

**MISE EN EVIDENCE DE PARTICULES D'ALLURE VIRALE  
ASSOCIEES AUX NOYAUX DES CELLULES MESODERMIQUES  
DE LA ZONE GERMINATIVE TESTICULAIRE  
DU CRABE *RHITHROpanopeus HARRISII* (GOULD)  
(BRACHYOURE, XANTHIDE) <sup>(1)</sup>**

par Geneviève G. PAYEN et Jean-Robert BONAMI <sup>(2)</sup>

**Résumé**

L'étude ultrastructurale de la zone germinative testiculaire du Crabe *Rhithropanopeus harrisi* a permis de mettre en évidence des particules d'allure virale exclusivement localisées au niveau des noyaux des cellules mésodermiques enchâssant les spermatogonies primaires. Ces particules sont rapprochées du groupe des virus de type herpès.

**Summary**

Ultrastructural study of the testicular germinative zone in the Crab *R. harrisi* has led to observation of virus-like particles exclusively located in the nuclei of mesodermal cells encompassing primary spermatogonia. These particles are related to the group of viruses of the herpes type.

**Introduction.**

Plusieurs maladies virales causées par différents types de virus sont actuellement connues chez les Crustacés et plus particulièrement chez les Décapodes marins (BONAMI, 1976 ; JOHNSON, 1977). Aucune virose au niveau des gonades de ces invertébrés n'ayant encore été signalée, il est apparu intéressant, de décrire les particules d'allure virale rencontrées chez quelques spécimens, au cours d'une étude ultrastructurale de la zone germinative testiculaire du Crabe *Rhithropanopeus harrisi* (GOULD) (PAYEN, 1977).

---

(1) Une partie de ce travail, réalisé au Duke University Marine Laboratory, Beaufort (Caroline du Nord, U.S.A.), a bénéficié de l'aide apportée par un contrat entre "United States Office of Naval Research, Department of the Navy" et Duke University, N.R. 104-194.

(2) Geneviève G. PAYEN : Laboratoire Sexualité et Reproduction des Invertébrés. Université Pierre et Marie Curie ; place Jussieu, Paris.

Jean-Robert BONAMI : Laboratoire de Pathologie comparée. Université des Sciences et techniques du Languedoc et E.P.H.E. ; place Eugène-Bataillon, Montpellier.

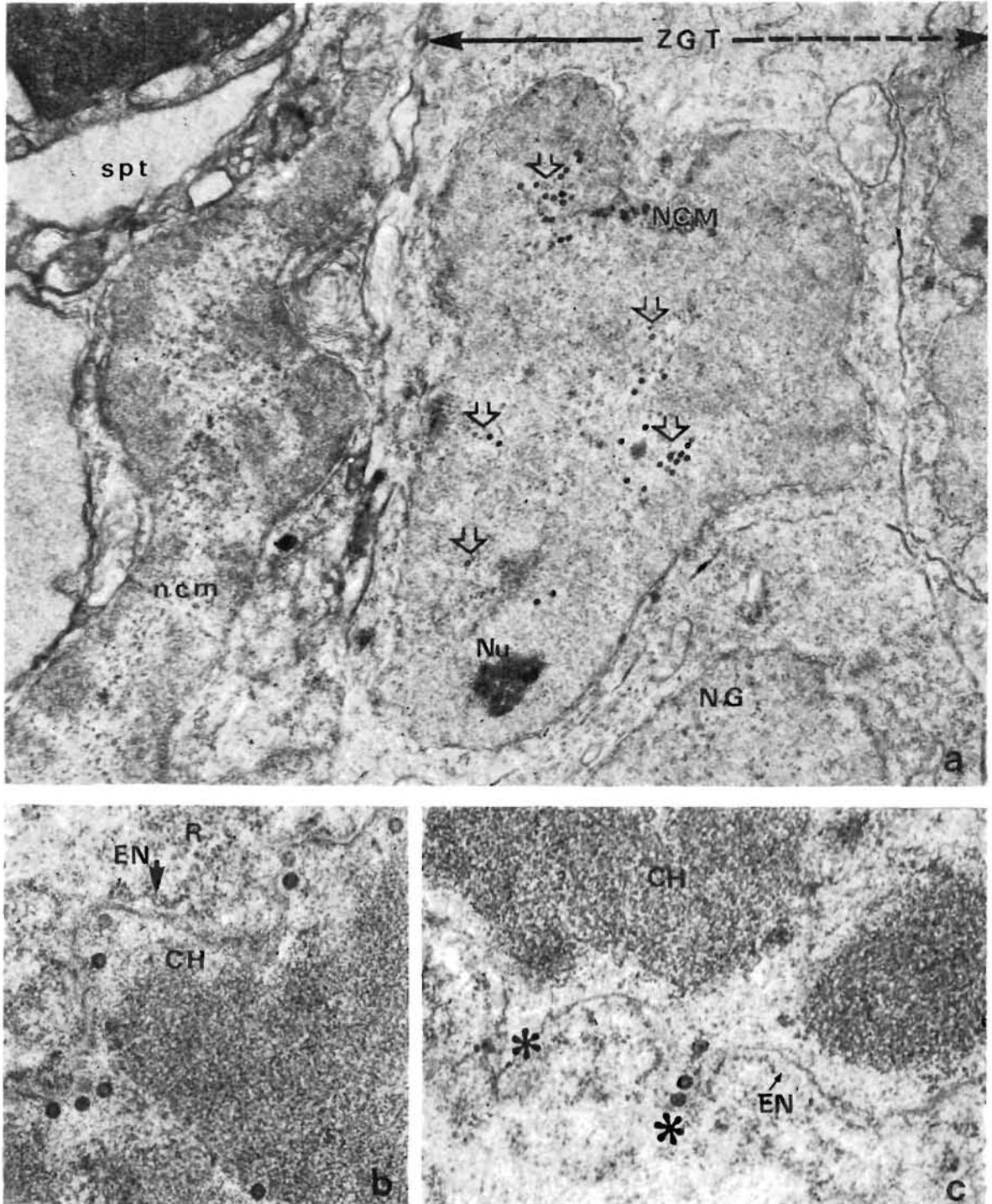


FIG. 1. — Répartition et localisation des particules virales dans les noyaux des cellules mésodermiques de la zone germinative testiculaire de *R. harrisii*; a : portion de zone germinative testiculaire (ZGT) contenant une cellule mésodermique au noyau virosé (flèches creuses), noyau de cellule mésodermique (NCM), noyau de cellule à mucus (ncm), noyau de gonie (NG), nucléole (Nu), spermatide (spt); G  $\times$  12 100; b : particules virales bordant le feuillet interne de l'enveloppe nucléaire (EN), chromatine (CH), ribosomes libres (R); G  $\times$  25 000; c : évaginations de l'enveloppe nucléaire (EN) et évacuation de particules virales dans le cytoplasme (astérisque); chromatine (CH); G  $\times$  40 000.

## Matériel et méthodes.

Des fragments de testicules, prélevés sur des animaux récoltés au cours d'une mission à Beaufort (Caroline du nord) ont été fixés au glutaraldéhyde et au tétroxyde d'osmium ; les coupes ultrafines ont été contrastées par l'acétate d'uranyle puis le sous-nitrate de bismuth suivi ou non par le citrate de plomb (RIVA, 1974). Les observations ont été réalisées au microscope Philips EM 300 à des voltages de 60 à 80 kv.

## Résultats.

L'examen de tissus testiculaires révèle la présence de particules réparties dans les noyaux des cellules mésodermiques enserrant les spermatogonies primaires (fig. 1 a). D'un diamètre de 75 à 80 nm, ces particules ne sont pas enveloppées et présentent une forme parasphérique avec parfois un contour angulaire. Elles sont constituées à leur périphérie par une zone dense aux électrons, bien délimitée, de 12 à 15 nm d'épaisseur, dont certaines images semblent indiquer une structure régulière formée de sous-unités. Le centre, de 40 à 45 nm de diamètre, est occupé par un matériel de densité variable, suivant les particules considérées.

Isolées ou faiblement groupées, ces particules apparaissent surtout localisées dans la zone périphérique du noyau, plus ou moins accolées au feuillet interne de l'enveloppe nucléaire (fig. 1 b). Cette dernière présente fréquemment de fortes évaginations dans lesquelles les particules semblent engagées (fig. 1 c). Dans les cas extrêmes, le feuillet interne de l'enveloppe nucléaire est résorbé et le feuillet externe repoussé puis lysé. Ce phénomène qui interrompt l'isolement du nucléoplasme conduit toujours à la dégénérescence des cellules infectées (fig. 2 a).

Des aires de matériel dense aux électrons, comparables à des amas de ribosomes se trouvant en regard des particules nucléaires, sont parfois remarquées dans le cytoplasme (fig. 2 b).

Nous n'avons pu reconnaître avec certitude le passage de ces particules dans le cytoplasme au niveau des évaginations de l'enveloppe nucléaire ; toutefois, nous y avons observé des particules de taille identique à celles présentes dans le noyau mais possédant en plus une enveloppe (fig. 2 c) ; leur diamètre est alors de 100 à 110 nm.

Ces particules n'ont été remarquées qu'au niveau des cellules mésodermiques de la zone germinative. Les autres catégories cellulaires, tant germinales que somatiques, des testicules des crabes ainsi infestés ne semblent pas être contaminées.

## Discussion et conclusion.

Les différentes caractéristiques des particules que nous venons de décrire dans les gonades mâles de *R. harrisii*, conduisent à les interpréter comme des formations virales. De plus, leur taille, leur structure, leur localisation nucléaire et leur passage dans le cytoplasme, au niveau des évaginations des feuilletts nucléaires, en s'entourant d'une enveloppe, permettent d'envisager une analogie structurale avec les virus de type Herpès (WILDY, 1971). Ces particules diffèrent cependant par leur taille, leur structure et leur localisation tissulaire (épithélium branchial) du virus de type Herpès signalé chez le Crabe *Callinectes sapidus* (JOHNSON, 1976).

Si, au cours de la dernière décennie, diverses recherches relatent successivement la présence de microsporidies, de bactéroïdes et de protistes encore mal définis dans les appareils génitaux des Crustacés (BULNHEIM et VÁVRA, 1968 ; BULNHEIM, 1975 ; WALKER et HINSCH, 1972, 1975 ; MARTIN et Coll., 1973, 1974 ; GINSBURGER-VOGEL et Coll., 1976), en revanche, l'identification de virus au niveau des gonades constitue la première mise en évidence, chez les Crustacés, d'une virose dans ces organes. Bien que, seules les cellules mésodermiques soient atteintes, nos résultats posent en outre le problème du mode de transmission du virus.

Nous envisageons la poursuite de cette étude en examinant d'autres organes que les gonades, en particulier l'hépatopancréas, afin de vérifier l'étendue de l'infection ou au contraire sa stricte

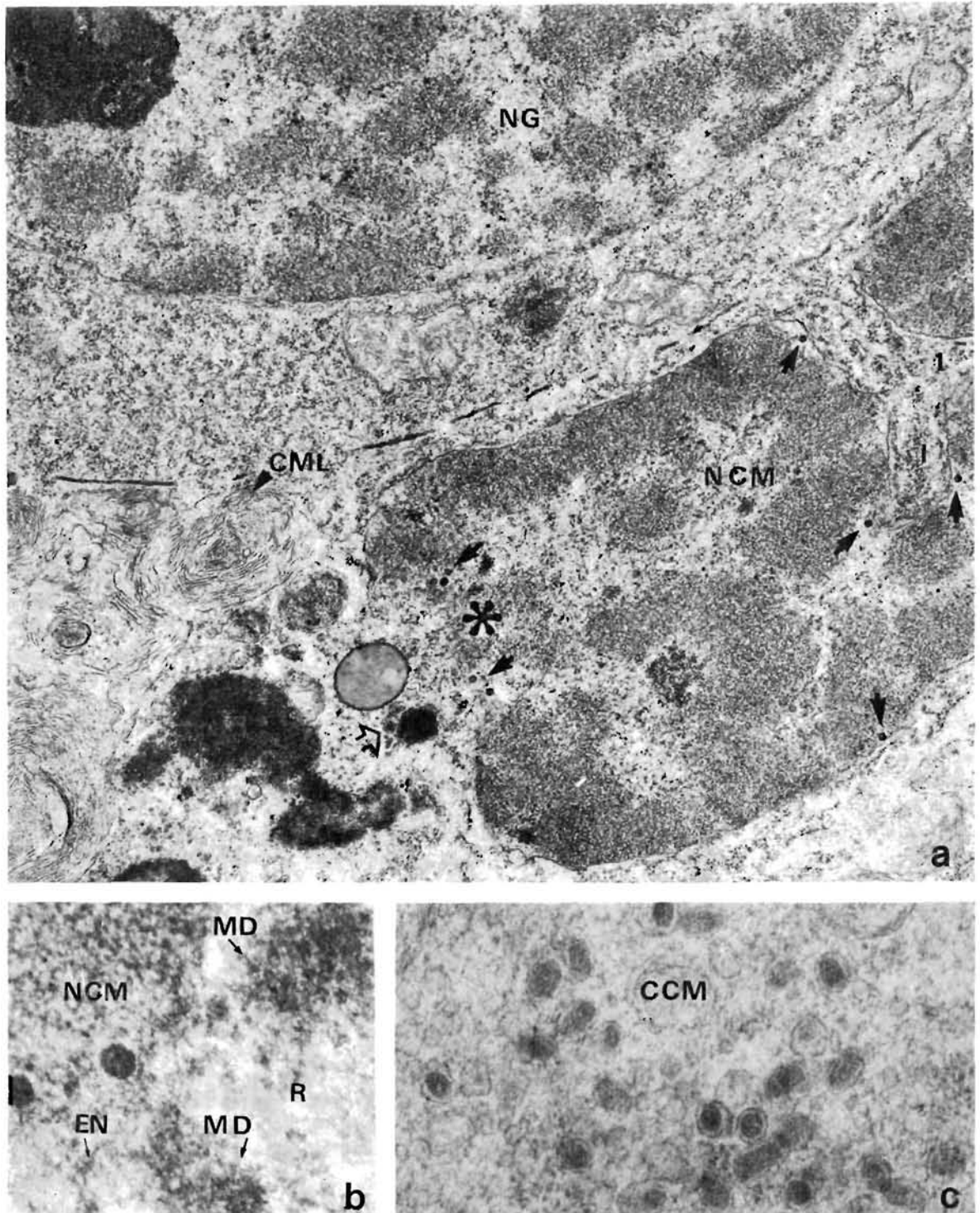


FIG. 2. — Evolution des cellules mésodermiques contenant des particules virales ; a : entrée en dégénérescence d'une cellule mésodermique ; noter les profondes invaginations nucléaires (I), la disparition progressive de l'enveloppe nucléaire (région signalée par un astérisque) et la présence d'une particule virale, entourée d'une enveloppe, dans le cytoplasme (flèche creuse) ; corps multilamellaire (CML), noyau de cellule mésodermique (NCM), noyau de gonie (NG) ; G  $\times$  17 000 ; b : présence de matériel dense (MD) dans le cytoplasme, en regard des particules nucléaires ; seul le feuillet externe de l'enveloppe nucléaire (EN) reste faiblement reparable ; noyau de cellule mésodermique (NCM), ribosomes (R) ; G  $\times$  80 000 ; c : détail de particules virales accumulées dans le cytoplasme d'une cellule mésodermique (CCM) ; remarquer l'enveloppe limitante externe des particules ; G  $\times$  50 000.

localisation au niveau du tissu somatique de la zone germinative. De toute manière, il est intéressant de constater que l'infection observée apporte une nouvelle preuve de l'individualisation des cellules mésodermiques de la zone germinative, par rapport aux autres cellules mésodermiques des testicules.

Manuscrit déposé le 8 novembre 1978.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BONAMI (J.-R.), 1976. — Les maladies virales des Crustacés et des Mollusques. — *Oceanis*, **3** (5) : 154-175.
- BULNHEIM (H.P.), 1975. — Microsporidian infections of amphipods with special reference to host-parasite relationships : A review. — *Mar. Fish. Rev.*, **37** : 39-45.
- BULNHEIM (H.P.) et VAVRA (J.), 1968. — Infection by the microsporidian *Octosporea effeminans* Sp. N., and its sex determining influence in the Amphipod *Gammarus duebeni*. — *J. Parasitol.*, **54** : 241-248.
- GINSBURGER-VOGEL (T.), DESPORTES (I.) et ZERBIB (C.), 1976. — Présence chez l'Amphipode *Orchestia gammarella* (PALLAS) d'un Protiste parasite ; ses affinités avec *Marteilia refringens* agent de l'épizootie de l'huître plate. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **283** : 939-942.
- JOHNSON (P.T.), 1976. — A herpes like virus from the blue crab, *Callinectes sapidus*. — *J. Invertebr. Pathol.*, **27** : 419-420.
- 1977. — A viral disease of the blue crab, *Callinectes sapidus* : histopathology and differential diagnosis. — *Ibid.*, **29** : 201-209.
- MARTIN (G.), JUCHAULT (P.) et LEGRAND (J.-J.), 1973. — Mise en évidence d'un micro-organisme intracytoplasmique symbiote de l'oniscoïde *Armadillidium vulgare* LATR. dont la présence accompagne l'intersexualité ou la féminisation totale des mâles génétiques de la lignée thélygène. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **276** : 2313-2316.
- MARTIN (G.), MAISSIAT (R.), JUCHAULT (P.) et LEGRAND (J.-J.), 1974. — Mise en évidence d'un micro-organisme intracytoplasmique symbiotique chez les intersexués (mâles à oostégites) du Crustacé *Ligia oceanica* L. (Isopode, Oniscoïde). — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **278** : 3375-3378.
- PAYEN (G.G.), 1977. — Ultrastructure de la zone germinative testiculaire et des spermatogonies secondaires chez des Crustacés Décapodes Brachyours normaux et épédonculés. — *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **66** (33) : 163-180.
- RIVA (A.), 1974. — A simple and rapid staining method for enhancing the contrast of tissues previously treated with uranyl acetate. — *J. Microscopie*, **19** : 84-94.
- WALKER (M.H.) et HINSCH (G.W.), 1972. — Ultrastructural observations of a microsporidian protozoan parasite in *Libinia dubia* (Decapoda) I. Early spore development — *Z. Parasitenk.*, **39** : 17-26.
- 1975. — Ultrastructural observations of a microsporidian protozoan parasite in *Libinia dubia* (Decapoda) II. Structure of the mature spore. — *J. Parasitol.*, **61** (6) : 1074-1080.
- WILDY (P.), 1971. — Classification and nomenclature of viruses. — *Mon. in Virol.*, S. Karger, Basel, **5** : 1-81.