

ETUDE MORPHOLOGIQUE DE *MARTEILIA CHRISTENSENI* SP.N. PARASITE DU LAVIGNON *SCROBICULARIA PIPERATA* P. (MOLLUSQUE PÉLÉCYPODE)

Michel COMPS *

* IFREMER - Laboratoire Ressources aquacoles,
1, rue Jean-Vilar, 34200 Sète, France.

Abstract

MORPHOLOGICAL STUDY OF *MARTEILIA CHRISTENSENI* SP.N. PARASITE OF *SCROBICULARIA PIPERATA* P. (MOLLUSC PELECYPOD).

The fine structure of the different stages of the life cycle of a new *Marteilia*, parasite of the Pelecypod *Scrobicularia piperata* has been studied. The morphological characteristics of the tricellular spore and the differentiation of the cytoplasmic contents of the sporontes distinguish this parasite from other species of the genus *Marteilia*. We propose to name it *Marteilia christenseni* sp.n.

Résumé

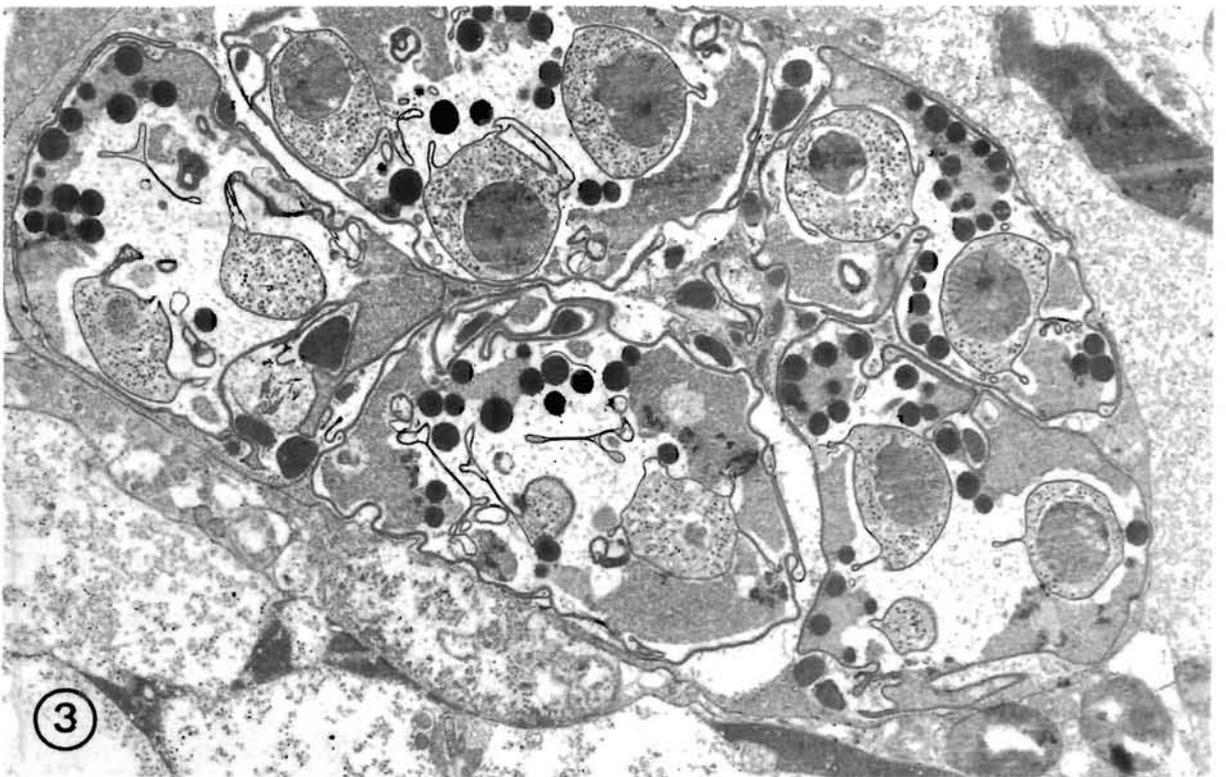
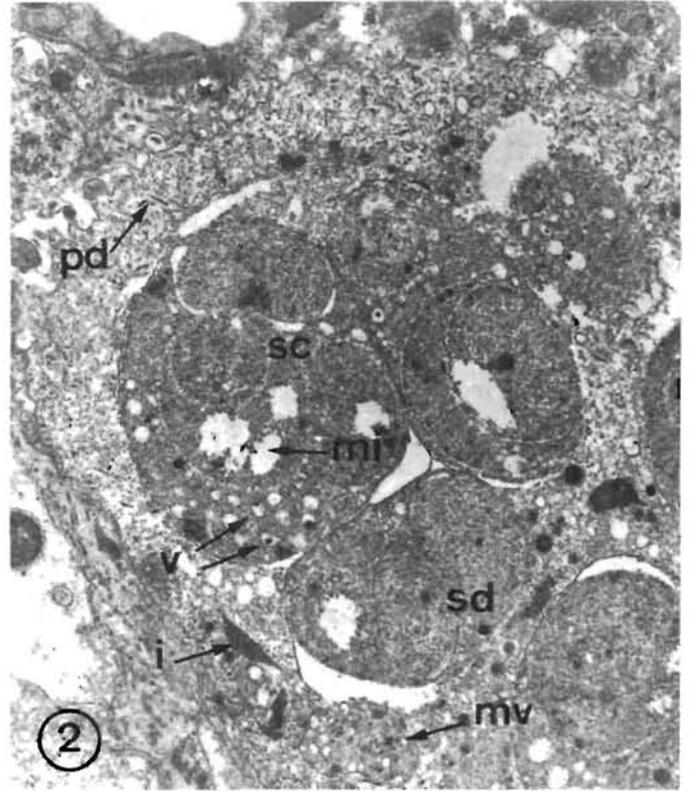
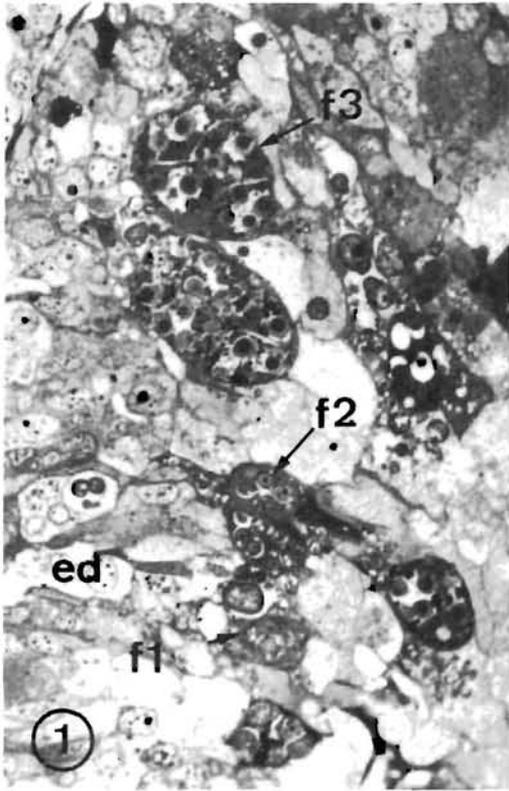
Les principales phases de la sporulation d'un nouveau *Marteilia*, parasite du Pélécy-pode *Scrobicularia piperata* Poiret sont décrites en microscopie électronique. Les caractéristiques morphologiques de la spore tricellulaire et la différenciation du contenu cytoplasmique des sporontes distinguent ce parasite des autres espèces du genre *Marteilia*. Nous proposons de le nommer *Marteilia christenseni* sp.n.

Depuis la mise en évidence des premiers cas d'infection d'huîtres plates par le parasite *Marteilia refringens* en 1969 dans le bassin de Marennes-Oléron (COMPS, 1970), les examens zoosanitaires pratiqués régulièrement sur les coquillages présentant un intérêt économique ont révélé que d'autres Lamellibranches étaient parasités par des *Marteilia* (COMPS *et al.*, 1975 ; COMPS, 1975 ; PERKINS et WOLF, 1976 ; COMPS *et al.*, 1981).

Si chez les huîtres les *Marteilia* peuvent causer de graves épizooties, il n'a pas été clairement établi qu'ils pouvaient provoquer des dommages sérieux dans les populations d'autres mollusques tels que *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis* ou *Cardium edule*. L'observation épisodique depuis 1980 d'un *Marteilia* dans l'épithélium digestif de *Scrobicularia piperata* s'ajoutant à ces différents cas vient confirmer l'importance de ce groupe en parasitologie des Bivalves marins. L'intérêt systématique de ce parasite nouveau pour lequel l'espèce *Marteilia christenseni* sp.n. est proposée, a conduit à en effectuer l'étude ultrastructurale.

Matériel et méthodes.

Les lavignons examinés provenaient du secteur de Ronce-les-Bains, dans le bassin de Marennes-Oléron. L'étude histologique en microscopie électronique a été réalisée après double fixation glutaraldehyde-acide osmique (tampon cacodylate de sodium 0,4 M) et inclusion dans l'araldite. Les coupes semi-fines ont été colorées par le bleu de méthylène boraté et les coupes fines contrastées par l'acétate d'uranyle-citrate de plomb.



Description : histologie et ultrastructure.

Sur coupes histologiques semi-fines, on reconnaît tous les stades caractéristiques des *Marteilia* (fig. 1). Localisé dans l'épithélium des tubules digestifs, le parasite n'occupe que certains secteurs du diverticule digestif. Souvent limitée à quelques tubules, l'infection apparaît toujours bénigne ; elle ne provoquerait pas de lésions graves chez l'hôte.

Comme chez tous les *Marteilia*, le cycle du parasite chez *S. piperata* débute par l'individualisation dans la cellule souche amoéboïde de sporontes encore nommés cellules secondaires ou pansporoblastiques.

Du point de vue ultrastructural, la cellule souche possède un cytoplasme finement granuleux, peu dense, dans lequel on retrouve les organites habituellement rencontrés chez les représentants de ce groupe (fig. 2) : des inclusions paracrystallines opaques, des formations multivésiculaires et des particules denses structurées de forme allongée ; le noyau possède un contenu peu dense.

A l'intérieur de la cellule souche la multiplication par bourgeonnement exogène des cellules secondaires (= sporontes) est très tôt suivie d'une division de ces dernières par bourgeonnement endogène conduisant à des groupes de cellules emboîtées, figures caractéristiques de la sporogénèse des *Marteilia* (fig. 2). Le cytoplasme des cellules secondaires et celui des cellules sporales qu'elles produisent, contrastent par leur richesse en ribosomes avec celui de la cellule souche ; on y reconnaît des mitochondries globuleuses à matrice claire (fig. 2). L'évolution des sporontes est accompagnée d'un épaississement de la membrane plasmique et de l'apparition de vacuoles de 0,3 à 0,4 μm dans lesquelles se forment des corps de matériel opaque. Ce processus aboutit à la différenciation dans chaque sporonte de quatre spores (fig. 3 et 4).

Le sporonte.

A maturité, l'enveloppe du sporonte s'est sensiblement épaissie (80 à 90 nm) par accumulation de couches denses ; elle montre un contour sinueux avec de nombreux replis et invaginations. Son cytoplasme est hétérogène : il comporte des secteurs de matériel granuleux dense et de larges zones claires ; il contient des inclusions sphériques amorphes et opaques aux électrons, de 0,5 à 0,8 μm de diamètre (fig. 4).

La spore.

De forme irrégulière, les spores ont un diamètre moyen variant entre 3,5 et 4,5 μm . Elles possèdent une paroi de 40 à 50 nm d'épaisseur accolée à la membrane plasmique de la cellule sporale externe ; cette paroi développe des digitations complexes conférant à la spore un profil d'une grande variabilité (fig. 3). La spore est constituée de trois cellules emboîtées (fig. 5).

Dans la cellule sporale externe le noyau n'est plus apparent ; le cytoplasme peu compact renferme de nombreuses particules denses structurées parasphériques ou ovoïdes, de 90 à 200 nm (fig. 8). Suivant la terminologie adoptée par PERKINS (1976), ces particules sont généralement désignées sous le nom d'haplosporosomes.

FIG. 1. — Différents stades du parasite localisés dans l'épithélium digestif (ed) : formes jeunes (f1) ; formes en cours de sporogénèse (f2) ; formes en fin de cycle contenant des spores mures (f3). — Coupe semi-fine, bleu de toluidine, G \times 1 000.

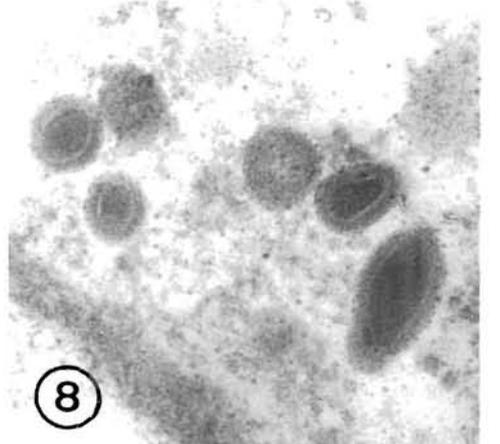
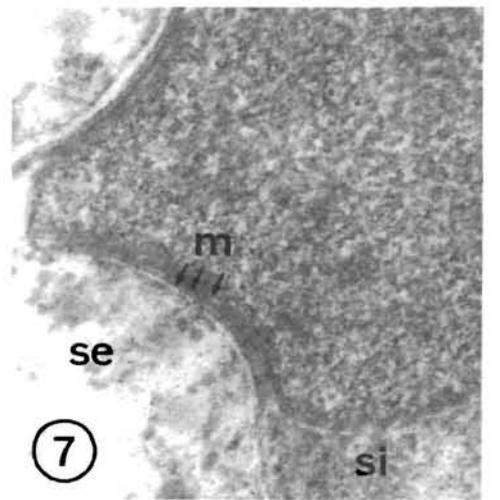
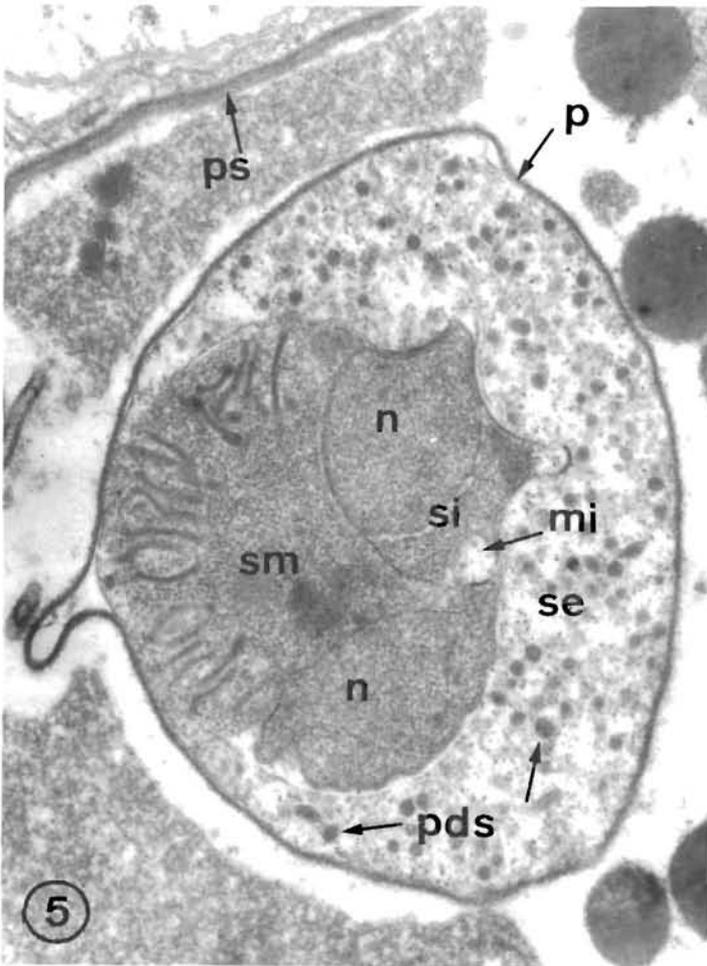
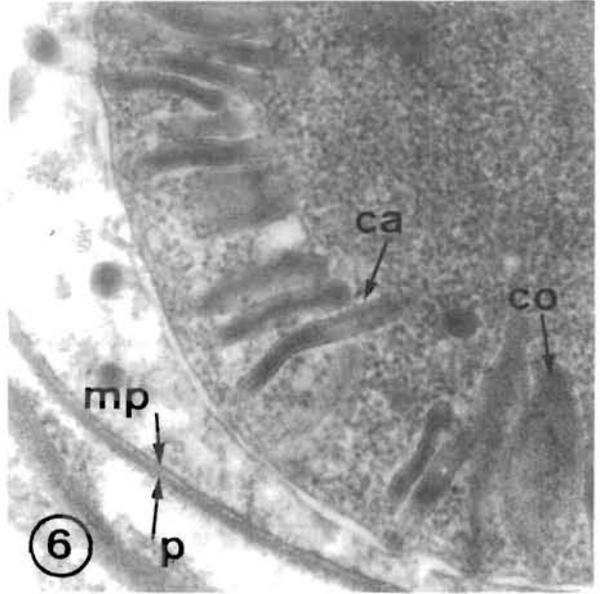
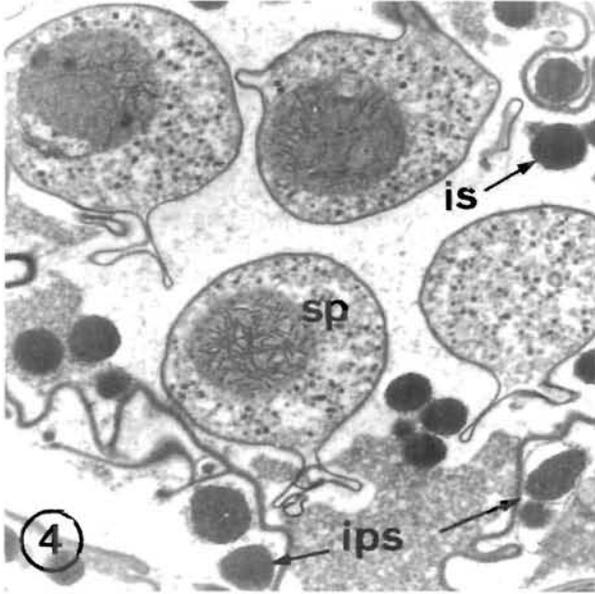
Various stages of the parasite in the digestive epithelium (ed) : young parasites (f1) ; stages during sporogenesis (f2) ; stages containing mature spores. — Thick section, toluidin blue, M \times 1 000.

FIG. 2. — Sporonte en cours de sporogénèse (s.c) présentant des vacuoles cytoplasmiques dont certaines renferment un granule dense aux électrons (v). Dans les cellules sporales, on observe de grandes mitochondries (mi). Le cytoplasme de la cellule souche comporte des particules denses (pd), des inclusions paracrystallines (i) et des corps multivésiculaires (mv), M.E., G \times 8 100.

Sporont in early sporogenesis with micro-vacuoles (v), some of which containing electron dense granules ; note the large mitochondria (mi) within the spore cells. The cytoplasm of the primary cell includes dense particles (pd), striated inclusions (i) and multivesicular bodies (mv), E.M., M \times 8 100.

FIG. 3. — Parasite en fin de sporulation : à maturité les spores montrent un profil irrégulier, M.E., G \times 4 600.

Late stage of the sporulation of the parasite : the mature spores show a irregular profile, E.M., G \times 4 600.



Limitée par des citernes ergastoplasmiques plus ou moins larges, la cellule sporale intermédiaire, incluse dans la précédente, possède un cytoplasme riche en ribosomes, au sein duquel figurent de nombreux corps vermiformes dont la longueur peut atteindre $0,7 \mu\text{m}$ pour un diamètre moyen de 100 à 120 nm ; certains de ces corps montrent un profil ovoïde. La structure de ces organelles est voisine de celle des particules denses structurées de la cellule sporale externe : limitées par un double système membranaire, leur contenu finement granuleux est opaque aux électrons (fig. 6). Le noyau, au nucléoplasme dense et homogène, occupe dans la cellule intermédiaire une position pariétale.

La cellule sporale interne emboîtée dans la cellule sporale intermédiaire est accolée à la membrane plasmique de cette dernière ; la zone de contact montre souvent un profil sinueux (fig. 7). D'une taille n'excédant pas $1,3 \mu\text{m}$ elle est caractérisée par des contenus nucléaire et cytoplasmique compacts ; elle renferme une mitochondrie à matrice claire, sans crêtes, contenant un matériel granulo-fibrillaire ténu (fig. 5).

Discussion.

Sa localisation dans l'épithélium digestif, sa morphologie et son mode sporogénétique par bourgeonnement produisant des spores à trois cellules emboîtées permettent d'inclure ce parasite dans le genre *Marteilia*. Toutefois, en raison de caractères originaux tels que la morphologie de la spore dont l'enveloppe présente des expansions digitées, la forme, la taille et le nombre d'inclusions amorphes des sporontes ce parasite se distingue des quatre espèces actuellement identifiées : *M. refringens* Grizel, Comps, Bonami, Cousserans, Duthoit et Le Pennec, 1974, *M. lengehi* Comps 1976, *M. sydneyi* Perkins et Wolf 1976 et *M. maurini* Comps, Pichot et Papagianni 1981 (1982). Ainsi nous proposons de créer pour lui l'espèce *Marteilia christenseni* sp.n.

Marteilia christenseni sp.n. (ordre des Marteiliida).

Diagnose. — Cellule souche comportant des inclusions paracrystallines, des formations multivésiculaires et des particules denses structurées. Sporogénèse se déroulant à l'intérieur de la cellule souche suivant un processus de bourgeonnement (exogène et endogène) aboutissant à la formation de quatre spores par sporonte. Les spores de $3,5$ à $4,5 \mu\text{m}$, constituées de trois cellules emboîtées, présentent des digitations pariétales au profil irrégulier. Présence dans les sporontes d'inclusions réfringentes sphériques opaques aux électrons, peu nombreuses et de petite taille ($0,5$ à $0,8 \mu\text{m}$).

FIG. 4. — Sporonte renfermant quatre spores mures (sp) : paroi du sporontes (ps) ; corps denses amorphes contenus dans le sporonte (is) ; corps denses parasphériques situés dans le cytoplasme résiduel de la cellule souche (ips), M.E., G \times 9 000.
Sporont including four mature spores (sp) : wall of the sporont (ps) ; amorphous dense bodies within the sporont (is) ; paraspherical dense bodies within the primary cell of the parasite (ips), E.M., M \times 9 000.

FIG. 5. — Structure de la spore : paroi (p) ; cellule sporale externe (se), intermédiaire (sm) et interne (si) ; noyau (n) ; mitochondrie (mi) ; particules denses structurées (pds) ; paroi du sporonte (ps) M.E., G \times 23 000.
Structure of the spore : wall of the spore (p) ; outermost sporoplasm (se), intermediate (sm) and innermost (si) ; nucleus (n) ; mitochondrion (mi) ; structured dense particles (pds) ; wall of the sporont (p.s.) E.M., M \times 23 000.

FIG. 6. — Détail de la spore : paroi de la spore (p) accolée à la membrane plasmique (mp) du sporoplasme externe ; corps vermiformes (Ca) et corps ovoïdes (Co) contenus dans le sporoplasme intermédiaire, M.E., G \times 52 000.
Detail of the spore : wall of the spore (p) associated with the plasmic membrane (mp) of the outermost sporoplasm ; vermiform bodies (Ca) or ovoid bodies (Co) included in the intermediate sporoplasme, E.M., M \times 52 000.

FIG. 7. — Zone de contact des membranes (m) des cellules sporales intermédiaire et interne (si) présentant un profil incurvé, M.E., G \times 75 000.
Contact zone of the membranes (m) of the intermediate and innermost sporoplasms (si), showing a curved profile, E.M., M \times 75 000.

FIG. 8. — Morphologie des particules denses incluses dans la cellule sporale externe, M.E., G \times 100 000.
Morphology of the dense particles included within the outermost sporoplasm, E.M., M \times 100 000.

Hôte : *Scrobicularia piperata* Poiret, mollusque lamellibranche.

Localisation dans l'hôte : épithélium du diverticule digestif.

Localité : Ronce-les-Bains, La Tremblade (Charente-Maritime, France).

Jusqu'à présent, la distinction des espèces dans le genre *Marteilia* a été établie suivant des critères purement morphologiques correspondant à des variations dans les différenciations cytologiques s'opérant au cours de la sporogénèse. Ainsi, pour les quatre espèces actuellement identifiées (*M. refringens*, *M. lengehi*, *M. sydneyi* et *M. maurini*), les distinctions portent sur des points aussi différents que le nombre de spores par sporonte, la nature de l'enveloppe sporale ou la forme des haplosporosomes sporaux, les parasites signalés chez *Cardium edule* et chez *Mytilus edulis* (COMPS *et al.*, 1975) ayant été seulement placés dans le genre en tant que *Marteilia* sp.

Bien que venant accroître la liste des critères morphologiques utilisés dans la diagnose des *Marteilia*, le cas de *M. christenseni* permet d'examiner sur des bases nouvelles les positions mutuelles de certains d'entre eux. On peut ainsi suggérer certains rapprochements entre *M. christenseni* et *Marteilia* sp. parasite de *Cardium edule*. Ces deux espèces présentent en effet des analogies morphologiques intéressantes, la principale concernant les granules réfringents, inclusions amorphes et opaques aux électrons associées aux spores à l'intérieur du sporonte. Chez ces *Marteilia*, tous deux parasites de Pélécytopodes fouisseurs, les granules réfringents sont plus petits et de forme régulière et aussi plus nombreux que dans l'espèce type, *M. refringens* et que chez les autres *Marteilia* parasites d'huîtres et de moules comme le montre le tableau 1 où les données sont relatives aux figures de ces granules obtenues en microscopie électronique, sur coupe.

TABLEAU 1

Espèce	Nombre de granules par sporonte	Diamètre des granules (µm)
<i>M. refringens</i>	2-3	2,3-4
<i>M. maurini</i>	2-4	2-3
<i>M. sydneyi</i>	3-6 *	1,7-3,2
<i>Marteilia</i> sp. (<i>Cardium</i>)	100	0,3
<i>M. christenseni</i>	10-22	0,5-0,8

* valeur estimée d'après des clichés de coupes histologiques.

deux agents pathogènes avec les autres *Marteilia* inciterait à penser que les *Marteilia* rencontrés chez les Bivalves fouisseurs constituent un groupe particulier à l'intérieur du genre *Marteilia*, cette distinction liée au mode de vie de l'hôte demandant à être confirmée.

On notera également chez les *Marteilia* parasites de *Cardium edule* et de *Scrobicularia piperata* l'existence commune de zones claires autour des spores. Il semblerait que ces dernières puissent résulter d'une importante rétraction du cytoplasme de la cellule sporale externe ; ce phénomène de rétraction, déjà mentionné par DESPORTES (1981) coïnciderait avec l'apparition des haplosporosomes sporaux.

Si pour le moment les données sur *Marteilia* sp. parasite de *C. edule* sont insuffisantes pour préciser davantage sa position par rapport à *M. christenseni*, la comparaison de ces

BIBLIOGRAPHIE

- COMPS (M.), 1970. — Observations sur les causes d'une mortalité anormale des huîtres plates (*Ostrea edulis* L.) dans le bassin de Marennes. — *Cons. Int. Explor. Mer*, C.M., K : 4.
- COMPS (M.), 1976. — *Marteilia lengehi* n.sp., parasite de l'huître *Crassostrea cucullata* Born. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **40** (2) : 347-349.
- COMPS (M.), PICHOT (Y.) et PAPAGIANNI (P.), 1981 (1982). — Recherches sur *Marteilia maurini* n.sp. parasite de la moule *Mytilus galloprovincialis* Lmk. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **45** (3) : 211-214.
- COMPS (M.), TIGE (G.), GRIZEL (H.) et DUTHOIT (J.L.), 1975. — Parasites nouveaux de la glande digestive des mollusques marins *Mytilus edulis* L. et *Cardium edule* L. — *C.R. Acad. Sc. Paris*, sér. D., 281 : 179-181.
- DESPORTES (I.), 1981. — Etude ultrastructurale de la sporulation de *Paramyxa paradoxa* Chatton (Paramyxida) parasite de l'annélide polychète *Poecilochaetus serpens*. — *Protistologica*, **17** (3) : 365-386.
- PERKINS (F.O.), 1971. — Sporulation in the trematode hyperparasite *Urosporidium crescens* Deturk, 1940 (Haplosporida : Haplosporidiidae) an electron microscope study. — *J. Parasitol.*, **57** : 9-23.
- PERKINS (F.O.) et WOLF (P.H.), 1976. — Fine structure of *Marteilia sydneyi* sp.n. Haplosporidan pathogen of Australian oysters. — *J. Parasitol.*, **62** (4) : 528-538.