

# ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DES BACTÉRIES ÉPIZOIQUES ET ENDOZOIQUES DE *KENTROPHOROS LATUM* RAIKOV, CILIÉ HOLOTRICHE MÉSOPSAMMIQUE

par

I.B. Raikov

Département de Zoologie, Université de Clermont-Ferrand, B.P. 45, 63170 Aubière, France,  
et  
Institut de Cytologie de l'Académie des Sciences, Léningrad F-121, U.R.S.S. (1)

## Résumé

Les Ciliés psammophiles *Kentrophoros latum*, de forme rubanée, systématiquement proches des Loxidae mais dépourvus de bouche, sont obligatoirement porteurs de nombreuses Bactéries sulfureuses épizoïques sur la face non ciliée physiologiquement dorsale (morphologiquement gauche). Ces Bactéries allongées, disposées « en brosse », sont recouvertes de deux membranes unitaires (membrane plasmatische et membrane de la paroi cellulaire), ce qui les distingue des Bactéries épizoïques de *K. fistulosum* qui n'en ont qu'une (plasmatische). Parmi les Bactéries, se trouvent des organismes rappelant les Spirochètes mais dépourvus de fibres dans l'espace compris entre le protoplaste et l'enveloppe externe.

Les Bactéries épizoïques sont phagocytées par le Cilié à un endroit quelconque de sa face non ciliée, surtout au fond des nombreux plis pelliculaires. Elles arrivent ensuite dans des vacuoles digestives localisées, pour la plupart au niveau du renflement cytoplasmique médian, où elles sont réduites à des systèmes enroulés de membranes bactériennes. Ce processus représente donc le mode principal de nutrition de *K. latum*.

L'endoplasme de certains individus de *K. latum* contient des Bactéries arrondies recouvertes également de deux membranes. Elles sont localisées par groupes dans des vacuoles cytoplasmiques et se distinguent nettement des Bactéries épizoïques ingérées. Les Bactéries endozoïques ne contiennent pas de soufre ; elles se multiplient par division binaire et ressemblent à des Rickettsiae. Certaines sont isolées par l'hôte dans des vacuoles solitaires où elles subissent une dégénérescence graduelle. Ces vacuoles sont toujours associées aux mitochondries, ce qui n'est pas le cas pour les vacuoles digestives contenant des Bactéries sulfureuses.

## Introduction

Les Ciliés marins du genre *Kentrophoros* (*Centrophorella*) sont des formes typiquement mésopsammiques n'habitant généralement que dans les sables fins. Ils appartiennent donc aux espèces micro-porales, selon la classification de Fauré-Fremiet (1950 a). Tous les *Kentrophoros* sont des formes très aplatis, rubanées, et leur face tournée vers le substrat (physiologiquement ventrale) est seule ciliée.

(1) Adresse permanente.

J'ai montré précédemment (Raikov, 1971-72) que cette face ciliée « ventrale » est, du point de vue morphologique, la face droite, la face non ciliée « dorsale » étant gauche, comme chez les Loxodidae avec lesquels les *Kentrophoros* ont en commun beaucoup de particularités ultrastructurales.

Toutes les espèces de *Kentrophoros* se caractérisent par une réduction totale de la bouche et de la ciliature buccale ainsi que par la présence obligatoire de Bactéries sulfureuses épizoïques, disposées en « brosse » serrée sur la face non ciliée de l'hôte où elles sont attachées à la pellicule par une de leurs extrémités (Sauerbrey, 1928 ; Kahl, 1933, 1935 ; Fauré-Fremiet, 1950 a, 1951 ; Dragesco, 1960 ; Raikov, 1962, 1963; Raikov et Kovaleva, 1968). Une étude spéciale, entreprise par Fauré-Fremiet (1950 b), a montré que ces Bactéries sont Gram-négatives, souvent pigmentées, qu'elles se divisent longitudinalement et qu'elles contiennent, dans l'endoplasme, des globules de soufre et beaucoup de polysaccharides. Elles sont obligatoirement épizoïques et ne poussent ni sur d'autres Ciliés ni sur des substrats morts ; en outre, elles sont morphologiquement différentes suivant l'espèce de *Kentrophoros*. Elles n'ont pas encore de nom scientifique binaire, bien que Fauré-Fremiet (1950 b) les ait rapprochées du genre *Pasteuria* Metchnikoff dont les membres, eux aussi, se divisent longitudinalement, ce qui est plutôt atypique pour les Bactéries. A cette époque, on rattachait les épibiontes de *Kentrophoros* et les *Pasteuria* à l'ordre des Caulobactériales (Fauré-Fremiet, 1950 a, 1950 b, 1951), tandis que les deux sont transférées aujourd'hui, de façon provisoire, dans l'ordre des Hyphomicrobiales (Fauré-Fremiet et al., 1964).

L'étude au microscope électronique de *Kentrophoros fistulosum* (Raikov, 1971) a montré qu'il existe un lien entre l'absence de bouche et la présence des Bactéries épizoïques. L'hôte s'est révélé capable de phagocytter ses propres Bactéries épizoïques à n'importe quelle place de sa face non ciliée et de les digérer dans son endoplasme. Pourtant, la question se pose de savoir si ce mode de nutrition, inhabituel pour un Cilié, n'est pas propre seulement à l'espèce étudiée, *K. fistulosum*, qui occupe une position bien à part dans le genre *Kentrophoros*. En effet, les bords latéraux de son corps rubané se recouvrent vers la face non ciliée, porteuse de Bactéries, et se jouxtent au-dessus en formant un véritable tuyau. Les Bactéries recouvrent donc l'intérieur de ce tuyau, partiellement isolé du milieu ambiant. Cela pourrait provoquer l'apparition, chez *K. fistulosum* seule, d'un mode de nutrition hautement spécifique : phagocytose non localisée des épibiontes. En conséquence, il est intéressant de vérifier cette hypothèse en étudiant l'ultrastructure des Bactéries épizoïques et le mode d'alimentation chez une espèce de *Kentrophoros* dont le corps ne s'enroule pas en tuyau.

J'ai choisi comme sujet une grande espèce à forme rubanée, *Kentrophoros latum* Raikov 1962. Elle n'a été trouvée jusqu'ici que dans la Mer de Barentz et la Mer Blanche (Raikov, 1962). Les résultats d'une étude au microscope électronique de son appareil nucléaire et de ses organites corticaux et ciliaires ont été publiés ailleurs (Raikov, 1971-72).

### Matériel et méthodes

Les *Kentrophoros latum* ont été récoltés en juin 1970 sur une plage sableuse de la baie de Dalnyie Zelentsy (Mer de Barentz), à proximité de l'Institut de Biologie Marine de Mourmansk (1). Les Ciliés ont été fixés, le plus souvent, au tétr oxyde d'osmium à 2 p. 100 dans un tampon phosphate de Millonig (pH 7.4), additionné de 10 p. 100 de saccharose, pendant vingt minutes à 16-18° C. D'autres individus ont été fixés au glutaraldéhyde à 6 p. 100 dans un tampon cacodylate à 0.1 M (pH 7.4), contenant également 10 p. 100 de saccharose et, en plus, 0.03 p. 100 de chlorure de calcium, pendant vingt-cinq minutes à la même température. Les Ciliés, fixés au glutaraldéhyde, ont été lavés au tampon cacodylate (avec 10 p. 100 de saccharose et 0.03 p. 100 de chlorure de calcium) et postfixés pendant vingt minutes au tétr oxyde d'osmium à 2 p. 100 dans le même tampon. Plus rarement, on utilisait les fixations au glutaraldéhyde dans un tampon phosphate et au tétr oxyde d'osmium dans un tampon acétate-véronal. Une partie du matériel fixé a été contrasté in toto, pendant deux heures, à l'acétate d'uranyl aqueux à 0.5 p. 100, dans un tampon acétate-véronal, pH 5.0 (Farquhar et Palade, 1965). Pourtant, comme cette coloration produisait souvent, dans le cytoplasme du Cilié, des dépôts en forme de longs cristaux pointus, la plupart des clichés utilisés ici proviennent du matériel contrasté uniquement sur coupes. Les Ciliés, déshydratés à l'acétone, ont été inclus, soit dans l'Araldite, soit dans l'Epon.

Les coupes ont été faites au microtome Reichert OM U-2, avec un couteau de diamant, recueillies sur des grilles nues et colorées deux à trois heures à l'acétate d'uranyl aqueux saturé et dix à quinze minutes au citrate de plomb, d'après Reynolds (à la température du laboratoire). Les coupes du matériel contrasté in toto ont été colorées uniquement au citrate de plomb. Les coupes, préalablement carbonées, ont été étudiées aux microscopes Siemens Elmiskop I et IA, au Département de Zoologie de l'Université de Clermont-Ferrand (2).

### RÉSULTATS

La vue générale d'une partie d'une coupe transversale de *Kentrophoros latum* est représentée planche I, 1. La face du corps rubané du Cilié tournée vers le substrat (morphologiquement droite) porte de nombreuses cinéties longitudinales, accompagnées de myonèmes

(1) La récolte, la fixation et l'inclusion du matériel ont été effectuées par V. Kovaleva et E. Snigirevskaya, à qui l'auteur exprime ici sa sincère gratitude.

(2) La majeure partie de ce travail a été effectuée par l'auteur en 1970-71 et en 1972, lors de deux stages de recherche dans ce Laboratoire, dirigé par le professeur P. de Puytorac, à qui l'auteur tient à exprimer sa profonde et chaleureuse reconnaissance. Il remercie également M. et Mme Guillaume qui lui ont apporté une excellente assistance technique dans ce même laboratoire.

(pour plus de détails, voir Raikov, 1971-72). La face morphologiquement gauche, non ciliée et dépourvue de myonèmes, est sillonnée de nombreux plis, le plus souvent transversaux.

Le microscope électronique révèle, chez *K. latum*, non pas une mais trois espèces de microorganismes dont deux épizoïques et la troisième endozoïque. Parmi les premières sont les Bactéries sulfureuses, allongées, bien connues à la suite des recherches en microscopie photonique ; elles s'attachent perpendiculairement à la face glabre du Cilié et sont particulièrement nombreuses dans les plis pelliculaires (Pl. I, 1, BS). Les épibiontes de la deuxième espèce, beaucoup moins nombreux et jusqu'à présent inconnus chez *K. latum*, ressemblent à des Spirochètes (S) et se trouvent parmi les Bactéries sulfureuses. Ces deux espèces épizoïques existent chez tous les individus de *K. latum* étudiés.

Par contre, les endobiontes ne se trouvent que chez certains individus de *K. latum*. Ce sont des microorganismes arrondis disposés en «nids» dans des vacuoles endoplasmiques (Pl. I, 1, BE).

### I. Bactéries épizoïques sulfureuses

Les Bactéries épizoïques de *K. latum* ont la forme de bâtonnets longs de 6 à 7  $\mu$  et larges de 1 $\mu$  environ, aux extrémités arrondies ou parfois plates (Pl. I, 1 ; Pl. II, 3 et 7). Elles sont sensiblement plus épaisses que les Bactéries épizoïques de *K. fistulosum* (Raikov, 1971), ne s'amincissent pas vers les extrémités et sont dépourvues de «capitule» d'attache, propre aux épibiontes de ce dernier Cilié. Comme les Bactéries de *K. fistulosum*, les épibiontes de *Kentrophorus latum* se divisent longitudinalement (Pl. I, 1, flèche), ce qui confirme les observations, en photonique, de Fauré-Fremiet (1950 a, b).

Les Bactéries sulfureuses ont un protoplasme très dense, homogène ou vaguement granuleux, surtout à la périphérie de la cellule (Pl. II, 3). Elles contiennent toujours de nombreuses cavités claires, sans membrane limitante (Pl. I, 1 ; Pl. II, 3 et 7), correspondant sans doute aux globules de soufre dissous au cours de la déshydratation du matériel fixé. Les éléments nucléaires des Bactéries sont peu visibles. Certaines inclusions denses dans leur protoplasme, de 0,1  $\mu$  environ, aux contours très irréguliers, correspondent probablement à la volutine (Pl. II, 3, V). Elles ont été trouvées également chez les Bactéries de *K. fistulosum* (Raikov, 1971).

Les Bactéries épizoïques de *K. latum* sont recouvertes de deux membranes unitaires (Pl. II, 3, flèches). Ainsi, leur organisation corticale correspond bien à celle des Bactéries Gram-négatives, la membrane interne étant plasmatische et la membrane externe étant un élément de la paroi cellulaire (Kellenberger et Ryter, 1958 ; Bladen et Waters, 1963 ; Avakyan et al., 1972, etc.). Mais, en même temps, cela les distingue nettement des Bactéries épizoïques de *K. fistulosum* qui n'ont que la membrane plasmatische, sont dépourvues de paroi cellulaire (ou de la membrane qui lui correspondrait) et ressemblent, de ce fait, aux formes L des Bactéries (Raikov, 1971). Pour vérifier

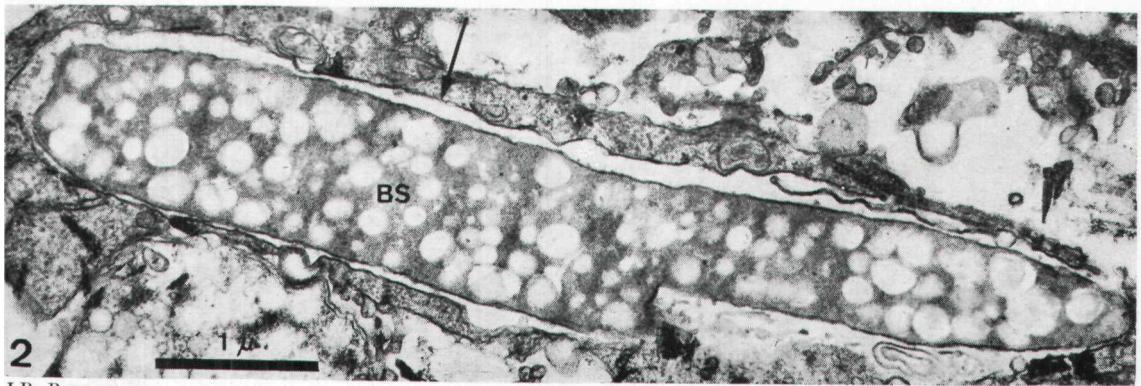
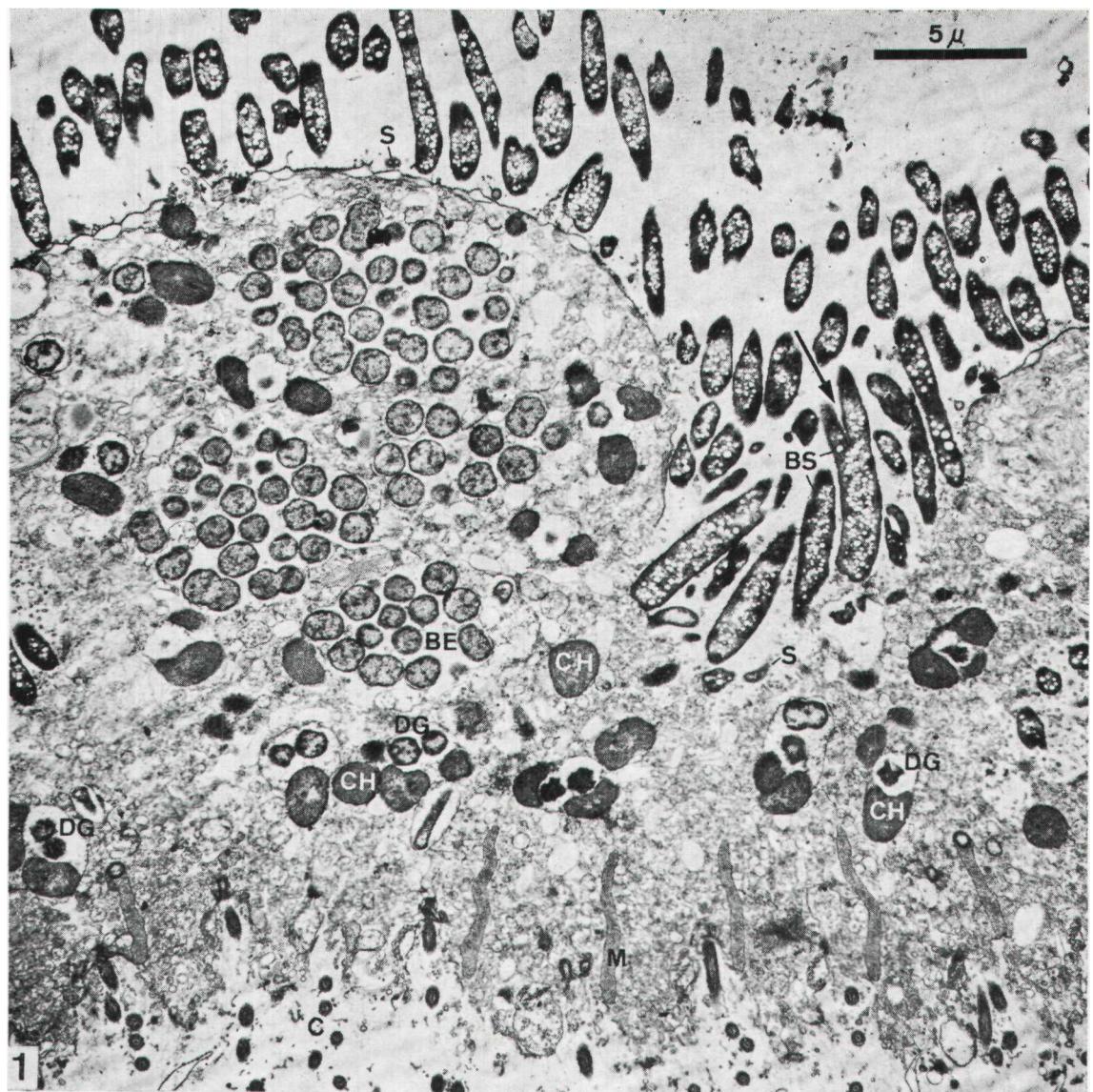
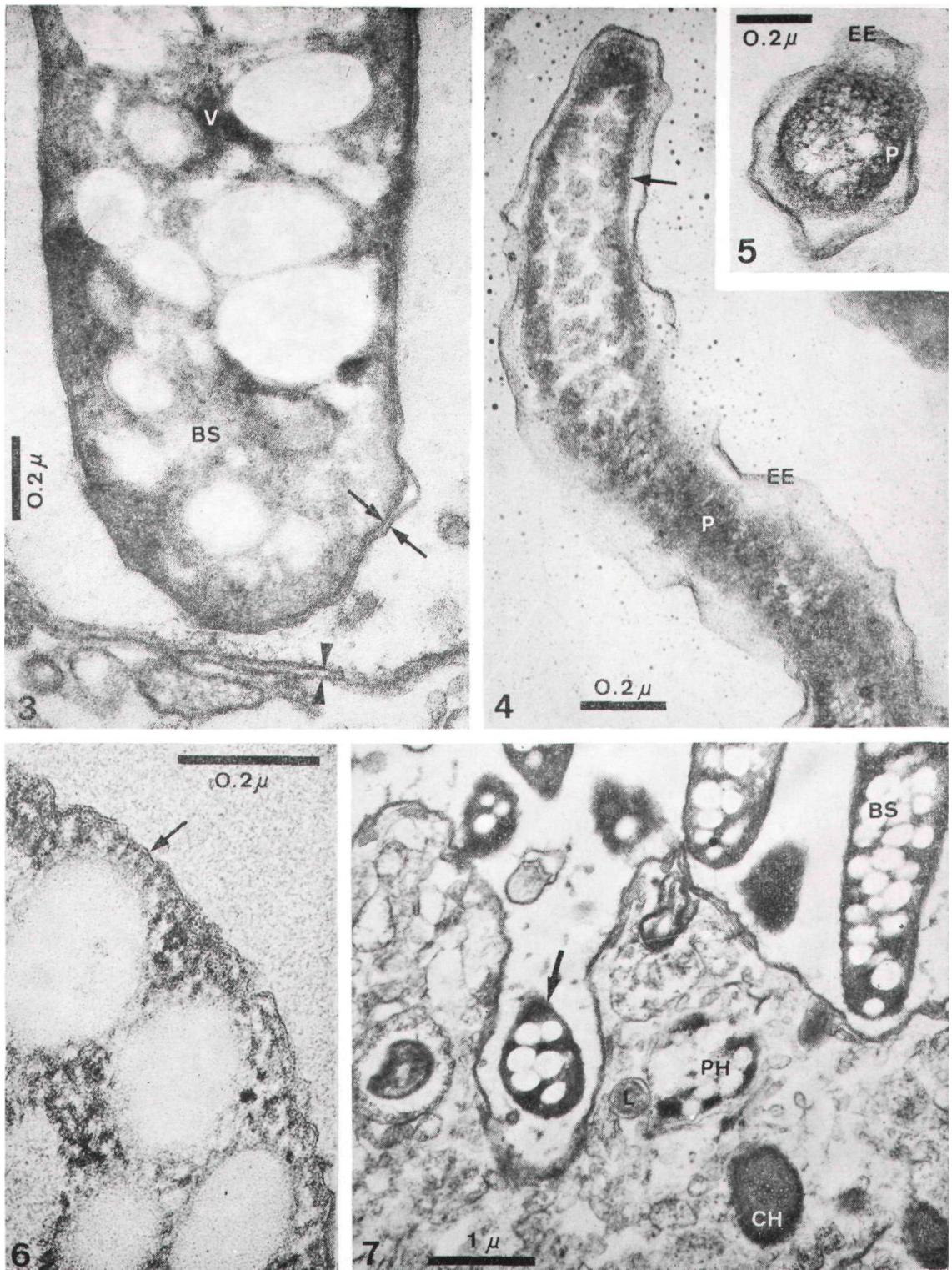


PLANCHE I

1. Fragment d'une coupe transversale de *K. latum* montrant, sur la face non-ciliée, un pli pelliculaire, les Bactéries sulfureuses épizoïques (BS) dont certaines en division longitudinale (flèche), et les organismes spirochétiformes (S) ; dans l'endoplasme — les Bactéries endozoïques (BE), les stades de leur dégénérescence (DG) et les mitochondries (CH) ; sur la face ciliée — les cils (C) et les myonèmes (M). Tétr oxyde d'osmium.

2. Bactérie sulfureuse épizoïque en division (BS) ingérée par l'hôte et incluse dans une vacuole digestive limitée par une membrane (flèche). Glutaraldéhyde.



I.B. RAIKOV

PLANCHE II

3. Partie proximale d'une Bactérie sulfureuse (BS) contenant de la volutine (V) et limitée par deux membranes (flèches); soudure de la Bactérie à la pellicule du Cilié composée également de deux membranes (pointes de flèches). Tétroxyde d'osmium.

4 et 5. Organisme spirochétiforme coupé longitudinalement (4) et transversalement (5), montrant son enveloppe externe (EE) et son protoplaste (P) entouré de la membrane plasmatische (flèche). Tétroxyde d'osmium.

6. Fragment d'une coupe de Bactérie sulfureuse épizoïque sur *Kentrophorus fistulosum*, montrant son unique membrane superficielle (flèche). Tétroxyde d'osmium.

7. Bactéries sulfureuses (BS) dans un pli cytoplasmique; une Bactérie est phagocytée (flèche). Le cytoplasme adjacent contient des mitochondries (CH), un phagosome (PH) et une vésicule lysosomienne (L). Tétroxyde d'osmium.

l'existence d'une différence aussi fondamentale entre les Bactéries épizoïques de deux espèces de *Kentrophoros*, j'ai réétudié les Bactéries de *K. fistulosum* avec un matériel récolté en 1970 à Roscoff et fixé aussi bien au tétr oxyde d'osmium qu'au glutaraldéhyde (mon travail original, publié en 1971, a été fait sur du matériel de la Mer Noire et fixé uniquement au tétr oxyde d'osmium). Des micrographies à haute résolution, obtenues à Clermont-Ferrand, n'ont pu que confirmer, après les deux fixations, l'existence d'une seule membrane (plasmique) à la surface des Bactéries de *K. fistulosum* (Pl. II, 6, flèche). Je reviendrai plus loin sur les causes possibles de cette différence importante entre les deux Bactéries, épizoïques respectivement sur deux espèces de *Kentrophoros*.

Les Bactéries épizoïques de *K. latum* s'attachent, par une de leurs extrémités, à la pellicule du Cilié. Cette dernière consiste en deux membranes parallèles — membrane cytoplasmique (externe) et membrane distale des alvéoles sous-pelliculaires plus ou moins aplatis (Pl. II, 3). La fixation des Bactéries semble peu solide ; la plupart d'entre elles se détachent, en effet, au cours de la fixation et on observe souvent, dans l'espace ainsi formé entre le bout de la Bactérie et la pellicule du Cilié, de minces filaments d'une substance quelconque reliant les deux surfaces distinctes (Pl. II, 3 et 7). Aucune différenciation spéciale de l'ectoplasme du Cilié, aux points d'attache des Bactéries, n'a été observée.

## 2. Les organismes spirochétiformes

Parmi les parties proximales des Bactéries sulfureuses attachées à la face non ciliée de l'hôte, on rencontre des microorganismes filiformes, relativement peu nombreux. Ils sont sinueux, peut-être spiralés (Pl. II, 4), à section transversale circulaire (Pl. II, 5). Ces microorganismes sont disposés plus ou moins parallèlement à la surface du Cilié et n'émergent jamais des bouts distaux des Bactéries. Pourtant, leur fixation éventuelle à la pellicule du Cilié n'a pas été observée.

Les organismes en question rappellent les Spirochètes : ils ont un protoplaste cylindrique, de 0,25 à 0,30  $\mu$  de diamètre, entouré d'une enveloppe externe séparée du protoplaste par un espace périphérique bien défini (Pl. II, 4 et 5). Le protoplaste est recouvert d'une membrane plasmique unitaire (Pl. II, 4, flèche) ; il contient une matrice dense, granuleuse, avec des zones plus claires à contenu réticulaire, qui semblent correspondre aux éléments nucléaires (Pl. II, 4 et 5). Ces organismes ne contiennent pas d'inclusions de soufre. L'enveloppe externe (homologue de la paroi cellulaire) est une membrane unitaire avec du matériel amorphe adjacent. Y compris l'enveloppe externe, le diamètre de l'organisme varie de 0,4 à 0,5  $\mu$  (Pl. II, 5).

Pourtant, les organismes spirochétiformes de *K. latum* diffèrent des véritables Spirochètes par l'absence de fibres dans l'espace périphérique (entre le protoplaste et l'enveloppe externe).

### 3. Ingestion et digestion des Bactéries sulfureuses

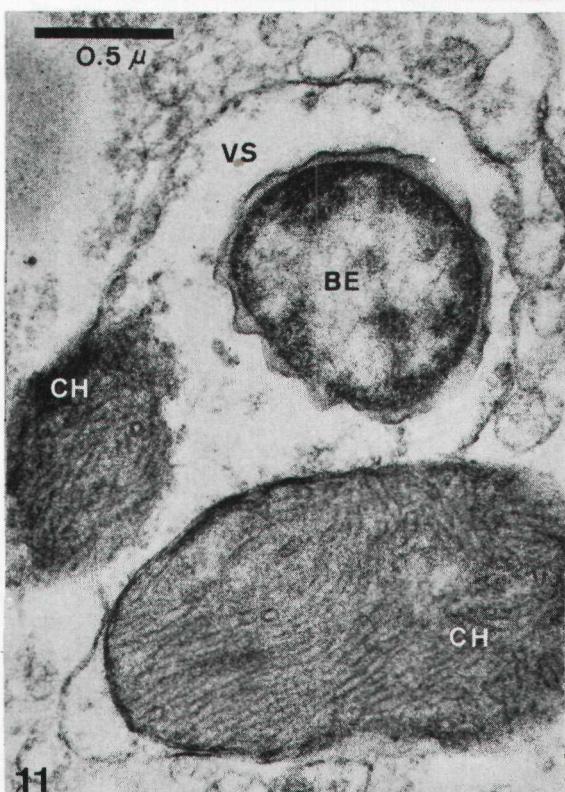
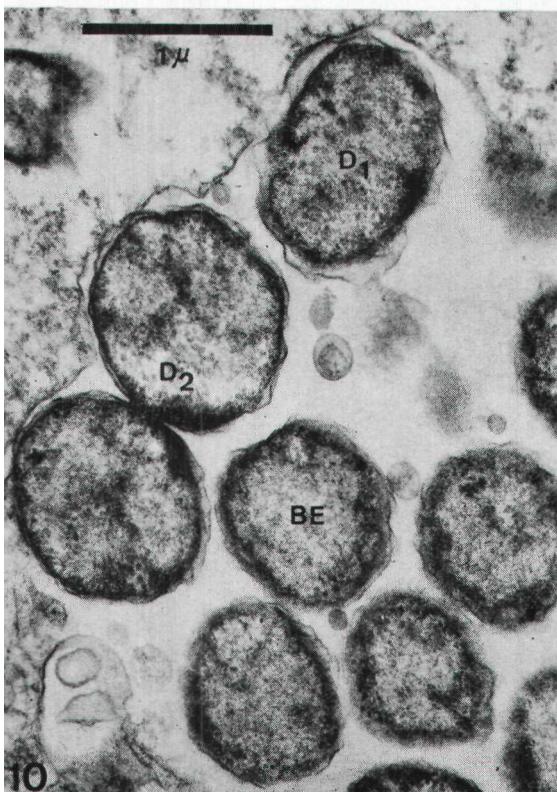
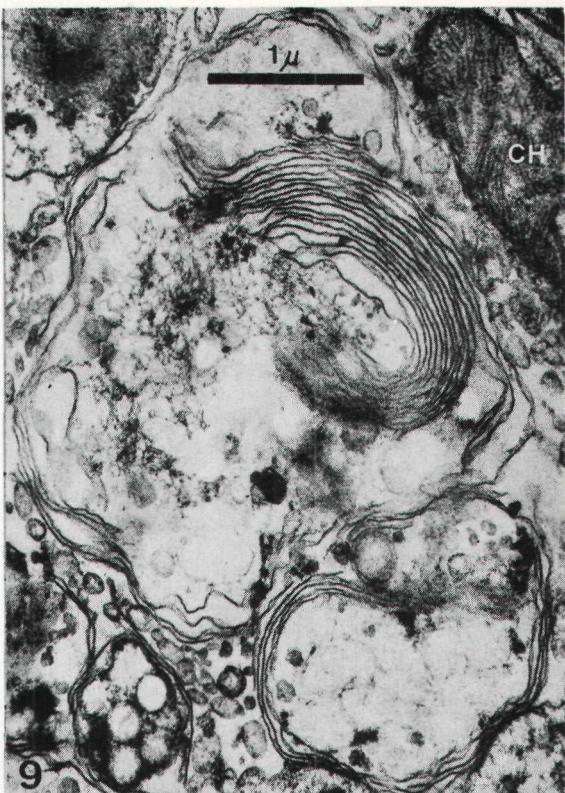
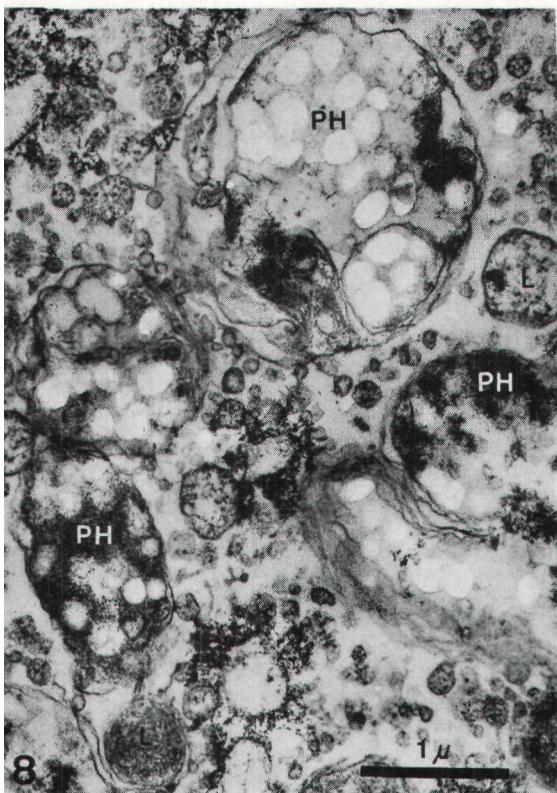
Comme chez *Kentrophoros fistulosum*, l'endoplasme de *K. latum* contient une quantité considérable de Bactéries sulfureuses dans ses vacuoles. Elles sont surtout abondantes dans le renflement médian du cytoplasme, où le corps du Cilié atteint son épaisseur maximale. Le cytoplasme contient à la fois des Bactéries sulfureuses apparemment intactes (Pl. I, 2) et des stades différents de leur destruction (Pl. III, 8 et 9). L'hôte semble donc être capable de s'emparer de ses Bactéries épizoïques puis de les digérer et cela est apparemment le mode principal et peut-être unique de sa nutrition. Leur cytoplasme ne contient jamais de vacuoles digestives avec un autre contenu, ce qui correspond bien à l'absence de bouche chez *K. latum*.

L'ingestion par l'hôte des Bactéries sulfureuses peut se produire, chez *K. latum*, à des endroits variés de la face non ciliée et sur la totalité de cette face. L'ingestion se produit donc sous forme de phagocytose non localisée. La face glabre est en général très irrégulière, avec de nombreux plis dont les parois sont également tapissées de Bactéries (Pl. I, 1). C'est surtout au fond de ces plis qu'apparaissent de profondes poches pelliculaires contenant des Bactéries isolées (Pl. II, 7, flèche). Une telle poche semble ensuite se refermer et se transformer en une vacuole digestive ou phagosome. Cette dernière est limitée par une membrane cytoplasmique du Cilié (Pl. I, 2, flèche). Le processus de digestion des Bactéries sulfureuses phagocytées est très analogue à celui qu'on rencontre chez *K. fistulosum* (Raikov, 1971). Les Bactéries conservent encore d'abord leur forme allongée, leur cytoplasme reste dense aux électrons et les contours des cavités, persistant après dissolution des globules de soufre, restent nets (Pl. I, 2). Des Bactéries en division sont également ingérées (Pl. I, 2). Plus tard, les Bactéries phagocytées s'arrondissent, leur contenu dense s'accumule en blocs, le reste de la Bactérie devenant transparent (Pl. II, 7 ; Pl. III, 8). Comme chez *K. fistulosum*, des vésicules lysosomiques apparaissent à proximité de tels phagosomes (Pl. II, 7 ; Pl. III, 8, L). Assez souvent, plusieurs phagosomes solitaires se réunissent en formant un phagosome composé, contenant les restes de plusieurs Bactéries. Vers la fin de la digestion, une grande quantité de membranes concentriques ou parallèles s'accumulent dans les phagosomes, tandis que le protoplasme des Bactéries devient à peine perceptible (Pl. III, 9). Les stades finaux de la digestion se trouvent presque exclusivement dans le renflement médian qui parcourt le long du Cilié.

### 4. Les Bactéries endozoïques

Chez *K. latum*, les Bactéries endozoïques ne sont que facultatives. On les trouve chez un tiers des individus environ, le pourcentage exact étant très variable d'une population à l'autre. Ce type de Bactéries n'existe pas chez *Kentrophoros fistulosum*.

Les Bactéries endozoïques de *K. latum* forment des « nids » importants (de 20 cellules au moins) dans des vacuoles « parasitopho-

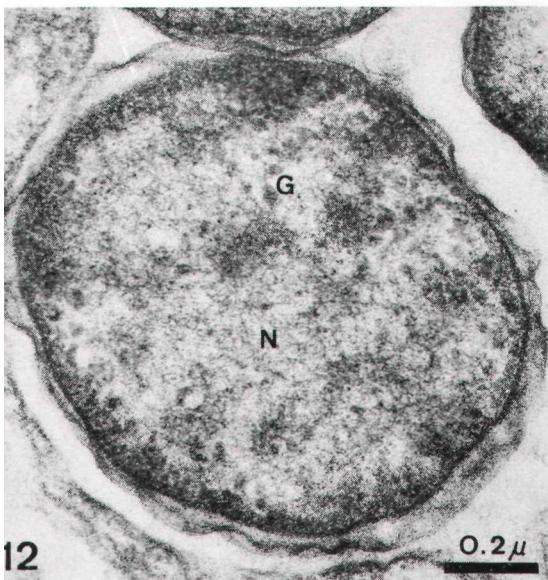


8. Phagosomes (PH) et vésicules lysosomiques (L) dans l'endoplasme du renflement médian cytoplasmique. Tétr oxyde d'osmium.

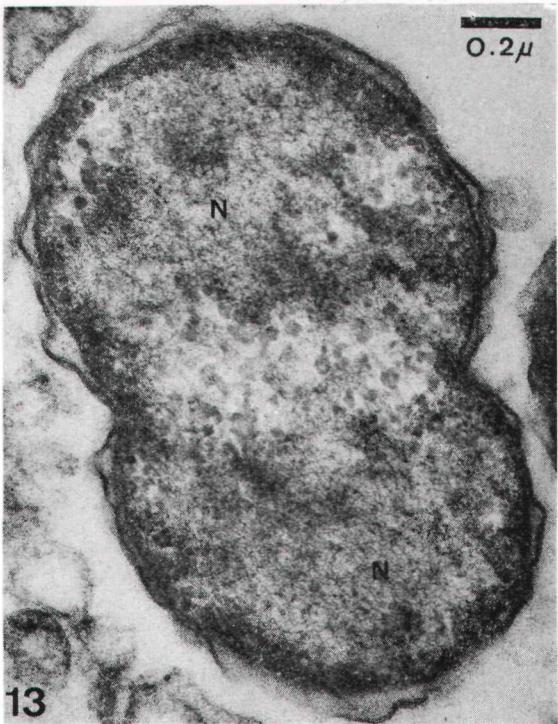
9. Phagosome, probablement composé, au stade avancé de digestion, avec des systèmes de membranes parallèles à l'intérieur. Tétr oxyde d'osmium.

10. Fragment d'une vacuole parasitophore contenant des Bactéries endozoïques (BE) dont l'une est au début de la division ( $D_1$ ) et une autre à la fin ( $D_2$ ). Tétr oxyde d'osmium.

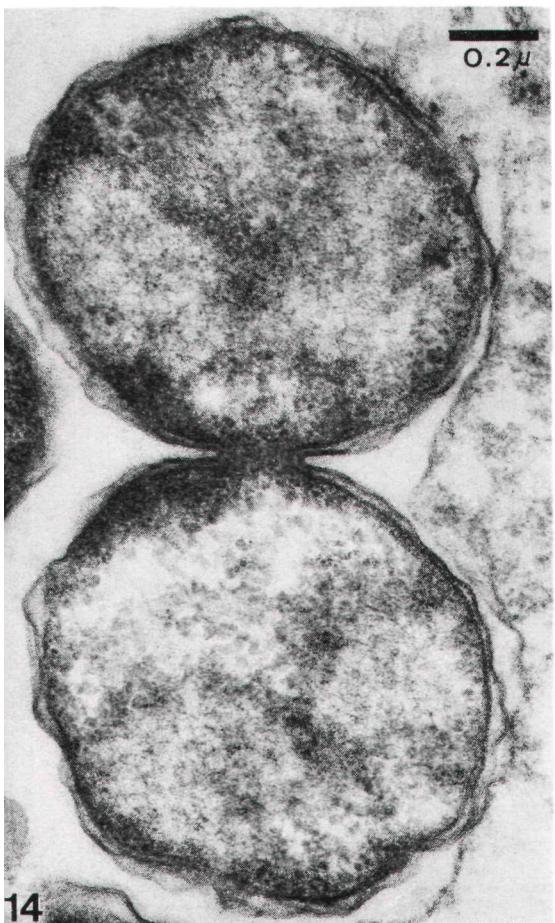
11. Bactérie endozoïque intacte (BE), isolée dans une vacuole « secondaire » (VS) qui voisine avec deux mitochondries (CH). Tétr oxyde d'osmium.



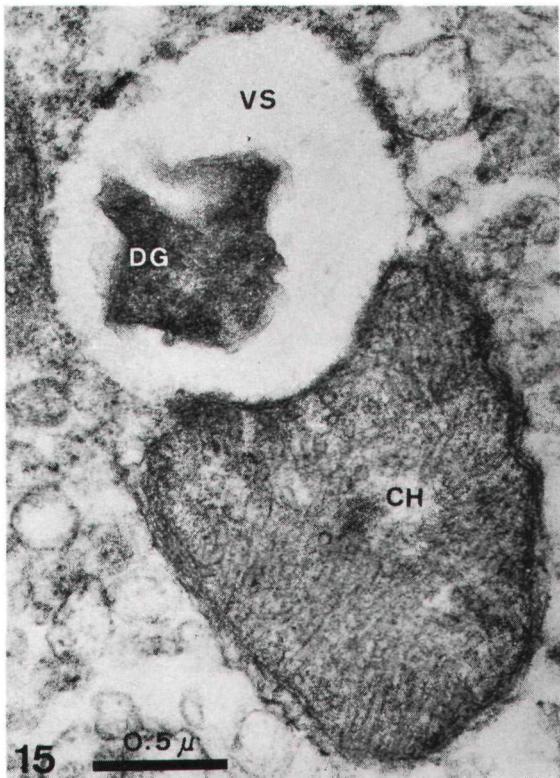
12



13



14



15

I.B. RAIKIV

PLANCHE IV

12. Bactérie endozolque montrant ses deux **membranes**, ses granules protoplas-miques (G) et son nucleoide (N). Tétroxyde d'osmium.
13. Stade moyen de division d'une Bactérie **endozolque**, aux nucleoïdes (N) déjà séparés. Tétroxyde d'osmium.
14. Stade final de la division d'une Bactérie endozolque. Tétroxyde d'osmium.
16. Bactérie endozoïque «dégonflée» (DG), située dans une vacuole «secondaire» (VS), associée à une mitochondrie (CH). Tétroxyde d'osmium.

res », séparées par une membrane du cytoplasme proprement dit (Pl. I, 1 ; Pl. III, 10). Elles sont sphériques ou presque, d'un diamètre de 1  $\mu$  environ, et contiennent un protoplasme réticulo-granuleux, sans cavités où des globules de soufre pourraient être logés. Cela les distingue nettement des Bactéries épizoïques sulfureuses en voie de digestion. Le protoplasme des endobiontes comprend des zones plus denses, granuleuses, généralement périphériques, et une zone plus claire, finement réticulaire, sensiblement centrale, qui est peut-être l'élément nucléaire de la Bactérie (Pl. IV, 12). En outre, le protoplasme contient des granules de 100 à 200 Å qui ressemblent aux ribosomes (Pl. IV, 12, G).

Les Bactéries endozoïques sont recouvertes de deux membranes unitaires concentriques (Pl. IV, 12), dont l'interne est accolée au protoplasme et représente sans doute la membrane plasmatische. La membrane externe est plissée et séparée de l'autre par un espace de 300 à 500 Å. Elle correspond à la membrane de la paroi cellulaire. Cet espace est plein d'une substance amorphe peu dense aux électrons. Ainsi, la structure corticale des endobiontes correspond à celle des Bactéries Gram-négatives et surtout à celle des Rickettsiae (Jadin et al., 1968 ; Higashi, 1968 ; Brinton et Burgsdorfer, 1971 ; Avakyan et al., 1972).

Parmi les Bactéries endozoïques, se trouvent toujours des cellules en division (Pl. III, 10 ; Pl. IV, 13 et 14). Les endobiontes se multiplient par simple bipartition, en s'étirant en haltère. Aux stades moyens de la division, la future constriction est marquée par une zone peu dense, avec de grands (200 Å) granules polymorphes différents des ribosomes (Pl. IV, 13). Les zones réticulaires (nucléoïdes) sont déjà séparées dans les deux futures cellules (Pl. IV, 13 et 14). Aux stades finaux de la division, les cellules sont reliées par un pont plasmatische étroit près duquel le protoplasme est particulièrement dense. Les deux membranes superficielles restent continues pendant toute la division (Pl. IV, 14).

Telles sont les Bactéries contenues dans les « nids » envacuolés : elles ne montrent donc aucun signe de dégénérescence. Mais, autour de ces « nids », on voit toujours de petites vacuoles « secondaires » ne contenant qu'une ou deux Bactéries qui paraissent souvent plus ou moins dégénérées (Pl. I, 1, DG). Il est à noter que ces vacuoles « secondaires » voisinent toujours avec une, deux ou même trois mitochondries (Pl. III, 11 ; Pl. IV, 15, CH).

Les petites vacuoles « secondaires » sont aussi limitées par une membrane (Pl. III, 11) qui s'applique étroitement et sur une grande surface à la membrane externe des mitochondries. Celles-ci ont une structure typique (voir Raikov, 1973), contiennent de nombreuses tubules et sont recouvertes d'une double membrane (Pl. III, 11 ; Pl. IV, 15). Quant aux Bactéries endozoïques isolées dans ces vacuoles, plusieurs d'entre elles ont un aspect presque normal (Pl. III, 11), mais la plupart sont « dégonflées », plissées, aux membranes superficielles à peine visibles et au protoplasme très dense, d'aspect coagulé (Pl. IV, 15, DG). On trouve toutes les étapes intermédiaires entre ces deux états extrêmes. Cela laisse supposer qu'il s'agit ici d'un processus réel de dégénérescence des Bactéries endozoïques, peut-être sous l'effet des

forces protectrices de l'hôte. On ignore ce que deviennent, finalement, les restes dégonflés des Bactéries endozoïques. Pourtant, il est à noter qu'il n'y a jamais d'accumulation de membranes concentriques dans les vacuoles « secondaires », ce qui les distingue nettement des vacuoles digestives contenant des Bactéries épizoïques phagocytées. Il n'y a pas, non plus, de structures lysosomienves au voisinage de ces vacuoles « secondaires ».

## DISCUSSION

Des associations entre Ciliés et Bactéries, qui varient du parasitisme à la symbiose, sont assez courantes (Kirby, 1941 ; De Puytorac, 1967 ; Ball, 1969). Les plus fréquentes et les plus variables sont les Bactéries endozoïques, qui peuvent être localisées aussi bien dans le cytoplasme que dans chacun des deux types de noyaux des Ciliés. Par contre, les Bactéries épizoïques sont plus fréquentes parmi les Flagellés, surtout parasites (Hollande et Valentin, 1969, etc.), que chez les Ciliés. Pourtant, les *Kentrophoros* restent un des meilleurs exemples d'une association permanente et obligatoire entre un Cilié et une Bactérie épizoïque.

### I. Bactéries épizoïques sulfureuses et mode de nutrition de *K. latum*.

L'association *Kentrophoros* - Bactéries sulfureuses se caractérise par un degré élevé d'adaptation mutuelle entre l'hôte et l'épibionte. Cela se traduit, chez l'hôte, par la perte de la bouche et par sa nutrition exclusive aux dépens de ses épibiontes et, chez les Bactéries épizoïques, par leur incapacité à pousser sur des substrats autres que *Kentrophoros*. Une analyse des relations Cilié - épibionte, faite pour *K. fistulosum* (Raikov, 1971), indique que ce type d'association peut être considéré comme symbiotique.

Les Bactéries épizoïques de *K. fistulosum* ressemblent à celles de *K. latum* bien qu'elles en diffèrent par des détails. Elles appartiennent sans doute à des espèces distinctes. La différence la plus nette entre les deux Bactéries est l'existence de deux membranes superficielles chez les épibiontes de *K. latum* et d'une seule chez ceux de *K. fistulosum*. Autrement dit, les Bactéries de *K. fistulosum* manquent de paroi cellulaire, ce qui les rapproche des formes L des Bactéries (Klieneberger-Nobel, 1960). Une différence aussi importante entre deux Bactéries qui, par ailleurs, se ressemblent beaucoup, m'a même fait penser à une erreur méthodique quelconque. Pourtant, ayant réétudié les Bactéries d'une autre population de *Kentrophoros fistulosum* (celle de Roscoff), avec deux fixations différentes (les mêmes qui ont été utilisées pour *K. latum*) je n'ai pu retrouver qu'une seule membrane superficielle, et cela avec la même netteté qui montre deux membranes chez les Bactéries épizoïques de *K. latum*. Donc, la différence se confirme, mais ses causes restent obscures. On peut seulement

supposer que l'absence de paroi cellulaire, chez les Bactéries de *K. fistulosum*, doit être liée, de quelque façon, à la forme particulière en tuyau du corps de l'hôte. En conséquence, les épibiontes qui tapissent l'intérieur du tuyau sont abrités de l'action immédiate des facteurs externes et surtout des facteurs mécaniques (contact des grains de sable, etc.). L'intérieur du tuyau, formé à la suite d'un enroulement du corps de *K. fistulosum*, est une sorte de « pépinière » pour les Bactéries. Cette adaptation n'existe pas chez *K. latum* dont les Bactéries recouvrent une surface externe du corps rubané et ne sont que faiblement protégées par les plis de cette surface. Ces considérations laissent supposer que les Bactéries sulfureuses épizoïques de la plupart des espèces de *Kentrophoros* auraient, comme celles de *K. latum*, une paroi cellulaire normale pour les Bactéries Gram-négatives et que cette paroi serait secondairement perdue seulement chez les épibiontes de *K. fistulosum*. Cela est d'autant plus probable que différentes Bactéries Gram-négatives montrent des membranes superficielles à peu près identiques à celles des épibiontes de *K. latum* : la membrane interne est plasmatique et la membrane externe, avec une couche amorphe peu prononcée, représente la paroi cellulaire chez *Escherichia coli* (Kellenberger et Ryter, 1958), *Bacteroides* (Bladen et Waters, 1963), *Acetobacter* (Claus et Roth, 1964) et beaucoup d'autres (Glauert et Thornley, 1969; Avakyan et al., 1972). Les Bactéries sulfureuses à vie libre, Gram-négatives, ont également deux membranes superficielles (Fauré-Fremiet et Rouiller, 1958 ; Shively et al., 1970, etc.).

Le mode d'attache des Bactéries sulfureuses à la pellicule du Cilié (*K. fistulosum*) a été considéré en détail et comparé avec la fixation des Bactéries sur d'autres Protistes, notamment sur les Flagellés termiticoles, dans un article précédent (Raikov, 1971). De ce point de vue, les Bactéries épizoïques de *K. latum* sont parfaitement analogues à celles de *K. fistulosum*. Elles sont aussi attachées à l'hôte d'une façon relativement fragile, bien que *K. latum* ne s'enroule pas en tuyau et que ses Bactéries soient moins protégées.

Les phénomènes de phagocytose et de digestion des Bactéries sulfureuses sont également presque identiques chez *K. latum* et *K. fistulosum*. Par conséquent, il faut répondre négativement à la question posée dans l'Introduction de savoir si un mode de nutrition aussi inhabituel pour les Ciliés que la phagocytose non localisée n'est pas une acquisition spécifique de *K. fistulosum* seulement. Il semble, en effet, que toutes les espèces de *Kentrophoros*, tubulaires ou rubanées, se nourrissent de cette façon.

Il semble que, chez *K. latum*, aussi bien que chez *K. fistulosum*, les Bactéries phagocytées dans les zones marginales du corps de l'hôte ne sont pas digérées sur place, mais transportées, par l'endoplasmie, vers le renflement médian cytoplasmique où l'on trouve les stades avancés de digestion. Ainsi, bien que la phagocytose ne soit pas localisée chez *K. latum*, la zone digestive y est bien délimitée. Il est à noter que le même renflement médian contient aussi les noyaux de *K. latum*.

La formation des membranes enroulées, d'allure plus ou moins « myélinique », est bien caractéristique pour les vacuoles digestives,

surtout chez les Protozoaires qui se nourrissent de Bactéries. Ces membranes ont été décrites, par exemple, chez *Colpoda maupasi* (Rudzinska et al., 1966).

D'autres Protozoaires peuvent également s'emparer de leurs propres Bactéries épizoïques. Ainsi, la cavité buccale du Cilié Périritiche *Trichodinopsis paradoxa* possède une poche spéciale qui contient des Bactéries. L'excès de ces dernières arrive dans le pharynx, puis dans les vacuoles digestives (Grassé et Mugard, 1963). Certes, il n'y a pas ici de phagocytose non localisée et les symbiontes ingérés ne constituent pas le composant principal de la nourriture de *Trichodinopsis*. La ressemblance avec *Kentrophoros* est plus nette chez le Flagellé *Joenia* (Hollande et Valentin, 1969) qui peut phagocytter ses Bactéries épizoïques par simple invagination de la surface. Mais, même ici, ce mode de nutrition n'est que supplémentaire. Il n'existe aucune analogie complète, parmi les Protozoaires, avec le cas spectaculaire de *Kentrophoros* qui, si l'on utilise une expression figurée, « porte son potager mobile sur son dos ».

## 2. Microorganismes spirochétiformes

Les organismes ressemblant aux Spirochètes et analogues à ceux qui sont associés à *K. latum* existent également chez *K. fistulosum* (Raikov, 1971). Pourtant, ils sont sensiblement plus minces chez cette dernière espèce (diamètre du protoplaste 0,12  $\mu$ , de l'enveloppe externe, 0,25  $\mu$ ) que chez *K. latum* (0,25  $\mu$  et 0,4-0,5  $\mu$ , respectivement). En outre, les organismes en question n'apparaissent, chez *K. fistulosum*, que facultativement.

Ces microorganismes diffèrent nettement des vrais Spirochètes par l'absence de fibres dans l'espace compris entre le protoplaste (cylindre cytoplasmique) et l'enveloppe externe. Cela est vrai aussi pour les organismes spirochétiformes épizoïques de *K. fistulosum*. Chez les vrais Spirochètes, ces fibres, du type flagelles bactériens, d'un diamètre de 140 à 170 Å, sont régulièrement présents en nombre plus ou moins important (Listgarten et al., 1963 ; Grimstone, 1963 ; Bladen et Hampp, 1964 ; Hollande et Gharagozlou, 1967 ; Avakyan et al., 1972). Comme elles sont considérées comme contractiles, la fonction de motilité (torsions) du Spirochète entier leur est également attribuée. Si cela est vrai, on peut supposer que les épibiontes spirochétiformes de *K. latum* et de *K. fistulosum* sont immobiles et que la perte, chez ces microorganismes, de l'appareil fibrillaire contractile, est liée à leur mode de vie phorétique.

Les relations physiologiques entre les organismes spirochétiformes et l'hôte restent obscures. Leur phagocytose n'a jamais été observée.

## 3. Microorganismes endozoïques

Des organismes bactériens endozoïques sont signalés ici pour la première fois chez un *Kentrophoros*. Le fait qu'ils se trouvent toujours dans des vacuoles, donc séparés par une membrane d'hyaloplasme de

l'hôte, les distingue de la plupart des Bactéries endozoïques connues chez divers Ciliés, localisées le plus souvent directement dans le cytoplasme (De Puytorac, 1967 ; Ball, 1969 ; Beale et al., 1969, etc.). Pourtant, une localisation dans des vacuoles endoplasmiques a aussi été notée pour certaines Bactéries endozoïques : celles de *Cycloposthium* (Bonhomme-Florentin, 1971), celles du Flagellé *Salpingoeca* (Laval, 1971), ainsi que pour les symbiontes lambda, sigma et gamma de *Paramecium aurelia* (Beale et al., 1969). Le cas le plus remarquable est celui de *Ophryodendron hollandae* (Suctorida), étudié par Batisse (1969). Des Bactéries ovales, comparables aux endobiontes de *K. latum*, se trouvent ici dans un système ramifié de canaux intracytoplasmiques. Ces « canaux à Bactéries » communiquent avec le milieu extérieur et sont recouverts d'une pellicule complexe caractéristique de la surface d'*Ophryodendron*. La question se pose de savoir s'il n'y a pas aussi de communications, chez *K. latum*, entre les « vacuoles à Bactéries » et les plis profonds de la face non-ciliée de l'hôte. S'il en était ainsi, les Bactéries endozoïques seraient, à proprement parler, une troisième espèce d'épibiontes, mais localisées dans des poches profondes de la pellicule. Pourtant, aucune communication directe entre une « vacuole à Bactéries » et le milieu externe n'a pu être observée chez *K. latum*.

Les Bactéries endozoïques de *K. latum* ne stockent pas le soufre. Il n'existe d'ailleurs qu'une seule description d'une Rhodobactérie sulfureuse endozoïque chez un Cilié — chez *Spirostomum teres* (Mangenot, 1934).

En ce qui concerne la position systématique des endobiontes, ils correspondent morphologiquement aux Bactéries Gram-négatives dont la paroi cellulaire est très peu développée et, en fait, réduite à la membrane qui double la membrane plasmatische. Ces organismes se rapprochent le plus étroitement des Rickettsiae. La ressemblance concerne le caractère des membranes superficielles, le type réticulo-granuleux du protoplasme, au nucléoïde peu délimité, la forme de la division « en haltère » de la cellule (constriction graduelle du protoplaste et non une formation d'un septum à croissance centripétale), enfin, la petite taille des cellules (Jadin et al., 1968 ; Higashi, 1968 ; Brinton et Burgsdorfer, 1971 ; Avakyan et al., 1972). Les organismes endozoïques de *K. latum* n'ont pas de capsule, ce qui les distingue des coques parfois rencontrées dans l'endoplasme de divers Protozoaires (Bonhomme-Florentin, 1971 ; Curry et Butler, 1972). Les microorganismes rickettsiomorphes sont d'ailleurs assez fréquents dans le cytoplasme et dans les noyaux des Protozoaires. Les Bactéries déjà mentionnées d'*Ophryodendron* et de *Salpingoeca*, ainsi que les Bactéries endoplasmiques de *Chilodonella* (Soltynska, 1971) appartiennent toutes à ce type structural. Les microorganismes arrondis, de taille inférieure à 1  $\mu$ , limités par deux membranes et se divisant « en haltère », parasites des macronoyaux d'*Isotricha* (Bretschneider et Van Vorstenbosch, 1964 ; Grain, 1966) et de *Neobursaridium* (Nilsson, 1969) semblent aussi être très proches des Rickettsiae. Les « corpuscules infectieux » du cytoplasme d'*Amoeba proteus*, sphériques, à double membrane et à division binaire, appartiennent sans doute au même type (Rabinovitch et Plaut, 1962 ; Wolstenholme et Plaut, 1964).

Les relations des endobiontes rickettsiomorphes de *K. latum* avec

leur hôte ne sont pas encore connues. La présence des endobiontes, chez une partie des individus seulement, indique que l'hôte peut se passer de ces organismes. D'autre part, ce ne sont pas des Bactéries accidentellement ingérées et digérées, car leur reproduction, dans l'endoplasme de l'hôte, est évidente. Donc, les endobiontes rickettsiomorphes peuvent être, soit des symbiontes facultatifs, soit des parasites plus ou moins pathogènes pour l'hôte. Ce dernier point de vue est renforcé par le fait que certains endobiontes peuvent être isolés par l'hôte dans de petites vacuoles « secondaires » où ils subissent une dégénérescence bien différente de la digestion (absence de lysomes et des systèmes multi-membranaires). Ce phénomène pourrait être considéré comme une réaction protectrice de l'hôte contre le parasite. Il est intéressant de noter que les mitochondries de l'hôte, toujours adjacentes aux vacuoles « secondaires » qui contiennent des endobiontes « dégonflés », jouent un certain rôle dans cette réaction. Une association comparable entre les vacuoles parasitophores et les mitochondries a été signalée chez le Flagellé *Salpingoeca* (Laval, 1971), mais là, il n'y a pas de dégénérescence des microorganismes rickettsiomorphes.

En conclusion, rappelons que « l'individu » de *Kentrophoros latum* représente, en réalité, l'association complexe d'un Protozoaire avec deux ou trois espèces de microorganismes. L'étude des relations entre les membres de cette association paraît être une tâche attachante pour le physiologiste ou le biochimiste. En même temps, il faut noter qu'aucun des trois microorganismes associés à *K. latum* (et des deux associés à *K. fistulosum*) n'a encore de désignation binominale ni de place déterminée dans le système des Bactéries. Cette situation pourrait changer si des bactériologistes compétents s'intéressaient aux microorganismes épizoïques et endozoïques de *Kentrophoros*. Bien que les premiers essais de culture *in vitro* des Bactéries sulfureuses de *Kentrophoros* aient échoué, il est souhaitable de les renouveler. Les résultats de telles recherches auront un intérêt certain, non seulement pour les protistologistes, mais aussi pour les microbiologistes.

### Summary

#### Ultrastructural study of epizoic and endozoic bacteria of *Kentrophoros latum* Raikov, a psammophilic holotrichous ciliate

Ribbon-shaped marine psammophilic ciliates *Kentrophoros latum*, taxonomically related to the Loxodidae but mouthless, carry numerous epizoic sulphur bacteria on their non-ciliated "dorsal" (morphologically left) body side. These obligatory epizoic bacteria are oblong, attached to the host in a brush-like manner, and covered with two unit membranes (plasma membrane and cell wall membrane). This distinguishes them from the epizoic bacteria of *K. fistulosum* which have only one surface membrane (the plasma membrane). Microorganisms resembling spirochaetes but devoid of fibres in the space between the protoplast and the outer envelope occur among the sulphur bacteria.

Epizoic bacteria are phagocytized by the ciliate at any place of its non-ciliated body side, but preferentially at the bottom of numerous pellicular folds. They get afterwards into food vacuoles, localized mainly in the median cytoplasmic swelling, and there become reduced to whirls of bacterial membranes. This appears to be the main mode of nutrition of *K. latum*.

The endoplasm of certain individuals of *K. latum* contains rounded bacteria, covered also with two membranes, which lie groupwise in cytoplasmic vacuoles and are clearly different from ingested epizoic bacteria. The endozoic bacteria contain no sulphur and reproduce by binary fission. Some of these bacteria,

which resemble the rickettsiae, become isolated by the host into smaller vacuoles where they gradually degenerate. These secondary vacuoles are always associated with mitochondria, unlike the food vacuoles containing epizoic sulphur bacteria. It is supposed that this degeneration is not a form of digestion.

### Резюме

Псаммофильные морские инфузории *Kentrophoros latum*, систематически близкие к семейству *Loxodidae*, но лишенные рта, имеют лентовидную форму и несут на своей бес雷斯ничной физиологически дорзальной (морфологически — левой) стороне тела многочисленных серобактерий, являющихся облигатными эпифионтами. Эти бактерии палочковидны, прикрепляются к инфузории одним из своих концов и расположены наподобие щетки. Они ограничены двумя элементарными мембранами — плазматической и мембранный клеточной стенки, что отличает их от бактерий-эпифионтов *Kentrophoros fistulosum*, снабженных только одной мембранный (плазматической). Между бактериями встречаются также спирохетообразные организмы, лишенные, однако, фибрилл в пространстве между протопластом и внешней оболочкой.

Бактерии-эпифионты фагоцитируются любым местом бес雷斯ничной поверхности тела инфузории-хозяина. Особенно часто фагоцитоз имеет место на дне многочисленных складок пелликулы. Далее бактерии попадают в пищеварительные вакуоли, локализованные преимущественно в срединном валике цитоплазмы. Там бактерии перевариваются с образованием закрученных систем мембран в пищеварительных вакуолях. Этот процесс, видимо, представляет собой главный способ питания *Kentrophoros latum*.

Эндоплазма некоторых особей *K. latum* содержит окружных бактерий, также окруженных двумя мембранами. Эти бактерии располагаются группами в крупных вакуолях цитоплазмы и резко отличаются от перевариваемых бактерий-эпифионтов. Бактерии-эндобионты не содержат серы; они размножаются делением надвое с гантелеобразным перетягиванием протопласта и напоминают риккетсий. Некоторые из этих бактерий могут изолироваться хозяином в отдельные мелкие вакуоли, где они претерпевают постепенную дегенерацию. Мелкие вакуоли всегда контактируют с митохондриями, что не имеет места в случае пищеварительных вакуолей, содержащих эктобиотических серобактерий. Предполагается, что процесс дегенерации бактерий-эндобионтов не является перевариванием.

### INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- AVAKYAN, A.A., KATZ, L.N. et PAVLOVA, I.B., 1972. — (Atlas d'anatomie des Bactéries pathogènes pour l'Homme et pour les animaux). « Médecine » Press, Moscou, 184 pp. (en russe).
- BALL, G.H., 1969. — Organisms living on and in Protozoa. In : Research in Protozoology (T.T. Chen, ed.), 3, pp. 565-718, Pergamon Press, Oxford and New York.
- BATISSE, A., 1969. — Acinétiens nouveaux ou mal connus des côtes méditerranéennes françaises, I. *Ophryodendron hollandi* n. sp. (Suctorida, Ophryodendri-dae). *Vie et Milieu* (Sér. A : Biologie Marine), 20, pp. 251-278.
- BEALE, C.H., JURAND, A. et PREER, J.R., 1969. — The classes of endosymbiont of *Paramecium aurelia*. *J. Cell Sci.*, 5, pp. 65-91.
- BLADEN, H.A. and HAMPP, E.G., 1964. — Ultrastructure of *Treponema microdentium* and *Borrelia vincentii*. *J. Bacteriol.*, 87, pp. 1180-1191.
- BLADEN, H.A. and WATERS, J.F., 1963. — Electron microscopic study of some strains of *Bacteroides*. *J. Bacteriol.*, 86, pp. 1339-1344.
- BONHOMME-FLORENTIN, A., 1971. — Etude des métabolismes azoté et glucidique des Ciliés oligotriches du genre *Cycloposthium* du caecum des Equidés. *Protistologica*, 7, pp. 411-419.
- BRETSCHNEIDER, L.N. und VAN VORSTENBOSCH, C., 1964. — Das Vorkommen von intraplasmatischen und intranuklearen Mikroorganismen in einigen Pansencilia-ten. *Kkl. Nederl. Akad. Wetensch. Proc.*, ser. C, 67, pp. 313-319.

- BRINTON, L.P. and BURGDORFER, W., 1971. — Fine structure of *Rickettsia canada* in tissues of *Dermacentor andersoni* Stiles. *J. Bacteriol.*, 105, pp. 1149-1159.
- CLAUS, G.W. and ROTH, L.E., 1964. — Fine structure of the Gram-negative bacterium *Acetobacter suboxydans*. *J. Cell. Biol.*, 20, pp. 217-233.
- CURRY, A. and BUTLER, R.D., 1972. — The occurrence of a bacterium in *Discophrya* sp. (Ciliata, Suctorida). *J. Protozool.*, 19, Suppl., p. 46.
- DRAGESCO, J., 1960. — Les Ciliés mésopsammiques littoraux (systématique, morphologie, écologie). *Trav. Stat. Biol. Roscoff*, n. sér., 12, pp. 1-356.
- FARQUHAR, M.G. and PALADE, G.E., 1965. — Cell junctions in amphibian skin. *J. Cell Biol.*, 26, pp. 263-291.
- FAURÉ-FREMIET, E., 1950a. — Ecologie des Ciliés psammophiles littoraux. *Bull. Biol. France-Belgique*, 84, pp. 35-75.
- FAURÉ-FREMIET, E., 1950b. — Caulobactéries épizoïques associées aux *Centrophorella* (Ciliés Holotriches). *Bull. Soc. zool. France*, 75, pp. 134-137.
- FAURÉ-FREMIET, E., 1951. — The marine sand dwelling Ciliates of Cape Cod. *Biol. Bull.*, 100, pp. 59-70.
- FAURÉ-FREMIET, E., CARASSO, N. et FAVARD, P., 1964. — Etude de diverses associations de microorganismes symbiontes des Ciliés. *J. Microsc.*, 3, pp. 32-33.
- FAURÉ-FREMIET, E. et ROUILLER, C., 1958. — Etude au microscope électronique d'une Bactérie sulfureuse, *Thiovulum majus* Hinze. *Exper. Cell Res.*, 14, pp. 29-46.
- GLAURET, A.M. and THORNLEY, M.J., 1969. — The topography of the bacterial cell wall. *Ann. Rev. Microbiol.*, 23, pp. 159-198.
- GRAIN, J., 1966. — Etude cytologique de quelques Ciliés Holotriches endocommensaux des Ruminants et des Equidés. II, III. *Protistologica*, 2, 2, pp. 5-52.
- GRASSÉ, P.-P. et MUGARD, H., 1963. — La poche à Bactéries et son rôle dans l'alimentation du Cilié *Trichodinopsis paradoxa*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 256, pp. 5252-5256.
- GRIMSTONE, A.V., 1963. — A note on the fine structure of a spirochaete. *Quart. J. Microsc. Sci.*, 104, pp. 145-153.
- HIGASHI, N., 1968. — Recent advances in electron microscope studies on ultrastructure of rickettsiae. *Zbl. Bakteriol. Parasitenk.*, I, Orig., 206 pp. 277-283.
- HOLLANDE, A. et GHARAGOZLOU, I., 1967. — Morphologie infrastructurale de *Pillotina calotermidis* nov. gen., nov. sp., Spirochaetale de l'intestin de *Calotermes praecox*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 265, sér. D, pp. 1309-1312.
- HOLLANDE, A. et VALENTIN, J., 1969. — Appareil de Golgi, pinocytose, lysosomes, mitochondries, Bactéries symbiotiques, atractophores et pleuromitose chez les Hypermastigines du genre *Joenia*. Affinités entre Joeniides et Trichomonadines. *Protistologica*, 5, pp. 39-86.
- JADIN, J., CREEMERS, J., JADIN, J.-M. and GIROUD, P., 1968. — Ultrastructure of *Rickettsia prowazekii*. *Acta Virol.*, 12, pp. 7-10.
- KAHL, A., 1933. — Ciliata libera et ectocommensalia. In : *Tierwelt der Nord- und Ostsee*, II, C, 3, pp. 29-146.
- KAHL, A., 1935. — Wimpertiere oder Ciliata. Teil IV, Nachtrag. In : *Die Tierwelt Deutschlands*, 30, pp. 806-842.
- KELLENBRGER, E. and RYTER, A., 1958. — Cell wall and cytoplasmic membranes of *Escherichia coli*. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4, pp. 323-326.
- KIRBY, H., 1941. — Organisms living on and in Protozoa. In : *Protozoa in Biological Research* (G.N. Calkins and F.M. Summers, ed.), Columbia Univ. Press, New York, pp. 1009-1113.
- KLIENECKER-NOBEL, E., 1960. — L-forms of Bacteria. In : *The Bacteria* (I.C. Gunsalus and R.Y. Stanier, eds.), Academic Press, New York and London, Vol. 1, pp. 361-386.
- LAVAL, M., 1971. — Ultrastructure et mode de nutrition du Choanoflagellé *Salpingoeca pelagica*, sp. nov. Comparaison avec les choanocytes des Spongiaires. *Protistologica*, 7, pp. 325-336.
- LISTGARTEN, M.A., LOSCHE, W.J. et SOCRANSKY, S.S., 1963. — Morphology of *Treponema microdentum* as revealed by electron microscopy of ultra-thin sections. *J. Bacteriol.*, 85, pp. 932-939.
- MANGENOT, G., 1934. — Sur l'association d'une Rhodobactérie et d'un Infusoire. *C.R. Soc. Biol. Paris*, 117, pp. 843-847.
- NILSSON, J.R., 1969. — The fine structure of *Neobursaridium gigas* (Balech). *C.R. Lab. Carlsberg*, 37, pp. 49-76.
- PUYTGORAC, P. DE, 1967. — Bactéries et Ciliés. *Le Botaniste*, sér. L, pp. 351-358.
- RABINOVITCH, M. and PLAUT, W., 1962. — Cytoplasmic DNA synthesis in *Amoeba proteus*. II. On the behavior and possible nature of the DNA containing elements. *J. Cell Biol.*, 15, pp. 535-540.

- RAIKOV, I.B., 1962. — Les Ciliés mésopsammiques du littoral de la Mer Blanche (U.R.S.S.), avec une description de quelques espèces nouvelles ou peu connues. *Cah. Biol. Mar.*, 3, pp. 325-361.
- RAIKOV, I.B., 1963. — (Les Ciliés mésopsammiques du Golfe d'Ussuri, Mer du Japon). *Zool. Zhurnal* (Moscou), 42, pp. 1753-1767 (en russe).
- RAIKOV, I.B., 1971. — Bactéries épizootiques et mode de nutrition du Cilié psammophile *Kentrophoros fistulosum* Fauré-Fremiet (étude au microscope électronique). *Protistologica*, 7, pp. 365-378.
- RAIKOV, I.B., 1971-72. — Ultrastructures cytoplasmiques de *Kentrophoros latum* Raikov, Cilié Holotrichie psammophile : organisation corticale, endoplasme et trichocystes. *Ann. Stat. Biol. Besse-en-Chandesse*, Univ. Clermont-Ferrand, 6-7, pp. 21-53.
- RAIKOV, I.B., 1972. — Ultrastructure des « capsules nucléaires » (« noyaux composés ») du Cilié psammophile *Kentrophoros latum* Raikov, 1962. *Protistologica*, 8, pp. 299-313.
- RAIKOV, I.B. and KOVALEVA, V.G., 1968. — Complements to the fauna of psammobiotic ciliates of the Japan sea (Posjet Gulf). *Acta Protozool.*, 6, pp. 309-333.
- RUDZINSKA, M.A., JACKSON, G.J. and TUFFRAU, M., 1966. — The fine structure of *Colpoda maupasi* with special emphasis on food vacuoles. *J. Protozool.*, 13, pp. 440-459.
- SAUERBREY, E., 1928. — Beobachtungen über einige neue oder wenig bekannte marine Ciliaten. *Arch. Protistenk.*, 62, pp. 355-407.
- SHIVELY, J.M., DECKER, G.L. and GREENAWALT, J.W., 1970. — Comparative ultrastructure of the Thiobacilli. *J. Bacteriol.*, 101, pp. 618-627.
- SOLTYNSKA, M.S., 1971. — Morphology and fine structure of *Chilodonella cucullulus* (O.F.M.). Cortex and cytopharyngeal apparatus. *Acta Protozool.*, 9, pp. 49-82.
- WOLSTENHOLME, D.R. and PLAUT, W., 1964. — Cytoplasmic DNA synthesis in *Amoeba proteus*. III. Further studies on the nature of the DNA-containing elements. *J. Cell Biol.*, 22, pp. 505-513.