'hôte intermédiaire plus rapidement que dans notre expérience (7 à 8 jours au lieu de 12 jours), ce qui s'explique par une température d'expérience plus élevée (30° C).

Le cycle biologique du genre *Anguillicola* diffère de celui des autres Camallanina par 2 points :

1 — les utérus des femelles mûres contiennent des œufs et non des larves libres ;

2 — ces larves sont des 2^{es} stades larvaires, entourés de la mue du 1^{er} stade, la première mue a donc lieu dans l'œuf et les larves qui pénètrent dans l'hôte intermédiaire sont des 2^{es} stades larvaires et non des 1^{ers} stades.

Les larves d'*Anguillicola crassus*, comme celles d'*A. globiceps* (voir Puqin et Yuru, 1980), semblent se développer indifféremment chez plusieurs genres de Cyclopidae, le développement a été obtenu en particulier chez 2 espèces, *Acanthocyclops robustus* et *Eucyclops serrulatus*, qui sont très fréquentes dans les étangs en Europe (Dussart, 1969), ce qui suffit à expliquer la transmission du parasite et sa rapide extension ; par ailleurs, nous avons vu que les larves infestantes restent en vie dans la cavité générale des Guppys pendant plus d'un mois, et il

est donc vraisemblable que de petits poissons dulçaquicoles susceptibles d'être ingérés par les Anguilles constituent des hôtes réservoirs et jouent également un rôle dans la transmission du parasite, comme cela se rencontre couramment chez les Camallanina (voir Moravec, 1975).

Enfin, il semble que les larves ne se développent pas dans les Copépodes à une température inférieure à 13° C, et le cycle ne doit pas pouvoir s'effectuer pendant la saison froide.

REMERCIEMENTS. — Nous exprimons tous nos remerciements au Dr F. Lescher-Moutoué qui a bien voulu identifier les Copépodes ainsi qu'au Dr W. Huang qui a eu la gentillesse de traduire l'article de Puqin et Yuru. Nous remercions également le Dr F. Moravec qui nous a communiqué l'article de Hirose, Sekino et Egusa.

RÉFÉRENCES

- DUPONT F., PETTER A. J. : *Anguillicola*, une épizootie plurispécifique en Europe. Apparition de *Anguillicola crassa* (Nematoda, Anguillicolidae) chez l'Anguille européenne *Anguilla anguilla* en Camargue, sud de la France. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 1988, 308, 38-41.
- DUSSART B. : Les Copépodes des Eaux continentales d'Europe occidentale. Tome II : Cyclopoïdes et Biologie. *Boubée et Cie*, Paris, 1969, 292 p.
- HIROSE H., SEKINO T., EGUSA S. : Notes on the egg deposition, larval migration and intermediate host of the Nematode *Anguillicola crassa* parasitic in the swimbladder of eels. *Fish Pathol.*, 1976, 11, 27-31 (en japonais, résumé anglais).
- HUANG L. F. : Studies on the life-cycle of *Anguillicola globiceps*. *Zool. Mag. (Dongwuxue Zazhi)*, 1981, 1, 24-25 (en chinois) (article non consulté).
- KUWAHARA A., NIIMI A., ITAGAKI H. : Studies on a Nematode parasitic in the air bladder of the eel. I — Description of *Anguillicola crassa* n. sp. (Philometridea, Anguillicolidae). *Jpn J. Parasitol.*, 1974, 23, 275-279.
- KUWAHARA A., NIIMI A., ITAGAKI H. : Studies on a nematode parasitic in the air bladder of the eel. III — Development in the host (1). *Jpn J. Parasitol.*, 1975, 24, 1, Suppl., 12 (en japonais).
- MORAVEC F. : The development of *Procamallanus laevisconchus* (Wedl, 1862) (Nematoda: Camallanidae). *Vest. Cs. Spol. Zool.*, 1975, 39, 23-38.
- MORAVEC F., TARASCHEWSKI H. : Revision of the genus *Anguillicola* Yamaguti, 1935 (Nematoda: Anguillicolidae) of the swimbladder of eels, including descriptions of two new species, *A. novaezelandiae* sp. n. and *A. papernai* sp. n. *Folia Parasitol.*, 1988, 35, 125-146.
- PAGGI L., ORECCHIA P., MINERVINI R., MATIUCCI S. : Sulla comparsa di *Anguillicola australiensis* Johnston et Mawson, 1940 (Dracunculoidea: Anguillicolidae) in *Anguilla anguilla* del Lago di Bracciano. *Parassitologia*, 1982, 24, 139-144.
- PETERS G., HARTMANN F. : *Anguillicola*, a parasitic Nematode of the swimbladder spreading among eel populations in Europe. *Dis. Aquat. Org.*, 1986, 1, 229-230.
- PUQIN W., YURU Z. : Observations on the life history of *Anguillicola globiceps* (Nematoda: Anguillicolidae). *Acta Zool. Sinica*, 1980, 26, 243-249 (en chinois, résumé anglais).
- TARASCHEWSKI H., MORAVEC F., LAMAH T., ANDERS K. : Distribution and morphology of two helminths recently introduced into European eel populations: *Anguillicola crassus* (Nematoda, Dracunculoidea) and *Paratenuisentis ambiguus* (Acanthocephala/Tenuisentidae). *Dis. Aquat. Org.*, 1987, 3, 167-176.