Université Cheikh Anta Diop de Dakar



Faculté des Sciences et Techniques

Département de Biologie Animale

Laboratoire de biologie évolutive, écologie et gestion des écosystèmes

Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences

Présentée par

Mme Aïssatou Bâ Mbodji

D

MORPHO-ANATOMIE, BIOECOLOGIE ET ULTRASTRUCTURE CHEZ LES CESTODES CYCLOPHYLLIDEA ET BOTHRIOCEPHALIDEA

Soutenue le 18 Décembre 2013 devant la commission d'examen

Président :	M. Ousmane Faye	Professeur Titulaire	FST/UCAD
Rapporteurs :	M. Bernard Marchand	Professeur Titulaire	FST/UCPP
	M. Jordi Miquel	Professeur Titulaire	FF/UB
Examinateurs :	M. Ben Sikina Toguebaye	Professeur Titulaire	FST/UCAD
	M. Mady Ndiaye	Professeur Titulaire	FST/UCAD
Directeur de thèse :	M. Cheikh Tidiane Bâ	Professeur Titulaire	FST/UCAD

DEDICACES

Je dédie ce travail à mes chers parents dont le soutien constant ne m'a jamais fait défaut.

Cette dédicace s'adresse également à mon époux et à mes enfants qui me sont très chers.

Avant-propos

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Biologie évolutive, écologie et gestion des écosystèmes du département de biologie animale et dans le service d'études et de recherches en microscopie électronique de l'université de corse (France) sous la direction du professeur Cheikh Tidiane Bâ. Cette œuvre n'aurait jamais pu arriver à terme, sans l'aide et la collaboration de nombreuses personnes qui ont contribué largement à sa réalisation.

Je tiens tout d'abord à remercier mon encadreur, le Professeur Cheikh Tidiane Bâ pour avoir guidé mes premiers pas dans la recherche. Il a beaucoup contribué à ma formation. Sa rigueur scientifique, son soutien et ses conseils ont été d'un très important apport dans la réalisation de ce travail. Je ne trouverai jamais les mots nécessaires pour vous remercier. Je vous réitère toute ma profonde gratitude.

Je voudrais témoigner en outre, toute ma reconnaissance au Professeur Bernard Marchand, rapporteur de cette thèse, pour son soutien constant et sa grande générosité. Vous avez toujours répondu avec bienveillance à toutes nos sollicitations. Merci d'avoir fait le déplacement depuis la France pour participer à mon jury.

J'adresse mes vifs remerciements au Professeur Ousmane Faye pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse malgré ses multiples charges. J'apprécie sa disponibilité et sa gentillesse.

Je remercie aussi très sincèrement, le Professeur Jordi Miquel pour avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse et d'avoir fait le déplacement depuis Barcelone pour juger mon modeste travail.

Je tiens à remercier le professeur Ben Sikina Toguebaye qui nous a toujours fait l'honneur depuis le DEA de participer à nos jurys en dépit de ses multiples charges. Ses conseils et sa grande culture scientifique nous ont toujours été utiles. Merci encore une fois d'avoir bien voulu nous faire cet honneur.

Je voudrais également remercier le Professeur Mady Ndiaye. Il a répondu avec bienveillance à toutes mes sollicitations. Malgré ses nombreuses occupations, il a accepté de nous faire l'honneur de siéger dans mon jury.

Mes remerciements s'adressent également

- A Monsieur Yann QUILICHINI du service d'étude et de recherches en microscopie électronique de l'Université de Corse pour les nombreuses séances d'observation en microscopie électronique qu'il a réalisé pour moi, contribuant ainsi à la réalisation de cette thèse.
- A Monsieur Papa Ibnou Ndiaye maître-assistant au département de biologie animale qui n'a ménagé aucun effort pour la bonne marche de mon travail.
- A tous les collègues du département de biologie animale plus particulièrement à ceux de la physiologie animale qui m'ont accueillie et guidée pour la bonne marche de mes enseignements.
- A toutes tous les collègues du labo : Abdoulaye Bakhoum (Merci pour votre assistance dans la réalisation de mes planches), Madame Aminata Samb, Adji Mama Marigo, Ayatoulaye Dione, Mbagnick Diagne, Abdoulaye Bâ, Diaga sène et Malle Dome pour leur franche collaboration.
 - A tout le personnel technique et administratif du département de biologie animale, en particulier, MM Coly, Diouf, Mbengue, Ngom, Sarr et Mesdames Senghor et Mbengue pour leur précieuse collaboration
- A toute ma famille, mes parents, mes frères et sœurs pour leur soutien sans faille.
- A tous ceux ou celles qui, de près ou de loin, m'ont soutenu tout au long de ce travail.

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	4
RESUME	5
INTRODUCTION GENERALE	6
CHAPITRE I	7
ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR LA SYSTEMATIQUE ET LA	_
BIOECOLOGIE DES CESTODES ETUDIES	7
I. INTRODUCTION	7
II. MATERIEL	
Les Cyclophyllidea	9
II. 1. Anomotaenia quelea	9
II. 2. Echinocotyle dolosa	11
II. 3. Paroniella reynoldsae	12
II. 4. Raillietina (Raillietina) baeri	14
II. 5. Sudarikovina taterae	16
II. 6. Taeniarhynchus saginatus (syn. Taenia saginata)	18
Les Bothriocephalidea	20
II. 7. Bothriocephalus claviceps	20
II. 8. Bothriocotyle sp	22
II. 9. Glossobothrium nipponicum	23
II. 10. Glossobothrium sp. 1	24
II. 11. Glossobothrium sp. 2	25
CHAPITRE II	
ETUDE MORPHO-ANATOMIOUE DE OUELOUES CYCLOPHYLLIDEA E	Т
BOTHRIOCEPHALIDEA	
I. INTRODUCTION	
II. MATERIEL ET METHODES	
II. 1. Matériel	
II.2. Méthodes	
II.2.1. Microscopie photonique	
II.2.2. Microscopie électronique à balayage	29
	31
III. RESULTATS III 1 Anomotaonia avelea	
III 2 Echinocatule dalosa	 22
III <i>a Douth</i> outyte wologu	

III.3 Raillietina (Raillietina) baeri	
III. 4. Sudarikovina taterae	
III.5. Botriocotyle sp.	
III.6. Glossobothrium nipponicum	
III.7. Glossobothrium sp. 1	
III.8. Glossobothrium sp. 2	
IV. DISCUSSION	
V. CONCLUSION	
CHAPITRE III	
ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA SPERMIOGE	NESE ET/OU DU
SPERMATOZOIDE DE QUELQUES CYCLOPHYLLIE	DEA ET
BOTHRIOCEPHALIDEA	60
I. INTRODUCTION	
II. MATERIEL ET METHODES	
II.1. MATERIEL	
II.2. METHODE	
III. RESULTATS	
IV. DISCUSSION	
IV.1. Spermiogenèse	
IV.2. Spermatozoïde	
V. CONCLUSION	
CONCLUSION GENERALE ET PERPECTIVES	
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXE : LISTE DES ARTICLES	

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I : LIEUX DE RECOLTE ET HOTES DES CESTODES ETUDIES.	8
TABLEAU II: HOTES D'ECHINOCOTYLE DOLOSA	11
TABLEAU III : LIEUX DE RECOLTE ET HOTES DES CESTODES ETUDIES.	28
TABLEAU IV : HOTES ET LOCALITES DES CESTODES DU GENRE BOTHRIOCOTYLE	56
TABLEAU V : HOTES ET LOCALITES DES CESTODES DU GENRE GLOSSOBOTHRIUM	58
TABLEAU VI : CESTODES CYCLOPHYLLIDEA DONT L'ULTRASTRUCTURE DE LA SPERMIOGENESE ET/OU DU	
SPERMATOZOÏDE EST CONNUE	61
TABLEAU VII : CESTODES BOTHRIOCEPHALIDAE DONT L'ULTRASTRUCTURE DE LA SPERMIOGENESE ET/OU DU	
SPERMATOZOÏDE EST CONNUE	65
TABLEAU VIII : POSITION SYSTEMATIQUE ET HOTES DES CESTODES QUE NOUS AVONS EXAMINE AU MICROSCOP	Έ
ELECTRONIQUE A TRANSMISSION.	66
TABLEAU IX : VARIATION DU NOMBRE CORPS EN CRETE DANS LE SPERMATOZOÏDE DES CESTODES	78
TABLEAU X : CARACTERES ULTRASTRUCTURAUX DU SPERMATOZOÏDE DES CYCLOPHYLLIDEA.	84
TABLEAU XI : CARACTERES ULTRASTRUCTURAUX DU SPERMATOZOÏDE DES BOTHRIOCEPHALIDEA	88

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : QUELEA QUELEA	. 9
FIGURE 2: CYCLE DE DEVELOPPEMENT THEORIQUE D'ANOMOTAENIA QUELEA	10
FIGURE 3 : CORVUS ALBUS	12
FIGURE 4 : MASTOMYS ERYTHROLEUCUS	14
FIGURE 5: CYCLE DE DEVELOPPEMENT THEORIQUE DE RAILLIETINA (RAILLIETINA) BAERI	15
FIGURE 6 : GERBILLUSCUS GAMBIANUS	16
FIGURE 7: CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE SUDARIKOVINA TATERAE	17
FIGURE 8: CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE TAENIARHYNCHUS SAGINATUS	19
FIGURE 9 : ANGUILLA ANGUILLA	20
FIGURE 10: CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE BOTHRIOCEPHALUS CLAVICEPS	21
FIGURE 11 : SCHEDOPHILUS VELAINI	22
FIGURE 12 : MORPHOLOGIE D'ANOMOTAENIA QUELEA.	32
FIGURE 13 : MORPHOLOGIE D'ECHINOCOTYLE DOLOSA	34
FIGURE 14 : ASPECT DU CIRRE, DE L'ATRIUM GENITAL ET DU SAC ACCESSOIRE D'ECHINOCOTYLE DOLOSA AU	
MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	35
FIGURE 15 : MORPHOLOGIE DE RAILLIETINA RAILLIETINA BAERI.	37
FIGURE 16 : MORPHOLOGIE DE SUDARIKOVINA TATERA	39
FIGURE 17 : MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE DU SCOLEX DE BOTHRIOCOTYLE SP	41
FIGURE 18 : MORPHOLOGIE DE <i>BOTHRIOCOTYLE</i> SP	42
FIGURE 19 : STROBILE, CIRRE ET OEUF DE BOTHRIOCOTYLE SP. AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE 4	43
FIGURE 20 : SCOLEX DE GLOSSOBOTHRIUM NIPPONICUM AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	45
FIGURE 21 : BOTHRIDIE, STROBILE ET CIRRE DE GLOSSOBOTHRIUM NIPPONICUM AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE	A
BALAYAGE	46
FIGURE 22 : OEUF DE <i>GLOSSOBOTHRIUM NIPPONICUM</i> AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	47
FIGURE 23 : MORPHOLOGIE DE <i>GLOSSOBOTHRIUM</i> SP. 1	49
FIGURE 24 : GLOSSOBOTHRIUM SP. 1 AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	50
FIGURE 25 : SCOLEX DE <i>GLOSSOBOTHRIUM</i> SP. 2 AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	52
FIGURE 26 : BOTHRIDIE ET STROBILE DE <i>GLOSSOBOTHRIUM</i> SP. 2 AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	53
FIGURE 27 : ASPECT DU CIRRE DE GLOSSOBOTHRIUM SP. 2 AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	54
FIGURE 28 : OEUF DE <i>GLOSSOBOTHRIUM</i> SP. 2 AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE	55
FIGURE 29 : DIFFERENTS TYPES DE SPERMIOGENESE CHEZ LES CESTODES	70
FIGURE 30 : SCHEMA RECAPITULATIF DES DIFFERENTS ELEMENTS CONSTITUTIFS DU SPERMATOZOÏDE DES	
CESTODES	76
FIGURE 31 : TYPES DE SPERMATOZOÏDES CHEZ LES CESTODES	77

RESUME

Le présent travail porte sur onze espèces de cestodes dont Six Cyclophyllidea (Anomotaenia quelea, Echinocotyle dolosa, Paroniella reynoldsae, Raillietina (R) baeri, Sudarikovina taterae et Taeniarhynchus saginatus) et cinq Bothriocephalidea (Bothriocephalus claviceps, Bothriocotyle sp., Glossobothrium nipponicum, Glossobothrium sp.1 et Glossobothrium sp.2). Ces helminthes ont été récoltés chez sept espèces de vertébrés : deux poissons (Anguilla anguilla et Schedophilus velaini), deux oiseaux (Corvus albus et Quelea quelea) et trois mammifères (Mastomys erythroleucus, Gerbilluscus gambianus et Homo sapiens). L'étude morpho-anatomique de quatre Bothriocephalidea nous a permis de signaler la présence de trois nouvelles espèces : (Bothriocotyle velaini, Glossobothrium velaini et Glossobothrium senegalensis) et de nouveaux caractères de diagnose. L'étude de la répartion géographique des hôtes nous a permis de mettre en évidence l'existence de nouveaux hôtes (Corvus albus et Schedophilus velaini) et de nouvelles localités (Sénégal, Afrique).

L'étude utrastructurale de la spermiogenèse de *Sudarikovina taterae* a permis de révéler pour la première fois la présence chez les cestodes de deux centrioles à caractères ultrastructuraux distinctifs et parallèles entre eux.

L'étude ultrastructurale du spermatozoïde de six Cyclophyllidea (*Anomotaenia quelea*, *Echinocotyle dolosa*, *Paroniella reynoldsae*, *Raillietina* (*R*) *baeri*, *Sudarikovina taterae* et *Taeniarhynchus saginatus*) et trois Bothriocephalidea (*Bothriocephalus claviceps*, *Bothriocotyle* sp., *Glossobothrium* sp.) nous a permis de mettre en évidence pour la première fois l'existence chez les cestodes de sept corps en crête, chez les Bothriocephalidea d'un cône apical, de spermatozoïdes avec uniquement des microtubules corticaux transparents aux électrons ou avec coexistence de microtubules corticaux transparents aux électrons et chez les Cyclophyllidea de cônes apicaux de longueur et d'aspect différents, d'un disque apical, d'un noyau à sections polylobées, d'un noyau dans l'extrémité postérieure du spermatozoïde et de microtubules corticaux spiralés uniquement à leur extrémité antérieure. De plus la présence de deux corps en crête est signalée pour la première fois dans la famille des Dilepididae.

Mots-clés : Morpho-anatomie, Bioécologie, Ultrastructure, Spermatozoïde, Cyclophyllidea, Bothriocephalidea, cône apical, corps en crête.

INTRODUCTION GENERALE

Les cestodes sont des vers plats, d'aspect rubané, dépourvus de tube digestif et parasites à tous les stades de leur développement. Les adultes vivent dans le tube digestif et les canaux biliaires des vertébrés à l'exception des Agnathes. Par contre, les larves (Cysticercoïdes, Cysticerques, Procercoïdes, Plérocercoïdes, Cénures et Hydatides) se développent dans la cavité générale et dans divers organes des hôtes intermédiaires qui peuvent être des vertébrés ou des invertébrés (Euzéby, 1966 ; Schmidt, 1986 ; Khalil *et al.*, 1994). Leur corps comprend une tête ou scolex, suivi ou non d'un cou puis d'un strobile, constitué d'une succession d'anneaux ou proglottis. Le scolex est l'organe de fixation sur l'hôte. Sa taille et sa forme varient suivant les espèces. Le cou, plus ou moins long et non segmenté, est la zone de prolifération des proglottis. Le strobile est composé de nombreux proglottis immatures, matures et gravides situés respectivement dans ses portions antérieure, moyenne et postérieure. Il est suivant les cas, de type craspédote (le bord antérieur de chaque proglottis s'emboîte dans le bord postérieur du proglottis qui le précède) ou de type acraspédote (deux proglottis successifs ont la même largeur).

L'appareil génital mâle comprend des testicules en nombre variable, un canal déférent dilaté ou non en deux vésicules séminales interne et externe et un organe copulateur appelé cirre. Ce dernier est ou non couvert d'épines ou de microtriches et présente ou non un stylet copulateur.

L'appareil génital femelle comprend un ovaire, un vagin parfois dilaté dans sa partie proximale en un réceptacle séminal, des glandes vitellogènes folliculaires ou compactes, un ootype associé ou non à une glande de Mehlis et un utérus. Ce dernier est sacciforme ou fragmenté soit en organes parutérins, soit en capsules ovifères contenant un ou plusieurs œufs.

Actuellement, on connaît environ 5000 espèces de cestodes réparties dans 600 genres, 63 familles et 17 ordres (Yamaguti, 1959; Schmidt, 1986; Khalil *et al.*, 1994; Bâ, 1994; Kuchta *et al.*, 2008a). Le présent travail porte sur l'ordre des Cyclophyllidea et celui des Bothriocephalidea. Il est subdivisé en trois parties. La première partie est consacrée à l'état actuel des connaissances sur la sytématique et la bioécologie des cestodes étudiés, la deuxième partie porte sur l'étude morpho-anatomique de quelques cestodes Cyclophyllidea et Bothriocephalidea et enfin la troisième partie traite de l'ultrastructure de la spermiogenèse et/ou du spermatozoïde de neuf de ces espèces.

CHAPITRE I : ETAT ACTUEL DES Connaissances sur la systematique et la Bioecologie des cestodes etudies

CHAPITRE I

ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR LA SYSTEMATIQUE ET LA BIOECOLOGIE DES CESTODES ETUDIES

I. Introduction

Au cours de notre travail, nous avons pu récolter chez sept espèces de vertébres six Cyclophyllidea (deux Davaineidae, un Anoplocephalidae, un Dilepididae, un Hymenolepididae et un Taeniidae) et cinq Bothriocephalidea (un Bothriocephalidae, un Echinophallidae et trois Triaenophoridae) (Tableau I).

L'ordre des Cyclophyllidea compte à lui seul plus de la moitié des espèces de cestodes connus soit environ 3000 espèces appartenant à 18 familles dont les Anoplocephalidae, les Davaineidae, les Dilepididae, les Hymenolepididae et les Taeniidae. Les cestodes de cet ordre se rencontrent chez tous les vertébrés.

Leur cycle de développement comprend un ou deux hôtes intermédiaires dans lesquels évoluent les stades larvaires appelés cysticercoïde si l'hôte intermédiaire est un invertébré ou cysticerque si l'hôte intermédiaire est un vertébré (Joyeux et Baer, 1936).

Les Bothriocephalidea constituent un ordre récemment créé avec l'éclatement de l'ordre des «Pseudophyllidea» en deux : les Bothriocephalidea et les Diphyllobothriidea (Kuchta *et al.*, 2008a). Ces deux ordres seraient différents aux plans moléculaire, morphologique et écologique (Brabec *et al.*, 2006, Kuchta, 2007, Kuchta & Scholz, 2007 et Kuchta *et al.*, 2008a). L'ordre des Bothriocephalidea comprend actuellement 46 genres répartis dans quatre familles (Bothriocephalidae, Echinophallidae, Triaenophoridae et Philobythiidae). Ils sont essentiellement parasites de poissons Téléostéens, quelques espèces seulement sont parasites de tortues marines.

Leur cycle de développement comprend un ou deux hôtes intermédiaires chez lesquels évoluent les stades larvaires que sont la larve procercoïde et la larve plérocercoïde. Chez certaines espèces, l'embryophore de la larve hexacanthe est entouré d'une membrane ciliée permettant ainsi son déplacement dans l'eau à la rencontre de l'hôte intermédiaire.

II. Matériel

Nos spécimens ont été récoltés dans divers hôtes (Poissons, Rongeurs, Oiseaux et Homme), en provenance de différentes localités du Sénégal. Ils appartiennent à neuf genres, huit familles et deux ordres (Tableau 1). Pour chaque espèce de cestode, nous avons indiqué l'hôte et son site de capture, la localisation dans l'hôte, la position systématique, le cycle de développement et la répartition géographique.

Concernant l'identification des cestodes nous avons procédé à des colorations selon la méthode de Bâ & Marchand, 1989 et avons utilisé la bibliographie existante (Yamaguti, 1959 ; Hunkeler, 1974 ; Vassiliades, 1980 ; Schmidt, 1986 ; Khalil *et al.*, 1994; Kuchta *et al.*, 2008a).

Tableau I : Lieux de récolte et hôtes des cestodes étudiés.

Ordres	Familles	Parasites	Hôtes	Lieux de récolte
	Anoplocephalidae	Sudarikovina taterae	Taterae	Niayes de Dakar
		Hunkeler, 1972	gambiana (M)	
	Hymonolonididaa	Echinocotyle dolosa	Quelea quelea	Nord Sánágal
	Trymenoteplaidae	Joyeux et al., 1928	(0)	Nord Benegar
		Raillietina (R) baeri	Mastomys	
		Meggit et	erythroleucus	Niayes de Dakar
	Davaineidae	Subramanian, 1927	(M)	
Cyclophyllidea		Paroniella reynoldsae	Corvus albus	Dakar
		Meggit,1926	(0)	Dakai
	Dilepididae	Anomotaenia quelea	Quelea quelea	Nord Sénégal
		Mettrick, 1961	(0)	
	Taeniidae	Taeniarhynchus	Homo sapiens	Hôpital Dantec
		saginatus (1782)	(M)	Dakar
	Bothriocephalidae	Bothriocephalus	Anguilla	Corse
		claviceps Goeze, 1782	anguilla (P)	Corse
Bothriocephalidea	Echinophallidae	Bothriocotyle sp		
	Triaenophoridae	Glossobothrium		
		nipponicum	Schedophilus	Plage de Hann
		(Yamaguti,1952)	velaini (P)	(Dakar)
		Glossobothrium sp1		
		Glossobothrium sp2		

O: Oiseau; P: Poisson; M: Mammifère

Les Cyclophyllidea

II. 1. Anomotaenia quelea

a. Hôte : Quelea quelea Linnaeus, 1758 (Passeriformes, Ploceidae) (Fig. 1)



Figure 1 : *Quelea quelea* (source : http : //Biodiversity explorer.org)

b. Site de capture : Nord Sénégal

c. Localisation du parasite dans l'hôte : intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestodes

Ordre : Cyclophyllidea Braun, 1900

Famille : Dilepididae Railliet & Henry, 1909

Genre : Anomotaenia Cohn, 1900

Anomotaenia quelea Mettrick, 1961

e. Cycle de développement

Le cycle *d'Anomotaenia quelea* n'est pas connu. Cependant, selon Gabrion (1975), le cycle d'*Anomotaenia constricta,* une espèce du même genre, parasite de *Coloeus monedula* (oiseau Passeriforme de la famille des Corvidae) est hétéroxène et comporte un hôte intermédiaire (*Pimelia sulcata*, coléoptère) dans lequel évolue la larve cysticercoïde.

En se basant sur Gabrion (1975) mais également sur le régime alimentaire de *Quelea quelea*, constitué essentiellement de graines et d'insectes, on pourrait supposer que le cycle d'*Anomotaenia quelea* se déroulerait comme suit :

Il débute par l'élimination des œufs avec les féces de *Quelea quelea*. Quand ceux-ci sont ingérés par l'hôte intermediaire essentiellement un insecte, les larves hexacanthes se libérent et se transforment en larves cysticercoïdes. Ces dernières deviennent adultes dans l'intestin de *Quelea quelea*.



Figure 2: Cycle de développement théorique d'*Anomotaenia quelea*, inspiré des travaux de Gabrion (1975) sur le cycle d'*Anomotaenia constricta*

Le genre *Anomotaenia* est cosmopolite et parasite essentiellement d'oiseaux et rarement de mammifères. *Anomotaenia quelea* est une espèce africaine qui a été signalée seulement en Rhodésie (Mettrick, 1961) et pour la première fois au Sénégal (Bâ, 2000).

II. 2. Echinocotyle dolosa

a. Hôte : Quelea quelea Linnaeus, 1758 (Passeriformes, Ploceidae)

b. Site de capture de l'hôte : Nord Sénégal

c. Localisation du parasite dans l'hôte : Intestin

d. Systématique :

-Embranchement : Plathelminthes

-Classe : Cestodes

-Ordre : Cyclophyllidea Braun, 1900

-Famille : Hymenolepididae Ariola, 1899

-Genre : Echinocotyle Blanchard, 1891

-Echinocotyle dolosa Joyeux et al., 1928

e. Cycle de développement

Le cycle d'*Echinocotyle dolosa* n'est pas connu mais étant donné que le régime alimentaire de *Quelea quelea* est constitué essentiellement de graines et d'insectes, on peut supposer que le cycle se déroulerait de la même façon que celui *d'Anomotaenia quelea*, et en plus, ces deux espèces peuvent parasiter le même individu hôte.

f. Biogéographie

Le genre *Echinocotyle* est cosmopolite et essentiellement parasite d'oiseaux, il parasite exceptionnellement des rongeurs. Il est signalé en Europe, Asie, Afrique et en Amérique du Nord (Khalil *et al.*, 1994). *Echinocotyle dolosa* est endémique à l'Afrique et présente un large spectre d'hotes répertoriés dans le tableau II.

Hôtes	Références	
Pyromelana franciscana, Lonchura (Spermestes) cucullata	Joyeux <i>et al.</i> , 1928	
Vidua macroura, Hypochera ultramarina	Yamaguti, 1959 ; Schmidt, 1986	
Quelea quelea, Euplectes orix franciscanus, Lonchura malabarica	Vassiliades, 1980	
Lagonosticta senegala, Ploceus cucullatus, Quelea quelea,	Bâ, 2000	
Lonchura (Spermestes) cucullata, Amandava subflava		

Tableau II: Hôtes d'Echinocotyle dolosa

II. 3. Paroniella reynoldsae

a. Hôte : Corvus albus Muller, 1776 (Passeriformes, Corvidae) (Fig. 3)



Figure 3 : Corvus albus (Source : http : //www.ibc.lynxeds.com)

b. Site de capture de l'hôte : Campus universitaire de l'UCAD

c. Localisation du parasite dans l'hôte : Intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestodes

Ordre : Cyclophyllidea Braun, 1900

Famille : Davaineidae Braun, 1900

Genre : Paroniella Führmann, 1920

Paroniella reynoldsae Meggit, 1926

e. Cycle de développement

Le cycle n'est pas connu.

f. Biogéographie

Le genre *Paroniella* est cosmopolite et parasite d'oiseaux et de mammifères (Khalil *et al.*, 1994). *Paroniella reynoldsae* a été signalée en Inde, Birmanie, Afrique et Israël dans les oiseaux du genre *Corvus*, à savoir C. *splendens* et *C. rhipiducus*. Nous l'avons récoltée, pour la première fois, au Sénégal et dans un nouvel hôte, *Corvus albus*.

II. 4. Raillietina (Raillietina) baeri

a. Hôte : Mastomys erythroleucus Temminck, 1853 (Rongeur, Muridae) (Fig. 4)



Figure 4 : Mastomys erythroleucus (Source : IRD/J.-J. LEMASSON)

b. Site de capture de l'hôte : Niayes

c. Localisation du parasite dans l'hôte : Intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestode

Ordre : Cyclophyllidea Braun, 1900

Famille : Davaineidae Braun, 1900

Genre : Raillietina Führmann, 1920

Raillietina (Raillietina) baeri Meggit & Subramanian, 1927

e. Cycle de développement

Le cycle de *Raillietina (Raillietina) baeri* n'est pas connu. Cependant, d'après Jones & Horsfall, 1935 qui ont étudié le cycle d'espèces du même genre parasites du poulet à savoir *Raillietina echinobothrida* et *Raillietina cesticillus*, les hôtes intermédiaires sont respectivement des fourmis et des coléoptéres (Scarabées). Selon ces auteurs, le cycle débute par l'élimination des proglottis gravides dans les fientes et les œufs peuvent survivre très longtemps. Les hôtes intermédiaires (mouches ou fourmis : *Tetramorium, Pachycondyla*,

Pheidole) s'infestent en ingérant un seul œuf. La larve éclôt dans l'intestin de l'hôte intermédiaire, se transforme en cysticercoïde et reste dans le corps de celui-ci jusqu'à ce qu'il soit ingéré par l'hôte définitif. Activé par la bile, le cysticercoïde se fixe sur la muqueuse de l'intestin grêle et le développement des proglottis débute immédiatement. En se basant sur le régime alimentaire de *Mastomys erythroleucus*, constitué essentiellement de graines et de termites (Moro & Hubert, 1983), on suppose que l'hôte intermédiaire dans le cycle de *Raillietina* (*Raillietina*) baeri est un termite.



Figure 5: Cycle de développement théorique de *Raillietina (Raillietina) baeri* inspiré des travaux de Jones & Horsfall (1935)

f. Biogéographie

Railletina (R) baeri a été signalée en Afrique et en Birmanie (Hunkeler, 1974; Schmidt, 1986) et pour la première fois au Sénégal (Bâ, 1995).

II. 5. Sudarikovina taterae

a. Hôte : Gerbilluscus gambianus Thomas, 1910 (Rongeur, Muridae) (Fig. 6)



Figure 6 : Gerbilluscus gambianus (Source : IRD/J.-M. DUPLANTIER)

b. Site de capture de l'hôte : Niayes de Dakar

c. Localisation du parasite dans l'hôte : intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes :

Classe : Cestodes

Ordre : Cyclophyllidea Braun, 1900

Famille : Anoplocephalidae Cholodkowsky, 1900

Genre : Sudarikovina Spasskii, 1951

Sudarikovina taterae Hunkeler, 1972

e. Cycle de développement

Le cycle de développement est hétéroxène, il comporte un hôte définitif qui est le rongeur et un hôte intermédiaire qui est un arthropode essentiellement un insecte. Il débute par l'élimination des œufs avec les fèces du rongeur dans le milieu extérieur. Une fois les œufs ingérés par un arthropode, les larves hexacanthes sont libérées et pénètrent dans la paroi intestinale pour se développer en larves cysticercoïdes. Le rongeur se contamine en consommant l'hôte intermédiaire parasité. Après ingestion, les tissus de l'arthropode sont digérés et les larves cysticercoïdes sont libérées dans l'intestin grêle de l'hôte définitif où elles débutent leur maturation pour atteindre le stade adulte et produire de nouveaux œufs.



Figure 7: Cycle de développement de *Sudarikovina taterae* (d'après Hunkeler, 1974)

f. Biogéographie

Sudarikovina taerae est parasite des Rongeurs Gerbillinae, elle a été récoltée chez *Tatera kempi*, *T. guineae* et *Taterillus gracilis gracilis* dans certaines localités de Côte d'ivoire (Hunkeler, 1974) et pour la première fois au Sénégal chez *Tatera gambiana* (Bâ, 1995), actuellement dénommée *Gerbilluscus gambianus* (Duplantier & Granjon, 2009).

II. 6. Taeniarhynchus saginatus (syn. Taenia saginata)

a. Hôte : Homo sapiens

b. site de récolte : Dakar

c. Localisation du parasite dans l'hôte : intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestodes

Ordre : Cyclophyllidea Braun, 1900

Famille : Taeniidae Ludwig, 1886

Genre : Taeniarhynchus Weinland, 1858

Espèce : Taeniarhynchus saginatus (Goeze, 1782) Weinland, 1858

e. Cycle de développement

Le cycle est hétéroxène et comprend deux hôtes : le Bœuf qui est l'hôte intermédiaire et l'Homme qui est l'hôte définitif. Il débute par l'élimination des œufs avec les fèces de l'homme dans le milieu extérieur. Ces œufs se retrouvent chez le bœuf qui mange de la végétation souillée par ces œufs. Dans le bœuf, les larves hexacanthes sont libérées et se développent en larves cysticerques au niveau des muscles. L'homme se contamine en mangeant de la viande de bœuf insuffisamment cuite. Après ingestion les larves cysticerques sont libérées dans l'intestin grêle de l'homme où elles débutent leur maturation pour atteindre le stade adulte et produire de nouveaux œufs.



Figure 8: Cycle de développement de *Taeniarhynchus saginatus* (source : www.desktopclass.com/education/)

f. Biogéographie

Taeniarhynchus saginatus est cosmopolite et parasite strictement l'homme.

Les Bothriocephalidea

II. 7. Bothriocephalus claviceps

a. Hôte : Anguilla anguilla Linnaeus, 1758 (Anguilliforme, Anguillidae) (Fig. 9)



Figure 9 : Anguilla anguilla (Source : http : //www.eol.org)

b. site de capture : Etang de Biguglia en Corse

c. Localisation du parasite dans l'hôte : intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestodes

Ordre : Bothriocephalidea Kuchta, 2008a

Famille : Bothriocephalidae Blanchard, 1849

Genre : Bothriocephalus Rudolphi, 1808

Bothriocephalus claviceps (Goeze, 1782), Rudolphi, 1810

e. Cycle de développement

Le cycle a été étudié expérimentalement par Scholz (1997). Cet auteur a démontré que le parasite peut boucler son cycle de développement au bout de quatre mois à une température comprise entre 22 et 24°C. Il débute par l'élimination des œufs dans l'eau. Ces derniers terminent leur développement embryonnaire en deux jours à cette température. Ils éclosent et libèrent une larve coracidium qui nage continuellement pendant quelques jours grâce à son embryophore ciliée. Une fois ingérée par un copépode tel que *Macrocyclops albus*, *M. fucus*, *Megacyclops viridis*, *Cyclops strenuus* ou *C.vicinus*, elle se transforme en larve procercoïde dans l'hémocoele du copépode au bout de 8 à 12 jours. Quand le copépode est consommé par l'anguille (hôte définitif), la larve procercoïde est libérée dans l'intestin où elle ne devient adulte que trois mois plus tard. Les perches (*Perca fluviatilis*) et les guppies (*Poecilia reticulata*) peuvent servir d'hôtes intermédiaires paraténiques.



Figure 10: Cycle de développement de *Bothriocephalus claviceps* (d'après Scholz, 1997)

f. Biogéographie

Bothriocephalus claviceps est cosmopolite. Il a été signalé en Europe, Afrique du Nord et en Amérique du Nord.

II. 8. Bothriocotyle sp.

a. Hôte : Les espèces *Bothriocotyle* sp., *Glossobothrium nipponicum*, *Glossobothrium* sp.1 et *Glossobothrium* sp. 2 et ont été récoltées dans le même hôte, *Schedophilus velaini* Sauvage, 1879 (Perciformes, Centrolophidae) (Fig. 11)



Figure 11 : Schedophilus velaini

- b. Site de capture de l'hôte : Plage de Hann de Dakar
- c. Localisation du parasite dans l'intestin : intestin
- d. Position systématique

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestodes

Ordre : Bothriocephalidea Kuchta, 2008a

Famille : Bothriocephalidae Blanchard, 1849

Genre : Bothriocotyle Ariola, 1900

Bothriocotyle sp.

e. Cycle de développement

Le cycle n'est pas connu mais on sait que les bothriocephalidés ont en général, un cycle qui comprend un ou deux hôtes intermédiaires qui peuvent être des crustacés ou de petits poissons (Scholz, 1997).

f. Biogéographie

Bothriocotyle sp. est une espèce nouvelle du genre *Bothriocotyle*. En effet ce genre renferme actuellement une seule espèce, *Bothriocotyle solinosomum* qui est l'espèce type. Celle-ci a été signalée dans l'océan pacifique, la méditerranée et l'océan atlantique (en France). Nous signalons pour la première fois la présence de ce genre en Afrique et dans un nouvel hôte, *Schedophilus velaini*.

II. 9. Glossobothrium nipponicum

a. Hote: Schedophilus velaini (Fig. 11)

b. Site de capture de l'hôte : Plage de Hann de Dakar

c. Localisation du parasite dans l'intestin : intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestodes

Ordre : Bothriocephalidea Kuchta, 2008a

Famille : Triaenophoridae Lönnberg, 1889

Genre : Glossobothrium Yamaguti, 1952

Glossobothrium nipponicum Yamaguti, 1952

e. Cycle de développement

Le cycle n'est pas connu.

f. Biogéographie

Le genre *Glossobothrium* renferme également une seule espèce qui est l'espèce type du genre : *Glossobothrium nipponicum*. Elle a été signalée pour la première fois dans les océans indien et pacifique par Yamaguti, 1952 puis par d'autres auteurs au Japon et en Hawaï. Nous signalons pour la première fois la présence de ce genre en océan atlantique (Afrique) et dans un nouvel hôte, *Schedophilus velaini*.

II. 10. Glossobothrium sp. 1

a. Hote : Schedophilus velaini (Fig. 11)

b. Site de capture de l'hôte : Plage de Hann de Dakar

c. Localisation du parasite dans l'intestin : intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestodes

Ordre : Bothriocephalidea Kuchta, 2008a

Famille : Triaenophoridae Lönnberg, 1889

Genre : Glossobothrium Yamaguti, 1952

Glossobothrium sp.1

e. Cycle de développement

Le cycle n'est pas connu

f. Biogéographie

Glossobothrium sp.1 est une espèce nouvelle du genre récoltée chez *Schedophilus velaini* et signalée pour la première fois au Sénégal.

II. 11. Glossobothrium sp. 2

a. Hote: Schedophilus velaini (Fig. 11)

b. Site de capture de l'hôte : Plage de Hann de Dakar

c. Localisation du parasite dans l'intestin : intestin

d. Position systématique :

Embranchement : Plathelminthes

Classe : Cestodes

Ordre : Bothriocephalidea Kuchta, 2008a

Famille : Triaenophoridae Lönnberg, 1889

Genre : Glossobothrium Yamaguti, 1952

Glossobothrium sp. 2

e. Cycle de développement

Le cycle n'est pas connu.

f. Biogéographie

Glossobothrium sp. 2 est une espèce nouvelle du genre récoltée chez *Schedophilus velaini* et signalée pour la première fois au Sénégal.

CHAPITRE II : ETUDE MORPHO-ANATOMIQUE DE QUELQUES CYCLOPHYLLIDEA ET BOTHRIOCEPHALIDEA

CHAPITRE II

ETUDE MORPHO-ANATOMIQUE DE QUELQUES CYCLOPHYLLIDEA ET BOTHRIOCEPHALIDEA

I. INTRODUCTION

Dans ce travail nous avons étudié quatre Cyclophyllidea : un Anoplocephalidae (*Sudarikovina taerae*) un Davaineidae (*Raillietina* (*Raillietina*) baeri), un Dilepididae (*Anomotaenia quelea*) et un Hymenolepididae (*Echinocotyle dolosa*) et quatre Bothriocephalidea : un Echinophallidae (*Bothriocotyle* sp.) et trois Triaenophoridae (*Glossobothrium nipponicum*, *Glossobothrium* sp. 1 et *Glossobothrium* sp. 2).

Les Cyclophyllidea sont caractérisés par la présence d'un scolex muni de quatre ventouses épineuses ou inermes. En outre, ils présentent ou non un rostre inerme ou armé de crochets dont le nombre, la forme et la disposition varient selon les espèces et constituent ainsi des outils taxonomiques importants. Les testicules sont en général nombreux mais peuvent être réduits en une seule glande mâle. L'ovaire est le plus souvent compact et situé dans la moitié postérieure de l'anneau. L'utérus peut être sacciforme, réticulé ou tubulaire, fragmenté en capsules ovifères ou réduit en un seul organe parutérin. Les œufs contiennent un embryon au moment de la ponte. L'ordre des Cyclophyllidea compte à lui seul plus de la moitié des espèces de cestodes connus soit environ 3000 espèces appartenant à 18 familles dont les Anoplocephalidae, les Davaineidae, les Dilepididae, les Hymenolepididae (Khalil *et al*,. 1994).

Les Anoplocephalidae présentent un scolex inerme, dépourvu de rostre. Par contre les Davaineidae ont un scolex muni d'un rostre armé d'une à deux rangées de crochets en forme de marteau et des ventouses inermes ou épineuses.

Les Dilepididae ont un rostre armé de crochets en forme d'épine de rosier et des ventouses inermes.

Les Hymenolepididae sont caractérisés par la présence d'un rostre armé (ou non) d'une seule couronne de crochets fourchus ou falciformes et de ventouses inermes ou épineuses

Les Bothriocephalidea sont actuellement répartis en 46 genres appartenant à quatre familles : les Bothriocephalidae, les Echinophallidae, les Triaenophoridae et les Philobythiidae. Ils sont essentiellement parasites des poissons Téléostéens et des tortues marines. Du point de vue morphologique, ils sont caractérisés par la présence d'un scolex muni de deux pseudobothridies plus ou moins fortement développées et exceptionnellement armées de crochets. Les pores génitaux sont marginaux (Triaenophoridae et Philobythiidae), submarginaux (Echinophallidae) ou médians (Bothriocephalidae). Les testicules, en général très nombreux, sont situés en avant et en arrière des glandes sexuelles femelles. L'ovaire souvent lobé se trouve dans la moitié postérieure des proglottis. Les glandes vitellogènes sont situées dans le parenchyme cortical, rarement dans le parenchyme médullaire : elles entourent les glandes génitales. L'utérus est le plus souvent tubulaire rarement sacciforme. Les œufs sont le plus souvent operculés et ne contiennent pas d'embryon au moment de la ponte, rarement ils ne sont pas operculés et contiennent un embryon (Kuchta *et al.* 2008a).

II. MATERIEL ET METHODES

II. 1. Matériel

Nous nous sommes intéressés à l'étude morpho-anatomique de huit espèces de Cestodes : quatre Cyclophyllidea et quatre Bothriocephalidea (Tableau III).

Tableau III : Lieux de récolte et hôtes des cestodes étudiés.

Ordres	Familles	Parasites	Hôtes	Lieux de récolte
Cyclophyllidea	Anoplocephalidae	Sudarikovina taterae	Gerbilluscus gambianus (R)	Niayes de Dakar
	Davaineidae	Raillietina Raillietina baeri	Mastomys erythroleucus (R)	
	Dilepididae	Anomotaenia quelea	Quelea quelea	N 104 4 1
	Hymenolepididae	Echinocotyle dolosa	~ (O)	Nord Senegal
Bothriocephalidae	Echinophallidae	Bothriocotyle sp.	Schedophilus	
	Triaenophoridae	Glossobothrium nipponicum	velainii (P)	Plage de Hann
		Glossobothrium sp.1		

(P) : Poisson; (O) : Oiseau; (R) : Rongeur

II.2. Méthodes

Nous présentons la méthodologie utilisée en microscopie photonique et électronique à balayage.

II.2.1. Microscopie photonique

Les cestodes ont été récoltés dans l'intestin grêle de leurs hôtes. Ils ont été maintenus vivants dans du sérum physiologique, puis triés et fixés. Pour chaque espèce, nous avons isolé avant la fixation le scolex que nous avons placé dans de la gomme au chloral qui le digère en laissant intact son armature. Ceci nous a permis de voir si le scolex était ou non armé.

Pour la fixation, nous avons utilisé du formol à 10% chaud ou froid. Les vers de petite taille étaient plongés directement dans le formol bouillant où ils s'étalaient d'eux-mêmes. Par contre pour ceux de grande taille, ils étaient étalés avec un pinceau imbibé de formol à 10% froid, puis coupés en fragments de 3 à 6 cm de longueur. Au bout de 24 h environ, ils étaient transférés dans de l'alcool à 70° pour leur conservation. Après leur fixation les cestodes ont été décalcifiés dans un bain composé à volume égal d'eau et d'acide acétique pendant environ 24 heures. Après hydratation pendant une heure sous un filet d'eau, ils ont été colorés au carmin chlorhydrique alcoolique (15 minutes à 1 heure), différenciés dans une solution d'alcool éthylique à 95% additionnée de 0,5% d'acide chlorhydrique (5 à 20 minutes), déshydratés par de l'alcool éthylique et du toluène (15 minutes), éclaircis par de l'essence de girofle puis montés dans du baume de canada entre lames et lamelles. Les lames, séchées à l'étuve à 65°C pendant 2 à 4 jours, ont été examinées à la chambre claire du microscope photonique NIKON FX-II où des dessins et des photos ont été réalisés.

II.2.2. Microscopie électronique à balayage

Pour cette étude nous avons observé les scolex (rostre et ventouses), les pores génitaux, le tégument, les cirres et les œufs en raison de l'importance taxonomique de leurs caractères.

Pour chaque ver, les parties concernées par la microscopie électronique à balayage ont été d'abord nettoyées au pinceau dans du sérum physiologique sous la loupe binoculaire puis fixées pendant 24 heures à 4°C, dans du glutaraldéhyde à 2,5% tamponné par une solution de cacodylate de sodium 0,1M à pH 7,2. Le matériel a été ensuite déshydraté par l'éthanol et par passage au point critique, puis monté sur des supports métalliques avant d'être recouvert d'une pellicule d'or par la méthode du sputterring et observé au microscope électronique à

balayage du Service d'Étude et de Recherche en microscopie électronique de l'Université Pascal Paoli de Corse (France).
III. RESULTATS

III.1. Anomotaenia quelea (Fig. 12)

Le ver adulte d'*Anomotaenia quelea* mesure 2 à 3 cm de long. Le scolex mesure environ 420 μ m de diamètre. Il porte quatre ventouses à ouverture circulaire de 100 à 160 μ m de diamètre ainsi qu'un rostre rétractile (Fig.12 A-B). Ce dernier, long de 95 μ m, est armé de 24 crochets falciformes de taille inégale, disposés sur deux couronnes. Ceux de la première couronne mesurent 50 à 60 μ m tandis que ceux de la deuxième couronne mesurent 55 à 70 μ m de long. Chaque crochet (Fig. 12C) possède un manche, une courte garde et une lame presque aussi longue que le manche.

Dans chaque proglottis mûr (Fig. 12D), les testicules au nombre de 15 à 30 sont répartis dans la moitié postérieure du proglottis et mesurent 20 à 40 μ m de diamètre. L'ovaire et la glande vitellogène sont médians et disposés dans la moitié antérieure des proglottis. Le vagin est postérieur à la poche du cirre, il se dilate dans sa partie proximale en un petit réceptacle séminal situé entre l'ovaire et la glande vitellogène.

Dans les proglottis gravides, l'utérus est sacciforme et contient de nombreux œufs ovoïdes mesurant 60 à 95 μ m de diamètre. Leur embryophore est ovale et contient une larve hexacanthe munie de six crochets : deux paires latérales et une paire centrale (Fig. 12E).



Figure 12 : Morphologie d'Anomotaenia quelea.

A. Scolex au microscope électronique à balayage. (x480) **B**. Scolex au microscope photonique (C = Crochet ; R = Rostre ; V = Ventouse) (x165). **C**. Morphologie d'un crochet (G = Garde ; L = Lame ; M = Manche) (x870). **D**. Anneau mûr (Gv = Glande vitellogène ; Pc = Poche du cirre ; Rs = Récéptacle séminal ; S = Spermiducte ; T = Testicule ; V = Vagin). Echelle = 0,05mm. **E**. = Œuf (C= Crochet ; E = Embryophore) (x270) (Bâ, 2000).

III.2. Echinocotyle dolosa (Figs. 13 et 14)

Le ver adulte d'*E. dolosa* mesure 2 à 3,5 cm de long et 0,7 à 1 mm de large. Son scolex (Fig. 13A) porte un rostre rétractile muni de crochets et des ventouses, de forme ovalaire qui présentent des épines sur leur fond et sur leur bordure. Le rostre est armé de 10 crochets claviformes (Fig. 13A). Les proglottis sont craspédotes et les pores génitaux unilatéraux.

Les testicules, au nombre de trois, sont disposés en ligne sur la bordure postérieure des proglottis (Fig. 13B). L'ovaire est compact et transversalement allongé au milieu des proglottis et la glande vitellogène est arrondie et postérieure à l'ovaire ((Fig. 13C). La poche du cirre est très grande et contient une vésicule séminale interne. La vésicule séminale externe est de forme ovalaire (Fig. 13D)

Le cirre (Fig. 13D et F) est inerme et muni d'un stylet copulateur. L'atrium génital (Fig. 13F et Fig. 14A) est entouré d'épines disposées sur deux rangées. Le sac accessoire (Fig. 13F et Fig. 14B) est intérieurement garni d'épines et est capable de s'évaginer (Fig. 14C).

Dans les proglottis gravides (Fig. 13E), l'utérus est sacciforme et contient de nombreux œufs ovoïdes (Fig. 13G).



Figure 13 : Morphologie d'Echinocotyle dolosa.

A : Scolex en vue latérale (C = crochet rostral ; E = épines ventousaires ; V = Ventouse. (x420). **B** : Anneaux jeunes (T = Testicule). (x40). **C** : Anneaux moyens. **D** : Détail d'un anneau mature (A = Atrium génital ; C = Cirre ; E = épine atriale ; Gv = Glande vitellogène ; Ov = Ovaire ; Pc = Poche du cirre ; St = Stylet ; Sa = Sac accessoire ; T = Testicule ; Vsi = Vésicule séminale interne ; Vse = Vésicule séminale externe). Echelle = 0,1mm. **E** : Anneaux gravides. (oe = œuf). (x60). **F** : Détail de l'atrium génital. (x660). **G** : Œufs (E = Embryophore). (x660). (Bâ, 2000)



Figure 14 : Aspect du cirre, de l'atrium génital et du sac accessoire d'*Echinocotyle dolosa* au microscope électronique à balayage

A : Atrium génital (C = Cirre ; E = épines atriales) (x6200). **B** : Sac accessoire invaginé et stylet copulateur. (x1400). **C** : Sac accessoire évaginé (E = Epine). (x4700) (Bâ, 2000)

III.3 Raillietina (Raillietina) baeri (Fig. 15)

Le strobile peut atteindre environ 25 cm de long. Le scolex (Fig. 15A) mesure 250 à 300 μ m de large. Il porte quatre ventouses à ouverture arrondie mesurant 90 à 95 μ m de diamètre et un rostre rétractile, armé d'une seule rangée de crochets (50 à 72) (Fig. 15B). Ces derniers sont en forme de marteau et mesurent 13 à 15 μ m de long (Fig. 15D).

L'intérieur des ventouses présente de nombreux filaments de microtriches formant par endroits des touffes (Fig. 15C).

Dans les anneaux mûrs (Fig. 15E), les testicules (30 à 35) arrondis, de 35 à 50 μ m de diamètre, sont répartis en deux champs : un champ poral plus réduit où les testicules sont disposés sous les conduits génitaux (vagin et spermiducte) et un champ antiporal où ils sont plus nombreux.

L'ovaire est médian et divisé en deux lobes principaux par le vagin qui se termine par un petit réceptacle séminal.

La glande vitellogène est compacte et en position postérieure.

Dans les anneaux gravides (Fig. 15F), l'utérus est fragmenté en plusieurs capsules ovifères (50 à 70) contenant chacun de nombreux œufs.



Figure 15 : Morphologie de Raillietina Raillietina baeri.

A : Scolex (R = Rostre ; V = Ventouse) (x380) **B** : Microtriches de l'intérieur des ventouses (x11 000) **C** : Couronne de crochets (x1650). **D** : Détail d'un crochet Echelle = 0,01mm **E** : Anneau mature (Cd = canal dorsal ; Cv = Canal ventral ; Gv = Glande vitellogène ; Ov = Ovaire ; Pc = Poche du cirre ; R = Réceptacle séminal ; S = Spermiducte ; V = Vagin) Echelle = 0,15mm **F** : Anneau gravide (Co = Capsule ovifère ; Oe = Œuf) Echelle = 0,3 mm (Bâ, 1995)

III.4. Sudarikovina taterae (Fig. 16)

Le scolex de *S. taterae* est inerme (Fig. 16A). Il mesure environ 250 µm de diamètre, porte quatre ventouses rondes à ovalaires et présente une excroissance apicale très marquée. (Fig. 16B). Le tégument du scolex et du strobile porte de courts filaments de microtriches (Fig. 16B) Les proglottis sont craspédotes. Les pores génitaux sont unilatéraux et s'ouvrent au milieu du bord latéral des proglottis (Fig. 16C).

Dans les anneaux mûrs (Fig. 16C), les testicules au nombre de 14 à 20 sont arrondis ou ovalaires et mesurent 90 à 110 μ m de diamètre. Ils sont disposés en arrière et sur les côtés du complexe ovaro-vitellogènique. Le spermiducte est dilaté en deux vésicules séminales, interne et externe. Le vagin se termine par un réceptacle séminal très développé. L'ovaire et la glande vitellogène sont très lobés et en position médiane. Dans les anneaux gravides, l'utérus très réticulé, contient de nombreux œufs (Fig. 16E). Ces derniers mesurent 43 à 47 μ m de long et 35 à 40 μ m de large. Leur embryophore, très grand, est ovale et contient une minuscule oncosphère. Il ya une paroi entre l'embryophore et l'oncosphère (Fig. 16D).



Figure 16 : Morphologie de Sudarikovina tatera

Fig : 16. Morphologie de *Sudarikovina taterae*. **A** : Scolex (Ea = Excroissance apicale ; V = Ventouse) (x400) **B** : Microtriches de l'excroissance apicale (M = Microtriche) (x4000). **C** : Anneau mature (Gv = Glande vitéllogène ; Ov = Ovaire ; R = Réceptacle séminale ; Vse = Vésicule séminale externe ; Vsi = Vésicule séminale interne ; T = Testicule) Echelle = 0,2mm. **D** : Anneau gravide (Oe = Œuf ; U = Utérus) Echelle = 0,2 mm. **E** : Morphologie d'un œuf (C = Crochet ; E= Embryophore) Echelle = 0,1mm. (Bâ, 1995).

III.5. *Botriocotyle* sp. (Figs. 17-19)

C'est un ver long de 50 cm. Les bords du strobile sont enroulés vers la face ventrale de sorte que ce dernier paraît parfois cylindrique. Le scolex (Figs. 17 A-B) mesure 1 à 1,5 mm de long et 700 à 800 µm de large. Il porte deux bothridies et un disque apical nettement visible. Ce dernier est capable de s'évaginer (Fig. 17A) ou s'invaginer (Fig. 17B et 17E). Chaque bothridie apparait sous forme de deux lobes séparés par une incision médiane (Fig. 17B). Dans le prolongement des bothridies, on note la présence d'une structure en forme de ventouse (Fig. 17C-D). Le tégument du scolex (Fig. 17E) est tapissé de deux types de microtriches : des microtriches capilliformes filitriches (filiformes) et des microtriches coniformes spinitriches (spiniformes) dont la base est large de 0,4 µm (Fig. 17F). Le cou est absent, les proglottis apparaissent immédiatement après le scolex. Les pores génitaux sont sublatéraux et irrégulièrement alternes (Fig. 18A). Dans les anneaux matures, le vagin est tubulaire et postérieur à la poche du cirre, les testicules sont médullaires et disposés en un seul champ, l'ovaire est lobé et poral (Fig. 18B). L'utérus est tubulaire dans les anneaux immatures et matures (Fig. 18A-B). Dans les anneaux gravides, il devient ovale et rempli d'œufs et se situe dans la partie antérieure des anneaux (Fig. 18C). La poche du cirre est très musclée, elle est cylindrique et sa partie proximale est renflée. Le cirre (Fig. 19A) présente une portion armée de crochets qui est capable de s'évaginer et s'invaginer (Fig. 19B). Le tégument du strobile (Fig. 19C) est tapissé de microtriches de type coniforme spinitriche. Les œufs (Fig. 19D) sont de forme ovalaire et mesurent 40 à 60 µm de long et 30 à 40 µm de large. Ils sont operculés et non embryonnés (Fig. 19E). Le côté opposé à l'opercule présente une structure en forme de bouton (Fig. 19F). Leur surface, observée au microscope à balayage n'est pas lisse.



Figure 17 : Microscopie électronique à balayage du scolex de Bothriocotyle sp.

A : Scolex où le disque apical est évaginé. Echelle = 1mm. **B** : Autre scolex où le disque apical est invaginé (B = Bothridie). Echelle = 500μ m. **C** : Scolex en vue latérale montrant la structure en forme de ventouse située dans le prolongement de la bothridie. Echelle = 500μ m. **D** : Détail de cette structure. Echelle = 250μ m. **E** : Scolex en vue apicale dont le disque apical est invaginé (Da = Disque apical) Echelle = 60μ m. **F** : Détail des microtriches du tégument du scolex. Echelle = $2,5\mu$ m.



Figure 18 : Morphologie de *Bothriocotyle* sp.

A : Anneau immature. (x20). **B** : Anneau mature. (x40). **C** : Anneau gravide (O = Ovaire; Oe = Ceuf; Pc = Poche du cirre; O = Ovaire). (x50). **D** : Autre anneau gravide. (x50).



Figure 19 : Strobile, cirre et oeuf de Bothriocotyle sp. au microscope électronique à balayage.

A : Anneaux avec cirre évaginé. Echelle = $200\mu m$. **B** : Détail du cirre (C = Crochet). Echelle = $5\mu m$. **C** : Microtriches du tégument du strobile. Echelle = $2\mu m$. **D** : Œuf en entier. Echelle = $20\mu m$. **E** : Détail de l'opercule. Echelle = $5\mu m$. **F** : Côté opposé à l'opercule. Echelle = $5\mu m$.

III.6. Glossobothrium nipponicum (Fig. 20-22)

Le scolex comporte une partie allongée qui se termine par un disque apical et une partie basale. Cette dernière comprend deux bothridies munies chacune d'une excroissance linguiforme (Fig. 20A) pouvant se rabattre sur l'ouverture bothridiale (Fig. 20B). Au niveau du disque apical (Fig. 20C), le tégument présente des récepteurs sensoriels qui peuvent s'évaginer ou s'invaginer. S'ils sont complètement invaginés, ils laissent apparaître des orifices (Fig. 20E). Au niveau de la partie allongée (Fig. 20D), le tégument présente en plus des récepteurs sensoriels, de nombreuses rangées de fines microtriches (Fig. 20F). Il en est de même pour celui des bothridies (Fig. 21A-B). L'excroissance linguiforme (Fig. 21C) présente sur sa face antérieure de nombreuses papilles sensorielles (Fig. 21D). Les proglottis (Fig. 21E) sont plus larges que longs, leur tégument est recouvert de microtriches (Fig. 21F). Le cirre très long et filiforme s'ouvre dans la moitié postérieure des proglottis (Fig. 21E). Il peut présenter à son extrémité des sortes de filaments rigides qui peuvent s'évaginer ou s'invaginer (Fig. 21G). Les œufs (Fig. 22A-B) sont ovoïdes et operculés.



Figure 20 : Scolex de Glossobothrium nipponicum au microscope électronique à balayage

A : Scolex où les languettes sont dépliées. Echelle = 500 μ m. **B.** Autre scolex où les languettes sont repliées sur l'ouverture bothridiale. Echelle = 500 μ m. **C** : Disque apical. Echelle = 50 μ m. **D** : Partie allongée du scolex. Echelle = 5 μ m. **E** : Détail du tégument du disque apical. Echelle = 10 μ m. **F** : Détail du tégument de la partie allongée. Echelle = 5 μ m.



Figure 21 : Bothridie, strobile et cirre de *Glossobothrium nipponicum* au microscope électronique à balayage

A : Bothridie. Echelle = $250\mu m$. **B** : Détail du tégument de la bothridie. Echelle = $15\mu m$. **C** : Excroissance linguiforme. Echelle = $20\mu m$. **D** : Détail des papilles sensorielles. Echelle = $5\mu m$. **E** : Anneaux avec cirres. Echelle = 1mm. **F** : Détail du Tégument du strobile. Echelle = $5\mu m$. **G** : Extrémité du cirre. Echelle = $5\mu m$.



Figure 22 : Oeuf de Glossobothrium nipponicum au microscope électronique à balayage

A : Œuf en entier. Echelle = 10μ m. **B** : Détail de l'opercule. Echelle = 2μ m. Op = Opercule.

III.7. Glossobothrium sp. 1 (Figs. 23-24)

Le scolex (Figs. 23A et 24A) est allongé, muni d'un disque apical inerme et porte deux bothridies. Chaque bothridie porte à sa base une excroissance linguiforme (Figs. 23A et 24 A), tapissée sur sa face antérieure de papilles sensorielles capables de s'évaginer ou de s'invaginer (Figs. 24B et 24D). Les proglottis sont faiblement craspédotes et linéaires. Ils sont plus longs que larges (Fig. 24C). Les pores génitaux sont marginaux et irrégulièrement alternés. Ils s'ouvrent dans la moitié postérieure du bord latéral des proglottis (Fig. 23B-C).

Dans chaque proglottis mûr, les testicules au nombre de 70 à 100 testicules sont répartis en deux bandes latérales continues d'un proglottis à un autre tout le long du strobile (Fig. 23C.). La poche du cirre mesure 600 à 800 µm de long et 220 à 250 µm de large (Fig. 23C). Le cirre est très long et enroulé en spirale à l'intérieur de la poche (Fig. 23C). Au microscope électronique à balayage, son tégument est tapissé de petits pores et dépourvu de microtriches. (Fig. 24F).

L'ovaire est entier et situé dans le tiers postérieur des proglottis (Fig. 23B). Le vagin est un long tube contourné situé en arrière de la poche du cirre et au milieu des proglottis. Sa partie proximale forme un renflement musculaire fusiforme (Fig. 23C). Les vitéllogènes sont folliculaires et réparties sur toute la largeur des proglottis : elles sont corticales et médullaires. L'utérus apparaît sous la forme d'un simple tube rempli d'œufs qui s'élargit dans la partie antérieure du proglottis (Fig. 23C).





Figure 23 : Morphologie de Glossobothrium sp. 1

A : Scolex. (x40). **B** : Anneau mature. (x50). **C** : Anneau semi-gravide. (x50). B = Bothridie ; Da = Disque apical ; L = Languette ; O = Ovaire ; Pc = Poche du cirre ; T = Testicule.



Figure 24 : Glossobothrium sp. 1 au Microscope électronique à balayage

A : Scolex. Echelle = 250μ m. **B** : Excroissance linguiforme des bothridies. Echelle = 50μ m. **C** : Portion de strobile avec cirre évaginé. Echelle = 250μ m. **D** : Détail des papilles sensorielles. Echelle = 5μ m. **E** : Cirre agrandi. Echelle = 20μ m. **F** : Détail du tégument du cirre tapissé de nombreux pores. Echelle = 5μ m. B = Botridie ; L= Languette

III.8. Glossobothrium sp. 2 (Fig. 25-28)

Le scolex mesure 1,3 à 1,5 mm de long et 0,2 à 0,3 mm de large, il est muni d'un disque apical et porte à sa base deux bothridies portant chacune une excroissance linguiforme (Fig. 25A). Le tégument du disque apical est tapissé de récepteurs sensoriels et est dépourvu de microtriches (Fig. 25B-C) tandis que celui du reste du scolex est tapissé de microtriches et de tumuli (Fig. 25D-E). L'excroissance linguiforme est tapissée sur sa face supérieure de papilles sensorielles (Figs. 26A-B).

Les proglottis (Fig. 26C) sont plus longs que larges. Leur tégument (Fig. 26D) est tapissé par des microtriches très fines. Le cirre est fortement enroulé à sa base et s'ouvre au milieu du bord latéral du proglottis (Fig. 26C). Il est recouvert de deux types de microtriches (Fig. 27). Les œufs (Fig. 28) sont operculés et leur tégument ornementé. Le côté opposé à l'opercule présente une sorte de petite languette (Fig. 28B).



Figure 25 : Scolex de *Glossobothrium* sp. 2 au microscope électronique à balayage

A : Scolex. (B = Bothridie ; Da = Disque apical ; L = Languette). Echelle = 500 μ m. **B** : Disque apical. Echelle = 50 μ m. **C** : Détail du tégument du disque apical. Echelle = 5 μ m. **D** : Microtriches de la base du scolex. Echelle = 5 μ m. **E** : Microtriches et tumuli du tégument du milieu du scolex. Echelle = 10 μ m.



Figure 26 : Bothridie et strobile de *Glossobothrium* sp. 2 au microscope électronique à balayage

A : Bothridie et languette. Echelle =100 μ m. B : Détail des papilles sensorielles Echelle = 5 μ m. C : Portion de strobile Echelle = 500 μ m. D : Tégument du strobile. Echelle = 5 μ m. C = Cirre ; Pu = Pore utérin.



Figure 27 : Aspect du cirre de Glossobothrium sp. 2 au microscope électronique à balayage

A: Extrémité du cirre. Echelle = 10µm. B: Détail des microtriches de l'extrémité du cirre. Echelle = 5µm. C: Partie basale du cirre. Echelle = 50µm. D: Détail des microtriches de la partie basale du cirre. Echelle = 10µm.



Figure 28 : Oeuf de *Glossobothrium* sp. 2 au microscope électronique à balayage

A : œuf en entier. Echelle = $15\mu m$. B : Pôle opposé à l'opercule. Echelle = $2 \mu m$. C : Opercule. Echelle = $5\mu m$.

IV. DISCUSSION

Elle porte essentiellement sur les Bothriocephalidea, *Bothriocotyle* sp., *Glossobothrium nipponicum*, *Glossobothrium* sp. 1 et *Glossobothrium* sp. 2. En effet, *Echinocotyle dolosa*, *Anomotaenia quelea*, *Raillietina* (*R*) *baeri* et *Sudarikovina taterae* ont déjà fait l'objet d'une étude détaillée aux microscopes photonique et éléctronique à balayage dans des précédents mémoires (Bâ, 1995 ; 2000).

Le genre *Bothriocotyle* (Ariola, 1900) est parasite des Poissons Centrolophidae (Khalil *et al.*, 1994). Il est caractérisé par la présence d'un scolex inerme, de forme ovoïde, muni d'un disque apical, d'un strobile constitué de nombreux proglottis dont les bords sont enroulés latéralement. Les pores génitaux sont submarginaux. Les testicules sont répartis en deux champs. L'ovaire est bilobé et en position porale. L'utérus tubulaire s'élargit dans les anneaux gravides. La poche du cirre et le vagin s'ouvrent dans un atrium commun entouré d'un sphincter. Les œufs sont operculés et non embryonnés. Notre matériel est donc conforme à cette description.

Le genre *Bothriocotyle* renferme actuellement une seule espèce, *Bothriocotyle solenosomum* (Ariola, 1900), décrite pour la première fois chez *Centrolophus pompilus* (Ariola, 1900) devenue *Centrolophus niger* puis, redrécrite par Kuchta *et al.* (2008b) chez le même hôte. Notre matériel, par la forme de son scolex, la présence d'une structure en forme de ventouse au milieu du scolex et de deux types de microtriches sur le tégument du scolex, se distingue nettement de *B. solenosomum*. Nous pensons donc qu'il s'agit d'une nouvelle espèce que nous dénommons *Bothriocotyle velaini*, en référence à l'hôte. De plus, nous mettons en évidence pour la première fois la présence de ce genre en Afrique et dans un nouvel hôte, *Schedophilus velaini* (Tableau IV).

Cestodes	Hôtes	Localités	Références
Bothriocotyle solenosomum	Centrolophus niger	Japon	Ariola, 1900
200000000000000000000000000000000000000		Russie	Kuchta et al., 2008b
Bothriocotyle sp.	Schedophilus velaini	Sénégal	Présent travail

Tableau IV : Hôtes et localités des cestodes du genre Bothriocotyle

Le genre *Glossobothrium* (Yamaguti, 1952) est également parasite des poissons Centrolophidae. Il est caractérisé par la présence d'un scolex allongé inerme, muni d'un disque apical et de deux bothridies portant chacune au niveau de sa bordure postérieure une excroissance linguiforme. Le cou est absent, les anneaux sont plus larges que longs, les testicules sont répartis en deux champs, l'ovaire est allongé et situé prés de la bordure postérieure des anneaux. La poche du cirre est large et pyriforme. Le cirre est très long et recouvert de fines microtriches. Nos spécimens sont donc conformes à cette description.

Le genre Glossobothrium renferme actuellement une seule espèce Glossobothrium nipponicum, décrite pour la première fois par Yamaguti en 1952 dans le poisson, Psenopsis anomala. Par la suite, elle a été redrécrite par Gulyaev & Korotaeva en 1980 chez le poisson, Seriolla brama. Ces deux descriptions ont été basées uniquement sur la microscopie photonique. Dans ce travail, nous l'avons étudiée pour la première fois au microscope électronique à balayage. Ce qui nous a permis de mettre en évidence chez cette espèce de nouveaux caractères morphologiques à savoir : la présence de papilles sensorielles sur la face supérieure de l'excroissance linguiforme des bothridies et de fines rangées de microtriches sur le tégument du scolex, à l'exception de celui du disque apical. Le cirre, également observé pour la première fois au microscope à balayage, est recouvert de fines microtriches et présente à son extrémité des sortes de filaments rigides capables de s'évaginer ou de s'invaginer. Ces structures sont observées pour la première fois au niveau du cirre des cestodes. Les œufs, également observés pour la première fois au microscope électronique à balayage, sont operculés et leur tégument n'est pas lisse. Nous signalons également, pour la première fois, la présence de cette espèce chez Schedophilus velaini (nouvel hôte) et du genre Glossobothrium en Afrique (Tableau V).

Cestodes	Cestodes Hôtes		Références
	Psenopsis anomala	Océans indien et pacifique	Yamaguti, 1952
Glossobothrium nipponicum	Hyperoglyphe japonica	Japon	Ichihara, 1974
	Seriolella brama	Hawaï	Gulyaev & Korotaeva, 1980
	Schedophilus velaini	Sénégal	Présent travail
Glossobothrium sp. 1 Glossobothrium sp. 2 Schedophilus velaini		Sénégal	Présent travail

Tableau V : Hôtes et localités des cestodes du genre Glossobothrium

Nous avons également pu identifier dans le même hôte deux autres espèces du genre, morphologiquement différentes de *G. nipponicum*. Il s'agit de *Glossobothrium* sp. 1 et *Glossobothrium* sp. 2.

Glossobothrium sp. 1 se distingue nettement de *G. nipponicum* par la forme du scolex, la taille du strobile dont les proglottis sont plus longs que larges, la forme de l'ovaire, la forme de l'utérus et enfin le tégument du cirre, tapissé de nombreux pores et dépourvu de microtriches. Nous pensons ainsi qu'il s'agit d'une nouvelle espèce que nous nommons *Glossobothrium senegalensis*, en référence à la localité de l'hôte.

Glossobothrium sp. 2 se distingue aussi bien de *Glossobothrium nipponicum* que de *Glossobothrium* sp1 par la forme du scolex, la taille des proglottis, plus longs que larges, la forme de l'ovaire, le tégument du cirre tapissé de deux types de microtriches et enfin le tégument ornementé des oeufs. Nous pensons également qu'il s'agit d'une espèce nouvelle que nous nommons *Glossobothrium velaini* en référence à l'hôte.

Selon Kuchta *et al.* (2012), les espèces de l'ordre des Bothriocephalidea parasites des poissons africains appartiennent toutes à la famille des Bothriocephalidae. Ce travail nous a permis de mettre en évidence, pour la première fois, leur présence chez les Triaenophoridae et les Echinophallidae.

V. CONCLUSION

L'étude morpho-anatomique des quatres espèces Bothriocephalidea nous a permis de signaler la présence de trois nouvelles espèces dans les genres *Bothriocotyle* et *Glossobothrium*. Elle nous a également permis de mettre en évidence de nouveaux caractères dans le genre *Glossobothrium* à savoir, des papilles sensorielles sur la face supérieure des excroissances linguiformes des bothridies, des microtriches sur le tégument du scolex et du cirre et enfin des structures en forme de filaments rigides à l'extrémité du cirre. Grâce à cette étude nous avons pu mettre en évidence pour la première fois, dans le genre *Bothriocotyle*, la présence d'une structure en forme de ventouse au milieu du scolex, de deux types de microtriches au niveau du scolex et de crochets à l'extrémité du cirre.

L'étude des hôtes et de leur répartition géographique nous a permis de mettre en évidence l'existence d'un nouvel hôte : *Schedophilus velaini* pour les genres *Bothriocotyle* et *Glossobothrium*. De plus, nous signalons pour la première fois la présence des genres *Bothriocotyle* et *Glossobothrium* en Afrique.

CHAPITRE III : ULTRASTRUCTURE DE LA Spermiogenese et/ou du spermatozoide de Neuf cestodes cyclophyllidea et Bothriocephalidea

CHAPITRE III

ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA SPERMIOGENESE ET/OU DU SPERMATOZOIDE DE QUELQUES CYCLOPHYLLIDEA ET BOTHRIOCEPHALIDEA

I. INTRODUCTION

À notre connaissance, l'ultrastructure de la spermiogenèse et/ou du spermatozoïde a été décrite dans 14 ordres de cestodes (Marigo, 2011) dont les Cyclophyllidea et les Bothriocephalidea. Au total, 61 espèces appartenant à douze familles de Cyclophyllidea (Tableau VI) et 13 espèces appartenant à trois familles de Bothriocephalidea (Tableau VII) sont jusqu'ici concernées. Dans ce travail, nous avons étudié d'une part l'ultrastructure de la spermiogenèse et du spematozoïde de *Sudarikovina taterae* et d'autre part l'ultrastructure du spermatozoïde chez *Anomotaenia quelea, Bothriocephalus claviceps, Bothriocotyle* sp., *Echinocotyle dolosa, Glossobothrium* sp., *Paroniella reynoldsae, Raillietina (Raillietina) baeri* et *Taeniarhynchus saginatus*.

Tableau VI : Cestodes Cyclophyllidea dont l'ultrastructure de la spermiogenèse et/ou du spermatozoïde est connue.

Ordres	Familles	Genres espèces	Spg	Spz	Références
		Aporina delafondi	+	+	Bâ & Marchand, 1994a
		Thysaniezia ovilla	+	+	Bâ et al., 1991
		Moniezia expansa	+	+	Bâ & Marchand, 1992a
		Moniezia benedeni	+	+	
		Inermicapsifer guineensis		+	Bâ & Marchand, 1995
		Inermicapsifer madagascariensis		+	
		Stilesia glopipunctata		+	Bâ & Marchand, 1992b
		Avitellina centripunctata		+	Bâ & Marchand, 1994b
Cyclophyllideo	Anopiocephandae	Mathevotaenia herpestis	+	+	Bâ & Marchand, 1994c
Cyclophyllidea		Anoplocephaloides dentata	+	+	Miquel & Marchand, 1998a
		Paranoplocephala omphalodes		+	Miquel & Marchand, 1998b
		Sudarikovina taterae	+	+	Bâ <i>et al.</i> , 2000 (article 1)
		Mosgovoyia ctenoides	+	+	Eira et al., 2006
		Gallegoides arfaai		+	Miquel et al., 2004
		Oochoristica agamae		+	Świderski & Subila, 1985
		Monoecocestus americanus		+	Mackinnon & Burt, 1984
	Catenotaeniidae	Catenotaenia pusilla	+	+	Hidalgo et al., 2000
Catenotaer	Catchotachhuat	Skrjabinotaenia lobata		+	Miquel et al., 1997

Le signe + signifie que l'étude indiquée a été faite. Spg = spermiogenèse ; Spz = spermatozoïde

		Raillietina (Raillietina) tunetensis	+	+	Bâ & Marchand, 1994d
		Cotugnia polyacantha		+	Bâ & Marchand, 1994e
	Davaineidae	Raillietina (Raillietina) baeri		+	Bâ <i>et al.</i> , 2005a (article 3)
		Paroniella reynoldsae		+	Bâ <i>et al.</i> , 2005b (article 4)
		Raillietina micracantha	+	+	Miquel et al., 2010
		Anomotaenia quelea		+	Bâ <i>et al.</i> , 2013 (article 9)
		Angularella beema	+	+	Yoneva et al., 2006a
	Dilepididae	Dilepis undula	+	+	Świderski et al., 2000
		Kowalewskiella glareola	la	+	Świderski et al., 2002
		Molluscotaenia crassiscolex	+	+	Marigo et al., 2011a
		Dipylidium caninum	+	+	Miquel et al., 1998
	Dipylididae	Joyeuxiella echinorhyncoides	+	+	Ndiaye et al., 2003a
		Joyeuxiella pasqualei	+	+	Ndiaye et al., 2003a
	Gryporynchidae	Valiporis mutabilis	+	+	Yoneva et al., 2008

Tableau VI (suite)

Tableau VI (suite)

		Dicranotaenia coronula	+	+	Chomicz & Świderski, 1992a
		Diorchis parvogenitalis		+	Chomicz & Swiderski, 1992b
		Echinocotyle dolosa		+	Bâ <i>et al.</i> , 2002 (article 2)
		Retinometra serrata		+	Bâ & Marchand, 1993
		Hynenolepis sulcata		+	Ndiaye, 2002 ; Miquel et al., 2007a
	Hymenolepididae	Rodentolepis myoxi		+	Ndiaye, 2002 ; Miquel et al., 2007a
		Rodentolepis microstoma	+	+	Bâ & Marchand, 1998
		Rodentolepis nana	+	+	Bâ & Marchand, 1992c
		Rodentolepis straminea		+	Bâ & Marchand, 1996
		Rodentolepis sp.		+	Ndiaye, 2002
		Rodentolepis fraterna	s fraterna +	+	Ndiaye, 2002 ; Miquel et al., 2007a
	Mesocestoididae	Mesocestoides litteratus	+	+	Miquel et al., 1999
	mesocestonnuc	Mesocestoides lineatus			Miquel et al., 2007b
	Metadilepididae	Skrjabinoporus merops	+	+	Yoneva et al., 2006b
	Nematotaeniidea	Cylindrotaenia hickmani		+	Jones 1989 ; 1994
		Nematotaenia chantalae	+	+	Mokhtar-Maamouri & Azzouz-
					Draoui, 1990

Tableau VI (suite et fin)

	Anonchotaenia globata	+	+	Yoneva et al., 2010
Paruteriniidae	Triaenorhina rectangula	+	+	Yoneva et al., 2009
	Notopentorchis sp.	+	+	Yoneva et al., 2012
	Taenia parva	+	+	Ndiaye et al., 2003b
	Taenia mustelae		+	Miquel et al., 2000
	Taenia taeniaformis	+	+	Miquel et al., 2009
	Taenia solium		+	Willms et al., 2003
	Taenia pisiformis		+	Tian <i>et al.</i> , 1998a, b
Taeniidae	Taenia crassiceps	+	+	Willms et al., 2004
	Taenia hydatigena	+	+	Featherston, 1971
	Echinococcus granulosus		+	Morseth, 1969
	Echinococcus multilocularis		+	Shi et al., 1994
	Taeniarhynchus saginatus (syn Taenia		+	Tian <i>et al.</i> , 1998a, b ; Bâ <i>et</i>
	saginata)			al., 2011 (article 6)

Tableau VII : Cestodes Bothriocephalidae dont l'ultrastructure de la spermiogenèse et/ou du spermatozoïde est connue.

Ordre	Famille	Genre et espèce	Spg	Spz	Références
		Bothriocephalus clavibothrium	+	+	Świderski & Mokhtar-
					Maamouri, 1980
		Bothriocephalus claviceps		+	Bâ <i>et al.</i> , 2007 (article 5)
	Bothriocephalidae	Bothriocephalus scorpii	+	+	Levron et al., 2006a
		Clestobothrium crassiceps	+	+	Marigo et al., 2012a
		Oncodiscus sauridae	+	+	Šípková <i>et al.</i> , 2011
		Senga sp.	+	+	Šípková <i>et al.</i> , 2011
Bothriocephalidea		Parabothriocephalus gracilis	+	+	Šípková <i>et al.</i> , 2010
	Echinophallidae	Paraechinophallus japonicus		+	Levron et al., 2006b
		Bothriocotyle sp.		+	Bâ <i>et al.</i> , 2012 (article 7)
		Eubothrium crassum		+	Bruňanská et al., 2010
		Eubothrium rugosum		+	
	Triaenophoridae				
		Triaenophorus nudolosus	+	+	Levron <i>et al.</i> , 2005
		Glossobothrium sp.		+	Ndiaye et al., 2012 (article 8)

Spg = spermiogenèse	; $Spz = s$	spermatozoïde
---------------------	-------------	---------------
II. MATERIEL ET METHODES

II.1. MATERIEL

Dans ce travail, nous avons étudié l'ultrastructure de la spermiogenèse et/ou du spermatozoïde de neuf espèces de cestodes (Tableau VIII).

Tableau VIII : Position systématique et hôtes des cestodes que nous avons examiné au microscope électronique à transmission.

Pour l'espèce marquée d'un astérisque (*), nous avons décrit des données sur la spermiogenèse.

Ordres	Familles	Genres espèces	Hôtes
	Anoplocephalidae	Sudarikovina taterae*	Gerbilluscus gambianus
	Davainaidaa	Paroniella reynoldsae	Corvus albus
Cyclophyllidea	Davameluae	Raillietina (Raillietina) baeri	Mastomys erythroleucus
	Dilepididae	Anomotaenia quelea	Quelea quelea
	Hymenolepididae	Echinocotyle dolosa	
	Taeniidae	Taeniarhynchus saginatus	Homo sapiens (Homme)
	Bothriocephalidae	Bothriocephalus claviceps	Anguilla anguilla
Bothriocephalidea	Echinophallidae	Bothriocotyle sp.	Schedophilus velaini
	Triaenophoridae	Glossobothrium sp.1	

II.2. METHODE

Pour réaliser ces études, des portions de strobile, de 3 à 6 cm de longueur, constitués de proglottis mûrs, ont été rapidement prélevées et étalées avec un pinceau imbibé de glutaraldéhyde à 2,5%, tamponné par une solution de cacodylate de sodium 0,1M à pH 7,2. Sur ces portions, des fragments contenant une poche du cirre et des conduits spermatiques ont été prélevés sous la loupe binoculaire, fixés dans le glutaraldéhyde pendant 24 heures, rincés une nuit dans du tampon cacodylate de sodium, post-fixés au tétroxide d'osmium froid à 1% pendant une heure, déshydratés par l'éthanol et l'oxyde de propylène, puis inclus dans l'épon. Les coupes ultrafines, réalisées à l'ultramicrotome Reichert-Jung E Ultracut, ont été contrastées par l'acétate d'uranyl et le citrate de plomb. Les observations ont été faites aux microscopes électroniques à transmission, Hitachi H-7650 et Jeol 1010 du Service d'Étude et de Recherche en microscopie électronique de l'Université de Corse (France).

III. RESULTATS

Nos résultats sont présentés dans les neuf articles joints en annexe. Ils nous ont permis de mettre en évidence pour la première fois la présence chez les Cestodes du cône apical le plus long (Bâ *et al.*, 2005a : article 3 ; Bâ *et al.*, 2007 : article 5), d'un cône apical tansparent aux électrons et renfermant des granules opaques aux électrons (Bâ *et al.*, 2005b : article 4), d'un cône apical opaque aux électrons et entouré de cytoplasme et de microtubules corticaux (Bâ *et al.*, 2013 : article 9), de deux centrioles à caractères ultrastructuraux distinctifs et de sept corps en crête (Bâ *et al.* 2000 : article 1), d'un noyau à sections polylobées (Bâ *et al.*, 2002 : article 2) pouvant atteindre l'extrémité postérieure du gamète (Bâ *et al.*, 2011 : article 6). Ils nous ont également permis de révéler pour la première fois chez les Cyclophyllidea la présence de microtubules corticaux spiralés uniquement à leur extrémité antérieure et droits sur tout le reste du gamète (Bâ *et al.*, 2000 : article 1), chez les Bothriocephalidea l'existence de spermatozoïdes présentant uniquement des microtubules corticaux transparents aux électrons (Bâ *et al.*, 2012 : article 7 et Ndiaye *et al.*, 2012 : article 8) ou deux types de microtubules corticaux, transparents et opaques aux électrons (Bâ *et al.*, 2007 : article 5).

IV. DISCUSSION

IV.1. Spermiogenèse

Chez les cestodes, la spermiogenèse débute toujours dans les spermatides par la formation d'une zone de différenciation. Celle-ci est délimitée en avant, par un anneau de membranes arquées. Elle est bordée de microtubules corticaux et contient deux centrioles, associés ou non, à des racines striées et un corps intercentriolaire. Ces centrioles peuvent donner naissance à un ou deux flagelles (Bâ & Marchand en 1995). Quatre types (I-IV) de spermiogenèse ont été établi par Bâ & Marchand en 1995 sur la base des caractéres de la zone de différenciation que sont : Le nombre de flagelles, l'existence ou non de rotation flagellaire et de fusion proximo-distale, la présence ou non de corps intercentriolaire et enfin la présence ou non de racines striées, associées à des centrioles (Fig. 29).

Les types I et II sont caractérisés par la présence de deux racines striées et d'un corps intercentriolaire dans la zone de différenciation, tandis que les types III et IV en sont dépourvus.

Les types I et II sont tous deux pourvus à la fois d'une rotation flagellaire et d'une fusion proximo-distale mais se distinguent par le nombre d'axonèmes qui est égal à deux dans le type I et à un axonème dans le type II.

Les types III et IV sont tous deux dépourvus de rotation flagellaire et caractérisés respectivement par une fusion proximo-distale et une absence de cette fusion. Ce sont ces deux types que l'on rencontre chez les Cyclophyllidea.

Dans le type III, le flagelle pousse parallélement à l'expansion cytoplasmique avec laquelle il fusionne par la suite. Par contre, dans le type IV, le flagelle pousse directement dans l'expansion cytoplasmique. C'est ce dernier cas qui est rencontré chez *Sudarikovina taterae* (Bâ *et al.*, 2000 : article 1).

Au niveau de la zone de différenciation, la position des deux centrioles, l'un par rapport à l'autre, varie selon les espèces. Chez les Anoplocephalidae, *Thysaniezia ovilla* (Bâ *et al.*, 1991), *Mathevotaenia herpestis* (Bâ & Marchand, 1994c) et *Aporina delafondi* (Bâ & Marchand, 1994a), l'un des centrioles de la spermatide forme un flagelle tandis que l'autre, orienté latéralement dans un bourgeon cytoplasmique avorte. Par contre, chez *Sudarikovina*

taterae (Bâ *et al.*, 2000 : article 1, Fig. 1), les deux centrioles sont parallélles entre eux, du début à la fin de la spermiogenèse.

Les caractères ultrastructuraux distinctifs de ces centrioles n'ont été mentionnés par aucun auteur. Cependant chez *Sudarikovina taterae* (Bâ *et al.*, 2000 : article 1, Fig. 6), nous avons pu mettre en évidence pour la première fois chez les cestodes l'existence d'un centriole abortif et d'un centriole flagellaire présentant respectivement un microtubule central et un matériel opaque aux éléctrons à la base.



Figure 29 : Différents types de spermiogenèse chez les cestodes (d'après Bâ & Marchand, 1995)

Am = membranes arquées ; C = Centriole ; Ca = Adjonction centriolaire ; Ce = expansion cytoplasmique ; Cm = microtubules corticaux ; F = Flagelle ; Ib = corps intercentriolaire ; Sr = Racines striées

IV.2. Spermatozoïde

Le spermatozoïde des cestodes est filiforme, dépourvu de mitochondrie et effilé à ses deux extrémités. Il présente selon les espèces de nombreux caractères ultrastructuraux distincts. Chez les Cyclophyllidea on peut distinguer selon les espèces la présence ou l'absence d'un cône apical, de corps en crête, d'une gaine périaxonémale, de cloisons intracytoplasmiques et de granules de matériel opaque aux électrons. Ces caractères constitutifs du spermatozoïde des Cyclophyllidea ont été réunis dans un schéma récapitulatif (Fig. 30) (Bâ, 1994). Récemment Levron et al., (2010), sur la base du nombre d'axonèmes, de la présence ou pas de corps en crête, de la disposition parallèle ou spiralée du noyau et des microtubules corticaux, de la présence ou pas de gaine périaxonémale et cloisons intracytoplasmiques de matériel opaque aux électrons, ont pu établir chez les cestodes sept types de spermatozoïdes (Fig. 31). Les types I et II contiennent deux axonèmes tandis que les types III, IV, V, VI et VII contiennent un seul axonème. Chez les Bothriocephalidea on ne rencontre que le type II tandis que chez les Cyclophyllidea on rencontre à la fois les types V, VI et VII. Le type V est dépourvu de gaine périaxonémale et de parois intracytoplasmiques de matériel opaque aux électrons, le type VI est caractérisé par la présence d'une gaine périaxonémale et enfin le type VII se distingue par la présence à la fois d'une gaine périaxonémale et de parois intracytoplasmiques de matériel opaque aux électrons.

Chez la plupart des cestodes, l'extrémité antérieure du spermatozoïde est marquée par la présence d'un centriole et/ou d'un ou plusieurs corps en crête (Bâ *et al.*, 1991).

Les corps en crête ont été décrits dans six ordres de cestodes (Tableau IX). Leur nombre et leur épaisseur varient selon les espèces. La présence d'un seul corps en crête a été signalée chez tous les Bothriocephalidea à l'exception de *Bothriocephalus clavibothrium* (Świderski & Mokhtar-maamouri, 1980), les Tetraphyllidea, les Diphyllidea, les Tetrabothridea et tous les Proteocephalidea à l'exception de *Nomimoscolex* sp. (Sène *et al.* 1997) qui présente trois corps en crête.

Chez les Cyclophyllidea, le nombre de corps en crête varie de un à douze. Un seul corps en crête a été décrit chez les Anoplocephalidae *Stilesia globipunctata* (Bâ & Marchand, 1992b), *Avitellina centripuntata* (Bâ & Marchand, 1994b) et *Mathevotaenia herpestis* (Bâ & Marchand, 1994c), les Mesocestoidae (Miquel *et al.*, 1999, 2007b), les Metadilepididae (Yoneva *et al.*, 2006), les Taeniidae (Bâ *et al.*, 2011 : article 6), les Nematotaeniidae, les Dipylididae et les Dilepididae. Chez les Dilepididae, toutes les espèces précédemment

décrites présentent un seul corps en crête (Marigo, 2011a). Au cours de notre travail, nous avons pu mettre en évidence pour la première fois la présence de deux corps en crête dans cette famille avec *Anomotaenia quelea* (Bâ *et al.*, 2013 : Fig. 1f). Deux corps en crête sont également signalés chez les Anoplocephalidae *Moniezia expansa* et *Moniezia benedeni* (Bâ & Marchand, 1992a), *Thysaniezia ovilla* (Bâ *et al.*, 1991), *Inermicapsifer guineensis* et *Inermicapsifer madagascariensis* (Bâ & Marchand, 1995), les Davaineidae et les Catenotaeniidae. Cinq corps en crête ont été décrits chez un Anoplocephalidae *Aporina delafondi* (Bâ & Marchand, 1994a) et sept corps en crête ont été décrits pour la première fois chez les Anoplocephalidae avec *Sudarikovina taterae* (Bâ *et al.*, 2000 : article 1, Fig. 11). C'est dans la famille des Hymenolepididae qu'on remarque la plus grande variation du nombre de corps en crête : six chez *Retinometra serrata* (Bâ & Marchand, 1993) et *Rodentolepis microstoma* (Bâ & Marchand, 1998), huit chez *Rodentolepis straminea* (Bâ & Marchand, 1996) et *Echinocotyle dolosa* (Bâ *et al.*, 2002 : article 2, Fig. 6), dix chez *Rodentolepis fraterna* (Miquel *et al.*, 2007a), onze chez *Rodentolepis* sp. (Miquel *et al.*, 2007a) et enfin douze chez *Rodentolepis nana* (Bâ & Marchand, 1992c).

Une autre structure caractéristique de l'extrémité antérieure du spermatozoïde de la plupart des cestodes est le cône apical de matériel opaque aux électrons, situé en avant des centrioles. Ce cône a été décrit chez quarante deux espèces appartenant à cinq ordres : trois Proteocephalidea (Bâ & Marchand, 1994f; Sène *et al.*, 1997; Marigo *et al.*, 2012b), deux Tetraphyllidea (Quilichini *et al.*, 2007 et Marigo *et al.*, 2011b), un Diphyllidea (Marigo *et al.*, 2011c), 34 Cyclophyllidea (Bâ *et al.*, 2005b : article 4 ; Bâ *et al.*, 2011 : article 6 ; Miquel *et al.*, 2009 ; 2010 ; Yoneva *et al.*, 2008 ; 2009 ; 2010 ; 2012) et deux Bothriocephalidea (Marigo *et al.*, 2012a ; Bâ *et al.*, 2007 : article 5).

Chez les Cyclophyllidea, la longueur et la largeur du cône apical varient selon les espèces, respectivement de 0,1 à 2,5 μ m et de 0,1 à 0,65 μ m (Tableau X). Chez *Raillietina (Raillietina) baeri* (Bâ *et al.*, 2005a : article 3), nous avons pu décrire le cône apical le plus long chez les Cyclophyllidea avec 2,5 μ m de long. De plus, chez *Echinocotyle dolosa* (Bâ *et al.*, 2002 : article 2, Fig. 1), en lieu et place du cône apical, nous avons mis en évidence pour la première fois chez les cestodes la présence d'un disque apical de 0,1 μ m de long.

Chez les Bothriocephalidea, les espèces précédemment décrites étaient toutes dépourvues de ce cône apical (Tableau XI). Nous avons signalé pour la première fois sa présence dans cet ordre avec *Bothriocephalus claviceps* (Bâ *et al.*, 2007 : article 5, Fig. 2). Par la suite il a été

signalé chez un autre Bothriocephalidea *Clestobothrium crassiceps* (Marigo *et al.*, 2012a). Chez *Clestobothrium crassiceps*, le cône apical mesure seulement 0,6 μ m de long alors que chez *Bothriocephalus claviceps*, il mesure 6,6 μ m de long. Un cône apical d'une telle longueur n'a jamais été décrit auparavant chez les cestodes (Bâ *et al.*, 2007 : article 5).

Chez la plupart des espèces où il a été décrit, le cône apical est constitué de matériel opaque aux électrons. Par contre, chez *Retinometra serrata* (Bâ & Marchand, 1993) le cône apical est transparent aux électrons. Chez *Paroniella reynoldsae*, il est constitué de matériel transparent aux électrons associé à des granules de matériel opaque aux électrons (Bâ *et al.*, 2005b : article 4, Fig. 1). Chez *Anomotaenia quelea*, nous avons pu mettre en évidence pour la première fois chez les cestodes la présence d'un cône apical de matériel opaque aux électrons, entouré de microtubules corticaux et d'une membrane cytoplasmique (Bâ *et al.*, 2013 : article 9, Fig. 1c-d).

Chez les Cyclophyllidea, le noyau du spermatozoïde se présente sous la forme d'un cordon, généralement enroulé en spirale autour de l'axonème. Cependant chez *Retinometra serrata* (Bâ & Marchand, 1993), *Sudarikovina taterae* (Bâ *et al.*, 2000 : article 1, Fig. 9) et *Echinocotyle dolosa* (Bâ *et al.*, 2002 : article 2, Fig. 4), il est rectiligne et interposé entre l'axonème et les microtubules corticaux. Chez *E. dolosa*, nous avons montré pour la première fois chez les cestodes l'existence d'un noyau à contours irréguliers et à sections polylobées (Bâ *et al.*, 2002 : article 2, Fig. 8).

Une gaine périaxonémale continue ou discontinue, associée ou non à des cloisons intracytoplasmiques de matériel opaque aux électrons, a été décrite chez de nombreuses espèces de Cyclophyllidea et chez le Tetrabothriidea, *Tetrabothrius erostis* (Stoitsova *et al.*, 1995). Chez les Cyclophyllidea, sa présence a été signalée dans plusieurs familles, à savoir, les Catenotaeniidae (Miquel *et al.*, 1997 ; Hidalgo *et al.*, 2000) les Taeniidae (Bâ *et al.*, 2011 : article 6), les Dipylididae (Miquel *et al.*, 1997 ; Ndiaye *et al.*, 2003a), les Dilepididae (Bâ *et al.*, 2013 : article 9), les Paruteriniidae (Yoneva *et al.*, 2009 ; 2010 ; 2011), les Davaineidae (Bâ *et al.*, 2005a : article 3 ; Bâ *et al.*, 2005b : article 4), les Gryporhynchidae (Yoneva *et al.*, 2008), les Metadilepididae (Yoneva *et al.*, 2006b) et les Anoplocephalidae (Bâ & Marchand, 1992b ; 1994e ; 1995 ; 1996). Par contre, elle est absente chez les Hymenolepididae, les Nematotaeniidae et les Mesocestoidae.

Chez les Cyclophyllidea, à l'exception des Mesocestoidae (Miquel *et al.*, 1999 ; 2007b), les microtubules corticaux sont spiralés. Le degré de spiralisation varie selon les espèces. En

effet, chez *Thysaniezia ovilla* (Bâ *et al.*, 1991), *Hymenolepis nana* (Bâ & Marchand, 1992c), *Stilesia globipunctata* (Bâ & Marchand, 1992b), *Moniezia expansa* et *Moniezia benedeni* (Bâ & Marchand, 1992a), *Mathevotaenia herpestis* (Bâ & Marchand, 1994c), *Aporina delafondi* (Bâ & Marchand, 1994a), *Raillietina* (*Raillietina*) *tunetensis* (Bâ & Marchand, 1994d), *Inermicapsifer guineensis* et *I. madagascariensis* (Bâ & Marchand, 1995), ils sont spiralés sur une grande partie de leur longueur et droits à leur extrémité postérieure. Chez *Retinometra serrata* (Bâ & Marchand, 1993) et chez *Sudarikovina taterae* (Bâ *et al.*, 2000 : article 1), ils sont spiralés uniquement à leur extrémité antérieure.

Chez la plupart des Cyclophyllidea, l'axonème se désorganise après la région nucléaire. Par contre, chez *Paranoplocephala omphalodes* (Miquel & Marchand, 1998), *Gallegoïdes arfaai* (Miquel *et al.*, 2004), *Echinocotyle dolosa* (Bâ *et al.*, 2002 : article 2, Fig. 4), *Taeniarhynchus saginatus* (Bâ *et al.*, 2011 : article 6, Fig. 15) et *Anomotaenia quelea* (Bâ *et al.*, 2013 : article 9, Fig. 3b-c), il se désorganise au niveau de la région nucléaire.

Chez Echinocotyle dolosa, Paranoplocephala omphalodes, Gallegoïdes arfaai et Anomotaenia quelea, le noyau n'atteint pas l'extrémité postérieure du gamète. Par contre chez Taeniarhynchus saginatus le noyau atteint l'extrémité postérieure du spermatozoïde. Nos résultats semblent ainsi confirmer la validité du genre Taeniarhynchus car, parmi toutes les espèces du genre Taenia déjà étudiées, seul Taeniarhynchus saginatus présente un noyau qui atteint l'extrémité postérieure du spermatozoïde.

Chez les Bothriocephalidea, un anneau constitué de 25 à 30 microtubules, opaques aux électrons a été décrit autour du premier axonème chez toutes les espèces étudiées à l'exception de *Bothriocephalus claviceps* (Bâ *et al.* 2007 : article 5) (Tableau XI). Cet anneau se désorganise, puis disparaît au moment où apparaît le second axonème. Chez *Bothriocotyle* sp (Bâ *et al.*, 2012 : article 7, Fig. 5) et *Glossobothrium* sp. (Ndiaye *et al.*, 2012 : article 8, Fig. 4), nous avons mis en évidence la présence d'un anneau de 27 microtubules. Chez *Bothriocephalus claviceps* (Bâ *et al.*, 2007 : article 5, Fig. 4), les microtubules, disposés en arc, sont de deux types, ouverts et fermés. Les microtubules ouverts, transparents aux électrons, sont localisés au niveau de l'extrémité antérieure et dans la région nucléaire à deux axonèmes du spermatozoïde. Les microtubules fermés, opaques aux électrons, sont dans la région postérieure du spermatozoïde. Par contre chez *Bothriocotyle* sp. (Bâ *et al.*, 2012 : article 7, Fig. 26) et chez *Glossobothrium* sp. (Ndiaye *et al.* 2012 : article 8, Fig. 18) les arcs de microtubules sont constitués uniquement de microtubules ouverts transparents aux

électrons sur toute la longueur du spermatozoïde. Des microtubules, disposés en arc, ont également été décrits chez les Proteocephalidea, les Mesocestoidae, les Spathebothridea et les Trypanorhyncha (Levron *et al.*, 2010).

Chez les Bothriocephalidea, l'extrémité postérieure du spermatozoïde est organisée différemment suivant les espèces (Tableau XI). Chez les Echinophallidae, elle est constituée d'un axonème et d'un noyau (Levron *et al.*, 2006b ; Šípková *et al.*, 2010 ; Bâ *et al.*, 2007 : article 7). Chez les Triaenophoridae, elle présente un axonème chez toutes les espèces déjà décrites (Levron *et al.*, 2005 ; Bruňanská, 2010). Chez *Glossobothrium* sp., elle présente un axonème et quelques microtubules corticaux (Ndiaye *et al.*, 2012 : article 8). Une telle extrémité postérieure du spermatozoïde est décrite pour la première fois dans la famille des Triaenophoridae. Chez les Bothriocephalidae, l'extrémité postérieure consiste soit en un axonème (Świderski & Mokhtar-Maamouri, 1980 ; Šípková *et al.*, 2011 ; Bâ *et al.*, 2007 : article 5), soit en un noyau (Levron *et al.*, 2006a ; Marigo *et al.*, 2012a), enfin soit en un axonème et un noyau (Šípková *et al.*, 2011).



Figure 30 : Schéma récapitulatif des différents éléments constitutifs du spermatozoïde des cestodes (d'après Bâ, 1994)

Ax= axonème ; C = cytoplasme ; Ca = cône apical ; Cc = corps en crête ; Ci = cloison intracytoplasmique ; Dp = densification postérieure du cytoplasme ; E = épaississement sous membranaire ; G = granule ; Gp = gaine périaxonémale ; Mc = microtubules corticaux ; Mp = membrane plasmique ; N= noyau.



Figure 31 : Types de spermatozoïdes chez les cestodes (d'après Levron et al., 2010)

Tableau IX : Variation du nombre corps en crête dans le spermatozoïde des cestodes.

Nc = nombre de corps en crête

Ordres	Ordres Familles Genres espèces		Nc	Références
		Bothriocephalus clavibothrium	1	Świderski & Maamouri, 1980
		Bothriocephalus claviceps	1	Bâ <i>et al.</i> , 2007 (article 5)
	Bothriogonhalidag	Bothriocephalus scorpii	1	Levron et al., 2006a
	Dotiniocephandae	Clestobothrium crassiceps	1	Marigo et al., 2012a
		Oncodiscus sauridae	1	Šípková <i>et al.</i> 2011
Dathriaganhalidag		Senga sp.	1	Šípková et al., 2011
bourrocephanuea		Parabothriocephalus gracilis	1	Šípková et al., 2010
	Echinophallidae	Paraechinophallus japonicus	1	Levron et al., 2006b
		Bothriocotyle sp.	1	Bâ <i>et al.</i> , 2012 (article 7)
		Eubothrium crassum	1	Bruňanská et al., 2010
	Triaenophoridae	Triaenophorus nudolosus	1	Levron et al., 2005
		Glossobothrium sp.	1	Ndiaye et al., 2012 (article 8)
		Aporina delafondi	5	Bâ &Marchand, 1994a
		Thysaniezia ovilla	2	Bâ et al., 1991
Cyclophyllidae	Anonloconholidoo	Moniezia expansa	2	Bâ &Marchand, 1992a
Cyclophyllidea	Anopiocephandae	Moniezia benedeni		
		Inermicapsifer guineensis	2	Bâ &Marchand, 1995
		Inermicapsifer madagascariensis		

Tableau IX (suite)

		Stilesia glopipunctata	1	Bâ &Marchand, 1992b
		Avitellina centripunctata	1	Bâ &Marchand, 1994b
		Mathevotaenia herpestis	1	Bâ &Marchand, 1994c
		Anoplocephaloides dentata	2	Miquel & Marchand, 1998a
		Paranoplocephala omphalodes	2	Miquel & Marchand, 1998b
		Sudarikovina taterae	7	Bâ <i>et al.</i> , 2000 (article 1)
		Mosgovoyia ctenoides	2	Eira <i>et al.</i> , 2006
		Gallegoides arfaai	2	Miquel et al., 2004
		Oochoristica agamae	2	Świderski & Subila, 1985
		Monoecocestus americanus	2	Mackinnon & Burt, 1984
	Catanataaniidaa	Catenotaenia pusilla	2	Hidalgo et al., 2000
	Catenotaeniidae	Skrjabinotaenia lobata	2	Miquel et al., 1997
		Raillietina (R) tunetensis	2	Bâ &Marchand, 1994d
		Cotugnia polyacantha	2	Bâ &Marchand, 1994e
	Davaineidae	Raillietina baeri	2	Bâ <i>et al.</i> , 2005a (article 3)
		Paroniella reynoldsae	2	Bâ <i>et al.</i> , 2005b (article 4)
		Raillietina micracantha	2	Miquel et al., 2010

Tableau	IX	(suite)
---------	----	---------

		Angularella beema	1	Yoneva et al., 2006a
	Dilepididae	Dilepis undula	1	Świderski et al., 2000
		Kowalewskiella glareola	1	Świderski et al., 2002
		Molluscotaenia crassiscolex	1	Marigo et al., 2011a
		Anomotaenia quelea	2	Bâ <i>et al.</i> , 2013 (article 9)
		Dipylidium caninum	1	Miquel <i>et al.</i> , 1998
	Dipylidiidae	Joyeuxiella echinorhyncoides	1	Ndiaye et al. 2003b
		Joyeuxiella pasqualei	1	Ndiaye et al. 2003b
	Gryporhynchidae	Valiporis mutabilis	1	Yoneva et al. 2008
		Echinocotyle dolosa	8	Bâ <i>et al.</i> , 2002 (article 2)
		Cladogynia serrata	6	Bâ & Marchand, 1993
		Hynenolepis sulcata	9	Ndiaye, 2002 ; Miquel et al. ,2007a
		Rodentolepis microstoma	6	Bâ & Marchand, 1998
	Hymenolepididae	Rodentolepis nana	12	Bâ & Marchand, 1992c
		Rodentolepis straminea	8	Bâ & Marchand, 1996
		Rodentolepis sp.	11	Ndiaye, 2002
		Rodentolepis fraterna	10	Ndiaye, 2002 ; Miquel et al., 2007a
		Rodentolepis myxoxi	10	Ndiaye, 2002 ; Miquel et al., 2007a

Tableau IX (suite)

	Mesocestoïdae	Mesocestoides lineatus	1	Miquel et al., 2007b		
	mesocestoluae	Mesocestoides litteratus	1	Miquel et al., 1999		
	Metadilepididae	Skrjabinoporus merops	1	Yoneva et al., 2006b		
	Nomatotaoniidaa	Nematotaenia chantalae	1	Maamouri & Azzouz-Draoui, 1990		
	Ivematotaennuae	Cylindrotaenia hickmani	1	Jones, 1989 ; 1994		
		Anonchotaenia globata	1	Yoneva et al., 2010		
	Paruterinidae	Triaenorhina rectangula	1	Yoneva et al., 2009		
		Notopentorchis sp.	1	Yoneva et al., 2012		
		Taenia parva	1	Ndiaye et al., 2003b		
		Taenia mustelae	1	Miquel et al., 2000		
		Taenia taeniaformis	1	Miquel et al., 2009		
		Taenia solium	1	Willms et al., 2003		
		Taenia pisiformis	1	Tian <i>et al.</i> , 1998a, b		
	Taeniidae	Taenia crassiceps	1	Willms et al., 2004		
		Taenia hydatigena	1	Featherston, 1971		
		Echinococcus granulosus	1	Morseth, 1969		
		Echinococcus multilocularis	1	Shi et al., 1994		
		Taeniarhynchus saginatus (syn Taenia saginata)	1	Tian <i>et al.</i> , 1998a, b ; Bâ <i>et al.</i> , 2011(article 6)		

Tableau IX (Suite)

		Echinobothrium typus	1	Azzouz-Draoui, 1985
	Echiinobothriidae	Echinobothrium brachysoma	1	Azzouz-Draoui, 1985
Dipnyindea		Echinobothrium harfordi	1	Azzouz-Draoui, 1985 ; Azzouz-Draoui & Mokhtar-Maamouri, 1986
		Echinobothrium euterpus	1	Marigo et al.,. 2011c
	Monticillidae	Nomimoscolex sp.	3	Sène <i>et al.</i> , 1997
		Sandonella sandoni	1	Bâ & Marchand, 1994f
		Proteocephalus longicollis	1	Bruňanská <i>et al.</i> , 2003a
Proteocephalidea	Proteocephalidae	Proteocephalus torulosus	1	Bruňanská <i>et al.</i> , 2003b, c
		Electrotaenia malopteuri	1	Bruňanská <i>et al.</i> , 2004a
		Corallobothium solidum	1	Bruňanská <i>et al.</i> , 2004b, 2005
		Barsonella lafoni	1	Marigo et al., 2012b

Tableau IX (Suite et fin)

		Acanthobothrium fillicole var. benedeni	1	Mokhtar-Maamouri, 1976 ; 1982 ; Mokhtar-Maamouri & Świderski, 1975
	Oncobothriidae	Oncobothrium uncinatum	1	Mokhtar-Maamouri & Świderski, 1975
Tetraphyllidea		Calliobothrium verticillatum	1	Quilichini et al., 2007
	-	Acanthobothrium crassicolle	1	Marigo <i>et al.</i> , 2011b
	Phyllobothriidae	Phyllobothrium gacile	1	Mokhtar-Maamouri, 1979
		Phyllobothrium lactuca	1	Sène et al., 1999
		Pseudanthobothrium hanseni	1	Mackinnon & Burt, 1984
		Trilocularia acanthiaevulgaris	1	Mahendrasingam et al., 1989
Tetrabothriidea	Tetrabothriidae	Tetrabothrius erostis	1	Stoitsova et al., 1995

Tableau X : Caractères ultrastructuraux du spermatozoïde des Cyclophyllidea.

					Cc	0	CA			
Ordres	Familles	Genres espèces	Туре	N	E (nm)	L (μm)	β (μm)	Gp	Pi	Références
		Aporina delafondi	V	5	15-40	0,3	0,35	-	-	Bâ & Marchand, 1994a
		Thysaniezia ovilla	V	2	80	0,6	0,2	-	-	Bâ et al., 1991
		Moniezia expansa	V	2	30-60	1	0,25	-	-	Bâ & Marchand, 1992a
		Moniezia benedeni	V	2	30-60	1	0,25	-	-	
		Inermicapsifer guineensis	VII	2	?	?	0,15	+	+	Bâ & Marchand 1995
		Inermicapsifer madagascariensis	VII	2	?	?	0,2	+	+	Du ce Marchand, 1995
Cyclophyllidea	Anonlocenhalidae	Stilesia glopipunctata	VI	1	?	1,25	0,5	+	-	Bâ & Marchand, 1992b
Cyclophymuca	Anopiocephanuae	Avitellina centripunctata	VII	1	150-200	0,7	0,3	+	+	Bâ & Marchand, 1994b
		Mathevotaenia herpestis	VI	1	?	?	0,1	+	-	Bâ & Marchand, 1994c
		Anoplocephaloides dentata	V	2	140	1,40	0,35	-	-	Miquel & Marchand, 1998a
		Paranoplocephala omphalodes	V	2	180	0,9	0,2	-	-	Miquel & Marchand, 1998b
		Sudarikovina taterae	?	7	50-100	0,5	0,1	-	-	Bâ et al., 2000 (article 1)
		Mosgovoyia ctenoides	V	2	70-90	?	?	-	-	Eira <i>et al.</i> , 2006
		Gallegoides arfaai	V	2	140	1	0,275	-	-	Miquel et al., 2004

Ca : Cône apical ; Cc : Corps en crête ; E : épaisseur corps en crête ; Gp : Gaine périaxonémale ; L : Longueur cône apical : l : largeur cône apical ; N : Nombre de corps en crête, Pi : Parois intracytoplasmiques ; type : Type de spermatozoïde

		Oochoristica agamae	?	2						Świderski & Subila, 1985
		Monoecocestus americanus	?	2						Mackinnon & Burt, 1984
		Catenotaenia pusilla	VI	2	75	1,75	0,225	+	-	Hidalgo et al., 2000
	Catenotaeniidae	Skrjabinotaenia lobata	VI	2	-	2,5	0,2	+		Miquel et al., 1997
		Raillietina (R) tunetensis	VII	2	100-200	-	0,3	+	+	Bâ & Marchand, 1994d
		Cotugnia polyacantha	VII	2	50-100	?	?	+	+	Bâ & Marchand, 1994e
	Davaineidae	Raillietina baeri	VII	2	100-125	2,5	0,5	+	+	Bâ et al., 2005a (article 3)
		Paroniella reynoldsae	VII	2	100-150	2,2	0,6	+	+	Bâ et al., 2005b (article 4)
		Raillietina micracantha	VII	2	100	?	?	+	+	Miquel et al., 2008 ; 2010
		Angularella beema	VI	1				+	-	Yoneva et al., 2006a
		Dilepis undula	VI	1				+	-	Świderski et al., 2000
	Dilepididae	Kowalewskiella glareola	VI	1				+	-	Świderski et al., 2002
		Molluscotaenia crassiscolex	VI	1	160-330			+	-	Marigo et al., 2011a
		Anomotaenia quelea	VI	2				+	-	Bâ et al., 2013 (article 9)
	Dipylididae	Dipylidium caninum	VI	1	150	0,6	0,4	+	-	Miquel et al., 1998
		Joyeuxiella echinorhyncoides	VI	1	150	2	0,285	+	-	Ndiaye et al., 2003a
		Joyeuxiella pasqualei	VI	1	75	2	0,285	+	-	Ndiaye et al., 2003a

Tableau X (suite)

Tableau	Х	(suite)
---------	---	---------

	Gryporhynchidae	Valiporis mutabilis	VI	1	55			+	-	Yoneva et al., 2008
		Echinocotyle dolosa	?	8	100	0,1	0,3	-	-	Bâ <i>et al.</i> , 2002 (article 2)
		Retinometra serrata	V	6		0,5	0,3	-	-	Bâ & Marchand, 1993
		Hynenolepis sulcata		9	60-70	?	?	?	?	Ndiaye 2002, Miquel <i>et al.</i> , 2007
		Rodentolepis microstoma		6	100-200	-	-			Bâ & Marchand, 1998
	Hymenolepididae	Rodentolepis nana		12				-	-	Bâ & Marchand, 1992c
		Rodentolepis straminea		8	50-100	0,75	0,1			Bâ & Marchand, 1996
		Rodentolepis sp.		11	20-30					Ndiaye, 2002
		Rodentolepis fraterna		10	40-50					Ndiaye, 2002 ; Miquel <i>et al.</i> , 2007a
		Rodentolepis myxoxi		9	40-50	?	?	?	?	Ndiaye, 2002 ; Miquel <i>et al.,</i> 2007a
	Mesocestoididae	Mesocestoides lineatus	IV	1				-	-	Miquel et al., 2007
		Mesocestoides litteratus	IV	1	100-150	-	-	-	-	Miquel et al., 1999
	Metadilepididae	Skrjabinoporus merops	VI	1				+	+	Yoneva et al., 2006b
-	Nematotaeniidae	Nematotaenia chantalae		1				-	-	Mokhtar-Maamouri & Azzouz-Draoui, 1990
		Cylindrotaenia hickmani		1						Jones, 1989 ; 1994

Tableau X (suite et fin)

	Anonchotaenia globata	VII	1				+	+	Yoneva <i>et al.</i> , 2010
Paruterinidae	Triaenorhina rectangula	VII	1				+	+	Yoneva et al., 2009
	Notopentorchis sp.	VII	1				+	+	Yoneva et al., 2012
Taeniidae	Taenia parva	VII	1	60	1,9	0,225	+	+	Ndiaye et al., 2003b
	Taenia mustelae		1	75	1,9	0,25	+	+	Miquel et al., 2000
	Taenia taeniaformis	VII	1	140	1,35	0,25	+	+	Miquel et al., 2009
	Taenia solium	?	1				+		Willms et al., 2003
	Taenia pisiformis	?	1						Tian <i>et al.</i> , 1998
	Taenia crassiceps		1				+	+	Willms et al., 2004
	Taenia hydatigena		1	-	1,9	0,25			Featherston, 1971
	Echinococcus granulosus		1						Morseth, 1969
	Echinococcus multilocularis		1				+		Shi <i>et al.</i> , 1994
	Taeniarhynchus saginatus (syn Taenia saginata)	VII	1				+	+	Bâ et al., 2011 (article 6)

Tableau XI : Caractères ultrastructuraux du spermatozoïde des Bothriocephalidea.

Ax : Axonème ; AM : Anneau de microtubules corticaux ; Ca : Cône apical ; Cc : Corps en crête ; Ep : Extrémité postérieure ; Mc : Microtubule
cortical; Ts : Type de spermatozoïde.

Ordres	Familles	Genres espèces	Ts	Ca	Cc	AM	Ep.	Références
	Bothriocephalidae	Bothriocephalus clavibothrium	II	-	-	+	Ax	Świderski & Mokhtar- Maamouri, 1980
		Bothriocephalus claviceps	II	+	+	-	Ax	Bâ <i>et al.</i> 2007 (article 5)
		Bothriocephalus scorpii	II	-	+	+	N	Levron et al., 2006a
		Clestobothrium crassiceps	II	+	+	+	N	Marigo <i>et al.</i> , 2012a
		Oncodiscus sauridae	II	-	+	+	N + Ax	Šípková <i>et al.</i> , 2011
		Senga sp	II	-	+	+	Ax	Šípková <i>et al.</i> , 2011
Bothriocephalidea	Echinophallidae	Bothriocotyle sp	II	-	+	+	N + Ax	Bâ <i>et al.</i> , 2012 (article 7)
		Parabothriocephalus gracilis	II	-	+	+	N + Ax	Šípková et al., 2010
		Paraechinocephallus japonicus	II	-	+	+	N + Ax	Levron <i>et al.</i> , 2006b
	Triaenophoridae	Eubothrium crassum	II	-	+	+	Ax	Bruňanská et al., 2010
		Eubothrium rugosum	II	-	+	+	Ax	Bruňanská et al., 2010
		Triaenophorus nodulus	II	-	+	+	Ax	Levron <i>et al.</i> , 2005
		Glossobothrium sp.	II	-	+	+	Ax + Mc	Ndiaye <i>et al.</i> , 2012 (article 8)

V. CONCLUSION

L'étude ultrastructurale du spermatozoïde de neuf espèces de cestodes, à savoir six Cyclophyllidea (*Anomotaenia quelea, Echinocotyle dolosa, Paroniella reynoldsae, Raillietina* (*R*) baeri, Sudarikovina taterae et Taeniarhynchus saginatus) et trois Bothriocephalidea (*Bothriocephalus claviceps, Bothriocotyle* sp., *Glossobothrium* sp. nous a permis de mettre en évidence pour la première fois l'existence :

Chez *Sudarikovina taterae*, de deux centrioles à caractères ultrastructuraux distincts, de sept corps en crête et de microtubules spiralés uniquement au niveau de leur extrémité antérieure.

Chez *Echinocotyle dolosa*, d'un disque apical et d'un noyau polylobé à contours irréguliers, jamais décrits auparavant chez les cestodes.

Chez *Paroniella reynoldsae*, d'un cône apical de matériel transparent aux électrons associé à des granules de matériel opaques aux électrons, jamais signalé auparavant chez les Cestodes.

Chez *Anomotaenia quelea*, de deux corps en crête, de longueur différente, jamais signalés auparavant chez les Dilepididae et d'un cône apical de matériel opaque aux électrons, entouré de cytoplasme et de microtubules corticaux, jamais signalé auparavant chez les Cestodes.

Chez *Bothriocephalus claviceps*, d'un cône apical de matériel opaque aux électrons, jamais décrit auparavant dans l'ordre des Bothriocephalidea.

Chez *Raillietina (Raillietina) baeri,* d'un cône apical d'environ 2,5 µm de long, le plus long chez les Cyclophyllidea.

La comparaison des spermatozoïdes de *Raillietina (R) baeri* et *Paroniella reynoldsae* montre qu'ils sont si semblables qu'il est impossible d'établir des différences spermatiques entre eux. Nous pensons ainsi qu'il existe une relation phylogénétique entre le genre *Raillietina* et le genre *Paroniella*.

Les résultats de l'étude ultrastructurale du spermatozoïde de *Taeniarhynchus saginatus* semblent confirmer la validité du genre *Taeniarhynchus* car *T. saginatus* est la seule espèce du genre *Taenia* à présenter un noyau qui atteint l'extrémité postérieure du spermatozoïde.

La présence de l'anneau de microtubules corticaux au niveau de la partie antérieure des spermatozoïdes de *Bothriocotyle* sp. et de *Glossobothrium* sp. confirme le modèle spermatologique des Bothriocephalidea.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERPECTIVES

L'étude au microscope électronique à balayage des espèces Bothriocephalidea nous a permis de mettre en évidence pour la première fois l'existence de nouveaux caractères morphologiques, notamment la présence de papilles sensorielles sur la face supérieure de l'excroissance linguiforme des bothridies chez les espèces du genre *Glossobothrium*, de structures indéterminées, capables de s'évaginer et de s'invaginer, situées à l'extrémité du cirre chez *Glossobothrium nipponicum*, d'ornementations sur les œufs de *Glossobothrium* sp.2, d'une structure en forme de ventouse située dans le prolongement des bothridies du scolex de *Bothriocotyle* sp., de deux types de microtriches sur le tégument du scolex de *Bothriocotyle* sp. et de crochets à l'intérieur de son cirre.

Les données bibliographiques sur les hôtes et leurs répartitions géographiques ont révélé l'existence de deux hôtes nouveaux : *Corvus albus* pour *Paroniella reynoldsae* et *Schedophilus velaini* pour les genres *Glossobothrium* et *Bothriocotyle*. De plus, nous avons pu mettre en évidence pour la première fois, la présence de *Paroniella reynoldsae* au Sénégal et des genres *Glossobothrium* et *Bothriocotyle* en Afrique.

L'étude ultrastructurale de la spermiogenèse de *Sudarikovina taterae* nous a permis de mettre en évidence, pour la première fois chez les cestodes, la présence de deux centrioles à caractères ultrastructuraux distincts et de l'existence entre et en dessous de ces centrioles d'un matériel opaque aux électrons.

L'étude ultrastructurale du spermatozoïde de neuf espèces de cestodes appartenant à deux ordres (Cyclophyllidea et Bothriocephalidea), nous a permis de mettre en évidence, pour la première fois, chez les cestodes l'existence de sept corps en crête, d'un cône apical de matériel opaque aux électrons entouré de cytoplasme et de microtubules corticaux et d'un cône apical de matériel transparent aux éléctrons renfermant de fins granules de matériel opaque aux électrons, d'un disque apical en lieu et place du cône apical. Elle nous a également révélé la variation du nombre de corps en crête dans la famille des Dilepididae. En perspective, nous envisageons de redécrire *Glossobothrium nipponicum*, l'espèce type du genre, étudiée pour la première fois dans ce travail au microscope éléctronique à balayage et de décrire les nouvelles espèces des genres *Glossobothrium* et *Bothriocotyle* étudiées dans ce travail.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BIBLIOGRAPHIE

A

Azzouz-Draoui N. (1985). Étude ultrastructurale comparée de la spermiogenèse et du spermatozoïde de quatre Cestodes Diphyllidea. Thèse de 3° Cycle, Université de Tunis.

Azzouz-Draoui N. & Mokhtar-Maamouri F. (1986). Ultrastructure comparée de la spermiogenèse et du spermatozoïde de *Echinobothrium affine* Diesing, 1863 et *E. harfordi* Mac Vicar, 1976 (Cestoda, Diphyllidea). *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de Tunisie*, 18 : 9-20.

B

Bâ A. (1995). Etude morpho-anatomique de quelques Cyclophyllidea de rongeurs et ultrastructure de la spermiogenèse et du spermatozoïde de cestodes. Mémoire de DEA de biologie animale, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 41p.

Bâ A. (2000). Etude Morpho-anatomique de quelques cestodes et ultrastructure de la spermiogenèse et du spermatozoïde de *Sudarikovina taterae* (Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). Thèse de troisième cycle, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 71p.

Bâ A., Bâ C. T. & Marchand B. (2000). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Sudarikovina taterae* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of *Tatera gambiana* (Rodentia, Gerbillidae). *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, **32** : 137-144.

Bâ A., Bâ C. T. & Marchand B. (2002). Ultrastructural study of the spermatozoon of *Echinocotyle dolosa* (Cestoda, Cyclophyllidea, Hymenolepididae). *Acta Parasitologica*, **47** : 131-136.

Bâ A., Bâ C. T., Quilichini Y., Dieng T. & Marchand B. (2011). Ultrastructure of the spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* (Syn. *Taenia saginata*) (Goeze, 1782) Weinland, 1858 (Cestoda, Taeniidae) an intestinal parasite of human. *Parasitology Research*, 108 : 831-836.

Bâ A., Ndiaye P. I., Bâ C. T. & Miquel J. (2013). Ultrastructure of the spermatozoon of *Anomotaenia quelea* (Mettrick, 1961) (Cestoda, Cyclophyllidea, Dilepididae), an intestinal parasite of *Quelea quelea* (Aves, Ploceidae) in Senegal. *Zoologischer Anzeiger*, **253** : 119-125.

Bâ A., Quilichini Y., Ndiaye P. I., Bâ C. T., & Marchand B. (2012). Ultrastructure of the spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. (Cestoda : Bothriocephalidea) A parasite of *Schedophilus velaini* (Sauvage, 1879) (Perciformes : Centrolophidae) In Senegal. *Journal of Parasitology*, 98 : 502-508.

Bâ C. T. (1994). Etudes morpho-anatomique et isoenzymologique de quelques Cyclophyllidea et comparaison de l'ultrastructure de la spermiogenèse et du spermatozoïde des Cestodes. Thèse d'état, Université cheikh Anta Diop de Dakar, 100p.

Bâ C. T., Bâ A. & Marchand B. (2005a). Ultrastructure of the spermatozoon of *Raillietina* (*Raillietina*) *baeri* (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of the multimammate rat, *Mastomys huberti* (Rodentia, Muridae). *Parasitology Research*, **97 :** 173-178.

Bâ C. T., Bâ A. & Marchand B. (2005b). Ultrastructure of the spermatozoon of *Paroniella Reynoldsae* (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of *Corvus albus* (Aves, Corvidae). *Acta Parasitologica*, **50** : 208-214.

Bâ C. T., Bâ A. & Marchand B. (2007). Ultrastructure of the spermatozoon of *Bothriocephalus claviceps* (Cestoda, Pseudopyillidea) : a parasite of *Anguilla Anguilla* (Fish, Teleostei), *Parasitology Research*, **101** : 77-83.

Bâ C. T. & Marchand B. (1989). Présentation d'une nouvelle technique de coloration des cestodes. 5^{ème} Journée Dakaroise de Parasitologie, 22 Juin 1989. *Lettre Circulaire de la société Ouest Africaine de Parasitologie*, **2** : 9-10.

Bâ C. T. & Marchand B. (1992a). Ultrastructural study of the spermatozoa of *Moniezia expansa and Moniezia benedeni* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). *Annales de parasitologie Humaine et comparée*, **67 :** 111-115.

Bâ C. T. & Marchand B. (1992b). Ultrastructural particularities of the spermatozoon of *Stilesia globipunctata* (Cestoda) parasite of the small intestine of Sheep and Goats in Senegal. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, **24** : 29-34.

Bâ C. T. & Marchand B. (1992c). Reinvestigation of the ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Hymenolepis nana* (Cestoda, Cyclophyllidea) parasite of the small intestine of *Rattus rattus*. *Molecular Reproduction and development*, **33** : 39-45.

Bâ C. T. & Marchand B. (1993). Ultrastructure of the *Retinometra serrata* spermatozoon (Cestoda) intestinal parasite of Turtle-doves in Senegal. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, **25** : 233-238.

Bâ C. T. & Marchand B. (1994a). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Aporina delafondi* (Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of Turtle-doves in Senegal. *International journal for Parasitology*, **24** : 225-235.

Bâ C. T. & Marchand B. (1994b). Ultrastructure of the spermatozoon of *Avitellina centripunctata* (Cestoda, Cyclophyllidea), a parasite of the small intestine of cattle in Senegal. *Acta Zoologica*, **75** : 161-166.

Bâ C. T. & Marchand B. (1994c). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mathevotaenia herpestis* (Cestoda) intestinal parasite of Atelerix *albiventris* in Senegal. *Acta Zoologica*, **75** : 167-175.

Bâ C. T. & Marchand B. (1994d). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Raillietina (Raillietina) tunetensis* (Cyclophyllidea, Davaineidae) intestinal parasite of Turtledoves in Senegal. *International journal for Parasitology*, **24** : 237-248.

Bâ C. T. & Marchand B. (1994e). Simulitude ultrastructurale des spermatozoïdes de quelques Cyclophyllidea. *Parasite*, **1** : 51-55.

Bâ C. T. & Marchand B. (1994f). Ultrastructure of the spermatozoon of *Sandonella sandoni* (Cestoda, Proteocephalidea, Sandonellinae) intestinal parasite of *Heterotis niloticus* (fish, teleost.). *Invertebrate Reproduction and development*, **25** : 9-17.

Bâ C. T. & Marchand B. (1995). Comparative ultrastructure of the spermatozoa of *Inermicapsifer guineensis* and *I. madagascariensis* (Cestoda, Anoplocephalidae, Inermicapsiferinae) intestinal parasites of rodents in Senegal. *Canadian journal of zoology*, **72** : 1633-1638.

Bâ C. T. & Marchand B. (1996). Ultrastructure of the spermatozoon of Hymenolepis straminea (Cyclophyllidea, Hymenolepididae) intestinal parasite of Arvicanthis niloticus (Rodentia) in Senegal. *Invertebrate Reproduction and development*, **29** : 243-247.

Bâ C. T. & Marchand B. (1998). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of Vampirolepis microstoma (Cestoda, Hymenolepididae) intestinal parasite of *Rattus rattus*. *Microscopy research and technique*, **42** : 218-225.

Bâ C. T., Marchand B., & Mattei X. (1991). Demonstration of the orientation of the cestodes spermatozoon illustrated by the ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of a Cyclophyllidea : *Thysaniezia ovilla*, Rivolta, 1874. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, **23** : 605-612.

Baer J. G. (1933). Contribution à l'étude de la faune helminthologique africaine. *Revue suisse de Zoologie*, **40** : 31-84.

Blanchard R. (1891). Histoire zoologique et médicale des Téniadés du genre *Hymenolepis* Weinland. Paris, 112p.

Brabec J., Kuchta R. & Scholz T. (2006). Paraphyly of the Pseudophyllidea (Platyhelminthes : Cestoda) : circumscription of monophyletic clades based on phylogenetic analysis of ribosomal RNA. *International Journal for Parasitology*, **36 :** 1535-1541.

Bruňanská M., Fagerholm H.-P., Nebesářová J. & Kostič B. (2010). Ultrastructure of the mature spermatozoon of *Eubothrium rugosum* (Batsch, 1786) with a re-assessment of the spermatozoon ultrastructure of *Eubothrium crassum* (Bloch, 1779) (Cestoda : Bothriocephalidea). *Helminthologia*, 47 : 257-263.

94

Bruňanská M., Scholz T. & Nebesářová J. (2003a). Reinvestigation of the spermatozoon ultrastructure of the cestode *Proteocephalus longicollis* (Zeder, 1800), a parasite of salmonid fish. *Parasitology Research*, **91** : 357-362.

Bruňanská M., Nebesářová J. & Scholz T. (2003b). Spermiogenesis in the proteocephalidean cestode *Proteocephalus torulosus* (Batsch, 1786). *Parasitology Research*, 90: 318-324.

Bruňanská M., Nebesářová J. & Scholz T. (2003c). Ultrastructure of the spermatozoon of the proteocephalidean cestode *Proteocephalus torulosus* (Batsch, 1786). *Parasitology Research*, **89** : 345-351.

Bruňanská M., Scholz T. & Ibraheem M. H. (2004a). Ultrastructural particularities of the spermatozoon of the cestode *Electrotaenia malopteruri* (Fritsch, 1886) (Proteocephalidae : Gangesiinae), a parasites of *Malapterurus electricus* (Siluriformes : Malapteruridae) from the river Nile, Egypt. *Parasitology Research*, **93** : 114-120

Bruňanská M., Scholz T. & Ibraheem M. H. (2004b). Ultrastructural characters of the spermatozoon of the cestode *Corallobothrium solidum* Fritsch, 1886 (Cestoda : Proteocephalidea), a parasite of the electric catfish *Malapterurus electricus*. *Parasitology Research*, 94 : 421-426.

Bruňanská M., Scholz T. & Ibraheem M. H. (2005). Spermiogenesis in the cestode *Corallobothrium solidum* Fritsch, 1886 (Proteocephalidea : Corallobothriinae). *Acta Zoologica (Stockholm)*, 86 : 55-61.

C

Chomicz L. & Świderski Z. (1992a). Spermiogenesis and ultrastructure of the ultrastructure of the Cestode *Dicranotaenia coronula* (Dujardin, 1845) (Cyclophyllidea, Hymenolepididae). *Proceedings of the 5th Asia-Pacific Electron Microscopy Conference*, Beijing : 324-325.

Chomicz L. & Świderski Z. (1992b). Ultrastructure of the spermatozoon of the Cestode *Diorchis parvogenitalis* (Cyclophyllidea, Hymenolepididae). *Proceedings of the 5th Asia-Pacific Electron Microscopy Conference*, Beijing : 330-331.

D

Duplantier J. M. & Granjon L. (2009). Les rongeurs de l'Afrique sahélo-soudannienne. IRD éditions. *Collections Faune et Flore tropicale* 43 : 215p.

E

Eira C., Miquel J., Vingada J. & Torres J. (2006). Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the cestode *Mosgovoyia ctenoides* (Cyclophyllidea : Anoplocephalidae), an intestinal parasite of *Oryctolagus cuniculus* (Lagomorpha : Leporidae). *Journal of Parasitology*, **92** : 708-718.

Euzeby J. (1966). Maladies dues aux Plathelminthes. T. 2. Fasc. 1, Cestodoses. Cestodes (Vigot Frères Ed.), Paris, 136p.

F

Featherston D. W. (1971). *Taenia hydatigena*. Light and electron microscope study of spermatogenesis. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, **37**: 148-168.

Führmann O. (1920). Considérations générales sur les Davainea. *Festschrif Für Zschokke Bale*, 19p.

G

Gabrion C., (1975). Etude expérimentale du développement larvaire d'Anomotaenia constricta (Molin, 1858) Cohn, 1900 chez un Coléoptère Pimelia sulcata Geoffr. Zeitschrift für Parasitenkunde, 47 : 249-262

Gulyaev V. D. & Korotaeva V. D. (1980). Redescription of the type species of the genus *Glossobothrium* Yamaguti, 1952 (cestoda, Pseudophyllidea). Vestnik Zoologii, 8-11 (in Russian).

Η

Hidalgo C., Miquel J., Torres J. & Marchand B. (2000). Ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon in *Catenotaenia pusilla*, an intestinal parasite of *Mus musculus*. *Journal of Helminthology*, **74**: 73-81.

Hunkeler P. (1972). Les cestodes parasites de petits mammifères (rongeurs et insectivores) de Côte d'Ivoire et de Haute-Volta (note préliminaire). *Bulletin de la Société Neuchâtelloise de Sciences Naturelles*. 95 : 121-132.

Hunkeler P. (1974). Les Cestodes parasites de petits mammifères (Rongeurs et Insectivores) de Côte d'Ivoire et de Haute-Volta. *Revue suisse de Zoologie*, **80** : 809-930.

I

Ichihira A. (1974). A cestode of *Mupus japonicus*, *Glossobothrium nipponicum* Yamaguti, 1952, from Pacific, Japan. *Proceedings of the Regional Meetings of the Japanese Society of Parasitology (No. 1). 34th East Japan Regional Meeting in Tokyo, October 13, 1974. 27th South Japan Regional meeting in Kumamono City, November 30*, Tokyo : 1 (In Japanese).

J

Jones M. K. (1989). Ultrastructure of the cirrus pouch of *Cylindrotaenia hickmani* (Cestoda, Cyclophyllidea). *International Journal for Parasitology*, **19** : 919-930.

Jones M. K. (1994). Ultrastructure of the male accessory glands and sperm ducts of *Cylindrotaenia hickmani* (Cestoda, Cyclophyllidea). *Acta Zoologica (Stockholm)*, **75 :** 269-275.

Joyeux C. & Baer J. G. (1930). On a collection of cestodes from Nigeria, *Journal of Helminthology*, 8: 59-64.

Joyeux C. & Baer J. G. (1936). Cestodes. Faune de France 30 : 1-613.

Joyeux CH., Gendre E., & Baer J. G. (1928). Recherches sur les helminthes de l'Afrique occidentale française. *Collection de la Société de Pathologie Exotique* Monographie II, 120p.

Κ

Khalil L. F., Jones A. & Bray R. A. (1994). *Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates*. CAB International, Cambridge, 751 p.

Kuchta R. (2007). Revision of the paraphyletic '*Pseudophyllidea*' (*Eucestoda*) with description of two new orders Bothriocephalidea and Diphyllobothriidea. PhD Thesis, Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, 97 p.

Kuchta R., Burianová A., Jirků Miloslav, de Chambrier A., Oros M., Brabec J., & Scholz T. (2012). Bothriocephalidean tapeworms (Cestoda) of freshwater fish in Africa, including erection of *Kirstenella* n. g. and description of *Tetracampos martinae* n. sp. *Zootaxa*, 3309 : 1-35.

Kuchta R. & Scholz T. (2007). Diversity and distribution of fish tapeworms of the 'Bothriocephalidea' (Eucestoda). *Parassitologia*, **49**: 21-38.

Kuchta R., Scholz T., Brabec J. & Bray R. A. (2008a). Suppression of the tapeworm order Pseudophyllidea (Platyhelminthes : Eucestoda) and the proposal of two new orders, Bothriocephalidea and Diphyllobothriidea. *International Journal for Parasitology*, **38**: 49-55.

Kuchta R., Scholz T. Brabec J., Jirsová D. & Gustinelli A. (2008b). Bothriocephalidean tapeworms (Cestoda) from the blackfish, *Centrolophus niger* (Perciformes : Centrolophidae) *Folia Parasitologica*, **55** : 111–121.

L

Levron C., Bruňanská M. & Marchand B. (2005). Spermiogenesis and sperm ultrastructure of the pseudophyllidean cestode *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781). *Parasitology Research*, **98**: 26-33.

Levron C., Bruňanská M. & Poddubnaya L. G. (2006a). Spermatological characters of the Pseudophyllidean cestode *Bothriocephalus scorpii* (Muller, 1781). *Parasitology International*, 55 : 113-120.

Levron C., Bruňanská M., Kuchta R., Freeman M. & Scholz T. (2006b). Spermatozoon ultrastructure of the pseudophyllidean cestode *Paraechinophallus japonicus*, a parasite of deep-sea fish *Psenopsis anomala* (Perciformes, Centrolophidae). *Parasitology Research*, 100 : 115-121.

Levron C., Miquel J., Oros M. & Scholz T. (2010). Spermatozoa of tapeworms (Platyhelminthes, Eucestoda) : advances in ultrastructural and phylogenetic studies. *Biological Reviews*, **85**: 523-543.

Μ

MacKinnon B. M. & Burt M. D. B. (1984). The comparative ultrastructure of spermatozoa from *Bothrimonus strionis* Duv. 1842 (Pseudophyllidea), *Pseudanthobothrium hanseni* Baer, 1956 (Tetraphyllidea) and *Monoecocestus americanus* Stiles, 1895 (Cyclophyllidea. *Canadian Journal of Zoology*, **65** : 1059-1069.

Mahendrasingam S., Fairweather I. & Halton D. W. (1989). Spermatogenesis and the fine structure of the mature spermatozoon in the free proglottis of *Trilocularia acanthiaevulgaris* (Cestoda, Tetraphyllidea). *Parasitology Research*, **75**: 287-298.

Marigo A. M. (2011). Étude ultrastructurale de la spermiogenèse et du spermatozoïde chez les Cestodes. Apports en taxonomie et phylogénie. Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, 273 p.

Marigo A. M., Bâ C. T. & Miquel J. (2011a). Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the dilepidid cestode *Molluscotaenia crassiscolex* (von Linstow, 1890), an intestinal parasite of the common shrew *Sorex araneus*. *Acta Zoologica (Stockholm)*, **92**: 116-125.

Marigo A. M., Delgado E., Torres J., Bâ C. T. & Miquel J. (2012a). Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the bothriocephalidean cestode *Clestobothrium crassiceps* (Rudolphi, 1819), a parasite of the teleost fish *Merluccius merluccius* (Gadiformes : Merlucciidae). *Parasitology Research*, **110 : 19-30**.

Marigo A. M., Eira C., Bâ C. T. & Miquel J. (2011b). Spermatological characters of *Acanthobothrium crassicolle* Wedl, 1855 (Tetraphyllidea, Onchobothriidae), a parasite of the common stingray *Dasyatis pastinaca*. *Acta Parasitologica*, **56**: 191-201.
Marigo A. M., Eira C., Bâ C. T. & Miquel J. (2011c). Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the diphyllidean cestode *Echinobothrium euterpes* (Neifar, Tyler and Euzet 2001) Tyler 2006, a parasite of the common guitarfish *Rhinobatos rhinobatos. Parasitology Research*, **109** : 809-821.

Marigo A. M., Levron C., Bâ C. T. & Miquel J. (2012b). Ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of the proteocephalidean cestode *Barsonella lafoni* De Chambrier *et al.* 2009, a parasite of the catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) (Siluriformes, Clariidae). *Zoologischer Anzeiger*, **251**: 147-159.

Meggit F. J. (1926). On a collection of Burmese Cestode, Parasitology, 18: 232-237.

Meggit F. J. & Subramanian K. (1927). The tapeworm of Rodents of the subfamily Murinae, with special reference to those occuring in Rangoon. *Journal of the Burma Research Society*, **17** : 190-237.

Mettrick D. F. (1961). A new Cestode *Anomotaenia quelea* sp. Nov. from the red-billed quelea, Quelea quelea (L.). *Journal of Natural History* serie 3, Vol. 4, issue 46 : 589-592.

Miquel J. & Marchand B. (1998a). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Anoplocephaloides dentata* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae), an intestinal parasite of Arvicolidae rodents. *Journal of Parasitology*, 84: 1128-1136.

Miquel J. & Marchand B. (1998b). Ultrastructure of the spermatozoon of the bank vole tapeworm, *Paranoplocephala omphalodes* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). *Parasitology Research*, 84: 239-245.

Miquel J., Bâ C. T. & Marchand B. (1997). Ultrastructure of the spermatozoon of *Skrjabinotaenia lobata* (Cyclophyllidea, Catenotaeniidae), intestinal parasite of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia, Muridae). *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, **29 :** 521-526.

Miquel J., Bâ C. T. & Marchand B. (1998). Ultrastructure of spermiogenesis of *Dipylidium caninum* (Cestoda, Cyclophyllidea, Dipylidiidae), an intestinal parasite of *Canis familiaris*. *International Journal for Parasitology*, **28**: 1453-1458.

Miquel J., Eira C., Świderski Z. & Conn D. B. (2007b). *Mesocestoides lineatus* (Goeze, 1782) (Mesocestoididae) : new data on sperm ultrastructure. *Journal of Parasitology*, 93 : 545-552.

Miquel J., Feliu C. & Marchand B. (1999). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mesocestoides litteratus* (Cestoda, Mesocestoididae). *International Journal for Parasitology*, **29 :** 499-510.

Miquel J., Hidalgo C., Feliu C. & Marchand B. (2000). Sperm ultrastructure of *Taenia mustelae* (Cestoda, Taeniidae), an intestinal parasite of the weasel, *Mustela nivalis* (Carnivora). *Invertebrate Reproduction and Development*, **38**: 43-51.

Miquel J., Ndiaye P. I. & Feliu C. (2007a). Crest-like bodies in the spermatozoon of Hymenolepididae cestodes from Iberian rodents. *Revista Ibérica de Parasitología*, **67** : 27-33.

Miquel J., Świderski Z., Foronda P., Torres J. & Feliu C. (2009). Ultrastructure of spermatogenesis of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae) and comparison of spermatological characters in the family Taeniidae Ludwig, 1886. *Acta Parasitologica*, **54** : 230-243.

Miquel J., Świderski Z., Mlocicki D., & Marchand B. (2004). Ultrastructure of the spermatozoon of the Anoplocephalid cestode *Gallegoïdes arfaai* (Mobedi & Ghadirian, 1977) Tenora & Mas-Coma, 1978 an intestinal parasite of the wood mouse (*Apodemus sylvaticus* Linnaeus, 1758) *Parasitology Research*, **94** : 460-467.

Miquel J., Torres J., Foronda P. & Feliu C. (2010). Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the davaineid cestode *Raillietina micracantha* (Fuhrmann, 1909). *Acta Zoologica* (*Stockholm*), **91** : 212-221.

Mokhtar-Maamouri F. (1979). Étude en microscopie électronique de la spermiogenèse et du spermatozoïde de *Phyllobothrium gracile* Weld, 1855 (Cestoda, Tetraphyllidea, Phyllobothriidae). *Zeitschrift für Parasitenkunde*, **59 :** 245-258.

Mokhtar-Maamouri F. (1980). Particularités des processus de la fécondation chez *Acanthobothrium filicolle* Zschokke, 1888 (Cestoda, Tetraphyllidea, Onchobothriidae). *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, **57** : 191-205.

Mokhtar-Maamouri F. & Azzouz-Draoui N. (1990). Spermiogenèse et ultrastructure du spermatozoïde de *Nematotaenia chantalae* Dollfus, 1957 (Cestoda, Cyclophyllidea, Nematotaeniidae). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **65** : 221-228.

Mokhtar-Maamouri F. & Świderski Z. (1975). Étude en microscopie électronique de la spermatogénèse de deux Cestodes *Acanthobothrium filicolle benedenii* Loennberg, 1889 et *Onchobothrium uncinatum* (Rud. 1819) (Tetraphyllidea, Onchobothriidae). Zeitschrift für *Parasitenkunde*, **47** : 269-281.

Moro D. & Hubert B. (1983). Production et consommation de graines en milieu sahélo-Soudanien au Sénégal. Les rongeurs. *Mammalia* : 47 : 37-57

Morseth D. J. (1969). Spermtail finestructure of *Echinococcus granulosus* and *Dicrocoelium dendriticum*. *Experimental Parasitology*, **24** : 47-53.

Ν

Ndiaye P. I., Agostini S., Miquel J. & Marchand B. (2003a). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon in the genus *Joyeuxiella* Fuhrmann, 1935 (Cestoda, Cyclophyllidea, Dipylidiidae) : Comparative analysis of *J. echinorhynchoides* (Sonsino, 1889) and *J. pasqualei* (Diamare, 1893). *Parasitology Research*, **91**: 175-186.

Ndiaye P. I., Miquel J. & Marchand B. (2003b). Ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoa of *Taenia parva* Baer, 1926 (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae), a parasite of the common genet (*Genetta genetta*). *Parasitology Research*, **89**: 34-43.

Ndiaye P. I., Quilichini Y., Bâ A., Bâ C. T., & Marchand B. (2012). Ultrastructural study of the male gamete of *Glossobothrium sp.* (Cestoda : Bothriocephalidea : Triaenophoridae) a parasite of *Schedophilus velaini* (Perciformes : Centrolophidae) in Senegal. *Tissue and Cell*, 44 : 296-300.

Q

Quilichini Y., Foata J., Bâ C. T. & Marchand B. (2007). Ultrastructure of the spermatozoon of *Calliobothrium verticillatum* (Cestoda, Tetraphyllidea, Oncobothriidae). *Acta Parasitologica*, **52**: 219-224.

S

Schmidt G. D. (1986). *CRC Handbook of Tapeworm identification*. CRC Press, Inc., Boca Ratón, Florida, 688 p.

Scholz T. (1977). Life cycle of *B. claviceps*, a specific parasite of eels. *Journal of Helminthology* 71 : 241-248.

Sène A., Bâ C. T. & Marchand B. (1997). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Nomimoscolex* sp. (Cestoda, Proteocephalidea) intestinal parasite of *Clarotes laticeps* (Fish, Teleost) in Senegal. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, **29**: 1-6.

Sène A., Bâ C. T. & Marchand B. (1999). Ultrastructure of spermiogenesis of *Phyllobothrium lactuca* (Cestoda, Tetraphyllidea, Phyllobothriidae). *Folia Parasitologica* (*Praha*), 46: 191-198.

Shi D.Z., Liu D.S., Wang S.K. & Craig P.S. (1994). The ultrastructure of *Echinococcus* multilocularis. Chinese Journal of Parasitic Disease Control, 7: 40-41.

Šípková L., Levron C., Freeman M. & Scholz T. (2010). Spermiogenesis and spermatozoon of the tapeworm *Parabothriocephalus gracilis* (Bothriocephalidea) : Ultrastructural and cytochemical studies. *Acta Parasitologica*, **55**: 58-65.

Šípková L., Levron C., Oros M. & Justine J.-L. (2011). Spermatological characters of Bothriocephalideans (Cestoda) inferred from an ultrastructural study on *Oncodiscus sauridae* and *Senga* sp. *Parasitology Research*, **109** : 9-18.

Spasskii A. A. (1951). Essentials of cestodology. Vol. 1 : Anoplocephalata Tapeworm of Domestic and Wild Animals. Academy of Sciences of the U.S.S.R., Moscow. Translated in English by the Israel Program for Scientific Translations, 1961, 783p.

Stoitsova S. R., Georgiev B. B. & Dacheva R. B. (1995). Ultrastructure of spermiogenesis and the mature spermatozoon of *Tetrabothrius erostris* Loennberg, 1896 (Cestoda, Tetrabothriidae) *International Journal for Parasitology*, **25** : 1427-1436.

Świderski Z. & Mokhtar-Maamouri F. (1980). Étude de la spermatogénèse de *Bothriocephalus clavibothrium* Ariola, 1899 (Cestoda : Pseudophyllidea). Archives de L'Institut Pasteur de Tunis, 57 : 323-347.

Świderski Z. & Subilia L. (1985). Ultrastructure of the spermatozoon of the cestode *Oochoristica agamae* (Cyclophyllidea, Linstowiidae). *Proceedings of the Electron Microscopical Society of South Africa, 24th Annual Conference,* Pietermaritzburg : 185-186.

Świderski Z., Salamatin R. V. & Kornyushin V. V. (2002). Ultrastructure of the spermatozoon of the dilepidide cestode *Kowalewskiella glareola* (Burt, 1940) Lopez-Neyra, 1952. *Proceedings of the 12th Conference of Ukrainian Society of Parasitologists,* Sevastopoul, Crimea : 132.

Świderski Z., Salamatin R. V. & Tkach V. V. (2000). Electron microscopical study of spermatozoa of the cestode *Dilepis undula* (Cyclophyllidea, Dilepididae). *Vestnik Zoologii*, 34 : 3-7.

Т

Tian X., Yuan L., Huo X., Han X., Li Y., Xu M., Lu M., Dai J. & Dong L. (1998a). Ultrastructural observations on the transformation of the spermatozoon in spermatogenesis of taeniid cestodes. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, **16** : 269-273.

Tian X., Yuan L., Li Y., Huo X., Han X., Xu M., Lu M., Dai J. & Dong L. (1998b). Ultrastructural observation on spermatocytogenesis in taeniid cestode. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 16 : 209-212.

V

Vassiliades G. (1980). Helminthes parasites d'Oiseaux du Sénégal. *Bulletin de l'Institut Fondamentale d'Afrique noire*. Série, A. 42 : 122-134.

W

Willms K., Caro J. A. & Robert L. (2003). Ultrastructure of spermatogonia and spermatocyte lobules in *Taenia solium* strobilae (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae) from golden hamsters. *Parasitology Research*, **90**: 479-488.

Willms K., Robert L., Jiménez J. A., Everhart M. & Kuhn R. E. (2004). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon in *Taenia crassiceps* strobilae WFU strain (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae) from golden hamster. *Parasitology Research*, **93**: 262-267.

Y

Yamaguti S. (1952). Studies on the helminth fauna of Japon. XLIX. Cestodes of Fishes. II. *Acta Medica Okayama*, **8** : 1-78.

Yamaguti S. (1959). *Systema helminthum.* The Cestodes of Vertebrates. Volume 2. Interscience Publishers, New York, 860p.

Yoneva A., Georgieva K., Mizinska Y., Georgiev B. B. & Stoitsova S. R. (2006b). Ultrastructure of spermiogenesis and mature spermatozoon of *Skrjabinoporus merops* (Cyclophyllidea, Metadilepididae). *Acta Parasitologica*, **51**: 200-208. Yoneva A., Georgieva K., Mizinska Y., Nikolov P. N., Georgiev B. B. & Stoitsova S. R.
(2010). Ultrastructure of spermiogenesis and mature spermatozoon of *Anonchotaenia globata* (von Linstow, 1879) (Cestoda, Cyclophyllidea, Paruterinidae). *Acta Zoologica (Stockholm)*, 91: 184-192.

Yoneva A., Georgieva K., Nikolov P. N., Mizinska Y., Georgiev B. B. & Stoitsova S. R. (2009). Ultrastructure of spermiogenesis and mature spermatozoon of *Triaenorhina rectangula* (Cestoda : Cyclophyllidea : Paruterinidae). *Folia Parasitologica*, **56 :** 275-283.

Yoneva A., Levron C., Nikolov P. N., Mizinska Y., Mariaux J., & Georgiev B. B. (2012). Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the Paruterinid cestode *Notopentorchis sp.* (Cyclophyllidea) (2012). *Parasitology Research*, 111 : 135-142.

Yoneva A., Miquel J., Świderski Z., Georgieva K., Mizinska Y. & Georgiev B. B. (2006a). Ultrastructure of spermiogenesis and mature spermatozoon of *Angularella beema* (Clerc, 1906) (Cestoda, Cyclophyllidea, Dilepididae). *Acta Parasitologica*, **51** : 264-272.

Yoneva A., Świderski Z., Georgieva K., Nikolov P. N., Mizinska Y. & Georgiev B. B. (2008). Spermiogenesis and sperm ultrastructure of *Valipora mutabilis* Linton, 1927 (Cestoda, Cyclophyllidea, Gryporhynchidae). *Parasitology Research*, **103**: 1397-1405.

ANNEXE : LISTE DES ARTICLES

ARTICLE 1

J. SUBMICROSC. CYTOL. PATHOL., 32 (1), 137-144, 2000

Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Sudarikovina taterae* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of *Tatera gambiana* (Rodentia, Gerbillidae)

A. BÂ, C.T. BÂ and B. MARCHAND*

Laboratory of Parasitology, Department of Animal Biology, Faculty of Sciences, Ch. A. Diop University, Dakar, Senegal; *Arago Laboratory, Ocean Observatory of Banyuls, P. and M. Curie University (Paris 6), CNRS, Banyuls-sur-Mer, France

SUMMARY - The young spermatid of *Sudarikovina taterae* exhibits a nucleus with a partially condensed chromatin and a differentiation zone, bordered by cortical microtubules, delimited at the front by arched membranes and containing two centrioles. The latter are parallel to one another and linked together at their bases by electrondense material. During spermiogenesis, one of the centrioles gives rise to a flagellum whereas the other disappears. Crested-like bodies lie outside the cortical microtubules and the nucleus migrates in the spermatid along the axoneme. At the end of spermiogenesis, the ring of arched membranes constricts and the old spermatid becomes detached from the residual cytoplasm. The *S. taterae* mature spermatozoon is filiform and tapered at both extremities. It exhibits an apical cone of electron-dense material and seven crested-like bodies 50 to 100 nm thick. The cortical microtubules run along the whole length of the spermatozoon. They are spiralized at their anterior extremities and straight over the rest of their length. The nucleus is a fine compact cord interposed between the axoneme and the cortical microtubules. The cytoplasm is slightly electron-dense in regions I and II of the gamete. In regions III, IV and V, it contains fine electron-dense granulations and patches of electron-lucent material. An electrondense material located both between and under centrioles has not been observed before in a platyhelminth. Similarly, distinctive ultrastructural characters between centrioles and seven crested-like bodies have not been previously described in a cestode. Moreover, we report for the first time the existence of cortical microtubules spiralized only at their anterior extremities in a cestode from a mammal.

KEY WORDS ultrastructure - Sudarikovina - Cestoda - Cyclophyllidea - spermiogenesis -Anoplocephalidae

INTRODUCTION

The order Cyclophyllidea comprises 13 families (Schmidt, 1986) among which the Anoplocephalidae that are, at their adult stage, parasites of Reptiles, Birds and Mammals (Yamaguti, 1959; Schmidt, 1986; Khalil *et al.*, 1994). To our knowledge, only 12 anoplocephalidaean species have been up till now the subject of ultrastructural study of spermiogenesis and/or the spermatozoon (Bâ and Marchand, 1998; Sène,

1998). In the present work, we describe the ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Sudarikovina taterae* Hunkeler, 1972.

MATERIALS AND METHODS

The cestodes were gathered live from the intestine of *Tatera* gambiana, then kept in physiological saline solution (9‰ NaCl). Fragments of strobila 3-6 cm long, made up of mature proglottids, were taken and then stretched out with a brush soaked in cold 2.5% glutaraldehyde buffered with 0.1 M sodium cacodylate at pH 7.2. The male genitalia were removed under a binocular microscope, fixed for about 24 h in glutaraldehyde at 4°C, rinsed for one night in sodium cacodylate buffer, postfixed for 1 h with cold 1% osmium tetroxide, dehydrated with ethanol and propylene

Spermiogenesis and spermatozoon of Sudarikovina taterae 137

Mailing address: Dr. Cheikh Tidiane Bâ, Laboratoire de Parasitologie, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Ch. A. Diop, Dakar, Sénégal.

oxide, then embedded in Epon. Ultrathin sections were cut on a Reichert-Jung Ultracut E ultramicrotome, then stained with uranyl acetate and lead citrate. They were examined in a Hitachi H-17 electron microscope.

RESULTS

Spermiogenesis

In Sudarikovina taterae, young spermatids exhibit a nucleus with a partially condensed chromatin and a differentiation zone. This is bordered by cortical microtubules, delimited at the front by arched membranes and contains two centrioles. One of the centrioles (the abortive one) will disorganize, the other (the flagellar one) will give rise to a flagellum. These centrioles are made up of nine doublets of microtubules and linked together by an electron-dense material (Figs. 1 to 4 and 6). They can easily be distinguished from one another. Indeed, the lumen of the flagellar centriole is opacified at its base by a granular material (Figs. 1 to 6) whereas that of the abortive centriole appears clear and exhibits in cross section a central microtubule-like structure (Fig. 6). At the beginning of spermiogenesis, the flagellum directly forms in the differentiation zone (Fig. 1), the nucleus takes a conical shape in the ring of arched membranes (Figs. 2 to 4) and crested-like bodies lie outside the cortical microtubules (Fig. 4). Later, the nucleus undergoes considerable elongation, becomes filiform and migrates into the old spermatid body (Fig. 5). The end of spermiogenesis is marked by a strangulation of the ring of arched membranes followed by a detachment of the old spermatid from the residual cytoplasm (Fig. 5).

Spermatozoon

We were able to distinguish five regions (I-V) from front to back exhibiting distinctive ultrastructural characters.

Region I (Figs. 7, 8, 11, 12 and 15), 0.1 to 0.4 μ m wide, corresponds to the anterior extremity of the gamete. It exhibits an apical cone of electron-dense material, about 0.5 μ m long, a flagellar centriole and seven helicoidal crestedlike bodies. The latter lie outside cortical microtubules, are of different length and vary in thickness from 50 to 100 nm. Thus, in cross section and depending on the level of the section, one to seven crested-like bodies are visible. The axoneme is of the 9 + '1' pattern. It is central, surrounded by a thin layer of slightly electron-dense cytoplasm. The cortical microtubules are electron-lucent centred, spiralized and form in cross and longitudinal sections a continuous layer of electron-dense, sub-membranous material.

Region II (Figs. 8, 12 and 15) is roughly $0.4 \mu m$ wide. It lacks crested like bodies but exhibits a central axoneme sur-

138 BA A., BA C.T. and MARCHAND B.

rounded by a thin layer of slightly electron-dense cytoplasm and spiralized cortical microtubules.

Region III (Figs. 9, 13 and 15) has a maximum width of 0.8 μ m. It is characterized by the presence of a nucleus. This is a compact cord of electron-dense material situated between the axoneme and the cortical microtubules. The cytoplasm is, as in the preceding regions, slightly electron-dense. Nevertheless, it exhibits electron-dense granulations and in places patches of electron-lucent material. The axoneme is eccentric. The cortical microtubules are parallel to the spermatozoon axis.

Region IV (Figs. 9, 10, 13, 14 and 15) is 0.4 to 0.6 μ m wide. It exhibits a central axoneme surrounded by electrondense granulations and patches of electron-lucent material. The cortical microtubules are, as in the preceding region, parallel to the spermatozoon axis.

Region V (Figs. 10, 11, 14 and 15) is 0.1 to 0.3 µm wide. It corresponds to the posterior extremity of the gamete. It is marked by the progressive disorganization of the axoneme. The central element disappears first (Fig. 14) then we see a simplification of the doublets into singlets (Fig. 11). The cytoplasm is slightly electron-dense. It exhibits electrondense granulations and patches of electron-lucent material. The cortical microtubules are still parallel to the spermatozoon axis.

DISCUSSION

To date, spermiogenesis has been described in 20 species of cestodes (Bâ and Marchand, 1998; Miguel et al., 1998; Sène et al., 1999). Nevertheless, no author has ever mentioned distinctive ultrastructural characters between centrioles in spermatids. In the present work, we report for the first time in a cestode the existence of a central microtubule-like structure in the abortive centriole and a granular electron-dense material at the base of the flagellar centriole. An electron-dense material appears on and under centrioles of spermatids of many platyhelminthes (Bâ and Marchand, 1994a, 1998). In the Cyclophyllidea-Anoplocephalidae in particular, we were able to show its appearance in Thysaniezia ovilla (Bâ et al., 1991) and in Mathevotaenia herpestis (Bâ and Marchand, 1994a). In Sudarikovina taterae, this material is both between and under the centrioles. To our knowledge, such a disposition has never been described before in a platyhelminth.

During spermiogenesis in *T. ovilla*, *M. herpestis* and another anoplocephalid, *Aporina delafondi*, we demonstrated previously that one of the centrioles forms a flagellum whereas the other, oriented in a lateral cytoplasmic bud, aborts (Bâ *et al.*, 1991; Bâ and Marchand, 1994*a*,*b*). In *S. taterae*, on the other hand, the two centrioles are parallel to one another.

In the cestodes, the number of crested-like bodies varies according to the species. One, two, three, five, six, eight and



FIGURE 1 Longitudinal section of a differentiation zone (Dz) of a young spermatid. The nucleus (N) is situated outside the ring of arched membranes (Am) and exhibits a partially condensed chromatin. F: flagellum; Fc: flagellar centriole; Cm: cortical microtubules; Im: intercentriolar-dense material. \times 17,000.

FIGURE 2 Longitudinal section of a differentiation zone (Dz) of a young spermatid showing both abortive (Ac) and flagellar (Fc) centrioles. Cm: cortical microtubules; F: flagellum; Im: intercentriolar-dense material; N: nucleus. × 21,000.

FIGURE 3 Longitudinal section of a differentiation zone (Dz) of a young spermatid. At the beginning of its migration, the nucleus (N) forms a cone in the ring of arched membranes (Am), over the centrioles. Cm: cortical microtubules; F: flagellum; Fc: flagellar centriole; Im: intercentriolar-dense material. × 20,000.

 $\label{eq:Figure 4 Longitudinal section of a differentiation zone (Dz) of a spermatid showing crested-like bodies (arrowheads). The nucleus (N) is still above the abortive (Ac) and the flagellar (Fc) centrioles. Am: arched membrane; F: flagellum; Im: intercentriolar-dense material. <math>\times$ 20,000.

Spermiogenesis and spermatozoon of Sudarikovina taterae 139



FIGURE 5 Longitudinal section of a differentiation zone (Dz) of a spermatid during nuclear migration. Am: arched membranes; Cb: crested-like body; Fc: flagellar centriole; F: flagellum; M: mitochondria; N: nucleus. × 15,000.

FIGURE 6 Cross section of a differentiation zone showing both the abortive (Ac) and the flagellar (Fc) centrioles. They are made up of doublets of microtubules (D). Im: intercentriolar-dense material. × 30,000.

FIGURE 7 Longitudinal section of region I of the mature *S. taterae* spermatozoon. Ac: apical cone; Ax: axoneme; Cb: crested-like body; Cm: cortical microtubules; Fc: flagellar centriole. × 20,000.

FIGURE 8 Longitudinal section of regions I and II of the mature S. taterae spermatozoon. Ax: axoneme; Cb: crested-like body; Cm: cortical micro-tubules. \times 20,000.

FIGURE 9 Longitudinal section of regions III and IV of the mature *S. taterae* spermatozoon. Ax: axoneme; Cm: cortical microtubules; N: nucleus; P: patches of electron-lucent material. × 10,000.

140 BÂ A., BÂ C.T. and MARCHAND B.



FIGURE 10 Longitudinal section of regions IV and V of the mature S. taterae spermatozoon. Ax: axoneme; Cm: cortical microtubules; P: patches of electron-lucent material. × 10,000.

FIGURE 11 Cross sections of regions I and V of the mature *S. taterae* spermatozoon. Ax: axoneme; Cb: crested like bodies; Cm: cortical micro-tubules; D: doublet; S: singlet. × 52,500.

FIGURE 12 Cross sections of regions I and II of the mature S. taterae spermatozoon. Ax: axoneme; Cb: crested like body; Cm: cortical micro-tubules. \times 25,000.

FIGURE 13 Cross section of regions III and IV of the mature *S. taterae* spermatozoon. Ax: axoneme; Cm: cortical microtubules, N: nucleus. × 15,000.

FIGURE 14 Cross sections of regions IV and V of the mature S. taterate spermatozoon. The central element of the axoneme has disappeared (arrow-head). × 15,000.

Spermiogenesis and spermatozoon of Sudarikovina taterae 141



FIGURE 15*a-d* Attempted reconstruction of the main stages of spermiogenesis (*a-c*) and the mature spermatozoon (*d*) of *S. taterae*. A: apical cone; Ac: abortive centriole; Am: arched membrane; Ape: axonemal posterior extremity; Ax: axoneme; Cb: crested-like bodies; Cm: cortical micro-tubules; Fc: flagellar centriole; Im: intercentriolar-dense material; N: nucleus; P: patch of electron-dense material.

142 Bâ A., Bâ C.T. and MARCHAND B.

TABLE 1 Variation of the number of crested-like bodies in the cestodes spermatozoon

Order	Family	Genus and species C	Crested-like bodies	References
Pseudophyllidea	Diphyllobothriidae	Duthiersia fimbriata	1	Justine, 1986
		Echinobothrium typus	1	Azzouz-Draoui, 1985
Diphyllidea	Echinobothriidae	E. brachysoma	1	Azzouz-Draoui, 1985
1 Z		E. harfordi	1	Azzouz-Draoui, 1985; Azzouz-Draoui and Mokhtar-Maamouri, 1986
Proteocenhalidea	Proteocephalidae	Sandonella sandoni	1	Bâ and Marchand, 1994 <i>f</i>
roceocephandea	Monticellidae	Nomimoscolex sp.	3	Sène et al., 1997
	Ï	Acanthobothrium filicolle var. benea	leni 1	Mokhtar-Maamouri and Swiderski, 1975
		Onchobothrium uncinatum	1	Mokhtar-Maamouri and Swiderski, 1975
	Onchobothriidae	Acanthobothrium filicolle var. filicol	le 1	Mokhtar-Maamouri, 1979, 1982
Totronhullidaa		Acanthobothrium crassicolle	1	Sène, 1998
retraphymdea		Phyllobothrium gracile	1	Mokhtar-Maamouri, 1979
	Phyllobothriidae	Pseudanthobothrium hanseni	and species Crested-like bodies imbriata 1 ium typus 1 na 1 sandoni 1 iwm uncinatum 1 iwm gracile 1 iwm gracile 1 iwm gracile 1 iwm tumidulum 1 tia chantalae 1 nia hickmani 1 tia chantalae 1 si microstoma 6 enia lobata 2 i 2 fer madagascariensis 2	Mackinnon and Burt, 1984
		Trilocularia acanthiaevulgaris	1	Mahendrasingam et al., 1989
		Rhinebothrium tumidulum	1	Sène, 1998
	Nemetoteoniideo	Nonatotamia chantalas	1	Makhtar Magnouri and Agroug Droopi 1990
	Trematotaemidae	Cylindrotaenia hickmani	1	Jones, 1994
		Ratingunated corrects	6	Bâ and Marchand 1993
	Hymenolenididae	Humenoletis nana	12	Ba and Marchand, 1992
	riymenoiepiendae	H. straminea	8	Bâ and Marchand, 1996
		Vampirolepis microstoma	6	Bâ and Marchand, 1998
	Catenotaeniidae	Skrjabinotaenia lobata	2 .	Miquel <i>et al.</i> , 1997
		Atoming delaboredi	5	Rand Marshand 19964
		Aporina actajonat Thysaniezia ovilla	2	Ba and Marchand, 19940
		Moniezia expansa	2	Bâ and Marchand, 1992c
Cyclophyllidea		M. benedeni	2	Bå and Marchand, 1992c
Cyclophyllidea	Anoplocephalidae	Inermicapsifer guineensis	2	Bâ and Marchand, 1995
	1 I I I I I I I I I I I I I I I I I I I	Inermicapsifer madagascariensis	2	Bâ and Marchand, 1995
		Stilesia globipunctata	1	Bâ and Marchand, 1992b
		Avitellina centripunctata	1	Bâ and Marchand, 1994c
		Mathevotaenia herpestis	1	Bâ and Marchand, 1994 <i>a</i>
		Sudarikovina taterae	7	Present paper
	Dipylidiidae	Dipylidium caninum	1	Miquel and Marchand, 1997
		Raillioting (Raillioting) turatansis	2	Bå and Marchand, 1994d
	Davaineidae	Cotuania polyacantha	2	Bâ and Marchand, 1994a
	1 L/avameluae	Sovagnia poryacantina	2	Da and Iviatenand, 17746

twelve crested-like bodies have been described in 33 species of cestodes belonging to twelve families and five orders (Table 1). *S. taterae* is distinguished from the other cestodes by the presence of seven crested-like bodies.

In the Cyclophyllidea, the nucleus of the mature spermatozoon is wound in a more or less tight spiral around the axoneme. Nevertheless, in a hymenolepidid of birds, *Retinometra serrata* as demonstrated by Bâ and Marchand (1993), as well as in *S. taterae*, it is straight and interposed between the cortical microtubules and the axoneme.

The cortical microtubules of the spermatozoa of all the Cyclophyllidea are spiralized (Justine, 1991). That spiralisa-

Spermiogenesis and spermatozoon of Sudarikovina taterae 143

tion is more or less considerable according to the species. In 10 species of the Cyclophyllidea, *T. ovilla* as shown by Bâ *et al.* (1991), *Hymenolepis nana* by Bâ and Marchand (1992*a*), *Stilesia globipunctata* by Bâ and Marchand (1992*b*), *Moniezia expansa* and *M. benedeni* by Bâ and Marchand (1992*c*), *M. herpestis* by Bâ and Marchand (1994*a*), *A. delafondi* by Bâ and Marchand (1994*b*), *Raillietina (Raillietina) tunetensis* by Bâ and Marchand (1994*d*), *Inermicapsifer guineensis* and *I. madagascariensis* by Bâ and Marchand (1995), the cortical microtubules are spiralized on the whole of their length except at their posterior extremity where they become parallel to the spermatozoon axis. In *S. taterae*, on the other hand, as shown in *R. serrata* by Bâ and Marchand (1993), the cortical microtubules are only spiralized at their anterior extremity.

REFERENCES

- AZZOUZ-DRAOUI N., 1985. Etude ultrastructurale comparée de la spermiogenèse et du spermatozoïde de quatre cestodes Diphyllidea. Thèse de 3^{time} cycle, Tunis, 120 pp.
- AZZOUZ-DRAOUI N. and MOKHTAR-MAAMOURI F., 1986. Ultrastructure comparée de la spermiogenèse et du spermatozoïde de *Echinobothrium affine* Diesing, 1863 et *E. harfordi* Vicar, 1976 (Cestodes, Diphyllidea). *Bull. Soc. Sc. Nat. Tunisie*, **18**, 9-20.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1992*a*. Reinvestigation of the ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Hymenolepis nana* (Cestoda, Cyclophyllidea) parasite of the small intestine of *Rattus rattus. Mol. Reprod. Dev.*, 33, 39-45.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1992b. Ultrastructural particularities of the spermatozoon of *Stilesia globipunctata* (Cestoda) parasite of the small intestine of sheep and goats in Senegal. J. Submicrosc. Cytol. Pathol., 24, 29-34.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1992c. Ultrastructural study of the spermatozoa of *Moniezia expansa* Rudolphi, 1810 and *M. benedeni* Moniez, 1879 (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). Ann. Parasitol. Hum. Comp., 67, 111-115.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1993. Ultrastructure of the *Retinometra serra*ta spermatozoon (Cestoda) intestinal parasite of the turtle-doves in Senegal. J. Submicrosc. Cytol. Pathol., 25, 233-238.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1994*a*, Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mathevotaenia herpestis* (Cestoda) intestinal parasite of *Atelerix albiventris* in Senegal. *Acta Zool.*, 75, 167-175.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1994*b*. Ultrastructure of the spermiogenesis and the spermatozoon of *Aporina delafondi* (Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of turtle-doves in Senegal. *Int. J. Parasitol.*, 24, 225-235.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1994c. Ultrastructure of spermatozoon of Avitellina centripunctata (Cestoda, Cyclophyllidea) a parasite of the small intestine of cattle in Senegal. Acta Zool., 75, 161-166.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1994d. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Raillietina (Raillietina) tunetensis* (Cyclophyllidea, Davaineidae) intestinal parasite of turtle-doves in Senegal. *Int. J. Parasitol.*, 24, 237-248.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1994e. Similitude ultrastructurale des spermatozoïdes de quelques Cyclophyllidea. *Parasite*, 1, 51-55.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1994*f*. Ultrastructure of the spermatozoon of Sandonella sandoni (Cestoda, Proteocephalidea, Sandonellinae) intestinal parasite of *Heterotis niloticus* (Fish, Teleost). Invert. Reprod. Dev., 25, 9-17.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1995. Comparative ultrastructure of the spermatozoa of *Inermicapsifer guineensis* and *I. madagascariensis* (Cestoda, Anoplocephalidae, Inermicapsiferinae) intestinal parasites of rodents in Senegal. *Can. J. Zool.*, 72, 1633-1638.

- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1996. *Hymenolepis straminea* (Cyclophyllidea, Hymenolepididae) intestinal parasite of *Arvicanthis niloticus* in Senegal. *Invert. Reprod. Dev.*, 29, 243-247.
- BÅ C.T. and MARCHAND B., 1998. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Vampirolepis microstoma* (Cestoda, Hymenolepididae) intestinal parasite of *Rattus rattus*. *Microsc. Res. Tech.*, 42, 218-225.
- BÅ C.T., MARCHAND B. and MATTEI X., 1991. Demonstration of the orientation of the Cestodes spermatozoon illustrated by ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of a Cyclophyllidea: *Thysaniezia ovilla*, Rivolta, 1874. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 23, 605-612.
- HUNKELER P., 1972. Les cestodes parasites de petits mammifères (rongeurs et insectivores) de Côte d'Ivoire et de Haute-Volta (note préliminaire). *Bull. Soc. Neuchâtel. Sci. Nat.*, **95**, 121-132.
- JUSTINE J.L., 1986. Ultrastructure of the spermatozoon of the cestode Duthiersia fimbriata Diesing, 1854 (Pseudophyllidea, Diphyllobothriidae). Can. J. Zool., 64, 1545-1548.
- JUSTINE J.L., 1991. Phylogeny of parasitic platyhelminthes: A critical study of synapomorphies proposed on the basis of the ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoa. *Can. J. Zool.*, 69, 1421-1440.
- KHALII, L.F., JONES A. and BRAY R.A., 1994. 'Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates'. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- MACKINNON B.M. and BURT M.D.B., 1984. The comparative ultrastructure of spermatozoa from *Bothrimonus sturionis* Duv., 1842 (Pseudophyllidea), *Pseudanthobothrium hanseni* Baer, 1956 (Tetraphyllidea) and *Monoecocestus americanus* Stiles, 1895 (Cyclo-phyllidea). *Can. J. Zool.*, **62**, 1059-1069.
- MAHENDRASINGAM S., FAIRWEATHER I. and HALTON D.W., 1989. Spermatogenesis and the fine structure of the mature spermatozoon in the free proglottis of *Trilocularia acanthiaevulgaris* (Cestoda, Tetraphyllidea). *Parasitol. Res.*, 75, 287-298.
- MIQUEL J. and MARCHAND B., 1997. Ultrastructure of the spermatozoon of *Dipylidium caninum* (Cestoda, Cyclophyllidea, Dilepididae), an intestinal parasite of *Canis familiaris. Parasitol. Res.*, 83, 349-355.
- MIQUEL J., BÁ C.T. and MARCHAND B., 1997. Ultrastructure of the spermatozoon of *Skrjabinotaenia lobata* (Cyclophyllidea, Catenotaeniidae), intestinal parasite of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia, Muridae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 29, 521-526.
- MIQUEL J., BÂ C.T. and MARCHAND B., 1998. Ultrastructure of spermiogenesis of *Dipylidium caninum* (Cestoda, Cyclophyllidea, Dipylidiidae), an intestinal parasite of *Canis familiaris*. Int. J. Parasitol., 28, 1453-1458.
- MOKHTAR-MAAMOURI F., 1979. Etude en microscopie électronique de la spermiogenèse et du spermatozoïde de *Phyllobothrium gracile* Weld, 1955 (Cestoda, Tetraphyllidea, Phyllobothriidae). Z. Parasitenkd., 59, 245-258.
- MOKHTAR-MAAMOURI F., 1982. Etude ultrastructurale de la spermiogenèse de *Acanthobothrium filicolle* var. *filicolle* Zschokke, 1888 (Cestoda, Tetraphyllidea, Onchobothriidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 5, 429-442.
- MOKHTAR-MAAMOURI F. and AZZOUZ-DRAOUI N., 1990. Etude de la spermiogenèse et de l'ultrastructure du spermatozoïde de *Nematotaenia chanțalae* Dollfus, 1957 (Cestoda, Cyclophyllidea, Nematotaeniidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **65**, 221-228.
- MOKHTAR-MAAMOURI F. and SWIDERSKI Z., 1975. Etude en microscopie électronique de la spermiogenèse de deux cestodes Acanthobothrium filicolle benedeni Lonnberg, 1889 et Onchobothrium uncinatum (Rud., 1819) (Tetraphyllidea, Onchobothriidae). Z. Panasitenkd., 47, 269-281.
- SCHMIDT G.D., 1986. 'Handbook of Tapeworm Identification'. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- SÈNE A., 1998. Etudes morpho-anatomiques et ultrastructurales de quelques Tetraphyllidea parasites de Sélaciens au Sénégal. Thèse de 3^{ème} cycle, Dakar, 93 pp.
- SÈNE A., BÂ C.T. and MARCHAND B., 1997. Ultrastructure of the spermiogenesis and the spermatozoon of *Nomimoscolex* sp. (Cestoda, Proteocephalidea) intestinal parasite of *Clarotes laticeps* (Fish, Teleost) in Senegal. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 29, 115-124.
- SÈNE A., BÂ C.T. and MARCHAND B., 1999. Ultrastructure of spermiogenesis of *Phyllobothrium lactuca* (Cestoda, Tetraphyllidea, Phyllobothriidae). *Folia Parasitol.*, 46, 191-198.
- YAMAGUTI S., 1959. 'Systema Helminthum'. The Cestodes of Vertebrates. Volume 2. Interscience Publishers, New York.

144 BA A., BA C.T. and MARCHAND B.

ARTICLE 2

Ultrastructural study of the spermatozoon of *Echinocotyle* dolosa (Cestoda, Cyclophyllidea, Hymenolepididae)

Aïssatou Bâ¹, Cheikh Tidiane Bâ^{1*} and Bernard Marchand²

¹Laboratory of Parasitology, Department of Animal Biology, Faculty of Sciences, Ch. A. Diop University of Dakar, Dakar, Senegal; ²Laboratory Parasites and Mediterranean Ecosystems, Faculty of Sciences and Techniques, University of Corsica, BP 52, 20250 Corte, France

Abstract

The mature *E. dolosa* spermatozoon exhibits an apical disc of electron-dense material about 0.1 μ m thick and eight helicoidal crested-like bodies roughly 0.1 μ m thick. The latter are of different lengths, spiralized and make an angle of about 40° with the spermatozoon axis. The axoneme is of the 9 + '1' pattern, central in regions I and II, and eccentric in regions III and IV of the gamete. The cortical microtubules are spiralized. The nucleus is a polylobulate compact cord of electron-dense material 0.3–0.7 μ m wide, located in parallel to the axoneme and overpassing the posterior extremity. The cytoplasm contains numerous electron-dense granules in regions III and IV, with an increase in electron-density at the posterior end of sperm. The contour of the regions III and IV of the gamete and also that of the nucleus are irregular and polylobulate. This type of polylobulation has never been described in a cestode. Similarly, an apical disc of electron-dense material has never been observed in a cestode spermatozoon; nor has a nucleus of roughly 0.3–0.7 μ m in diameter been described in the Cyclophyllidea. In addition, we report for the first time the existence of eight crested-like bodies in a cestode of birds.

Key words

Echinocotyle dolosa, Cyclophyllidea, Cestoda, ultrastructure, spermatozoon

Introduction

The order Cyclophyllidea comprises 15 families (Khalil et al. 1994) among them Hymenolepididae, parasites of birds and mammals at their adult stages (Yamaguti 1959, Schmidt 1986). To our knowledge, only five species of the Hymenolepididae have been up until now the subject of ultrastructural study of spermiogenesis and/or the spermatozoon. These are Hymenolepis diminuta (Kelsoe et al. 1977, Robinson and Bogitsh 1978), H. nana (Bâ and Marchand 1992a), H. straminea (Bâ and Marchand 1996), Retinometra serrata (Bâ and Marchand 1993) and Vampirolepis microstoma (Bâ and Marchand 1998). In the present work we describe the ultrastructure of the spermatozoon of the sixth hymenolepidid species, Echinocotyle dolosa.

Materials and methods

The specimens were obtained live from the intestines of *Lonchura cuccullatus, Lonchura malabarica, Lagonosticta senegala, Quelea quelea, Amandava subflava* and *Ploceus cuccullatus.* These birds belong to the order Passeriformes. They were found already dead from bird-sailors houses in Dakar (Senegal). Then, the worms were kept active in physiological saline solution (0.9% NaCl). Portions of strobila 3–6 cm long, made up of mature proglottids, were quickly taken and then stretched out with a brush soaked in cold (4°C) 2.5% glutaraldehyde buffered with a 0.1 M sodium cacodylate solution at pH 7.2. The male genitalia were removed under a binocular microscope, fixed for about 24 h in glutaraldehyde, rinsed for one night in a sodium cacodylate buffere, postfixed

Aïssatou Bá

132

Mi

130

Mi

Mi

Ro

(Ac



with cold 1% osmium tetroxide for 1 h, dehydrated with ethanol and propylene oxide, and then embedded in epon. Ultrathin sections (50–60 nm thick) were cut in a Reichert-Jung ultracut E ultramicrotome, then stained with uranyl acetate and lead citrate. They were examined in a Hitachi H-600 electron microscope at 75 kV.

Results

In the spermatozoon of *Echinocotyle dolosa*, we were able to distinguish five regions (I–V) from front to back exhibiting distinctive ultrastructural characters.

Region I (Figs. 1, 2, 6 and 10) roughly 0.3–0.5 μ m wide, corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon. It exhibits an apical disc of electron-dense material about 0.1 μ m in thickness and eight helicoidal crested-like bodies. The latter lie outside the cortical microtubules, and are of different lengths about 0.1 μ m thick. Thus, in cross-sections, depending on the level of the section, their number varies between 1 to 8. The axoneme is of the 9 + '1' pattern, central and surrounded by a thin layer of slightly electron-dense cytoplasm (Fig. 6). The cortical microtubules are spiralized.

Region II (Figs. 2, 3, 7 and 10) is roughly 0.5 µm wide. It lacks crested-like bodies. As the preceding region it exhibits spiralized cortical microtubules and a central axoneme surrounded by a thin layer of slightly electron-dense cytoplasm.

Region III (Figs. 3, 4, 7 and 10) is beetween 0.5–1.5 µm wide. It is characterized by the presence of an eccentric axoneme in close contact with the helicoidal cortical microtubules. The cytoplasm is slightly electron-dense and contains numerous and small granules of electron-dense material (Fig. 3). Cross-sections exhibit corrugated outlines.

Region IV (Figs. 4, 8 and 10) is between $1.5-1.7 \mu m$ wide. It exhibits a nucleus. This is a cord of electron-dense material roughly $0.3-0.7 \mu m$ thick with corrugated outlines (Fig. 4), located parallelly to the axoneme which it overpasses the posterior extremity (Fig. 8). As the preceding region, the axoneme is eccentric. The cytoplasm is slightly electron-dense and contains numerous and small granules of electron-dense material. The cortical microtubules are spiralized. The nucleus and the cross-sections exhibit undulating outlines.

Region V (Figs. 5, 9 and 10) is between 0.2–1.7 µm wide. It corresponds to the posterior extremity of the gamete. It lacks an axoneme and crested-like bodies. Nevertheless, the cytoplasm exhibits numerous small electron-dense granules and a posterior densification (Fig. 5). The cortical microtubules are still spiralized.



Figs. 1–5. Longitudinal section of regions I–V of the mature *Echinocotyle dolosa* spermatozoon: 1 – region I, (\times 5,600); 2 – regions I and II, (\times 28,000); 3 – regions II and III, (\times 70,000); 4 – regions III and IV, (\times 15,500); 5 – region V, (\times 53,000). Figs. 6–9. Cross-section of regions I–V of the mature *E. dolosa* spermatozoon: 6 – region I, (\times 21,600). Different number of crested-like bodies can be seen depending on the level of the section (arrow-heads); 7 – regions II and III, (\times 36,000); 8 – region IV, (\times 14,600); 9 – region V, (\times 14,000). Fig. 10. Attempted reconstitution of the mature spermatozoon. To make the diagram clearer, the spiral coil around the axoneme of the cortical microtubules has not been shown. Key to abbreviations used in all figures: Aae – axonemal anterior extremity, Ad – apical disc, Ape – axonemal posterior extremity, Ax – axoneme, Cb – crested-like body, Cm – cortical microtubule, Ct – cytoplasm, D – posterior densification, Dm – posterior electron-dense material, G – electron-dense granule, N – nucleus

Family	Species	Apical cone		Crested-like body		Nucleus	References	
		length (µm)	width at the base (µm)	no.	thickness (µm)	angle of spiralization	width (µm)	
Anoplocephalidae	Aporina delafondi	0.30	0.15	5	15-40	-	-	Bâ and Marchand 1994a
	Thysaniezia ovilla	0.6	0.2	2	80	40–50°	-	Bâ et al. 1991
	Moniezia expansa	1	0.25	2	30-60	40°	-	Bâ and Marchand 1992c
	Moniezia benedeni	1	0.25	2	30-40	40°	-	Bâ and Marchand 1992c
	Inermicapsifer guineensis	-	0.15	2	-	-	10–75	Bâ and Marchand 1995
	Inermicapsifer madagascariensis	-	0.20	2	-	-	30-150	Bâ and Marchand 1995
	Stilesia globipunctata	1.25	0.5	1	-	50°	-	Bâ and Marchand 1992b
	Avitellina centripunctata	0.7	0.3	1	150-200	35°	-	Bâ and Marchand 1994b
	Mathevotaenia herpestis	-	0.1	1	-	=	-	Bâ and Marchand 1994c
	Anoplocephaloides dentata	1.40	0.35	2	140	-	-	Miquel and Marchand 1998
	Paranoplocephala omphalodes	0.90	0.20	2	180	-	-	Miquel and Marchand 1998
	Sudarikovina taterae	0.5	0.1	7	50-100	-	_	Bâ et al. 2000
Mesocestoididae	Mesocestoides litteratus	-	-	1	100–150	0°	-	Miquel et al. 1999
Dipylidiidae	Dipylidium caninum	0.6	0.4	1	150	40°	-	Miquel and Marchand 1997 Miquel et al. 1998
Davaineidae	Raillietina (R.) tunetensis	Ξ.	0.3	2	100-200	-		Bâ and Marchand 1994d
	Cotugnia polyacantha	-	0.1	2	-	-	-	Bâ and Marchand 1994e
Catenotaeniidae	Catenotaenia pusilla	1.75	0.225	2	75	40°	-	Hidalgo et al. 2000
	Skrjabinotaenia lobata	2.5	0.20	2	-	-	-	Miquel et al. 1997
Taeniidae	Taenia mustelae	1.9	0.25	1	75	-	-	Miquel et al. 2000
Hymenolepididae	Retinometra serrata	0.5	0.35	6		-	-	Bâ and Marchand 1993
	Hymenolepis nana	-	0.25	12	-	-	_	Bâ and Marchand 1992a
	Hymenolepis straminea	0.75	0.1	8	50-100	-		Bâ and Marchand 1996
	Vampirolepis microstoma	-	-	6	100-200	-	-	Bâ and Marchand 1998
	Echinocotyle dolosa	0.1	0.3	8	100	40°	300-1000	Present paper

Table I. Comparison of some morphometric characters of the apical cone, the crested-like body and the nucleus in the spermatozoa of th Cyclophyllidea. The sign '-' indicates a lack of information on the considered character

Discussion

The crested-like body or bodies always indicate the anterior extremity of the cestode spermatozoon (Bâ *et al.* 1991). Consequently, the extremity with crested-like bodies of the *E. dolosa* spermatozoon corresponds to its anterior extremity and the one without crested-like bodies to its posterior extremity.

One, two, three, five, six, seven, eight and twelve crestedlike bodies have been described in the spermatozoa of 39 cestode species spread over 32 genera 14 families and 5 orders (Bâ *et al.* 2000, Miquel *et al.* 2000). In *E. dolosa*, we counted eight crested-like bodies as in Hymenolepis straminea parasitic of the rodent Arvicanthis niloticus.

An apical cone of electron-dense material of different lengths has been described in the front of the spermatozoon of 23 Cyclophyllidea (Table I). The *E. dolosa* spermatozoon is distinguished by its apical electron-dense material which forms a disc of about 0.1 μ m long and 0.3 μ m wide.

In the Cyclophyllidea, the number, thickness and angle of spiralization of crested-like bodies in the spermatozoa vary according to the species (Table I). In *E. dolosa*, they are 8, roughly 100 nm thick and 40° with the spermatozoon axis.

The nucleus of the spermatozoon of most of the Cyclophyllidea (Swiderski 1970, Swiderski and Mokhtar-Maamouri 1980, Bâ and Marchand 1994d, Bâ et al. 2000, Miquel et al. 2000) exhibits a longitudinal groove containing the flagellum. Therefore, in cross-section it usually appears crescent-shaped. However, the nucleus of the Mathevotaenia herpestis (Bâ and Marchand 1994c) is very flattened and may completely envelop the axoneme. In this case, it has an annular cross-section. In Raillietina (R.) tunetensis (Bâ and Marchand 1994d), Cotugnia polyacantha (Bâ and Marchand 1994e), Hymenolepis straminea (Bâ and Marchand 1996), Skrjabinotaenia lobata (Miquel et al. 1997), Taenia mustelae (Miquel et al. 2000) and Catenotaenia pusilla (Hidalgo et al. 2000), the nucleus envelops the axoneme even more completely, coiling round it once or twice. In the particular cases of Retinometra serrata (Bâ and Marchand 1993) and Sudarikovina taterae (Bâ et al. 2000), the nucleus is straight and interposes itself between the axoneme and the cortical microtubules. In cross-section, it is horse-shoe shaped in R. serrata and more or less circular in S. taterae. In E. dolosa, the nucleus runs alongside the axoneme and does not coil around it. Unlike, in the other cestodes, the nucleus is polylobulate with an irregular contour with a diameter varying from 0.3 to 0.7 µm. To our knowledge, such a nuclear size has never been described before in a Cyclophyllidea.

The cestode spermatozoon, seen in cross-section, reveals a more or less regular outline (Bâ and Marchand 1992a, b, 1993, 1994a-f, 1995, 1996, 1998; Bâ *et al.* 1991, 2000), contrary to that of the *E. dolosa* spermatozoon which appears rather corrugated-shaped with irregular contours notably in the regions III and IV, which was so far never observed.

References

- Bâ C.T., Marchand B. 1992a. Reinvestigation of the ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Hymenolepis nana* (Cestoda, Cyclophyllidea) parasite of the small intestine of *Rattus rattus*. *Molecular Reproduction and Development*, 33, 39–45.
- Bå C.T., Marchand B. 1992b. Ultrastructural particularities of the spermatozoon of *Stilesia globipunctata* (Cestoda) parasite of the small intestine of sheep and goats in Senegal. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 24, 29–34.
- Bâ C.T., Marchand B. 1992c. Ultrastructural study of the spermatozoa of *Moniezia expansa* and *M. benedeni* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 67, 111–115.
- Bâ C.T., Marchand B. 1993. Ultrastructure of the *Retinometra ser*rata spermatozoon (Cestoda) intestinal parasite of turtledoves in Senegal. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 25, 233–238.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994a. Ultrastucture of spermiogenesis and the spermatozoon of *Aporina delafondi* (Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of turtle-doves in Senegal. *International Journal for Parasitology*, 24, 225–235.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994b. Ultrastructure of the spermatozoon of Avitellina centripunctata (Cestoda, Cyclophyllidea), a parasite of the small intestine of cattle in Senegal. Acta Zoologica, 75, 161–166.

- Bâ C.T., Marchand B. 1994c. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mathevotaenia herpestis* (Cestoda) intestinal parasite of *Atelerix albiventris* in Senegal. *Acta Zoologica*, 75, 167–175.
- Ba C.T., Marchand B. 1994d. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Raillietina (Raillietina) tunetensis* (Cyclophyllidea, Davaineidae) intestinal parasite of turtledoves in Senegal. *International Journal for Parasitology*, 24, 237–248.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994e. Similitude ultrastructurale des spermatozoides de quelques Cyclophyllidea. *Parasite*, 1, 51–55.
- Bå C.T., Marchand B. 1994f. Ultrastructure of the spermatozoon of Sandonella sandoni (Cestoda, Proteocephalidea, Sandonellinae) intestinal parasite of Heterotis niloticus (fish, teleost.). Invertebrate Reproduction and Development, 25, 9–17.
- Bå C.T., Marchand B. 1995. Comparative ultrastructure of the spermatozoa of *Inermicapsifer guineensis* and *I. madagascarien*sis (Cestoda, Anoplocephalidae, Inermicapsiferinae) intestinal parasites of rodents in Senegal. *Canadian Journal of Zoology*, 72, 1633–1638.
- Bâ C.T., Marchand B. 1996. Ultrastructure of the spermatozoon of *Hymenolepis straminea* (Cyclophyllidea, Hymenolepididae) intestinal parasite of *Arvicanthis niloticus* (Rodentia) in Senegal. *Invertebrate Reproduction and Development*, 29, 243–247.
- Bâ C.T., Marchand B. 1998. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Vampirolepis microstoma* (Cestoda, Hymenolepididae) intestinal parasite of *Rattus rattus*. *Microscopy Research and Technique*, 42, 218–225.
- Bâ A., Bâ C.T., Marchand B. 2000. Utrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Sudarikovina taterae* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of *Tatera gambiana* (Rodentia, Gerbillidae) in Senegal. *Journal* of Submicroscopic Cytology and Pathology, 32, 137–144.
- Bâ C.T., Marchand B., Mattei X. 1991. Demonstration of the orientation of the cestodes spermatozoon illustrated by the ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of a Cyclophyllidea: *Thysaniezia ovilla*, Rivolta, 1874. *Journal* of Submicroscopic Cytology and Pathology, 23, 605–612.
- Hidalgo C., Miquel J., Torres J., Marchand B. 2000. Ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of *Catenotaenia pusilla*, an intestinal parasite of *Mus musculus*. *Journal of Helminthology*, 74, 73–81.
- Kelsoe G.H., Ubelaker J.E., Allison V.F. 1977. The fine structure of spermiogenesis in *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) with of a description of the mature spermatozoon. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 54, 175–187.
- Khalil I.F., Jones A., Bray R.A. 1994. Keys to the cestodes parasites of vertebrates. CAB International, Wallingford, U.K.
- Miquel J., Marchand B. 1997. Ultrastructure of the spermatozoon of Dipylidium caninum (Cestoda, Cyclophyllidea, Dilepididae), an intestinal parasite of Canis familiaris. Parasitology Research, 83, 349–355.
- Miquel J., Marchand B. 1998a. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of Anoplocephaloides dentata, an intestinal parasite of Mus musculus. Journal of Parasitology, 84, 1128–1136.
- Miquel J., Marchand B. 1998b. Ultrastructure of the spermatozoon of the bank vole tapeworm, *Paranoplocephala omphalodes* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). *Parasitology Research*, 84, 239–245.
- Miquel J., Bâ C.T., Marchand B. 1997. Ultrastructure of the spermatozoon of Skrjabinotaenia lobata (Cyclophyllidea, Catenotaeniidae), intestinal parasite of Apodemus sylvaticus (Rodentia, Muridae). Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology, 29, 521–526.

- Miquel J., Bâ C.T., Marchand B. 1998. Ultrastructure of spermiogenesis of *Dipylidium caninum* (Cestoda, Cyclophyllidea, Dipylidiidae), an intestinal parasite of *Canis familiaris*. *International Journal for Parasitology*, 28, 1453–1458.
- Miquel J., Feliu C., Marchand B. 1999. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mesocestoides litteratus* (Cestoda, Mesocestoididae). *International Journal for Parasitology*, 29, 499–510.
- Miquel J., Hidalgo C., Feliu C., Marchand B. 2000. Sperm ultrastructure of *Taenia mustelae* (Cestoda, Taeniidae), an intestinal parasite of the weasel, *Mustela nivalis* (Carnivora). *Invertebrate Reproduction and Development*, 38, 43–51.
- Robinson J.M., Bogitsh B.J. 1978. A morphological and cytochemical study of sperm development in *Hymenolepis diminuta*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 56, 81–92.

(Accepted April 2, 2002)

- Schmidt G.D. 1986. Handbook of tapeworm identification. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Swiderski Z. 1970. An electron microscope study of spermatogenesis in cyclophyllidean cestodes with emphasis on the comparison of fine structure of mature spermatozoa. *Journal of Parasitology*, 56, 337–338.
- Swiderski Z., Mokhtar-Maamouri F. 1980. Etude de la spermatogenèse de Bothriocephalus clavibothrium Ariola 1899 (Cestoda, Pseudophyllidea). Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 57, 323–347.
- Yamaguti S. 1959. Systema helminthum. Vol. 2. The cestodes of vertebrates. Interscience Publishers, New York.

ARTICLE 3

ORIGINAL PAPER

Cheikh Tidiane Bâ · Aïssatou Bâ · Bernard Marchand

Ultrastructure of the spermatozoon of *Raillietina* (*Raillietina*) *baeri* (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of the multimammate rat, *Mastomys huberti* (Rodentia, Muridae)

Received: 31 January 2005 / Accepted: 14 April 2005 / Published online: 30 June 2005 © Springer-Verlag 2005

Abstract The mature Raillietina (Raillietina) baeri spermatozoon exhibits an apical cone of electron-dense material about 2.5 µm long and 0.5 µm wide and two helicoidal crest-like bodies roughly 100-125 nm thick. The latter are of different lengths, spiralized and stand in an angle of about 50° with the spermatozoon axis. The axoneme is of the 9 + "1" pattern and does not reach the posterior extremity of the gamete. The nucleus is an electron-dense cord coiled in a spiral around the axoneme. The cytoplasm exhibits a posterior densification and contains few small electron-dense granules in regions I, II and V of the spermatozoon. In regions III and IV, it is divided into irregular compartments by walls of electrondense material. The cortical microtubules are spiralized and make an angle of 40–50° to the spermatozoon axis. In this work, we describe, for the first time, a spermatozoon of a davaineidaean cestode parasitic of mammals. This has enabled us to show a wide apical cone, which has never been described before in a cyclophyllidean species the spermatozoon of which has two crest-like bodies.

Keywords Ultrastructure · Spermatozoon · *Raillietina* · Cyclophyllidea · Davaineidae

Introduction

The order Cyclophyllidea comprises 15 families (Khalil et al. 1994) among which the Davaineidae which are parasites of birds and mammals at their adult stages

B. Marchand

Laboratory Parasites and Mediterranean Ecosystems, Faculty of Sciences and Techniques, University of Corsica Pascal Paoli, B.P. 52, 20250 Corte, France (Yamaguti 1959; Schmidt 1986). To our knowledge, only two species of Davaineidae belonging to two genera, both parasitic of birds, have been up until now the subject of ultrastructural study of spermiogenesis and/or the spermatozoon, up till now. These are *Cotugnia polyacantha* (Bâ and Marchand 1994a) and *Raillietina* (*Raillietina*) tunetensis (Bâ and Marchand 1994b). In the present work, we describe the ultrastructure of the spermatozoon of *Raillietina* (*Raillietina*) baeri. The latter was previously reported in Burma and Africa from the rodents, *Mus coucha* and *Rattus rattus* (Meggitt and Subramanian 1927; Schmidt 1986).

Materials and methods

The specimens of Raillietina (Raillietina) baeri (Meggitt and Subramanian 1927) were gathered live from the small intestine of Mastomys huberti (Rodent) collected in Richard-Toll, North Senegal. Then, the worms were kept active in physiological saline solution (0.9 %)NaCl). Portions of strobila 3-6 cm long, made up of mature proglottids, were quickly taken and then stretched out with a brush soaked in cold (4°C) 2.5% glutaraldehyde buffered with 0.1 M sodium cacodylate solution at pH 7.2. The male genitalia were removed under a binocular microscope, fixed for about 24 h in glutaraldehyde, rinsed for one night in a sodium cacodylate buffer, postfixed with cold 1% osmium tetroxide for 1 h, dehydrated with ethanol and propylene oxide, and then embedded in epon. Ultrathin sections (50-60 nm thick) were cut on a LKB Ultramicrotome with diamond knife, then stained with uranyl acetate and lead citrate. They were examined in a Hitachi H-600 electron microscope at 75 kV.

Results

The mature *Raillietina* (*Raillietina*) baeri spermatozoon has no mitochondria, is filiform and tapered at both

C. T. Bâ (⊠) · A. Bâ

Laboratory of Parasitology, Department of Animal Biology, Faculty of Sciences, Cheikh Anta Diop University of Dakar, Dakar, Senegal E-mail: cheikhtidianeba1@yahoo.fr Fax: +221-824-6318



Fig. 1-10 scale bars = $0.5 \ \mu m$

Fig. 1-7 Longitudinal sections of regions I–V of the mature *Raillietina (Raillietina) baeri* spermatozoon

Fig. 1 Region I showing the apical cone and the crest-like bodies of electron-dense material

Fig. 2 Region I showing the crest-like bodies (Cb) wound in a spirale around the cortical microtubules (Cm). A axoneme; C centriole

Fig. 3 Regions I and II. Cb crest-like body

Fig. 4 Regions II and III. W intracytoplasmic wall of electrondense material

Fig. 5 Regions III and IV. A axoneme; Sh periaxonemal sheath of

electron-dense material; W intracytoplasmic wall of electron-dense material

Fig. 6 Regions IV and V. A axoneme; N nucleus

Fig. 7 Region V. G electron-dense granule

Fig. 8-10 Cross sections of regions I–III of the mature *Raillietina* (*Raillietina*) baeri spermatozoon

Fig. 8 Region I showing one (*Cb*) and two crest-like bodies (arrowheads). *Cm* cortical microtubules

Fig. 9 Region II. Sh periaxonemal sheath of electron-dense material

Fig. 10 Region III. Sh periaxonemal sheath of electron-dense material; W intracytoplasmic wall of electron-dense material



Fig. 11 Attempted reconstruction of the mature spermatozoon. Ax axoneme, Aae axonemal anterior extremity, Ac apical cone, Ape axonemal posterior extremity, Ase anterior spermatozoon extremity, C centriole; Cb crest-like body, Cm cortical microtubule, G electron-dense granule, N nucleus, Ps periaxonemal sheath of

ends (Figs. 1, 7 and 11). Five regions (I–V) could be distinguished from front to back exhibiting distinctive ultrastructural characters.

Region I (Figs. 1, 2, 3, 8, 11) varies in width from 0.2 to 0.5 μ m. It corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon. It exhibits an apical cone of slightly electron-dense material about 2.5 μ m long and 0.5 μ m wide at its base, and two helicoidal crest-like bodies of about 100 nm thick. The latter lie outside the cortical microtubules and are of different lengths. Thus, in cross-sections, depending on the level of the section, their number varies between 1 and 2 (Fig. 8). The axoneme is of the 9 + "1" pattern and central. It

Families	Genus and species		Crest-like body			one	
			Angle of spiralization	Thickness (nm)	Length (µm)	Width (µm)	References
Anoplocephalidae	Anoplocephaloides dentata	2	_	140	1.40	0.35	Miquel and Marchand (1998a)
	Aporina delafondi	5	_	15-40	0.3	0.15	Bâ and Marchand. (1994b)
	Avitellina centripunctata	1	35°	150-200	0.7	0.3	Bâ and Marchand (1994a)
	Inermicapsifer guineensis	2	_	_	_	0.15	Bâ and Marchand (1995)
	Inermicapsifer madagascariensis	2	_	_	_	0.20	Bâ and Marchand (1995)
	Moniezia benedeni	2	40°	30-60	1	0.25	Bâ and Marchand (1992b)
	Mathevotaenia herpestis	1	_	_	-	0.1	Bâ and Marchand (1994e)
	Moniezia expansa	2	40°	30-60	1	0.25	Bâ and Marchand (1992b)
	Paranoplocephala omphalodes	2	-	180	0.90	0.20	Miquel and Marchand (1998b)
	Stilesia globipunctata	1	50°	_	1.25	0.5	Bâ and Marchand (1992c)
	Sudarikovina taterae	7	_	50-100	0.5	0.1	Bâ et al. (2000)
	Thysaniezia ovilla	2	40-50°	80	0.6	0.2	Bâ et al. (1991)
Catenotaeniidae	Catenotaenia pusilla	2	40°	75	1.75	0.225	Hidalgo et al. (2000)
	Skrjabinotaenia lobata	2	_		2.5	0.20	Miquel et al. (1997)
Davaineidae	Cotugnia polyacantha	2	_	_	_	0.1	Bâ and Marchand (1994f)
	Raillietina (Raillietina) baeri	2	50°	100-125	2.5	0.5	Present work
	Raillietina (Raillietina) tunetensis	2	_	100-200	_	0.3	Bâ and Marchand (1994d)
Dipylidiidae	Dipylidium caninum	1	40°	150	0.6	0.4	Miquel et al. (1998)
Hymenolepididae	Echinocotyle dolosa	8	40°	100	0.1	0.3	Bâ et al. (2002)
	Hymenolepis straminea	8	_	50-100	0.75	0.1	Bâ and Marchand (1996)
	Hymenolepis nana	12	_	_	_	0.25	Bâ and Marchand (1992a)
	Retinometra serrata	6	_	_	0.5	0.35	Bâ and Marchand (1993)
	Vampirolepis microstoma	6	_	100-200	_	_	Bâ and Marchand (1998)
Mesocestoidae	Mesocestoides litteratus	1	20°	100-150	_	_	Miquel et al. (1999)
Taeniidae	Taenia mustelae	1	_	75	1.9	0.25	Miquel et al. (2000)
	Taenia parva	1	_	60	1.9	0.225	Ndiaye et al. (2003)

Table 1 Comparison of few characters of the crest-like body and the apical cone of the Cyclophyllidea spermatozoon

"-" indicates luck of information on the considered character. n number of crest-like bodies

is surrounded by a sheath of electron-dense material and a thin layer of slightly electron-dense cytoplasm that contains some scarce granules of electron-dense material (Fig. 8). The cortical microtubules are spiralized and appear in longitudinal and transverse sections in the form of a layer of continous dense material in close contact with the plasma membrane (Figs. 2–10).

Region II (Figs. 3, 4, 9, 11) is roughly 0.5 μ m wide. It lacks crest-like bodies. As the preceeding region it exhibits spiralized cortical microtubules and a central axoneme surrounded by a sheath of electron-dense material (Fig. 9). The cytoplasm contains few small granules of electron-dense material.

Region III (Figs. 4, 5, 10, 11) is roughly 0.5 μ m in width. The axoneme is central and surrounded by a sheath of electron-dense material and a lucent cytoplasm (Fig. 5).The latter is divided into compartments by irregularly spaced partitions of electron-dense material which join the periaxonemal sheath of electron-dense material to the cortical microtubules (Figs. 5, 10).

Region IV (Figs. 5, 6, 11) is 0.6 μ m wide at the most. It is characterized by the presence of a nucleus. This is a fine compact cord of elecron-dense material about 50–100 nm thick, coiled in a helix around the axoneme

(Figs. 5, 6). In the cross section, depending on the level where the section is cut, it envelops partially or entirely the axoneme. The cytoplasm is slightly electron-dense and contains numerous walls of electron-dense material between the peri-axonemal sheath and the spiralized cortical microtubules (Fig. 5).

Region V (Figs. 6, 7, 11) is between 0.1 μ m and 0.3 μ m wide. It corresponds to the posterior end of the gamete. It lacks an axoneme and crest-like bodies. Nevertheless, the cytoplasm exhibits numerous and small granules of electron-dense material and a posterior densification (Figs. 7, 11). The cortical microtubules are still spiralized.

Discussion

The crest-like body (or bodies), if it exists, always indicates the anterior extremity of the Eucestodes spermatozoon (Bâ et al. 1991). Consequently, the extremity with crest-like bodies of the *Raillietina* (*Raillietina*) baeri spermatozoon corresponds to its anterior extremity, and the extremity without crest-like bodies to its posterior extremity.

One, 2, 5, 6-8 and 12 crest-like bodies of different thicknesses have been described in the spermatozoa of

25 cyclophyllidean species spread over 21 genera and 7 families (Table 1).

The angle of spiralization of crest-like bodies in the cestodes spermatozoon varies according to the species (Table 1). It has been estimated at 20° in *Mesocestoides litteratus* (Miquel et al. 1999), 35° in *Avitellina centripunctata* (Bâ and Marchand 1994a), 40° in *Moniezia expansa* and *M. benedeni* (Bâ and Marchand 1992b), *Dipylidium caninum* (Miquel et al. 1998), *Catenotaenia pusilla* (Hidalgo et al. 2000) and *Echinocotyle dolosa* (Bâ et al. 2002), and between 40° and 50° in *Thysaniezia ovilla* (Bâ et al. 1991). It is about 50° in *Raillietina* (Raillietina) baeri as well as in *Stilesia globipuntata* (Bâ and Marchand 1992c).

The thickness of crest-like body or bodies also varies according to the cestode species (Table 1). It has been evaluated at 15-40 nm in Aporina delafondi (Bâ and Marchand 1994b), 30–40 nm and 30–60 nm in Moniezia expansa and M. benedeni respectively (Bâ and Marchand 1992b), 75 nm in Catenotaenia pusilla (Hidalgo et al. 2000) and Taenia mustelae (Miquel et al. 2000), 80 nm in Thysaniezia ovilla (Bâ et al. 1991), 50-100 nm in Sandonella sandoni (Bâ and Marchand 1994c), Sudarikovina taterae (Bâ et al. 2000) and Hymenolepis straminea (Bâ and Marchand 1996), 140 nm in Anoplocephaloides dentata (Miquel and Marchand 1998a), 150 nm in Dipylidium caninum (Miquel et al. 1998), 180 nm in Paranoplocephala omphalodes (Miquel and Marchand 1998b), 100 to 150 nm in Mesocestoides litteratus (Miguel et al. 1999), 100-200 nm in Raillietina (Raillietina) tunetensis (Bâ and Marchand 1994d) and Vampirolepis microstoma (Bâ and Marchand 998), 150-200 nm in Avitellina centripunctata (Bâ and Marchand 1994a). It is between 100-125 nm in Raillietina (Raillietina) baeri

An apical cone has been described in the front of the spermatozoon of 25 cyclophyllidean cestodes (Table 1). Its length varies between 0.1 and 2.5 μ m and its width is from 0.1 μ m to 0.5 μ m (Bâ et al. 2002). In *Raillietina* (*Raillietina*) baeri, the apical cone is about 2.5 μ m long and 0.5 μ m wide at its base. To our knowledge, an apical cone of such a width has never been described before in a cyclophyllidean species the spermatozoon of which has two crested-like bodies (Table 1).

The width of the nucleus varies according to the cestode species. It has been estimated between 10 nm to 75 nm in *Inermicasifer guineensis* (Bâ and Marchand 1995), 30–150 nm in *I. madagascariensis* (Bâ and Marchand 1995) and 300–700 nm in *Echinocotyle dolosa* (Bâ et al. 2002). In *Raillietina (Raillietina) baeri*, it measures between 50 nm to 100 nm width.

References

Bâ CT, Marchand B (1992a) Reinvestigation of the ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Hymenolepis nana* (Cestoda, Cyclophyllidea) parasite of the small intestine of *Rattus rattus*. Mol Reprod Dev 33:39–45

- Bâ CT, Marchand B (1992b) Ultrastuctural study of the spermatozoa of *Moniezia expansa* Rudolphi, 1810 and *M. benedeni* Moniez, 1879 (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). Ann Parasitol Hum Comp 67:111–115
- Bâ CT, Marchand B (1992c) Ultrastructural particularities of the spermatozoon of *Stilesia globipunctata* (Cestoda) parasite of the small intestine of sheep and goats in Senegal. J Submicrosc Cytol Pathol 24:29–34
- Bâ CT, Marchand B (1993) Ultrastructure of the *Retinometra* serrata spermatozoon (Cestoda) intestinal parasite of the turtledoves in Senegal. J Submicrosc Cytol Pathol 25:233–238
- Bâ CT, Marchand B (1994a) Ultrastructure of spermatozoon of Avitellina centripunctata (Cestoda, Cyclophyllidea) a parasite of the small intestine of cattle in Senegal. Acta Zool 7:161–166
- Bâ CT, Marchand B (1994b) Ultrastructure of the spermiogenesis and the spermatozoon of *Aporina delafondi* (Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of turtle-doves in Senegal. Int J Parasitol 24:225–235
- Bâ CT, Marchand B (1994c) Ultrastructure of the spermatozoon of *Sandonella sandoni* (Cestoda, Proteocephalidea, Sandonellinae) intestinal parasite of *Heterotis niloticus* (Fish, Teleost.). Inv Reprod Dev 25:9–17
- Bâ CT, Marchand B (1994d) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Raillietina (Raillietina) tunetensis* (Cyclophyllidea, Davaineidae) intestinal parasite of turtle-doves in Senegal. Int J Parasitol 24:237–248
- Bâ CT, Marchand B (1994e) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mathevotaenia herpestis* (Cestoda) intestinal parasite of *Atelerix albiventris* in Senegal. Acta Zool 75:167–175
- Bâ CT, Marchand B (1994f) Similitude ultrastructurale des spermatozoïdes de quelques Cyclophyllidea. Parasite 1:51–55
- Bâ CT, Marchand B (1995) Comparative ultrastructure of the spermatozoa of *Inermicapsifer guineensis* and *I. madagascariensis* (Cestoda, Anoplocephalidae, Inermicapsiferinae) intestinal parasites of rodents in Senegal. Can J Zool 72:1633–1638
- Bâ CT, Marchand B (1996) *Hymenolepis straminea* (Cyclophyllidea, Hymenolepididae) intestinal parasite of *Arvicanthis niloticus* in Senegal. Inv Reprod Dev 9:243–247
- Bâ CT, Marchand B (1998) ltrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Vampirolepis microstoma* (Cestoda, Hymenolepididae) intestinal parasite of *Rattus rattus*. Microsc Res Technique 42:218–225
- Bâ CT, Marchand B, Mattei X (1991) Demonstration of the orientation of the Cestodes spermatozoon illustrated by ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of a Cyclophyllidea: *Thysaniezia ovilla*, Rivolta, 1874. J Submicrosc Cytol Pathol 23:605–612
- Bâ A, Bâ CT, Marchand B (2000) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Sudarikovina taterae* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae), intestinal parasite of *Tatera gambiana* (Rodentia, Gerbillidae) in Senegal. J Submicrosc Cytol Pathol 32:137–144
- Bâ A, Bâ CT, Marchand B (2002) Ultrastructural study of the spermatozoon of *Echinocotyle dolosa* (Cestoda, Cyclophyllidea, Hymenolepididae). Acta Parasitol 47:131–136
- Hidalgo C, Miquel J, Torres J, Marchand B (2000) Ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of *Catenotaenia pusilla*, an intestinal parasite of *Mus musculus*. J Helminthol 74:73–81
- Khalil LF, Jones A, Bray RA (1994) Keys to the cestode parasites of vertebrates. CAB International, Wallingford
- Miquel J, Marchand B (1998a) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Anoplocephaloides dentata*, an intestinal parasite of *Mus musculus*. J parasitol 84:1128–1136
- Miquel J, Marchand B (1998b) Utrastructure of the spermatozoon of the Bank Vole tapeworm, *Paranoplocephala omphalodes* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). Parasitol Res 84:239–245
- Miquel J, Bâ CT, Marchand B (1997) Ultrastructure of the spermatozoon of *Skrjabinotaenia lobata* (Cyclophyllidea, Catenotaeniidae), intestinal parasite of *Apodemus sylvaticus*. (Rodentia, Muridae). J Submicrosc Cytol Pathol 29:521–526

- Miquel J, Bâ CT, Marchand B (1998) Ultrastructure of spermiogenesis of *Dipylidium caninum* (Cestoda, Cyclophyllidea, Dipylidiidae), an intestinal parasite of *Canis familiaris*. Int J Parasitol 28:1453–1458
- Miquel J, Feliu C, Marchand B (1999) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mesocestoides litteratus* (Cestoda, Mesocestoidae). Int J Parasitol 29:499–510
- Miquel J, Hidalgo C, Feliu C, Marchand B (2000) Sperm ultrastructure of *Taenia mustelae* (Cestoda, Taeniidae), an intestinal parasite of the weasel, *Mustela nivalis* (Carnivora). Inv Reprod Dev 38:43–51
- Ndiaye PI, Miquel J, Marchand B (2003) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Taenia parva* Baer, 1926 (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae), a parasite of the common genet (*Genetta genetta*). Parasitol Res 89:34–43
- Schmidt GD (1986) Handbook of tapeworn identification. CRC Press, Boca Raton, Florida
- Yamaguti S (1959) Systema helminthum, vol. 2. The cestodes of vertebrates. Interscience Publishers, New York

ARTICLE 4

Ultrastructure of the spermatozoon of *Paroniella reynoldsae* (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of *Corvus albus* (Aves, Corvidae)

Cheikh T. B \hat{a}^{1*} , Aïssatou B \hat{a}^{1} and Bernard Marchand²

¹Laboratory of Parasitology-Helminthology, Department of Animal Biology, Faculty of Sciences and Techniques, Ch. A. Diop University of Dakar, Dakar, Senegal; ²Laboratory "Parasites and Mediterranean Ecosystems", Faculty of Sciences and Techniques, University of Corsica Pascal Paoli, B.P. 52, F 20250 Corte, France

Abstract

The mature *Paroniella reynoldsae* spermatozoon exhibits an apical cone of electron-dense material about 2.2 µm long and 0.65 µm wide at its base and two helicoidal crest-like bodies roughly 100 to 150 nm thick. The latter are of different lengths, spiralled and make an angle of about 45° with the spermatozoon axis. The axoneme is of the 9 + '1' trepaxonematan pattern and does not reach the posterior extremity of the gamete. The nucleus is an electron-dense cord 0.25 µm thick coiled in a spiral around the axoneme. The cytoplasm exhibits a posterior densification and contains few small electron-dense granules in regions I, II and V of the spermatozoon. In regions III and IV, it is divided into irregular compartments by walls of electron-dense material. The cortical microtubules are spiralled at an angle of about 45°. The presence of an electron-lucent apical cone containing numerous small granules of electron-dense material has never, to our knowledge, been reported in a cestode. Likewise, a crest-like body forming a terminal spot of electron-dense material located in the prolongation of the apical cone has never been described before in a cestode. Moreover, in this study, we try to show the existence of tight reciprocal phylogenetic relationships between genera within the Davaineidae and the Anoplocephalidae.

Key words

Ultrastructure, spermatozoon, Paroniella, Cestoda, Cyclophyllidea, Corvus albus, Aves

Introduction

The order Cyclophyllidea comprises 15 families (Khalil *et al.* 1994) including the Davaineidae which are parasites of birds and mammals (Yamaguti 1959, Schmidt 1986). This family comprises four subgenera *Fuhrmannetta*, *Paroniella*, *Raillietina* and *Skrjabinia* (Schmidt 1986) which were elevated to generic rank by Movsesyan (1966). Khalil *et al.* (1994) considered the generic significance of the number of eggs and the disposition of genital pores. Consequently they consider the four subgenera as genera. To our knowledge, only three species of Davaineidae belonging to two genera, parasitic of birds, have been up until now the subject of ultrastructural study of spermiogenesis and/or the spermatozoon. These are *Raillietina carneostrobilata* (Polyakova-Krusteva and Vassilev 1973), *R. tunetensis* (Bâ and Marchand 1994d) and *Co*-

tugnia polyacantha (Bâ and Marchand 1994f). Nevertheless, within these ultrastructural works, the study of *R. carneostrobilata* is scarcely illustrated and lacks a complete description of the ultrastructural features of the spermatozoon. In the present study, we describe the ultrastructure of the spermatozoon of another davaineid species belonging to the genus *Paroniella (P. reynoldsae)*.

Materials and methods

The specimens of *Paroniella reynoldsae* Meggitt, 1926 were gathered live from the small intestine of *Corvus albus* (Aves, Corvidae). Then, the worms were kept active in physiological saline solution (0.9% NaCl). Portions of strobila 3–6 cm long, made up of mature proglottids, were quickly taken and

then stretched out with a brush soaked in cold (4°C) 2.5% glu-

taraldehyde buffered with 0.1 M sodium cacodylate solution

at pH 7.2. The male genitalia were removed under a binocu-

lar microscope, fixed for about 24 h in glutaraldehyde, rinsed several times in a sodium cacodylate buffer, then left overnight in the same buffer, postfixed with cold (4°C) 1% os-



Fig. 1. Longitudinal section of region I of the mature *Paroniella reynoldsae* spermatozoon. Note the terminal densification of the crest-like bodies located at the front of the slightly electron-dense apical cone which is filled with numerous small granules of electron-dense material. **Fig. 2.** Longitudinal section of regions II and III of the mature spermatozoon. **Fig. 3.** Longitudinal section of regions III and IV of the mature spermatozoon. **Fig. 5.** Cross-section of region I of the mature spermatozoon showing one crest-like body. **Fig. 6.** Cross-section of region I of the mature spermatozoon showing two crest-like bodies (arrow-heads). **Fig. 7.** Cross-section of region II of the mature spermatozoon. **Fig. 8.** Cross-section of region IV of the mature spermatozoon. **Fig. 9.** Cross-section of region IV of the mature spermatozoon. **Fig. 9.** Cross-section of region IV of the mature spermatozoon. **Fig. 10.** Cross-section of region V of the mature spermatozoon. Scale bars = $0.5 \,\mu$ m (Figs 1–10). **Abbreviations to all figures:** Aae – axonemal anterior extremity, Ac – apical cone, Ace – apical cone extremity, Ape – axonemal posterior extremity, Ax – axoneme, C – centriole, Cb – crest-like body, Cm – cortical microtubules, D – posterior densification, G – electron-dense granule, N – nucleus, Ps – periaxonemal sheath, W – intracytoplasmic walls



Fig. 11(I–V). Attempted reconstruction of the mature P. reynoldsae spermatozoon

mium tetroxide for 1 h, dehydrated in an ethanol series and propylene oxide, and then embedded in Epon. Ultrathin sections (50–60 nm thick) were cut on a LKB Ultramicrotome with diamond knife, then stained with uranyl acetate and lead citrate. They were examined in a Hitachi H-600 electron microscope at 75 kV.

Results

The mature *Paroniella reynoldsae* spermatozoon has no mitochondria, and is filiform and tapered at both ends (Figs 1, 4 and 111). We were able to distinguish five regions (I–V) along the longitudinal axis exhibiting distinctive ultrastructural characters.

Region I (Figs 1, 5, 6 and 11I) varies in width from 0.65 to 1 µm. It corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon. It exhibits an apical cone of electron-lucent material about 2.2 µm long and 0.65 µm wide at its base, filled with numerous small granules of electron-dense material, and two helicoidal crest-like bodies of about 100-150 nm thick. The latter lie outside the cortical microtubules on a distance of about 5-6 µm long, form a terminal densification at the front of the apical cone (Fig. 1) and are of different lengths. Thus, in cross-sections, depending on the level of the section, their number varies between 1 and 2 (Figs 5 and 6). The axoneme is of the 9 + '1' trepaxonematan pattern and centrally located. It is surrounded by a sheath of electron-dense material and a thin layer of slightly electron-dense cytoplasm that contains few granules of electron-dense material (Fig. 1). The cortical microtubules are spiralled at an angle of about 45° and appear in longitudinal and transverse sections in the form of a layer of continuous dense material in close contact with the plasma membrane (Figs 1, 5 and 6).

Region II (Figs 2, 7 and 11II) is approximately 1 µm wide at the most. It lacks crest-like bodies. As the preceding region, it exhibits spiralled cortical microtubules and a central axoneme surrounded by a periaxonemal sheath of electron-dense material (Fig. 7). The cytoplasm contains few small granules of electron-dense material.

Region III (Figs 2, 3, 8 and 11III) is between 0.5 to 1 μ m in wide. The axoneme is central and surrounded by a periaxonemal sheath of electron-dense material and a lucent cytoplasm (Figs 3 and 8). The latter is divided into compartments by irregularly spaced partitions of electron-dense material (the transverse intracytoplasmic walls), which join the periaxonemal sheath of electron-dense material to the cortical microtubules (Figs 3 and 8).

Region IV (Figs 3, 9 and 11IV) is between 0.5 to 1 μ m wide. It is characterized by the presence of a nucleus which is a fine compact cord of electron-dense material, approximately 0.25 μ m thick, coiled in a helix around the axoneme (Fig. 3). In cross-section, depending on the level where the section is cut, it envelops more or less entirely the axoneme (Figs 9 and 11). The cytoplasm is slightly electron-dense and contains numerous walls of electron-dense material between

the periaxonemal sheath and the spiralled cortical microtubules (Fig. 3).

Region V (Figs 4, 10 and 11V) is between 0.5 to $0.25 \,\mu\text{m}$ wide. It corresponds to the posterior end of the gamete. It lacks walls of electron-dense material and crest-like bodies. Nevertheless, the cytoplasm exhibits few small granules of electron-dense material, a central axoneme surrounded by a periaxonemal sheath and a posterior densification (Figs 4 and 11). The cortical microtubules become parallel to the spermatozoon axis (Fig. 10).

Discussion

The crest-like body or bodies always marks the anterior extremity of the cestode spermatozoon (Bâ *et al.* 1991). Consequently, the extremity with crest-like bodies of the *Paroniella reynoldsae* spermatozoon corresponds to its anterior extremity and the extremity without crest-like bodies to its posterior extremity.

In most of the Cyclophyllidea and the Proteocephalidea (*Nomimoscolex* sp. and *Sandonella sandoni*), the crest-like body initiates its helicoidal course as soon as it reaches the apical cone base (Table I). On the other hand, in the Catenotaeniidae (Miquel *et al.* 1997, Hidalgo *et al.* 2000), the Anoplocephalidae (Bâ and Marchand 1992a, b, 1994e, 1995) and the Taeniidae (Miquel *et al.* 2000, Ndiaye *et al.* 2003a), it runs along one part or the whole length of the apical cone. In *P. reynoldsae*, the crest-like body forms a terminal densification at the front of the apical cone. As far as we know, such a terminal electron-dense spot has never been reported before in a cestode spermatozoon.

The angle of spiralization of crest-like bodies in the cestode's spermatozoon varies according to the species. It has been estimated at 20° in *Mesocestoides litteratus* (Miquel *et al.* 1999), 35° in *Avitellina centripunctata* (Bâ and Marchand 1994a), 40° in *Moniezia expansa* and *M. benedeni* (Bâ and Marchand 1992a), *Dipylidium caninum* (Miquel and Marchand 1997), *Catenotaenia pusilla* (Hidalgo *et al.* 2000) and *Echinocotyle dolosa* (Bâ *et al.* 2002), 50° in *Stilesia globipunctata* (Bâ and Marchand 1992b), and between 40 and 50° in *Thysaniezia ovilla* (Bâ *et al.* 1991). It is about 45° in *P. reynoldsae*.

The thickness of crest-like body or bodies also varies according to the cestode species ranging from 15 to 200 nm. Thus, the crest-like bodies are thin (15–40 nm) in the spermatozoon of *Aporina delafondi* (Bâ and Marchand 1994b) whereas their maximal thickness (up to 200 nm) has been shown in spermatozoa of *Raillietina tunetensis* (Bâ and Marchand 1994d), *Rodentolepis microstoma* (= *Vampirolepis microstoma*) (Bâ and Marchand 1998) and *Avitellina centripunctata* (Bâ and Marchand 1994a). It is between 100 to 150 nm in *P. reynoldsae*.

An apical cone has been described in the front of the spermatozoon of 26 cyclophyllidean and two proteocephalidean cestodes (*Nomimoscolex* sp. and *Sandonella sandoni*). Its
Table I. Comparison of few characters present in anterior extremity of the spermatozoon (crest-like body and apical cone) of cestodes belonging to the Proteocephalidea and Cyclophyllidea orders

			Crest-like body			Apical cone			
Order	Family	Genus and species	angle of spiralization	thickness (nm)	anterior extremity	aspect of constitutive material	length (µm)	width at its base (µm)	References
	Anoplocephalidae	Anoplocephaloides dentata	_	140	В	D	1.40	0.35	Miquel and Marchand 1998a
		Aporina delafondi	_	15-40	В	D	0.3	0.15	Bâ and Marchand 1994b
		Avitellina centripunctata	35°	150-200	В	D	0.7	0.3	Bâ and Marchand 1994a
		Gallegoides arfaai	_	140	В	L	1	0.275	Miquel et al. 2004
		Inermicapsifer guineensis	_	_	А	D	_	0.15	Bâ and Marchand 1995
		I. madagascariensis	_	_	А	D	_	0.20	Bâ and Marchand 1995
		Moniezia benedeni	40°	30-60	А	D	1	0.25	Bâ and Marchand 1992a
		Mathevotaenia herpestis	_	_	А	D	_	0.1	Bâ and Marchand 1994e
		Moniezia expansa	40°	30-60	В	D	1	0.25	Bâ and Marchand 1992a
		Paranoplocephala omphalodes	_	180	В	D	0.90	0.20	Miquel and Marchand 1998b
		Stilesia globipunctata	50°	_	А	D	1.25	0.5	Bâ and Marchand 1992b
		Sudarikovina taterae	_	50-100	В	D	0.5	0.1	Bâ et al. 2000
		Thysaniezia ovilla	40–50°	802	В	D	0.6	0.2	Bâ et al. 1991
	Catenotaeniidae	Catenotaenia pusilla	40°	75	А	D	1.75	0.225	Hidalgo et al. 2000
		Skrjabinotaenia lobata	_	_	А	D	2.5	0.20	Miquel et al. 1997
Cyclophyllidea	Davaineidae	Paroniella reynoldsae	45°	100-150	А	L	2.2	0.6	present study
		Raillietina tunetensis	_	100-200	В	D	_	0.3	Bâ and Marchand 1994d
	Dipylidiidae	Dipylidium caninum	40°	150	В	D	0.6	0.4	Miguel and Marchand 1997
	15	Joyeuxiella echinorhyncoides	_	150	В	D	2.0	0.285	Ndiaye et al. 2003b
		J. pasqualei	_	75	В	D	2.0	0.285	Ndiave et al. 2003b
	Hymenolepididae	Echinocotyle dolosa	40°	100	В	D	0.1	0.3	Bâ et al. 2002
	5 1	Rodentolepis straminea	_	50-100	В	D	0.75	0.1	Bâ and Marchand 1996
		(= Hymenolepis straminea)							
		Rodentolepis microstoma	_	100-200	_	_	_	_	Bâ and Marchand 1998
		(= Vampirolepis microstoma)							
		Cladogynia serrata	_	_	В	L	0.5	0.35	Bâ and Marchand 1993
		(=Retinometra serrata)							
	Mesocestoididae	Mesocestoides litteratus	20°	100-150	В	D	_	_	Miquel et al. 1999
	Taeniidae	Taenia mustelae	_	75	А	D	1.9	0.25	Miguel et al. 2000
		T. parva	_	60	А	D	1.9	0.225	Ndiave et al. 2003a
	Monticellidae	Nomimoscolex sp.	_	_	В	D	_	_	SPne et al. 1997
	Proteocephalidae	Proteocephalus torulosus	_	80-100	_	_	_	_	Bruňanská <i>et al.</i> 2003a
	1	P. longicollis	_	60-100	_	_	_	_	Bruňanská <i>et al.</i> 2003b
Proteocephalidea		Electrotaenia malopteruri	_	60-150	_	_	_	_	Bruňanská et al. 2004a
		Corallobothrium solidum	_	30-200	_	_	_	_	Bruňanská <i>et al.</i> 2004b
		Sandonella sandoni	_	50-100	В	D	1	-	Bâ and Marchand 1994c

A – stops after it runs along the apical cone; B – stops as soon as it reaches the apical cone base; D – electron-dense; L – electron-lucent or slightly electron-dense; "–" lack of information on the considered character.

length varies between 0.1 and 2.5 μ m and its width is from 0.1 to 0.5 μ m (see Table I). In *P. reynoldsae*, the apical cone is about 2.2 μ m long and 0.65 μ m wide at its base.

In most cases, the apical cone of the cestode spermatozoon is made up of material which may be electron-dense, slightly electron-dense or electron-lucent (Table I). In *P. reynoldsae* spermatozoon the apical cone is electron-lucent, but distinguishes from that in other cestodes by the fact that it contains numerous small granules of electron-dense material.

The width of the nucleus varies according to the cestode species. It has been estimated to be between 10 to 75 nm in *Inermicapsifer guineensis* (Bâ and Marchand 1995), 30 to 150 nm in *I. madagascariensis* (Bâ and Marchand 1995), and 300 to 700 nm in *Echinocotyle dolosa* (Bâ *et al.* 2002). It is approximately 250 nm wide in *P. reynoldsae*.

Schmidt (1986), taking into consideration the number of eggs per uterine capsule and the disposition of genital pores, identified four subgenera in the genus *Raillietina*. These are *Fuhrmannetta*, *Paroniella*, *Raillietina* and *Skrjabinia*. However, Khalil *et al.* (1994) recognized these subgenera as genera "following recognition of the generic significance of the number of eggs per capsule plus genital pores unilateral or irregularly alternating". Nevertheless, when we compare the spermatozoon of *P. reynoldsae* to that of *R. tunetensis* (Bâ and Marchand 1994d), we can see that they are so similar to each other that it is impossible to make any ultrastructural differences between the genera *Paroniella* and *Raillietina*.

In the same manner, when we compare ultrastructural characters of the spermatozoon of the davaineids *R. tunetensis* (Bâ and Marchand 1994d), *Cotugnia polyacantha* (Bâ and Marchand 1994f) and *P. reynoldsae* (present study) to those of the anoplocephalidaeans *Avitellina centripunctata* (Bâ and Marchand 1994a), *I. guineensis* and *I. madagascariensis* (Bâ and Marchand 1995), we can put into evidence many similarities between them. In fact, the spermatozoon of all these species exhibits an apical cone of more or less electron-dense material, two crest-like bodies of different lengths, spiralled cortical microtubules, an electron-dense nucleus, a periaxonemal sheath of electron-dense material, intracytoplasmic walls of electron-dense material, a slightly electron-dense cytoplasm containing granules of electron-dense material and a posterior densification.

All these common characters seem to show close phylogenetic relationships between the genera *Raillietina* (Bâ and Marchand 1994d), *Cotugnia* (Bâ and Marchand 1994f) and *Paroniella* (present study) on the one hand, between the *Avitellina* and the *Inermicapsifer* on the other hand. They also confirm the existence of phylogenetic affinities between the Davaineidae and the Anoplocephalidae (Baer 1927, Schmidt 1986).

References

Bâ A., Bâ C.T., Marchand B. 2000. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Sudarikovina taterae* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of *Tatera gambiana. Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 32, 137–144.

- Bâ A., Bâ C.T., Marchand B. 2002. Ultrastructural study of the spermatozoon of *Echinocotyle dolosa* (Cestoda, Cyclophyllidea, Hymenolepididae). *Acta Parasitologica*, 47, 131–136.
- Bâ C.T., Marchand B. 1992a. Ultrastructural study of the spermatozoa of *Moniezia expansa* Rudolphi, 1810 and *M. benedeni* Moniez, 1879 (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 67, 111– 115.
- Bâ C.T., Marchand B. 1992b. Ultrastructural particularities of the spermatozoon of *Stilesia globipunctata* (Cestoda) parasite of the small intestine of sheep and goats in Senegal. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 24, 29–34.
- Bâ C.T., Marchand B. 1993. Ultrastructure of the *Retinometra ser*rata spermatozoon (Cestoda) intestinal parasite of the turtledoves in Senegal. Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology, 25, 233–238.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994a. Ultrastructure of spermatozoon of Avitellina centripunctata (Cestoda, Cyclophyllidea) a parasite of the small intestine of cattle in Senegal. Acta Zoologica (Stockholm), 75, 161–166.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994b. Ultrastructure of the spermiogenesis and the spermatozoon of *Aporina delafondi* (Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of turtle-doves in Senegal. *International Journal for Parasitology*, 24, 225–235.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994c. Ultrastructure of the spermatozoon of Sandonella sandoni (Cestoda, Proteocephalidea, Sandonellinae) intestinal parasite of *Heterotis niloticus* (fish, teleost). Invertebrate Reproduction and Development, 25, 9–17.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994d. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Raillietina* (*Raillietina*) tunetensis (Cyclophyllidea, Davaineidae) intestinal parasite of turtle-doves in Senegal. *International Journal for Parasitology*, 24, 237– 248.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994e. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mathevotaenia herpestis* (Cestoda) intestinal parasite of *Atelerix albiventris* in Senegal. *Acta Zoologica* (*Stockholm*), 75, 167–175.
- Bâ C.T., Marchand B. 1994f. Similitude ultrastructurale des spermatozo∨des de quelques Cyclophyllidea. *Parasite*, 1, 51–55.
- Bâ C.T., Marchand B. 1995. Comparative ultrastructure of the spermatozoa of *Inermicapsifer guineensis* and *I. madagascarien*sis (Cestoda, Anoplocephalidae, Inermicapsiferinae) intestinal parasites of rodents in Senegal. *Canadian Journal of Zo*ology, 72, 1633–1638.
- Bâ C.T., Marchand B. 1996. Ultrastructure of spermatozoon of *Hymenolepis straminea* (Cyclophyllidea, Hymenolepididae), intestinal parasite of *Arvicanthis niloticus* (*Rodentia*) in Senegal. *Invertebrate Reproduction and Development*, 29, 243–247.
- Bâ C.T. Marchand B. 1998. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Vampirolepis microstoma* (Cestoda, Hymenolepididae) intestinal parasite of *Rattus rattus*. *Microscopy Research and Technique*, 42, 218–225.
- Bâ C.T., Marchand B., Mattei X. 1991. Demonstration of the orientation of the Cestoda spermatozoon illustrated by the ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of a Cyclophyllidea: *Thysaniezia ovilla* Rivolta, 1874. *Journal* of Submicroscopic Cytology and Pathology, 23, 605–612.
- Baer J.G. 1927. Monographie des cestodes de la famille des Anoplocephalidae. Bulletin Biologique de la France et Belgique, 10, Suppl., 1–241.
- Bruňanská M., Nebesářová J., Scholz T. 2003a. Ultrastructure of the spermatozoon of the proteocephalidean cestode *Proteoce*-

phalus torulosus (Batsch, 1786). Parasitology Research, 89, 345–351.

- Bruňanská M., Scholz T., Nebesářová J. 2003b. Reinvestigation of the spermatozoon ultrastructure of the cestode *Proteocephalus longicollis* (Zeder, 1800), a parasite of salmonid fish. *Parasitology Research*, 91, 357–362.
- Bruňanská M., Scholz T., Ibraheem M.H. 2004a. Ultrastructural particularities of the spermatozoon of the cestode *Electrotaenia malopteruri* (Fritsch, 1886) (Proteocephalidae: Gangesiinae), a parasite of *Malapterurus electricus* (Siluriformes: Malapteruridae) from the river Nile, Egypt. *Parasitology Research*, 93, 114–120.
- Bruňanská M., Scholz T., Ibraheem M.H. 2004b. Ultrastructural characters of the spermatozoon of the cestode *Corallobothrium solidum* Fritsch, 1886 (Cestoda: Proteocephalidea), a parasite of the electric catfish *Malapterurus electricus*. *Parasitology Research*, 94, 421–426.
- Hidalgo C., Miquel J., Torres J., Marchand B. 2000. Ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of *Catenotaenia pusilla*, an intestinal parasite of *Mus musculus*. *Journal of Helminthology*, 74, 73–81.
- Khalil L.F., Jones A., Bray R.A. 1994. Keys to the cestode parasites of vertebrates. CAB International, Wallingford, UK.
- Miquel J., Bâ C.T., Marchand B. 1997. Ultrastructure of the spermatozoon of *Skrjabinotaenia lobata* (Cyclophyllidea, Catenotaeniidae), intestinal parasite of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia, Muridae). *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 29, 521–526.
- Miquel J., Feliu C., Marchand B. 1999. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mesocestoides litteratus* (Cestoda, Mesocestoididae). *International Journal for Parasitology*, 29, 499–510.
- Miquel J., Hidalgo C., Feliu C., Marchand B. 2000. Sperm ultrastructure of *Taenia mustelae* (Cestoda, Taeniidae), an intestinal parasite of the weasel, *Mustela nivalis* (Carnivora). *Invertebrate Reproduction and Development*, 38, 43–51.
- Miquel J., Marchand B. 1997. Ultrastructure of the spermatozoon of *Dipylidium caninum* (Cestoda, Cyclophyllidea, Dilepididae),

(Accepted May 26, 2005)

an intestinal parasite of *Canis familiaris*. *Parasitology Research*, 83, 349–355.

- Miquel J., Marchand B. 1998a. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Anoplocephaloides dentata* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae), an intestinal parasite of Arvicolidae rodents. *Journal of Parasitology*, 84, 1128–1136.
- Miquel J., Marchand B. 1998b. Ultrastructure of the spermatozoon of the bank vole tapeworm, *Paranoplocephala omphalodes* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). *Parasitology Research*, 84, 239–245.
- Movsesyan S.O. 1966. Revision of *Raillietina* Fuhrmann, 1920 (Cestoda: Davaineidae). *Tematicheskiy Sbornik Rabot po Ge'lmintologii*, 12, 5–10 (In Russian).
- Ndiaye P.I., Miquel J., Marchand B. 2003a. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoa of *Taenia parva* Baer, 1926 (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae), a parasite of the common genet (*Genetta genetta*). *Parasitology Research*, 89, 34– 43.
- Ndiaye P.I., Agostini S., Miquel J., Marchand B. 2003b. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon in the genus *Joyeuxiella* Fuhrmann, 1935 (Cestoda, Cyclophyllidea, Dipylidiidae): Comparative analysis of *J. echinorhyncoides* (Sonsino, 1889) and *J. pasqualei* (Diamare, 1893). *Parasitology Research*, 91, 175–186.
- Polyakova-Krusteva O., Vassilev I. 1973. On the ultrastructure of the tail of *Raillietina carneostrobilata* spermatozoa. *Bulletin of the Central Helminthological Laboratory (Sofia)*, 16, 153–160.
- Schmidt G.D. 1986. Handbook of tapeworm identification. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- SPne A., Bâ C.T., Marchand B. 1997. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Nomimoscolex* sp. (Cestoda, Proteocephalidea), intestinal parasite of *Clarotes laticeps* (fish, teleost) in Senegal. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 29, 1–6.
- Yamaguti S. 1959. Systema helminthum. The cestodes of vertebrates. Vol. 2. Interscience Publishers, New York.

ARTICLE 5

ORIGINAL PAPER

Ultrastructure of the spermatozoon of *Bothriocephalus claviceps* (Cestoda, Pseudophyllidea): a parasite of *Anguilla anguilla* (Fish, Teleostei)

Cheikh Tidiane Bâ · Aïssatou Bâ · Bernard Marchand

Received: 2 October 2006 / Accepted: 30 November 2006 / Published online: 19 January 2007 © Springer-Verlag 2007

Abstract The mature Bothriocephalus claviceps spermatozoon is filiform and tapered at both extremities. It contains two axonemes of unequal lengths of the 9+"1" pattern of the trepaxonemata. The anterior extremity exhibits an apical cone of an electron-dense material about 6.6 µm long by 0.2 µm wide at its base and a crest-like body making an angle of about 40° with the spermatozoon axis. It is spiralized around the whole extremity of the spermatozoon. The nucleus is a cord of electron-dense material that interposes itself between the two axonemes. The cortical microtubules are of two types: hollow-centred and electrondense centred. The cytoplasm is slightly electron dense and contains numerous electron-dense granules in regions III, IV, and V of the spermatozoon. The anterior and posterior extremities of the spermatozoon contain a single axoneme. The presence of an apical cone of the electron dense material has never, to our knowledge, been reported in the Pseudophyllidea. In addition, we show for the first time the existence of a crested body in the Bothriocephalidae.

C. Bâ (⊠) · A. Bâ
Laboratory of Parasitology, Department of Animal Biology,
Faculty of Sciences and Techniques,
Cheikh Anta Diop University of Dakar,
Dakar, Senegal
e-mail: cheikhtidianeba1@yahoo.fr

B. Marchand

Laboratory of Parasites and Mediterranean Ecosystems, Faculty of Sciences and Techniques, University of Corsica Pascal Paoli, B.P. 52, F 20250 Corte, France

Introduction

The order Pseudophyllidea comprises six families (Khalil et al. 1994). They are, at their adult stages, parasites of vertebrates, predominantly of fishes. To our knowledge, only five species have been up till now the subject of ultrastructural study of spermiogenesis and/or the spermatozoon. These are *Diphyllobothrium latum* (1965; Levron et al. 2006b), *Bothriocephalus clavibothrium* (Swiderski and Mokhtar-Maamouri 1980), *Duthiersia fimbriata* (Justine 1986), *Eubothrium crassum* (Bruñanska et al. 2002), and *Paraechinophallus japonicus* (Levron et al. 2006a). In the present work, we describe the ultrastructure of the spermatozoon of a sixth species, *Bothriocephalus claviceps*.

Materials and methods

The specimens of Bothriocephalus claviceps were gathered live from the intestine of Anguilla anguilla, a fish teleostei. Then, the worm were kept active in physiological saline solution (0.9% NaCl). Portions of strobila 3-6 cm long, made up of mature proglottids, were quickly taken and then stretched out with a brush soaked in cold (4°C) 2.5 % glutaraldehyde buffered with 0.1 M sodium cacodylate solution at pH 7.2. The male genitalia were removed under a binocular microscope, fixed for about 24 h with glutaraldehyde, rinsed overnight in a sodium cacodylate buffer, postfixed with cold (4°C) 1% osmium tetroxide for 1 h, dehydrated in an ethanol serie and propylene oxide, and then embedded in epon ultrathin sections (50-60 nm thick), were cut on a LKB Ultramicrotome with a diamond knife, then stained with uranyl acetate and lead citrate. They were examined in a Hitachi H-600 electron microscope at 75 kV.

Results

The mature *Bothriocephalus claviceps* spermatozoon has no mitochondria, is filiform, and tapered at both ends. We were able to distinguish five regions (I–V) from front to back exhibiting distinctive ultrastructural characters.

Region I (Figs. 1, 2, 3, 4), roughly $0.2-0.4 \mu m$ wide, corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon. It exhibits an apical cone of electron-dense material roughly 6.6 μm long by 0.2 μm wide at its base and with a crest-like body (Fig. 1). The axoneme is of the 9+"1" pattern. It is central, surrounded by a fine layer of electron-lucent cytoplasm, and situated against the plasma membrane. The cortical microtubules are hollow-centred and arranged in a

Fig. 1 Longitudinal section of region I. Ac apical cone of electron dense material, A axoneme, Cb crest-like body. B. claviceps mature spermatozoon (scale bars=0.5 µm)



Fig. 2 Longitudinal section of region I showing the apical cone (*Ac*) and the spiralized crest-like body (*Cb*). *B. claviceps* mature spermatozoon (*scale bars*=0.5 µm)



Fig. 3 Cross-section of region I exhibiting a row of hollow-centred cortical microtubules (*arrow head*). *A* Axoneme, *Cb* crest-like body, Cm cortical microtubules. *B. claviceps* mature spermatozoon (*scale bars*=0.5 μm)



single field of 10 units forming an arch beneath the plasma membrane (Fig. 3).

Region II (Figs. 4, 5) is roughly 0.4 to 0.6 μ m. It lacks a crest-like body but exhibits one central axoneme surrounded by a fine layer of slightly electron-dense cytoplasm. The cortical microtubules are hollow-centred and arranged in a single field of 10–11 units under the plasma membrane.

Region III (Figs. 4, 6, 7, 8) is roughly 0.6–1.2 μ m wide. It is characterized by the presence of two axonemes. The cytoplasm is slightly electron-dense and contains numerous irregularly and scattered electron-dense granules (Fig. 6). Thus, depending on the level of the sections, cross sections exhibit or not electron dense granules. The cortical microtubules (12 to 23) are hollow-centred as the preceding region but become arranged into two fields (Figs. 7, 8). Cross-sections at the beginning of this region show the presence of one excentric axoneme and two fields of sixunit cortical microtubules (Figs. 7, 8).

Region IV (Figs. 4, 9, 10, 11) is $1.3-0.6 \mu m$ wide. It is characterized by the presence of the nucleus. This is a cord of electron-dense material that is situated between the two axonemes (Fig. 11). The cortical microtubules are hollowcentred and form two fields (Fig. 9). The finely granulated cytoplasm contains electron-dense granules of different sizes (Fig. 11). The end of this region is marked by the presence of an eccentric axoneme, a nucleus, electron-dense granules, and electron-dense centred and hollow-centred cortical microtubules (Fig. 10).

Region V (Figs. 4, 7, 8, 12) is roughly 0.6 to 1 μ m wide. It corresponds to the posterior end of the spermatozoon. The cortical microtubules are present only at the beginning of this region (Figs. 7, 8). They are electron-dense centred and are arranged in a single field of ten units. The cytoplasm is slightly electron-dense and exhibits few electron-dense granules. The disorganization of the axoneme begins with the disappearance of the central cylinder.

Discussion

The crest-like body (or bodies) in cestodes spermatozoon always marks the anterior extremity of the gamete (Bâ et al.

1991). The extremity with the crest-like body of the *B. claviceps* spermatozoon, therefore, corresponds to its anterior extremity and the extremity without crest-like body to its posterior end.

To date, in the Pseudophyllidea, a crest-like body has only been described in the spermatozoon of the Diphyllobothriidae (Justine 1986), the Triaenophoridae (Bruñanska et al. 2002), and the Echinophallidae (Levron et al. 2006a). In the present work, we describe for the first time the existence of a crest-like body in the Bothriocephalidae.

The *B. claviceps* spermatozoon, like that of the other pseudophyllideans (Table 1), exhibits one crested-like body. But it can be distinguished by the fact that its crest-like body is spiralized around the whole anterior part of the spermatozoon.

An apical cone has been described in the front of the spermatozoon of 25 cyclophyllidean and two proteocephalidean cestodes (Bâ et al. 2005). In the present work, we report for the first time its existence in the Pseudophyllidea. Its length varies according to the cestode species between 0.1 and 2.5 μ m and 0.1 to 0.5 μ m wide (Bâ et al. 2002). In *B. claviceps*, the apical cone is about 6.6 μ m long and 0.2 μ m wide. To our knowledge, such a long apical cone has never been described before in a cestode spermatozoon. The mature spermatozoon of *B. claviceps*, like that of the other pseudophyllideans, is characterized by the presence of two axonemes of unequal lengths. Nevertheless, in *B. claviceps*, one of the axonemes is shorter than the other and stops before the end of the nuclear region.

In the Pseudophyllidea, the mature spermatozoon exhibits a nucleus either exclusively in a biflagellate region (Justine 1986; Bruñanska et al. 2002) or in both the biflagellate and uniflagellate regions (Swiderski and Mokhtar-Maamouri 1980; Mackinnon and Burt 1984; Levron et al. 2006a,b). In *B. claviceps*, the nucleus is located in both the biflagellate and uniflagellate regions.

In the present work, we have been able to show two types of cortical microtubules: electron-dense centred and hollow centred. The last are present in the anterior region and in the biflagellate region, whereas the electron-dense centred microtubules are mainly present in the posterior extremity and in the nuclear region with one flagellum. Such types and dispositions of cortical microtubules have already been described only in one pseudophyllidean B. clavibothrium (Swiderski and Mokhtar-Maamouri 1980). In D. fimbriata (Justine 1986) and Eubothrium crassum (Bruñanska et al. 2002), electron-dense centred microtubules are present both in the anterior and posterior extremities of the spermatozoon. In Diphyllobothrium latum (Levron et al. 2006b) and Paraechinophallus japonicus (Levron et al. 2006a), there are only hollow-centred cortical microtubules in the whole length of the spermatozoon. In the proteocephalidean Proteocephalus longicollis (Bruòanska et al. 2003a) and

Fig. 4 Attempted reconstruction of the mature spermatozoon of *B. claviceps. Aae* Axonemal anterior extremity, *Ac* apical cone, *Ape* axonemal posterior extremity, *Ase* anterior spermatozoon extremity, *Ax* axoneme, *Cb* crest-like body, *Cm* cortical microtubule, *G* electrondense granules, *N* nucleus, *Pm* plasma membrane, *Pse* posterior spermatozoon extremity



 $\underline{\textcircled{O}}$ Springer

Fig. 5 Cross-sections of region II exhibiting hollow-centred cortical microtubules (*arrow-head*). A axoneme. B. claviceps mature spermatozoon (*scale bars*=0.5 µm)

Fig. 6 Longitudinal section of region III. A Axoneme, G electron-dense granules. B. claviceps mature spermatozoon (scale bars=0.5 µm)





Fig. 7 Cross sections of regions III and V. Region III, exhibiting one axoneme (*A*) and hollow-centred cortical microtubules (*arrowheads*). Region V with electron-dense centred cortical microtubules (*arrowheads*). *G* Electron-dense granules. *B. claviceps* mature spermatozoon (*scale bars*=0.5 μ m)



Fig. 8 Cross section of region III and V. Region III at the level of two axonemes (Ax) and hollow-centred cortical microtubules. Region V with electron-dense centred cortical microtubules (*arrowheads*). *G* electron-dense granules. *B. claviceps* mature spermatozoon (*scale* bars=0.5 µm)

Fig. 9 Cross section of region IV exhibiting hollow-centred cortical microtubules (*arrow-head*) and a nucleus between two axonemes (*A*). *N* nucleus. *B. claviceps* mature spermatozoon (*scale bars*=0.5 μm)



Parasitol Res (2007) 101:77-83





Fig. 12 Longitudinal section of region V. A Axoneme. B. claviceps mature spermatozoon (scale bars=0.5 µm)



Fig. 11 Longitudinal section of region IV. *A* Axoneme, *G* electron-dense granules, *N* nucleus. *B. claviceps* mature spermatozoon (*scale bars*=0.5 μm)



83

Table 1 Comparison of few characters of the Pseudophy	llidean s	permatozoor
---	-----------	-------------

Order	Family	Genus and species	Apical	Crest-like body		References	
			cone	Number	Thickness (nm)		
Pseudophyllidea	Diphyllobothriidae	Duthiersia fimbriata	А	1	_	Justine (1986)	
		Diphyllobothrium latum	А	Not observed	_	Bonsdorf and Telkkä (1965)	
			А	Not observed	_	Levron et al. (2006b)	
	Echinophallidae	Paraechinophallus japonicus	А	1	130	Levron et al. (2006a)	
	Triaenophoridae	Eubothrium crassum	А	1	50-100	Bruñanska et al. (2002)	
	Bothriocephalidae	Bothriocephalus clavibothrium	А	Not observed	_	Swiderski and Mokhtar- Maamouri (1980)	
		Bothriocephalus claviceps	Р	1	_	Present work	

A Absence, P presence

- Lack of information on the considered character

Proteocephalus torulosus (2003b), the electron-dense centred microtubules are limited in the anterior region, whereas the hollow-centred ones are over the whole length of the spermatozoon.

References

- Bâ CT, Marchand B, Mattei X (1991) Demonstration of the orientation of the cestodes spermatozoon illustrated by the ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of a cyclophyllidea: *Thysaniezia ovilla*, Rivolta, 1874. J Submicrosc cytol Pathol 23:605–612
- Bâ A, Bâ CT, Marchand B (2002) Ultrastructural study of the spermatozoon of *Echinocotyle dolosa* (Cestoda, Cyclophyllidea, Hymenolepididae). Acta Parasitol 47:131–136
- Bâ CT, Bâ A, Marchand B (2005) Ultrastructure of the spermatozoon of *Paroniella reynoldsae* (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of *Corvus albus* (Aves, Corvidae). Acta Parasitologica 50(3):208–214
- Bonsdorf CH Von, Telkkä A (1965) The spermatozoon flagella in Diphyllobothrium latum (fish tapeworm). Z Zellforsch Mikrosk Anat 66:643–648
- Bruñanska M, Nobesárová J, Scholz T (2002) Ultrastructure of the spermatozoon of the pseudophyllidean cestode *Eubothrium crassum* (Bloch, 1779). Parasitol Res 88:285–291

- Bruòanska M, Scholz T, Nobesářová J (2003a) Reinvestigation of the spermatozoon ultrastructure of the cestode *Proteocephalus longicollis* (Zeder, 1800) a parasite of Salmonid fish. Parasitol Res 91:357–362
- Bruòanska M, Nobesářová J, Scholz T (2003b) Ultrastructure of the spermatozoon of the proteocephalidean cestode *Proteocephalus* torulosus (Batsch, 1786). Parasitol Res 89:345–351
- Levron C, Bruòanska M, Kuchta R, Freeman M, Scholz T (2006a) Spermatozoon ultrastructure of the pseudophyllidean cestode *Paraechinophallus japonicus*, a parasite of deep-sea fish *Psenopsis anomala* (Persiformes, Centrolophidae). Parasitol Res 100(1):115–121
- Levron C, Bruòanska M, Poddubnaya LG (2006b) Spermatological characters in *Diphyllobothrium latum* (Cestoda, Pseudophyllidea). J Morphol 267(9):1110–1119
- Justine JL (1986) Ultrastructure of the spermatozoon of the cestode *Duthiersia fimbriata* Diesing, 1854 (Pseudophyllidea, Diphyllobothriidae). Can J Zool 64:1545–1548
- Khalil LF, Jones A, Bray RA (1994) Keys to the cestodes parasites of vertebrates. CAB International, Wallingford
- Mackinnon BM, Burt MDB (1984) The comparative ultrastructure of spermatozoa from *Bothriomonus sturionis* Duv. 1842 (Pseudophyllidea). *Pseudanthobothrium hansem* Baer, 1956 (Tetraphyllidea) and *Monoecocestus americanus* stiles, 1895 (Cyclophyllidea). Can J Zool 62:1059–1066
- Swiderski Z, Mokhtar-Maamouri F (1980) Etude de la spermatogenèse de *Bothriocephalus clavibothrium* Ariola, 1899 (Cestoda: Pseudophyllidea). Arch Inst Pasteur Tunis 57:323–347

ARTICLE 6

ORIGINAL PAPER

Ultrastructure of the spermatozoon of *Taeniarhynchus* saginatus (syn. *Taenia saginata*) (Goeze, 1782) Weinland, 1858 (Cestoda, Taeniidae) an intestinal parasite of human

Aïssatou Bâ · Cheikh Tidiane Bâ · Yann Quilichini · Thérèse Dieng · Bernard Marchand

Received: 26 September 2010 / Accepted: 7 October 2010 / Published online: 28 October 2010 © Springer-Verlag 2010

Abstract The mature *Taeniarhynchus saginatus* spermatozoon exhibits an apical cone of electron-dense material and one helicoidal crest-like body roughly 50 nm thick. The axoneme is of the 9+"1" Trepaxonemata pattern. It is surrounded by a periaxonemal sheath of electron-dense material. The cytoplasm is electron lucent and divided into compartments by intracytoplasmic walls of electron-dense material in regions III and IV. The nucleus is an electrondense cord 60–90 nm thick coiled in a spiral around the axoneme. It reaches the posterior extremity of the gamete where the axoneme is disorganized and is accompanied on all its posterior length by the nucleus. To our knowledge, such a posterior extremity has never been described before in a cyclophyllidean cestode.

A. Bâ · C. T. Bâ

Laboratory of Evolutionary Biology, Ecology and Management of Ecosystems, Faculty of Sciences and Techniques, Cheikh Anta Diop University of Dakar, BP 5055, Dakar, Senegal

Y. Quilichini (⊠) • B. Marchand
Laboratory Parasites and Mediterranean Ecosystems, CNRS UMR 6134, Faculty of Sciences and Techniques, University of Corsica Pascal Paoli,
BP 52, 20250 Corte, France
e-mail: quilichini@univ-corse.fr

T. Dieng

Laboratory of Parasitology, Medical College of Odontostomatology and Pharmacy, Cheikh Anta Diop University of Dakar, BP 5055 Dakar, Senegal

Introduction

The Taeniidae parasites of human belong to two genera and three species. These are *Taenia solium* Linnaeus,1758 which the scolex bears a rostellum armed of two rows of hooklets, *Taenia asiatica* (Eom and Rim 1993), and *Taeniarhynchus saginatus* (Goeze, 1782) Weinland, 1858 which the scoleces are unarmed. To our knowledge, in the genus *Taenia*, only six species have been up until now the subject of ultrastructural study of spermiogenesis and/or the spermatozoon. These are *Taenia hydatigena* (Featherston 1971), *Taenia mustelae* (Miquel et al. 2000), *Taenia parva* (Ndiaye et al. 2002), *Taenia solium* (Willms et al. 2003), *Taenia crassiceps* (Willms et al. 2004), and *Taenia taeniaformis* (Miquel et al. 2009a, b). In the present work, we describe for the first time the ultrastructure of the spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus*.

Materials and methods

Gravid proglottids of *Taeniarhynchus saginatus* were removed from human feces and kept in 0.9% NaCl solution. Portions of about 3 mm long including the genitalia were fixed in cold 2.5% glutaraldehyde with a 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2 for 1 h, rinsed in a 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2, postfixed in cold (4°C) osmium tetroxide in the same buffer for 1 h, rinsed in a 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2, dehydrated in ethanol and propylene oxide, embedded in Epon, and polymerized at 60° C for 48 h. Ultrathin sections were cut on a Reichert-Jung Ultracut E ultramicrotome, stained with uranyl acetate and lead citrate, and examined with a Hitachi H-600 electron microscope at 75 kV.

Results

The mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* (Figs. 1 (1, 2, 3, 4, 5 and 6), 2 (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 and 16), 3 (17)) is filiform, tapered at both ends, and lacks mitochondria. From front to back, we were able to distinguish five regions (I–V) exhibiting distinctive ultrastructural characters.

Region I (Figs. 1 (1, 2, 3 and 4) and 3 (17)), roughly 0.2–0.3 μ m wide, corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon. It exhibits an apical cone of electrondense material (Fig. 1 (1, 2, 3 and 4)) about 1.2 μ m long and 230 nm wide at its base and one helicoidal crest-like body (Fig. 1 (2, 3 and 4)) about 50 nm thick, spiraled at an angle of about 40° to the spermatozoon axis (Fig. 1 (1 and 6)). The axoneme of the 9+"1" pattern is situated in a



Fig. 1 *I* Longitudinal section of the anterior extremity of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* showing the apical cone. *Ac* apical cone, *Ax* axoneme, *C* centriole, *Cb* crest-like body, *Cm* cortical microtubules. *Bar*=0.2 μ m. 2 Cross section of region I of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* at the anterior extremity of the centriole. *Cb* crest-like body, *Cm* cortical microtubules. *Bar*=0.1 μ m. 3 Cross section of region I of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* at the level of the centriole. *Cb* crest-like body, *Cm* cortical microtubules. *Bar*=0.1 μ m. 3 Cross section of region I of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* at the level of the centriole. *Cb* crest-like body, *Cm* cortical microtubules. *Bar*=0.1 μ m. 3 Cross section of region I of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* at the level of the centriole. *Cb* crest-like body, *Cm* cortical microtubules. *Bar*=0.1 μ m. 3 Cross section of region I of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* at the level of the centriole. *Cb* crest-like body, *Cm* cortical microtubules. *Bar*=0.1 μ m. 3 Cross section cortical microtubules. *Bar*=0.1 μ m. 3 Cross section of region I of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* at the level of the centriole. *Cb* crest-like body, *Cm* cortical microtubules.

0.1 μ m. 4 Cross section of region I of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* at the level of the axoneme. Ax axoneme, Cb crest-like body, Cm cortical microtubules. Bar=0.1 μ m. 5 Cross section of region II of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus*. Cm cortical microtubules, Ps periaxonemal sheath. Bar=0.1 μ m. 6 Longitudinal section of regions I and II of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus*. Ax axoneme, Cb crest-like body, Ps periaxonemal sheath. Bar=0.2 μ m

central position and surrounded by a thin layer of electron-lucent cytoplasm and an electron-dense submembranous layer of cortical microtubules. The latter are spiraled at an angle of about 40° to the spermatozoon axis.

Region II (Figs. 1 (5 and 6) and 3 (17)) has a maximum width of 0.4 μ m and lacks crest-like body. The axoneme is central (Fig. 1 (5 and 6)) and surrounded by a sheath of electron-dense material, an electron-lucent cytoplasm and submembranous cortical microtubules (Fig. 1 (5)).

Region III (Figs. 2 (7 and 8) and 3 (17)) is about 0.4– $0.5 \mu m$ wide. In this region, the axoneme is central and surrounded by a sheath of electron-dense material and an

electron-lucent cytoplasm (Fig. 2 (7)). The latter is divided into compartments by intracytoplasmic walls of electrondense material which join the periaxonemal sheath to the cortical microtubules (Fig. 2 (8)).

Region IV (Figs. 2 (7, 9 and 10) and 3 (17)) is roughly 0.4–0.5 μ m wide. It is characterized by the presence of a nucleus. This is a fine compact cord of electron-dense material approximately 60–90 nm thick coiled in a helix around the axoneme (Fig. 2 (7 and 9)). It interposes itself between the periaxonemal sheath and the cortical micro-tubules (Fig. 2 (7 and 9)). In cross sections depending on the level of the cut, it is in a horseshoe shape (Fig. 2 (9)) or in an annular shape (Fig. 2 (10)).



Fig. 2 7 Longitudinal section of regions III and IV of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus*. Ax axoneme, Cm cortical microtubules, Iw intracytoplasmic wall, N nucleus, Ps periaxonemal sheath. Bar=0.4 μ m. 8 Cross section of region III of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus*. Cm cortical microtubules, Iw intracytoplasmic wall, Ps periaxonemal sheath. Bar=0.1 μ m. 9 Cross section of region IV of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* showing the nucleus (N) in a horseshoe shape. Cm cortical microtubules, Iw intracytoplasmic wall, N nucleus, Ps periaxonemal sheath. Bar=0.1 μ m. 10 Cross section of region IV of the mature spermatozoon of the mature spermatozoon of the nucleus (N), in an annular shape, interposed between the cortical

microtubules (*Cm*) and the axoneme (*Ax*). *Bar*=0.1 µm. *11* Cross section of region V of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* showing the nucleus (*N*) partially interposed between the cortical microtubules (*Cm*). Bar=0.1 µm. *12* Longitudinal section of region V of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus*. *Ax* axoneme, *Cm* cortical microtubules, *N* nucleus. *Bar*=0.2 µm. *13* Cross section of region V of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* in which the cortical microtubules have disappeared. *Ax* axoneme, *N* nucleus. *Bar*=0.1 µm. *14–16* Cross sections of region V of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus*. The axoneme disorganizes progressively. Its central core first disappears, then, its doublets become singlets (*S*). *Bar*=0.1 µm

Fig. 3 17 Attempted reconstruction of the mature spermatozoon of *Taeniarhynchus* saginatus. Ac apical cone, Ape axonemal posterior extremity, Ase anterior spermatozoon extremity, Ax axoneme, C centriole, Cb crest-like body, Cm cortical microtubules, Iw intracytoplasmic wall, N nucleus, Ps periaxonemal sheath



Region V (Figs. 2 (11, 12, 13, 14, 15 and 16) and 3 (17)) is roughly $0.3-0.2 \mu m$. It corresponds to the posterior end of the gamete. It is characterized by the progressive disorganization of the axoneme: its central core disappears first, and later on, its peripheral doublets become singlets (Fig. 2 (15 and 16)). The nucleus, in cross sections, is annular shaped (Fig. 2 (11, 13, 14 and 15)) and is interposed between the cortical microtubules which are present only in the anterior area of this region (Fig. 2 (11)). It accompanies the axoneme on all its posterior length (Fig. 2 (11, 13, 14, 15 and 16)).

Discussion

The crest-like body or bodies always mark the anterior extremity of the cestode spermatozoon (Bâ et al. 1991). Consequently, the extremity with crest-like body of the *Taeniarhynchus saginatus* spermatozoon corresponds to its anterior extremity and the other one without crest-like body to its posterior extremity.

In the Cyclophyllidea, the number of crested bodies varies according to the species from one to 12 (Bâ et al. 2005a). Nevertheless, in the Taeniidae, only a single crested body was described in the studied species to date.

Intracytoplasmic walls of electron-dense material were described in the spermatozoon of several species of Cyclophyllidea: these are the anoplocephalidaeans *Avitellina centripunctata* (Bâ and Marchand 1994c), *Inermicapsifer guineensis* (Bâ and Marchand 1994b), and *Inermicapsifer madagascariensis* (Bâ and Marchand 1994b); the davaineidaeans *Raillietina* (*R*) *tunetensis* (Bâ and Marchand 1994a), *Cotugnia polyacantha* (Bâ and Marchand 1994d), *Raillietina* (*R*) *baeri* (Bâ et al. 2005a), and *Paroniella reynoldsae* (Bâ et al. 2005b); and the taeniidaeans *Taenia hydatigena* (Featherston 1971), *Taenia mustelae* (Miquel et al. 2000), *Taenia solium* (Willms et al. 2003), *Taenia parva* (Ndiaye et al. 2002) *Taenia crassiceps* (Willms et al. 2004), and *Taenia taeniaformis* (Miquel et al. 2009a,b).

In the Cyclophyllidea, the shape of the nucleus varies according to the species. In *Retinometra serrata* (Bâ and Marchand 1993), *Echinocotyle dolosa* (Bâ et al. 2002), and *Sudarikovina taterae* (Bâ et al. 2000), in particular, it is straight and situated between the axoneme and the cortical microtubules. In most cyclophyllideans, it is coiled around the axoneme. Thus, in cross section, depending on the level of the cut, it appears in a horseshoe shape or in an annular shape. In *Taeniarhynchus saginatus*, it is both in a horseshoe shape and in an annular shape.

The degree of spiralization of the front and of the back of the nuclear area around the axoneme varies according to the cyclophyllidean species. In *Taenia parva* (Ndiaye et al. 2002), *Raillietina (R) baeri* (Bâ et al. 2005a), and *Paroniella reynoldsae* (Bâ et al. 2005b), the nucleus is more coiled in its anterior area. On the other hand in *Taenia taeniaformis* (Miquel et al. 2009a,b), *Taenia mustelae* (Miquel et al. 2000), and *Taenia crassiceps* (Willms et al. 2004), like as in *Taeniarhynchus saginatus*, it is more coiled in its posterior area.

In most of the Cyclophyllidea, the axoneme becomes disorganized after the nuclear region. On the other hand, in *Paranoplocephala omphalodes* (Miquel and Marchand 1998), *E. dolosa* (Bâ et al. 2002), *Gallegoides arfaai* (Miquel et al. 2004), and *Taeniarhynchus saginatus* (present work), it becomes disorganized at the level of the posterior region of the nucleus which never reaches the posterior extremity of the gamete. *Taeniarhynchus saginatus* spermatozoon is distinguished by the fact that its axoneme is accompanied on all its posterior length by a nucleus that stops its helicoidal course at the posterior extremity of the spermatozoon.

The rostellum is a structure of taxonomic importance in Taeniidae. *Taeniarhynchus* has been established for the Taeniidae having (or not) a rudimentary rostellum but lacking rostellar hooklets that are typical to the genus *Taenia*. Thus, *Taenia saginata* becomes *Taeniarhynchus saginatus* by the absence of rostellar hooklets. The validity of the genus *Taeniarhynchus* has been largely debated by several authors. Verster (1969) did not accept the validity of the genus *Taeniarhynchus*. He considered that a single character could not justify the erection of a new genus. According to Khalil et al. (1994), the genera *Taenia* and *Taeniarhynchus* are synonyms. On the other hand, Wardle and McLeod (1952) and Schmidt (1986), considering the fact that *Taenia saginata* does not have any rostellum nor hooklets on its scolex, accepted the validity of the genus *Taeniarhynchus*.

Our work seems to support the validity of the genus *Taeniarhynchus*, since it is the only Taeniidae, known until now, to have the nucleus at the posterior extremity of the spermatozoon.

References

- Bâ CT, Marchand B (1993) Ultrastructure of the *Retinometra serrata* spermatozoon (Cestoda), intestinal parasite of turtle doves in Senegal. J Submicrosc Cytol Pathol 25:233–238
- Bâ CT, Marchand B (1994a) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Raillietina* (*R.*) *tunetensis* (Cyclophyllidea, Davaineidae) intestinal parasite of turtle doves in Senegal. Int J Parasitol 24:237–248
- Bâ CT, Marchand B (1994b) Comparative ultrastructure of the spermatozoa of *Inermicapsifer guineensis and I. madagascariensis* (Cestoda, Anoplocephalidea, Inermicapsiferinae), intestinal parasites of rodents in Senegal. Can J Zool 72:1633–1638
- Bâ CT, Marchand B (1994c) Ultrastructure of the spermatozoon of Avitellina centripunctata (Cestoda, Cyclophyllidea) a parasite of the small intestine of cattle in Senegal. Acta Zool-Stockholm 75:167– 175

- Bâ CT, Marchand B (1994d) Simulitude ultrastructurale des spermatozoïdes de quelques Cyclophyllidea. Parasite 1:51–55
- Bâ CT, Marchand B, Mattei X (1991) Demontration of the orientation of the Cestoda spermatozoon illustrated by the ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of a Cyclophyllidea: *Thysa-niezia ovilla* Rivolta, 1874. J Submicrosc Cytol Pathol 23:605–612
- Bâ A, Bâ CT, Marchand B (2000) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Sudarikovina taterae* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) intestinal parasite of *Tatera gambiana* (Rodentia, Gerbillidae). J Submicrosc Cytol Pathol 24:29–34
- Bâ A, Bâ CT, Marchand B (2002) Ultrastructural study of the spermatozoon of *Echinocotyle dolosa* (Cestoda, Cyclophyllidea, Hymenolepididae). Acta Parasitol 47:131–136
- Bâ CT, Bâ A, Marchand B (2005a) Utrastructure of the spermatozoon of *Raillietina (R) baeri* (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of the multimammate rat, *Mastomys huberti* (Rodentia, Muridae). Parasitol Res 97:173–178
- Bâ CT, Bâ A, Marchand B (2005b) Ultrastructure of the spermatozoon of Paroniella reynoldsae (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of Corvus albus (Aves, Corvidae). Acta Parasitol 50:208–214
- Eom KS, Rim HJ (1993) Morphologic description of *Taenia asiatica* n. sp. Korean J Parasitol 31:1–6
- Featherston DW (1971) *Taenia hydatigena*. III. Light and electron microscope study of spermiogenesis. Parasitol Res 37:148–168
- Khalil LF, Jones A, Bray RA (1994) Keys to the cestode parasites of vertebrates. Cambridge University press, Wallingford
- Miquel J, Marchand B (1998) Ultrastructure of the spermatozoon of the bank vole tapeworm, *Paranoplocephala omphalodes* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). Parasitol Res 84:239–245
- Miquel J, Hidalgo C, Feliu C, Marchand B (2000) Sperm ultrastructure of *Taenia mustelae* (Cestoda, Taeniidae), an intestinal parasite of the weasel, *Mustela nivalis* (Carnivora). Ivertebr Reprod Dev 38:43–51

- Miquel J, Swiderski Z, Mlocicki D, Marchand B (2004) Ultrastructure of the spermatozoon of the anoplocephalid Cestode *Gallegoides arfaai* (Mobedi and Ghadirian 1977) Tenora and Mas-coma, 1978, an intestinal parasite of the wood mouse (*Apodemus sylvaticus* Linnaeus,1758). Parasitol Res 94:460–467
- Miquel J, Hidalgo C, Foronda P, Torres J, Swiderski Z, Feliu C (2009a) Ultrastructural study of the spermatozoon of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda, Cyclophyllidea, Taenii-dae), an intestinal parasite of *Felis catus* from La Palma (Canary islands, Spain). Parasitol Res 104:1477–1483
- Miquel J, Swiderski Z, Foronda P, Torres J, Feliu C (2009b) Ultrastructure of spermatogenesis of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae) and comparison of spermatological characters in the family Taeniidae Ludwig, 1886. Acta Parasitol 54:230–243
- Ndiaye PI, Miquel J, Marchand B (2002) Ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoa of *Taenia parva* Baer, 1926 (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidea), a parasite of the common genet (*Genetta genetta*). Parasitol Res 89:34–43
- Schmidt GD (1986) Handbook of tapeworm identification. CRC Press, Inc, Boca, Ranton Florida
- Verster A (1969) A taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus, 1758 Sensu strictu. Onderstepoort J Vet Res 36:3–58
- Wardle RA, McLeod JA (1952) The zoology of tapeworm. University of Minnesota Press, Minneapolis
- Willms K, Caro JA, Robert L (2003) Ultrastructure of spermatogonia and spermatocyte lobules in *Taenia solium* strobilae (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae) from golden hamsters. Parasitol Res 90:479–488
- Willms K, Robert L, Jiménez JA, Everhart M, Kuhn RE (2004) Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon in *Taenia* crassiceps Strobilae WFU Strain (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae) from golden hamsters. Parasitol Res 93:262–267

ARTICLE 7

ULTRASTRUCTURE OF THE SPERMATOZOON OF *BOTHRIOCOTYLE* SP. (CESTODA: BOTHRIOCEPHALIDEA), A PARASITE OF *SCHEDOPHILUS VELAINI* (SAUVAGE, 1879) (PERCIFORMES: CENTROLOPHIDAE) IN SENEGAL

Aïssatou Bâ, Yann Quilichini*, Papa Ibnou Ndiaye, Cheikh Tidiane Bâ, and Bernard Marchand*

Laboratory of Evolutionary Biology, Ecology and Management of Ecosystems, Faculty of Sciences and Techniques, Cheikh Anta Diop University of Dakar, BP 5055, Dakar, Senegal. *e-mail: quilichini@univ-corse.fr*

ABSTRACT: The mature spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. is filiform and tapered at both extremities. It possesses 2 axonemes of unequal length, showing the 9 + "1" pattern of Trepaxonemata. The anterior extremity exhibits a crest-like body. Thereafter, the crest-like body disappears, and the first axoneme is surrounded by a ring of cortical microtubules (about 27 units) that persist until the appearance of the second axoneme. This ring of cortical microtubules is characteristic only for species of Bothriocephalidea and represents a very useful phylogenetic character. The spermatozoon cytoplasm is slightly electron-dense and contains numerous electron-dense granules of glycogen in several regions. The anterior and posterior extremities of the spermatozoon lack cortical microtubules. The posterior extremity of the spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. possesses a nucleus and a disorganized axoneme, which also characterizes spermatozoa of the Echinophallidae studied to date.

Historically there has been much controversy regarding the phylogeny of the eucestodes. However, with the advent of ultrastructural and molecular technology (Bâ et al., 1991; Brooks et al., 1991; Bâ and Marchand, 1995; Mariaux, 1996, 1998; Hoberg et al., 1997, 2001; Mollaret et al., 1997; Kodedová et al., 2000; Justine, 2001; Olson et al., 2001), the systematics of the group has significantly improved. For example, the recent work of Kutcha, Scholz, Brabec, and Bray (2008) resulted in suppression of the order Pseudophyllidea and the erection of 2 new orders, Bothriocephalidea and Diphyllobothriidea. The former is now comprised of 4 families (Bothriocephalidae, Triaenophoridae, Echinophallidae, and Phylobytiidae) and 46 genera (Kuchta, Scholz, and Bray, 2008). Species of Bothriocotyle are now included in the Echinophallidae, along with another 7 valid genera (Kuchta, Scholz, and Bray, 2008). To our knowledge, only 2 echinophallid species belonging to 2 genera have been the subject of ultrastructural study of spermiogenesis, or the spermatozoon, or both. These are Paraechinophallus japonicus (Levron, Bruňanská, Kutcha, et al., 2006) and Parabothriocephalus gracilis (Šípková et al., 2010). In the present work, we describe the ultrastructure of the spermatozoon of a third species of Echinophallidae.

MATERIALS AND METHODS

Adult specimens of *Bothriocotyle* sp. were collected from the intestine of the teleost fish *Schedophilus velaini* (Perciformes, Centrolophidae), caught off the coast (Atlantic Ocean) of Dakar (Senegal). At necropsy, the cestodes were initially kept alive in physiological saline solution (0.9% NaCl). Soon after removal from the intestine, however, portions of the strobila (2–4 mm long) consisting of mature proglottids were fixed in cold (4 C) 2.5% glutaraldehyde, buffered with 0.1 M sodium cacodylate solution at pH 7.2. Male genitalia were removed using a binocular microscope, fixed for about 24 hr with glutaraldehyde, rinsed overnight in a sodium cacodylate buffer, post-fixed with cold (4 C) 1% osmium tetroxide in the same buffer for 1 hr, dehydrated in an ethanol series and propylene oxide, and embedded in Spurr's resin. Ultrathin sections (60–90 nm thick) were obtained using an ultramicrotome (Powertome PC, RMC Boeckeler[®], Tuscon, Arizona) with a diamond knife, placed on copper grids, and stained with uranyl acetate and lead citrate.

The Thiery (1967) technique was employed for the location of glycogen. Gold grids with ultrathin sections were treated in periodic acid, thiocarbohydrazide, and silver proteinate (PA-TCH-SP) as follows: 30 min in 10% PA rinsed in distilled water, 24 hr in TCH, rinsed in acetic acid solution, placed in distilled water and then for 30 min in 1% SP in the dark, and finally rinsed again in distilled water.

The copper and gold grids with ultrathin sections were examined using a Hitachi H-7650 electron microscope operated at 80 kV, in the Service d'Étude et de Recherche en Microscopie Électronique of the University of Corsica (Corte, France).

RESULTS

Region I

The mature spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. is filiform, tapered at both ends, and lacks mitochondria. From the anterior to posterior extremities of the spermatozoon, we were able to distinguish 4 regions with distinctive ultrastructural characters.

Region I (Figs. 1–5, 26I) corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon. It is characterized by the presence of the centriole, accompanied by a single electron-dense crest-like body (Fig. 2). The helicoidal crest-like body corresponds to a lateral electron dense projection of the spermatozoon. The centriole gives rise to an axoneme of the 9 + "1" trepaxonematan pattern. At the proximal level of the axoneme several cortical microtubules become gradually visible (Fig. 4). At the distal extremity, the crested body disappears, and the cortical microtubules form a complete ring of about 27 units encircling the first axoneme (Fig. 5). These cortical microtubules are characterized by thick walls and a lucent center.

Region II

Region II (Figs. 6–17, 26II) is distinguished by the presence of 2 axonemes, cortical microtubules, and the appearance of electrondense granules of glycogen. In the anterior part of this region, the centriole of the second axoneme appears (Fig. 6). The ring of cortical microtubules is disorganized and finally disappears. The 2 axonemes are situated very close to each other, with just 2 cortical microtubules between them (Fig. 7). Four electron-dense attachment zones are visible in cross sections (Figs. 7–9). Subsequently the width of the spermatozoon increases, and the electron dense granules of glycogen appear in the cytoplasm (Figs. 8, 24, 25).

Toward the end of this region, the number of cortical microtubules increases gradually between axonemes to form 2 opposite fields

Received 26 September 2011; revised 11 October 2011, 29 November 2011; accepted 12 December 2011.

^{*}CNRS UMR 6134, University of Corsica, Laboratory Parasites and Mediterranean Ecosystems, 20250 Corte, Corsica, France. DOI: 10.1645/GE-2990.1



FIGURES 1–5. TEM photomicrographs of cross sections of region I of the mature spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. (1) Anterior extremity of the spermatozoon showing microtubule singlets of the first axoneme. (2, 3) Cross sections at the level of the centriole and the crest-like body. (4) Cross section at the level of the first axoneme completely formed. (5) Ring of cortical microtubules encircling the first axoneme. $A \times 1$ = axoneme 1; Cn = cortical microtubule. A×1 = axoneme 1; C1 = centriole of the first axoneme; Cb = crest-like body; Cm = cortical microtubule; Sm = singlet of microtubule. Bar = 0.2 µm.

comprising 3, 4, 6, 7, to 9 units (Figs. 9–17). The maximum of cortical microtubules is 16 in the posterior part of this region.

Region III

This region (Figs. 18–20, 26III) is characterized by the presence of the nucleus, in addition to the 2 axonemes present in region II, plus cortical microtubules and a large number of electron-dense granules of glycogen. The nucleus is electron dense, with fibrillar patches of

chromatin. Each field of cortical microtubules consists of 7 to 9 units. At the posterior part of this region, 1 of the 2 axonemes begins to disorganize (Fig. 19) and, finally, disappears. The number of cortical microtubules also decreases from 16 to 12 (Fig. 20).

Region IV

The last region (Figs. 21–23, 26 IV) corresponds to the posterior extremity of the spermatozoon. It is characterized by



FIGURES 6–17. TEM photomicrographs of cross sections of region II of the mature spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. (6) Anterior extremity of the second axonome and the disorganization of the ring of cortical microtubules. (7) Presence of 2 axonemes completely formed, 4 attachment zones, and 1 cortical microtubule on each side of the spermatozoon. (8) Appearance of electron-dense glycogen. Each field of microtubules consists of 2 units. (9–17) Consecutive cross sections of region II showing the gradual increasing of cortical microtubules with a maximum of 16, width of the spermatozoon, and number of glycogen granules. Arrowheads indicate attachment zones. $A \times 1 = axoneme 1$; $A \times 2 = axoneme 2$; C2 = centriole of the second axoneme; Cm = cortical microtubule; G = granule of glycogen.

the presence of 1 axoneme, the nucleus, some electron-dense granules of glycogen, and 3 cortical microtubules anteriorly (Fig. 26 IV). The cortical microtubules are interrupted before reaching the end of the axoneme. The nucleus reaches its maximum size in this region, occupying almost all of region IV (Fig. 21–22). The second axoneme becomes disorganized; i.e., the central core disappears and the doublets lose their arms. The posterior extremity of the sperm is characterized mainly by the nucleus and a few axonemal singlets (Fig. 23).

DISCUSSION

The mature spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. possesses 2 axonemes of the 9 + "1" trepaxonemata pattern, a crest-like body, parallel cortical

microtubules, elongated posterior nucleus, and electron-dense granules of glycogen; it corresponds nicely to the type II of Levron et al. (2010).

The crest-like body (or bodies) in cestode spermatozoons always marks the anterior extremity of the gamete (Bâ et al., 1991). The extremity with the crest-like body in the *Bothriocotyle* sp. spermatozoon consistently corresponds to its anterior end, while the extremity without the crest-like body is posterior. In bothriocephalideans, the crest-like body is present in all studied species (Table I), with the exception of *Bothriocephalus clavibo-thrium* (Swiderski and Mokhtar-Maamouri, 1980). Likewise, the spermatozoon of bothriocephalidean species seems to be constant with regard to the number of crest-like bodies. To our knowledge, *Bothriocotyle* sp. is the twelfth studied species, and all possess only 1 crest-like body (Table I).



FIGURES 18–20. TEM photomicrographs of cross sections of region III of the mature spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. (18) Anterior part of region III showing the anterior extremity of the nucleus. (19) Posterior extremity of the first axoneme. S = singlet. (20) Posterior part of region III showing the nucleus, second axoneme, and cortical microtubules. $A \times 1$ = axoneme 1; $A \times 2$ = axoneme 2; Cm = cortical microtubule; G = granule of glycogen; N = nucleus; Sm = singlet of microtubule. Bar = 0.2 µm.

Figures 21–23. TEM photomicrographs of cross sections of region IV of the mature spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. (21) Anterior part of this region characterized by only 3 cortical microtubules of some granules of glycogen. (22) Cortical microtubules are absent. Note that the nucleus occupies all the transverse section of the cell. (23) Posterior extremity of the spermatozoon showing some microtubules singlet of the second axoneme and the nucleus. $A \times 2 =$ axoneme 2; Cm = cortical microtubules; G = granule of glycogen; N = nucleus; Sm = singlet of microtubule. Bar = 0.2 µm.

An interesting feature of *Bothriocotyle* sp. is the presence of a ring of cortical microtubules (27 units) in the anterior part of the mature spermatozoon. This structure has been described in all the bothriocephalideans studied to date except in *Bothriocephalus claviceps* (Table I). However, the microtubule number is variable depending on the species. In Echinophallidae, for example, Levron, Bruňanská, Kuchta, et al. (2006) described a ring with 20 cortical microtubules in *P. japonicus*, while Šípková et al. (2010) reported 25 in *P. gracilis*. In Bothriocephalidae, Šípková et al. (2011) described a ring of 30 cortical microtubules in

Oncodiscus sauridae and *Senga* sp., but Marigo et al. (2011) indicated from 24 to 30 present in *Clestobothrium crassiceps*.

The ring of cortical microtubules seems to be a typical character of the anterior region of the mature bothriocephalidean spermatozoon because it has been observed in all species described to date (Table I). Indeed, based on previous studies of the bothriocephalidean cestodes (Bruňanska, 2010; Levron et al., 2010; Marigo et al., 2011; Šípková et al., 2011), we would assert that the ring of cortical microtubules is a synapomorphy for these species.

	Family	Genus and species	Cres				
Order			Number	Thickness (nm)	Rcm	Pse	Reference
Bothriocephalidea	Bothriocephalidae	Bothriocephalus clavibothrium	_		+	Ax	Swiderski and Mokhtar- Maamouri, 1980
		Bothriocephalus claviceps	1		_	Ax	Bâ et al., 2007
		Bothriocephalus Scorpii	1	—	+	Ν	Levron, Miquel, and Poddubnaya, 2006
		Clestobothrium crassiceps	1	160	+	Ν	Marigo et al., 2011
		Oncodiscus sauridae	1	150	+	N+Ax	Šípková et al., 2011
		Senga sp.	1	150	+	Ax	Šípková et al., 2011
	Echinophallidae	Parabothriocephalus gracilis	1	130	+	N+Ax	Šípková et al., 2010
		Paraechinophallus japonicus	1	130	+	N+Ax	Levron, Bruňanská, Kuchta, et al., 2006
		Bothriocotyle sp.	1		+	N+Ax	Present study
	Triaenophoridae	Eubothrium crassum	1	50-100	+	Ax	Bruňanská et al., 2010
	*	Eubothrium rugosum	1	120	+	Ax	Bruňanská et al., 2010
		Triaenophorus nodulosus	1	50	+	Ax	Levron et al., 2005

TABLE I. Comparison of few characters of the Bothriocephalidean spermatozoon. Ax: axoneme; N: nucleus; Pse: posterior extremity; Rcm: ring of cortical microtubules; +/-: presence/absence of considered character.

The posterior part of the spermatozoon in species of Bothriocephalidea does exhibit some variation. In the triaenophorids, for example, *Eubothrium crassum* (Bruňanska et al., 2002, 2010), *Eubothrium rugosum* (Bruňanská et al., 2010), and *Triaenophorus nodulosus* (Levron et al., 2005) possess a disorganized axoneme in the posterior spermatozoon extremity. In the Echinophallidae, *P. japonicus* (Levron, Bruňanská, Kutcha, et al., 2006), *P. gracilis* (Šípková et al., 2010), and *Bothriocotyle* sp. (present study) have a nucleus and the disorganized axoneme. *B. clavibothrium* and *B. claviceps* exhibit only a single axoneme (Swiderski and Mokhtar-Maamouri, 1980; Bâ et al., 2007). In contrast, in *Bothriocephalus scorpii* and *C. crassiceps*, the spermatozoon contains only a nucleus (Levron, Bruňanská, and Poddubnaya, 2006; Marigo et al., 2011). The anterior part of the spermatozoon exhibits some variation among bothriocephalideans studied to this point (Bâ et al., 2007; Marigo et al., 2011). Thus, an apical cone has been described only in *B. claviceps* and *C. crassiceps*.

LITERATURE CITED

- BÅ, C. T., A. BÅ, AND B. MARCHAND. 2007. Ultrastructure of the spermatozoon of *Bothriocephalus claviceps* (Cestoda, Pseudophyllidea): A parasite of *Anguilla anguilla* (Fish, Teleostei). Parasitology Research 101: 77–83.
 - —, AND B. MARCHAND. 1995. Spermiogenesis, spermatozoa and phylogenetic affinities in the Cestoda. Mémoire du Muséum National d'Histoire Naturelle Paris 166: 87–95.

—, —, AND X. MATTEI. 1991. Demonstration of the orientation of the cestode spermatozoon illustrated by the ultrastructural study of



FIGURES 24–25. TEM photomicrographs of the mature spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. showing the presence of glycogen evidenced by the method of Thiéry (1967). (24) Cross sections of the spermatozoon. (25) Longitudinal section of the spermatozoon. $G = \text{granule of glycogen. Bar} = 0.2 \,\mu\text{m}$.



FIGURES 26I–IV. Schematic reconstruction of the spermatozoon of *Bothriocotyle* sp. Aae1 = first axonemal anterior extremity; Aae2 = second axonemal anterior extremity; $A \times 1$ = axoneme 1; $A \times 2$ = axoneme 2; Cb = crest-like body; Cm = cortical microtubule; G = granule of glycogen; N = nucleus; Pae1 = first axonemal posterior extremity; Pae2 = second axonemal posterior extremity; S = singlet of microtubule.

spermiogenesis of a Cyclophyllidea: *Thysaniezia ovilla*, Rivolta, 1874. Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology **23**: 605–612.

BROOKS, D. R., E. P. HOBERG, AND P. J. WEEKES. 1991. Preliminary phylogenetic systematic analysis of the major lineages of the Eucestoda (Platyhelminthes: Cercomeria). Proceedings of the Biological Society of Washington **104:** 1–668.

- BRUŇANSKÁ, M. 2010. Recent insights into spermatozoa development and ultrastructure in the Eucestoda. *In* Human spermatozoa: Maturation, capacitation and abnormalities, T. Lejeune, and P. Delvaux (eds.). Nova Science Publishers, New York, New York, p. 327–354.
- —, H. P. FAGERHOLM, J. NEBESÁŘOVÁ, AND B. KOSTIČ. 2010. Ultrastructure of the mature spermatozoon of *Eubothrium rugosum* (Batsch, 1786) with a re-assessment of the spermatozoon ultrastructure of *Eubothrium crassum* (Bloch, 1779) (Cestoda: Bothriocephalidea). Helminthologia **47**: 257–263.
- —, J. NEBESÁŘOVÁ, T. SCHOLZ, AND H. P. FAGERHOLM. 2002. Ultrastructure of the spermatozoon of the pseudophyllidean cestode *Eubothrium crassum* (Bloch, 1779). Parasitology Research 88: 285– 291.
- HOBERG, E. P., J. MARIAUX, AND D. R. BROOKS. 2001. Phylogeny among orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae): Integrating morphology, molecules and total evidence. *In* Interrelationships of the Platyhelminthes, D. T. J. Littlewood, and R. A. Bray (eds.). Taylor and Francis, London, U.K., p. 112–126.
- —, —, J. -L. JUSTINE, B. R. BROOKS, AND P. J. WEEKES. 1997. Phylogeny of the orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae) based on comparative morphology: Historical perspectives and a new working hypothesis. Journal of Parasitology 83: 1128–1147.
- JUSTINE, J.-L. 2001. Spermatozoa as phylogenetic characters for the Platyhelminthes. *In* Interrelationships of the Platyhelminthes, D. T. J. Littlewood, and R. A. Bray (eds.). Taylor and Francis, London, U.K., p. 231–238.
- KODEDOVÁ, I., D. DOLEŽEL, M. BROUČKOVÁ, M. JIRKŮ, V. HYPŠA, J. LUKEŠ, AND T. SCHOLZ. 2000. On the phylogenetic positions of the Caryophyllidea, Pseudophyllidea and Proteocephalidea (Eucestoda) inferred from 18S rRNA. International Journal for Parasitology 30: 1109–1113.
- KUCHTA, R., T. SCHOLZ, J. BRABEC, AND R. A. BRAY. 2008. Suppression of the tapeworm order Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Eucestoda) and the proposal of two new orders, Bothriocephalidea and Diphyllobothriidea. International Journal for Parasitology 38: 49–55.
- —, —, AND R. A. BRAY. 2008. Revision of the order Bothriocephalidea Kuchta, Scholz, Brabec & Bray, 2008 (Eucestoda) with amended generic diagnoses and keys to families and genera. Systematic Parasitology 71: 81–136.
- LEVRON, C., M. BRUŇANSKÁ, R. KUCHTA, M. FREEMAN, AND T. SCHOLZ. 2006. Spermatozoon ultrastructure of the pseudophyllidean cestode *Paraechinophallus japonicus*, a parasite of deep-sea fish *Psenopsis* anomala (Perciformes, Centrolophidae). Parasitology Research 100: 115–121.
- —, —, AND B. MARCHAND. 2005. Spermiogenesis and sperm ultrastructure of the pseudophyllidean cestode *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781). Parasitology Research **98**: 26–33.
- —, J. MIQUEL, M. OROS, AND T. SCHOLZ. 2010. Spermatozoa of tapeworms (Platyhelminthes, Eucestoda): Advances in ultrastructural and phylogenetic studies. Biological Review 85: 523–543.
- —, , AND L. G. PODDUBNAYA. 2006. Spermatological characters of the pseudophyllidean cestode *Bothriocephalus scorpii* (Muller, 1781). Parasitology International **55**: 113–120.
- MARIAUX, J. 1996. Cestode systematics: Any progress? International Journal for Parasitology 26: 231–243.
- ———. 1998. A molecular phylogeny of the Eucestoda. Journal of Parasitology 84: 114–124.
- MARIGO, A. M., E. DELGADO, J. TORRES, C. T. BÅ, AND J. MIQUEL. 2011. Spermiogenesis and spermatozoon of the bothriocephalidean cestode *Clestobothrium crassiceps* (Rudolphi, 1819), a parasite of the teleost fish *Merluccius merluccius* (Gadiformes: Merluccidae). Parasitology Research. 110: 19–30.
- MOLLARET, I., B. G. M. JAMIESON, R. ADLARD, A. HUGALL, G. LECOINTRE, C. CHOMBARD, AND J. -L. JUSTINE. 1997. Phylogenetic analysis of the Monogenea and their relationships with Digenea and Eucestoda inferred from 28 S rDNA sequences. Molecular and Biochemical Parasitology 90: 433– 438.
- OLSON, P. D., D. T. J. LITTLEWOOD, R. A. BRAY, AND J. MARIAUX. 2001. Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes:

Cestoda). Molecular Phylogenetics and Evolution 19: 443-467.

ŠÍPKOVÁ, L., C. LEVRON, M. FREEMAN, AND T. SCHOLZ. 2010. Spermiogenesis and spermatozoon of the tapeworm *Parabothriocephalus* gracilis (Bothriocephalidea): Ultrastructural and cytochemical studies. Acta Parasitologica 55: 58–65.

 ultrastructural study on *Oncodiscus sauridae* and *Senga* sp. Parasitology Research **109**: 9–18.

- SWIDERSKI, Z., AND F. MOKHTAR-MAAMOURI. 1980. Étude de la spermatogénèse de *Bothriocephalus clavibothrium* Ariola, 1899 (Cestoda: Pseudophyllidea). Archives de l'Institut Pasteur de Tunis 57: 323–347.
- THIERY, J. P. 1967. Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. Journal de Microscopie 6: 987– 1018.

ARTICLE 8

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Tissue and Cell



journal homepage: www.elsevier.com/locate/tice

Ultrastructural study of the male gamete of *Glossobothrium* sp. (Cestoda: Bothriocephalidea: Triaenophoridae) a parasite of *Schedophilus velaini*

(Perciformes: Centrolophidae) in Senegal P.I. Ndiaye^a, Y. Quilichini^{b,*}, A. Bâ^a, C.T. Bâ^a, B. Marchand^b

^a Laboratory and Evolutionary, Ecology and Management of Ecosystems, Faculty of Sciences and Techniques, Cheikh Anta Diop University of Dakar, BP 5055, Dakar, Senegal ^b CNRS UMR 6134, University of Corsica, Laboratory "Parasites and Mediterranean ecosystems", 20250 Corte, Corsica, France

ARTICLE INFO

Article history: Received 15 November 2011 Received in revised form 13 February 2012 Accepted 20 April 2012 Available online 24 May 2012

Keywords: Spermatozoon Ultrastructure Cestoda Bothriocephalidea Triaenophoridae Glossobothrium

ABSTRACT

This paper describes the ultrastructure of the male gamete of *Glossobothrium* sp. (Bothriocephalidea: Triaenophoridae). The mature spermatozoon of *Glossobothrium* sp. is filiform and possesses two axonemes, a single helicoidal crested body, a parallel nucleus, parallel cortical microtubules and granules of glycogen. In *Glossobothrium* sp. we describe for first time a 200–250 nm thick crest-like body in the Bothriocephalidean. The anterior part of the spermatozoon exhibits a ring of 27 electron-dense cortical microtubules encircling the first axoneme. This structure persists until the appearance of the second axoneme. When the ring of electron-dense cortical microtubules disappears, the spermatozoon exhibits two bundles of thin cortical microtubules. The posterior part of the spermatozoon contains the posterior extremity of the second axoneme, the posterior extremity of the nucleus and few cortical microtubules. Soon nucleus disappears and the axoneme is disorganized. Thus the posterior extremity of the spermatozoon of *Glossobothrium* sp. exhibits only singlets produced by the disorganization of the doublets of the second axoneme and few cortical microtubules. This type of posterior extremity of the mature spermatozoon has never been described previously in the Triaenophoridae.

© 2012 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Recently, two new orders, Bothriocephalidea and Diphyllobothriidea, have been proposed by Kuchta et al. (2008a,b) to replace the tapeworm order Pseudophyllidea. According to these authors, the Bothriocephalidea is actually restricted to the four families proposed by Bray et al. (1994) namely the Bothriocephalidae, Echinophallidae, Philobythiidae and Triaenophoridae until more molecular data on most genera are available.

Several studies have shown that the ultrastructural characters of the spermatozoon are a great contribution to the phylogeny of the parasitic Platyhelminthes (Euzet et al., 1981; Ehlers, 1984; Justine, 1995, 1998, 2001, 2003; Hoberg et al., 1997, 2001; Olson et al., 2001; Levron et al., 2010). We believe that the increase of ultrastructural data of the male gamete of bothriocephalideans can help for understanding of systematics and phylogeny in this group.

Glossobothrium sp. is included in the Triaenophoridae. To our knowledge, ultrastructural data of the spermatozoon exist only in 9 of the 46 valid genera of Bothriocephalidea. These studies concern 4 genera of Bothriocephalidae: *Bothriocephalus* (Swiderski and Mokhtar-Maamouri, 1980; Levron et al., 2006b; Bâ et al., 2007), *Clestobothrium* (Marigo et al., 2012), *Oncodiscus* (Šípková et al., 2011) and *Senga* (Šípková et al., 2011); 3 genera of Echinophallidae: *Parabothriocephalus* (Šípková et al., 2010), *Paraechinophallus* (Levron et al., 2006a) and *Bothriocotyle* (Bâ et al., unpublished data) and 2 genera of Triaenophoridae: *Triaenophorus* (Levron et al., 2005) and *Eubothrium* (Bruňanská et al., 2010). In this study, we describe the ultrastructural features of the spermatozoon of another genus of Triaenophoridae, *Glossobothrium*.

2. Materials and methods

Adult specimens of *Glossobothrium* sp. were collected from the intestine of the marine fish *Schedophilus velaini* (Sauvage, 1879) (Perciformes, Centrolophidae) caught in the Atlantic Ocean coast of Dakar (Senegal).

Living cestodes were rinsed in 0.9% NaCl. Different portions of mature proglottids were fixed in cold (4 °C) 2.5% glutaraldehyde in a 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2, rinsed in 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2, post-fixed in cold (4 °C) 1% osmium tetroxide in the same buffer for 1 h, rinsed again in a 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2, dehydrated in ethanol and propylene oxide, embedded in Spurr's resin which was polymerized at 60 °C for 24 h.



^{*} Corresponding author. Tel.: +33 495 450 006; fax: +33 495 450 045. *E-mail address:* quilichini@univ-corse.fr (Y. Quilichini).



Figs. 1–6. Cross-sections through region I of the spermatozoon of *Glossobothrium* sp. Scale = $0.2 \,\mu$ m. (1) Anterior extremity characterized by the presence of only singlets (S). (2) Anterior extremity with the anterior extremity of the first axoneme (Aae1) and crest-like body (Cb). (3) First axoneme (Ax1) and crest-like body (Cb). (4 and 5) Anterior part of the spermatozoon with the ring of electron dense cortical microtubules (Cm) and first axoneme (Ax1). (6) Posterior extremity of region I with the ring of electron dense cortical microtubules (Cm), the first axoneme (Ax1) and singlets of the anterior extremity of the second axoneme (Aae2).

Ultrathin sections (60–90 nm thick) were obtained using an ultramicrotome (Power tome PC, RMC Boeckeler[®]) with diamond knife. Sections were placed on copper and gold grids.

Sections on copper grids were stained with uranyl acetate and lead citrate (Reynolds, 1963). Sections on gold grids were stained with periodic acid, thiocarbohydrazide and silver proteinate (Thiéry, 1967) for the location of glycogen.

The copper grids were examined in a Hitachi H-7650 electron microscope operated at 80 kV, in the "Service d'Étude et de Recherche en Microscopie Électronique" of the University of Corsica (Corte, France).

3. Results

The mature spermatozoon of *Glossobothrium* sp. is filiform, tapered at both ends and lacks mitochondrion. It contains a crest-like body, two axonemes, nucleus, cortical microtubules and granules of glycogen. Observations of a large number of transversal and longitudinal sections of the mature spermatozoon enabled us to distinguish III regions from the anterior to posterior extremities.

Region I(Figs. 1–6 and 18I) corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon. The anterior part of this region is characterized by the presence of singlets (Fig. 1). Soon appears the centriole of



Figs. 7–10. Cross-sections through region II of the spermatozoon of *Glossobothrium* sp. Scale = 0.2 µm. (7) Anterior part with the two axonemes (Ax1, Ax2), attachment zones (arrowheads) and two cortical microtubules distributed in two bundles. (8–10) Successive sections showing in addition to the structures observed in Fig. 7, two sets of cortical microtubules (Cm) increasing from 6 (Fig. 8) to 8 (Fig. 9) to 18 (Fig. 10) and 19 (Fig. 10).



Figs. 11–15. Cross-sections through region III of the spermatozoon of *Glossobothrium* sp. Scale = 0.2μ m. (11) Simultaneous presence of the two axonemes (Ax1, Ax2), nucleus (N) and cortical microtubules (Cm). (12) Second axoneme (Ax2) associated with an increasing diameter of the nucleus and the posterior extremity of the first axoneme (Pae1). (13) One axoneme, the nucleus with its maximum size and cortical microtubules. (14) Posterior extremity of the nucleus and disorganisation of the second axoneme. (15) Posterior extremity of the spermatozoon showing singlets (S) produced by the disorganization of the doublets of the second axoneme and a few cortical microtubules.

the first axoneme, accompanied by one crest-like body (Fig. 2). This crest-like body, 200–250 nm thick, appears as a helicoidal electrondense material only in this anterior extremity of the spermatozoon (Figs. 2, 3 and 18I). Then it disappears and electron-dense cortical microtubules form a complete ring of about 27 units around the axoneme (Figs. 4 and 5). Cross sections in the posterior extremity of this region show the appearance of microtubules indicating the beginning of the second centriole of the second axoneme (Fig. 6).

Region II (Figs. 7–10 and 18II) exhibits two axonemes, granules of glycogen and cortical microtubules organized in two fields. Cross sections of different parts of this region show that the number of cortical microtubules increases progressively from 2 (Fig. 7), 6 (Fig. 8), 8 (Fig. 9) to 19 (Fig. 10). We have observed at the beginning of this region the disappearance of the ring of electrondense cortical microtubules and the appearance of four attachment zones indicating the fusion between the two flagella with the median cytoplasmic process during the spermiogenesis. Granules

of glycogen, revealed by the Thiéry's method, are present in the cytoplasm of this region and in the region III of the spermatozoon (Figs. 16 and 17).

Region III (Figs. 11–15 and 18III) corresponds to the posterior extremity of the spermatozoon. It is characterized by the simultaneous presence of the two axonemes, nucleus and cortical microtubules (Fig. 11). The first axoneme starts to disorganize and finally disappears (Figs. 12 and 13). The diameter of the nucleus increases gradually and reaches its maximum size when the first axoneme is disappeared (Figs. 11–14). Later the second axoneme and the nucleus disappear. So the posterior extremity of the spermatozoon exhibits only a few cortical microtubules and singlets providing of the disorganization of the doublets of the second axoneme (Fig. 15). Granules of glycogen are present only in the anterior and median parts of this region (Figs. 11–13 and 18III). They also disappear in the posterior extremity of the spermatozoon (Fig. 15).



Figs. 16-17. Mature spermatozoon of Glossobothrium sp. showing the presence of glycogen (G) evidenced by Thiéry's method. Scale = 0.2 µm.



Fig. 18. (I–III) Schematic reconstruction of the spermatozoon of *Glossobothrium* sp. Aae1, axoneme anterior extremity 1; Aae2, axoneme anterior extremity 2; Ax1, axoneme 1; Ax2, axoneme 2; Cb, crest-like body; Cm, cortical microtubule; G, granule of glycogen; N, nucleus; Pae1, posterior axoneme extremity 1; Pae2, posterior axoneme extremity 2; S, singlet of microtubule.

4. Discussion

The mature spermatozoon of *Glossobothrium* sp. exhibits the general pattern described up to day in Bothriocephalidea (Levron et al., 2005, 2006a,b, 2010; Bâ et al., 2007; Bruňanská et al., 2010; Šípková et al., 2010, 2011; Marigo et al., 2012). It presents two axonemes of the 9+"1" pattern of Trepaxonemata (Ehlers, 1984), one crest-like body, a ring of electron-dense cortical microtubules, parallel cortical microtubules, nucleus and granules of glycogen. However the spermatozoon of *Glossobothrium* sp. presents some particularities. In Triaenophoridae, only three species belonging to two genera are studied now. They are *Eubothrium crassum* (Bruňanská et al., 2010), *Eubothrium rugosum* (Bruňanská et al., 2010), *Eubothrium rugosum* (Bruňanská et al., 2010). In these species, authors have described one crest-like body whose thicknesses ranges respectively 50–100 nm in *E. crassum*, 120 nm in

E. rugosum and 50 nm in *T. nodulus.* But in *Glossobothrium* sp. we have observed for the first time in a Bothriocephalidea a 200–250 nm thick crest-like body. Previously, crest-like body 160 and 150 nm thick were described respectively in Bothriocephalidae by Marigo et al. (2012) and Šípková et al. (2011). In Echinophallidae, Levron et al. (2006a) and Šípková et al. (2010) described a thickness of 130 nm. The crest-like body or bodies mark the anterior extremity of the spermatozoon (Bâ et al., 1991) and presence of one or more crest-like bodies in the anterior part of the spermatozoon is considered to be a synapomorphy for the eucestodes (Bâ and Marchand, 1995; Justine, 1998; Levron et al., 2010). However, the presence of crest-like body was not reported to date in Caryophyllidea, Spathebothriidea, Haplobothriidea and Trypanorhyncha (Levron et al., 2010).

Another interesting feature of the spermatozoon of Glossobothrium sp. is the presence of a ring of 27 electron-dense microtubules surrounding the first axoneme. This structure is described in all the Bothriocephalidea studied to date except in Bothriocephalus claviceps (Bâ et al., 2007). However, the number of electrondense microtubules forming the ring is variable depending on the species. In Bothriocephalidea, a ring of 27 units of electrondense microtubules was described only in Bothriocotyle sp. (Bâ et al. unpublished) and in Glossobothrium sp. (present study). In Triaenophoridae, photomicrographs presented by Levron et al. (2005) and Bruňanská et al. (2010) show respectively a ring formed by 25 electron-dense microtubules in Triaenophorus nodulosus and 37 in E. rugosum and E. crassum. According to Levron et al. (2010), the ring of electron-dense cortical microtubules described only in the anterior part of the spermatozoon of the Bothriocephalidea might be another autapomorphy of this group.

In the Triaenophoridae, the posterior extremity of the spermatozoon was described with only singlets produced by the disorganization of the second axoneme in *Triaenophorus nodulosus* by Levron et al. (2005) and in *E. rugosum* and *E. crassum* by Bruňanská et al. (2010). But in *Glossobothrium* sp. (present study), we described the presence of cortical microtubules in addition to the singlets of the axoneme. This variation in the ultrastructure of the posterior extremity of the spermatozoon of these species confirm the observation by Bruňanská et al. (2010) that "the structural heterogeneity of the posterior region of the spermatozoa within the Bothriocephalidae seems to restrict the use of this feature as potentially interesting criterion for taxonomy or phylogeny of the Eucestoda".

References

- Bâ, C.T., Bâ, A., Marchand, B., 2007. Ultrastructure of the spermatozoon of Bothriocephalus claviceps (Cestoda, Pseudophyllidea): a parasite of Anguilla anguilla (Fish, Teleostei). Parasitol. Res. 101, 77–83.
- Bâ, C.T., Marchand, B., 1995. Spermiogenesis, spermatozoa and phyletic affinities in the Cestoda. In: Jamieson, B.G.M., Ausió, J., Justine, J.-L. (Eds.), Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy. Mémoires du Muséum National diHistoire Naturelle, Paris, pp. 87–95.
- Bâ, C.T., Marchand, B., Mattei, X., 1991. Demonstration of the orientation of the Cestodes spermatozoon illustrated by the ultrastructural study of spermiogenesis of a Cyclophyllidea: *Thysaniezia ovilla*, Rivolta, 1874. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 23, 605–612.
- Bray, R.A., Jones, A., Andersen, K.I., 1994. Order Pseudophyllidea Carus, 1863. In: Khalil, L.F., Jones, A., Bray, R.A. (Eds.), Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. CAB International, Wallingford, pp. 205–247.
- Bruňanská, M., Fagerholm, H.P., Nebesářová, J., Kostič, B., 2010. Ultrastructure of the mature spermatozoon of *Eubothrium rugosum* (Batsch, 1786) with a reassessment of the spermatozoon ultrastructure of *Eubothrium crassum* (Bloch, 1779) (Cestoda: Bothriocephalidea). Helminthologia 47, 257–263.
- Ehlers, U., 1984. Phylogenetisches system der platyhelminthes. Verh. Nat. Ver. Hamburg. 27, 291–294.
- Euzet, L, Świderski, Z., Mokhtar-Maamouri, F., 1981. Ultrastructure comparée du spermatozoïde des Cestodes. Relations avec la phylogénèse. Ann. Parasit. 56, 247–259.
- Hoberg, E.P., Mariaux, J., Brooks, D.R., 2001. Phylogeny among orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae): integrating morphology, molecules and total

evidence. In: Littlewood, D.T.J., Bray, R.A. (Eds.), Interrelationships of the Platyhelminthes. Taylor & Francis, London & New York, pp. 112–126.

- Hoberg, E.P., Mariaux, J., Justine, J.-L., Brooks, D.R., Weekes, P.J., 1997. Phylogeny of the orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae) based on comparative morphology: historical perspectives and a new working hypothesis. J. Parasitol. 83, 1128–1147.
- Justine, J.-L., 1995. Spermatozoal ultrastructure and phylogeny of the parasitic Platyhelminthes. In: Jamieson, B.G.M., Ausió, J., Justine, J.-L. (Eds.), Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, pp. 55–86.
- Justine, J.-L., 1998. Spermatozoa as phylogenetic characters for the Eucestoda. J. Parasitol. 84, 385–408.
- Justine, J.-L., 2001. Spermatozoa as phylogenetic characters for the Platyhelminthes. In: Littlewood, D.T.J., Bray, R.A. (Eds.), Interrelationships of the Platyhelminthes. Taylor and Francis, London, pp. 231–238.
- Justine, J.-L., 2003. Ultrastructure des spermatozoïdes et phylogénie des Neodermata. In: Combes, C., Jourdane, J. (Eds.), Taxonomie, écologie et évolution des métazoaires parasites. PUP, Perpignan, pp. 359–380.
- Kuchta, R., Scholz, T., Brabec, J., Bray, R.A., 2008a. Suppression of the tapeworm order Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Eucestoda) and the proposal of two new orders, Bothriocephalidea and Diphyllobothriidea. Int. J. Parasitol. 38, 49–55.
- Kuchta, R., Scholz, T., Bray, R.A., 2008b. Revision of the order Bothriocephalidea Kuchta, Scholz, Brabec & Bray, 2008 (Eucestoda) with amended generic diagnoses and keys to families and genera. Syst. Parasitol. 71, 81–136.
- Levron, C., Bruňanská, M., Marchand, B., 2005. Spermiogenesis and sperm ultrastructure of the pseudophyllidean cestode *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781). Parasitol. Res. 98, 26–33.
- Levron, C., Bruňanská, M., Kuchta, R., Freeman, M., Scholz, T., 2006a. Spermatozoon ultrastructure of the pseudophyllidean cestode Paraechinophallus japonicus, a

- parasite of deep-sea fish *Psenopsis anomala* (Perciformes, Centrolophidae). Parasitol. Res. 100, 115–121.
- Levron, C., Bruňanská, M., Poddubnaya, L.G., 2006b. Spermatological characters of the pseudophyllidean cestode *Bothriocephalus scorpii* (Muller, 1781). Parasitol. Int. 55, 113–120.
- Levron, C., Miquel, J., Oros, M., Scholz, T., 2010. Spermatozoa of tapeworms (Platyhelminthes, Eucestoda): advances in ultrastructural and phylogenetic studies. Biol. Rev. 85, 523–543.
- Marigo, A.M., Delgado, E., Torres, J., Bâ, C.T., Miquel, J., 2012. Spermiogenesis and spermatozoon of the Bothriocephalidean cestode *Clestobothrium crassiceps* (Rudolphi, 1819), a parasite of the Teleost fish *Merluccius merluccius* (Gadiformes:Merluccidae). Parasitol. Res. 110 (1), 19–30.
- Olson, P.D., Littlewood, D.T.J., Bray, R.A., Mariaux, J., 2001. Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). Mol. Phylogenet. Evol. 19, 443–467.
- Reynolds, E.S., 1963. Use of lead citrate at hight pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. 17, 208–212.
- Šípková, L., Levron, C., Freeman, M., Scholz, T., 2010. Spermiogenesis and spermatozoon of the tapeworm *Parabothriocephalus gracilis* (Bothriocephalidea): ultrastructural and cytochemical studies. Acta Parasitol. 55, 58–65.
- Šípková, L., Levron, C., Oros, M., Justine, J.-L., 2011. Spermatological characters of bothriocephalideans (Cestoda) inferred from an ultrastructural study on Oncodiscus sauridae and Senga sp. Parasitol. Res. 109, 9–18.
- Swiderski, Z., Mokhtar-Maamouri, F., 1980. Étude de la spermatogénèse de Bothriocephalus clavibothrium Ariola, 1899 (Cestoda: Pseudophyllidea). Arch. Inst. Pasteur Tunis 57, 323–347.
- Thiéry, J.P., 1967. Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. J. Microsc. 6, 987–1018.

ARTICLE 9



Contents lists available at ScienceDirect

Zoologischer Anzeiger

Zoologischer Anzeiger

journal homepage: www.elsevier.de/jcz

Ultrastructure of the spermatozoon of *Anomotaenia quelea* (Mettrick, 1961) (Cestoda, Cyclophyllidea, Dilepididae), an intestinal parasite of *Quelea quelea* (Aves, Ploceidae) in Senegal



Aïssatou Bâ^a, Papa Ibnou Ndiaye^{a,*}, Cheikh Tidiane Bâ^a, Jordi Miquel^{b,c}

^a Laboratory of Evolutionary Biology, Ecology and Management of Ecosystems, Faculty of Sciences and Techniques, Cheikh Anta Diop University of Dakar, BP 5055 Dakar, Senegal

^b Laboratori de Parasitologia, Departament de Microbiologia i Parasitologia Sanitàries, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII, sn,

08028 Barcelona, Spain

^c Institut de Recerca de la Biodiversitat, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history: Received 15 April 2013 Received in revised form 25 August 2013 Accepted 28 August 2013

Keywords: Sperm morphology TEM Dilepididae Apical cone Periaxonemal sheath

ABSTRACT

The mature spermatozoon of *Anomotaenia quelea* exhibits an apical cone of electron-dense material and two helicoidal crest-like bodies. The apical cone near its base is surrounded by a lucent cytoplasm and a spiraled layer of cortical microtubules. The crest-like bodies are of different lengths, spiraled and make an angle of $30-40^{\circ}$ to the hypothetical spermatozoon axis. The axoneme is of the 9+'1' trepaxonematan pattern and is surrounded by a periaxonemal sheath of electron-dense material. The cytoplasm contains in regions III and IV numerous electron-dense granules situated between the periaxonemal sheath and the cortical microtubules. The posterior extremity of the spermatozoon of *A. quelea* exhibits a nucleus and a disorganized axoneme and cortical microtubules. This type of posterior extremity of the mature spermatozoon has never been described previously in a Dilepididae. Similarly, two crest-like bodies have not been observed before in a dilepidid cestode.

© 2013 Elsevier GmbH. All rights reserved.

1. Introduction

The order Cyclophyllidea comprises 15 families (Khalil et al., 1994) including the Dilepididae which are parasites of birds and mammals (Yamaguti, 1959; Schmidt, 1986). The Dilepididae exceeds one hundred genera, and is no longer considered a monophyletic assemblage (Khalil et al., 1994). Even today, the taxonomic status of the group is highly controversial, and the phylogeny of genera assigned to it, remains unclear. To clarify the existing controversies, we consider that a combination of new information from morphological, ultrastructural and molecular studies is needed to bring us forward. For this it is necessary to increase the ultrastructural studies of the mature spermatozoon in this group.

According to Levron et al. (2010), ultrastructural data of the spermatozoon of dilepidids are scarce and no published data were available until 2001. To our knowledge, only four species of Dilepididae have been the subject of ultrastructural studies of spermiogenesis and/or the spermatozoon. These are *Dilepis undula* (Schrank, 1788 in Thomas, 1935), *Kowalewskiella glareola* (Burt, 1940), *Angularella beema* (Clerc, 1906) and *Molluscotaenia*

crassiscolex (von Linstow, 1890) (see Świderski and Tkach, 1996; Świderski et al., 2000, 2002; Yoneva et al., 2006; Marigo et al., 2011a). In this paper, we present the fifth study of the ultrastructure of the mature spermatozoon of a dilepidid cestode belonging to a genus that so far has been unexplored, the genus *Anomotaenia* with the analysis of the species *A. quelea* (Mettrick, 1961).

2. Materials and methods

The specimens of *A. quelea* were gathered live from the small intestine of naturally infected *Quelea quelea* (Passeriformes, Ploceidae) from Dakar (Senegal). The worms were kept active in physiological saline solution (0.9% NaCl) and then fixed in cold (4° C) 2.5% glutaraldehyde in a 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.4 for 1 h, rinsed in a 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.4, postfixed in cold (4° C) 1% osmium tetroxide with 0.9% potassium ferricyanide in the same buffer for 1 h, rinsed in milliQ water, dehydrated in an ethanol series and propylene oxide, embedded in Spurr and polymerized at 60 °C for 48 h. Ultrathin sections were obtained using a Reichert-Jung Ultracut E ultramicrotome. Subsequently, they were placed on copper grids and double stained with uranyl acetate and lead citrate. The copper grids were examined using a JEOL 1010 transmission electron microscope at 80 kV in

^{*} Corresponding author. Tel.: +221 778142834; fax: +221 8246318/8252529. *E-mail address:* ibnou.ndiaye@ucad.edu.sn (P.I. Ndiaye).

^{0044-5231/\$ -} see front matter © 2013 Elsevier GmbH. All rights reserved. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcz.2013.08.006



Fig. 1. Mature spermatozoon of *Anomotaenia quelea*. (a) Longitudinal sections of Region I showing the apical cone (AC), the centriole (C), the crest-like body (CB) and the axoneme (Ax). Scale *bar* 1 µm. (b) Cross-section at the level of apical cone (AC) before the appearance of the first crest-like body. Scale *bar* 0.3 µm. (c) Cross-section of the apical cone (AC) at the level of the crest-like body (CB). Scale *bar* = 0.3 µm. (d) Longitudinal section of Region I showing the apical cone (AC) surrounded by a lucent cytoplasm, cortical microtubules (CM) and the crest-like body (CB). Scale *bar* 0.5 µm. (e) Cross-section of Region I at the level of the centriole (C) showing the first crest-like body (CB). Scale *bar* = 0.3 µm. (f) Cross-sections of Region I showing anterior areas with one crest-like body (CB) and the posterior area (*) with two crest-like bodies. CM, cortical microtubules. Scale *bar* = 0.3 µm. (g and h) Consecutive cross-sections of Region II showing the periaxonemal sheath (PS). CM, cortical microtubules. Scale *bar* = 0.3 µm.

the "Serveis Científics i Tecnològics" of the University of Barcelona (Spain).

3. Results

The mature spermatozoon of *A. quelea* exhibits the general pattern known from most cyclophyllideans. It is filiform, tapered at both ends and lacks mitochondria. Observations of a large number of transverse and longitudinal sections permitted us to distinguish four regions (I–IV) from front to back with distinctive ultrastructural characters.

Region I (Figs. 1a–f and 5I) corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon. It exhibits an apical cone of electron-dense material and two helicoidal crest-like bodies of about 90–100 nm

thick. The apical cone is an electron-dense material initially surrounded by the plasma membrane and later (Fig. 1 a and b), when the first crest-like body appears, by a thin layer of electron-lucent cytoplasm and the submembraneous layer of spiraled cortical microtubules (Fig. 1 c and d). The second crest-like body seems to be very short because it has been observed only in the posterior area of this region. These crest-like bodies, that make an angle of $30-40^{\circ}$ to the hypothetical axis of sperm, lie outside the cortical microtubules and vary in lengths. Thus, in cross sections, depending on the level of the section, their number varies between 1 and 2 (Fig. 1e and f). The cortical microtubules are spiraled and appear in both longitudinal and transverse sections in the form of a layer of continuous electron-dense material in close contact with the plasma membrane (Fig. 1f).



Fig. 2. Mature spermatozoon of *Anomotaenia quelea*. (a) Cross-sections of Region III showing the electron-dense granules (G) situated between the periaxonemal sheath (PS) and the spiraled layer of cortical microtubules (CM). Scale $bar=0.3 \,\mu$ m. (b) Longitudinal section of Region III showing the striated appearance of the periaxonemal sheath (PS). Ax, axoneme; CM, cortical microtubules; G, electron-dense granules. Scale $bar=0.3 \,\mu$ m. (c) Longitudinal section showing the transition zone between Region III (R-III) and Region IV (R-IV). G, electron-dense granules; N, nucleus. Scale $bar=1 \,\mu$ m. (d) Longitudinal sections of Region III (R-III) and Region IV (R-IV). CM, cortical microtubules; G, electron-dense granules; N, nucleus; PS periaxonemal sheath. Scale $bar=1 \,\mu$ m.


Fig. 3. Mature spermatozoon of *Anomotaenia quelea*. (a) Cross-sections of the anterior part of the Region IV. CM, cortical microtubules; G, electron-dense granules; N, nucleus; PS, periaxonemal sheath. Scale bar = 0.3μ m. (b) Cross-section of Region IV showing the disorganization of the axoneme. D, doublets; N, nucleus. Scale bar = 0.3μ m. (c) Cross-section of Region IV at the level of the posterior extremity of the nucleus (N). CM, cortical microtubules. Scale bar = 0.3μ m. (d) Cross-section of the posterior extremity of the spermatozoon. CM, cortical microtubules; D, doublets. Scale bar = 0.3μ m. (e) Longitudinal section of the posterior extremity of the mature spermatozoon (PSE). Scale bar = 0.5μ m.

Region II (Figs. 1g, h and 5II) lacks crest-like bodies (Fig. 1g). It is characterized by the appearance of the periaxonemal sheath surrounding the axoneme. The cortical microtubules are also spiraled as in region I (Fig. 1g and h).

Region III (Figs. 2a–d and 5III). In addition to the structures observed in region II, region III is characterized by the presence of numerous electron-dense granules, which are localized between the periaxonemal sheath and the submembraneous layer of cortical microtubules (Fig. 2a–d). The periaxonemal sheath appears in section as a striated structure (Fig. 2b). In Fig. 2c, we observe the transition zone between region III and region IV.

Region IV (Figs. 2c and d and 3a–e and 5IV) corresponds to the nuclear and the posterior region of the spermatozoon. The nucleus is a compact cord of electron-dense material coiled in a helix around the axoneme (Fig. 2c and d). In cross-sections, depending on the level where the section is cut, it envelops partially or almost entirely the axoneme (Fig. 3a). The periaxonemal sheath and the granules are present only in the anterior and middle parts of this region. The

Fig. 4. Presence/absence of glycogen granules applied by Thiéry method. Scale bar = 0.3 $\mu m.$

axoneme starts to disorganize in the nuclear area (Fig. 3b and c). The posterior extremity of the spermatozoon is characterized by the disappearance of the nucleus first (Fig. 3d), and followed by the singlets of the axoneme (Fig. 3e) and cortical microtubules. The test of Thiéry (1967) shows the absence of contrast, demonstrating the non-glycogenic nature of the electron-dense granules (Fig. 4).

4. Discussion

The spermatozoon of *A. quelea*, as other dilepidids studied until now, is of the type VI spermatozoon pattern (Levron et al., 2010; Marigo et al., 2011a). According to Levron et al. (2010) this type exhibits only one axoneme and is characterized by the presence of crest-like body or bodies, a periaxonemal sheath and both spiraled cortical microtubules and nucleus. Other cyclophyllideans belonging to different families, such as catenotaeniids, dipylidiids, gryporhynchids and some anoplocephalids are also characterized by this type of spermatozoon (Justine, 1998; Levron et al., 2010).

The crest-like body (or bodies) in the cestode spermatozoon always marks the anterior extremity of the gamete (Bâ et al., 1991). Consequently, the extremity with the crest-like body of the A. guelea spermatozoon corresponds to its anterior end and the extremity without the crest-like bodies to its posterior extremity. So far, in the Dilepididae, only one crested body has been described in the anterior part of the spermatozoon (see Table 1). Nevertheless, from A. quelea we report for the first time in a dilepidid cestode the existence of two crest-like bodies. The second crest-like body seems to be very short because it has been observed only in the posterior part of the anterior extremity. In the Cyclophyllidea two crest-like bodies have been reported in all five studied species in the family of Davaineidae (Polyakovakrusteva and Vassilev, 1973; Bâ and Marchand, 1994a,b; Bâ et al., 2005a; Miquel et al., 2010), Catenotaeniidae (Miquel et al., 1997; Hidalgo et al., 2000). In the Anoplocephalidae, there are two crested bodies in Anoplocephaloides dentata, Gallegoides arfaai, Mosgovoyia ctenoides, Monieza benedeni and M. expansa, Inermicapsifer



Fig. 5. Schematic reconstruction of the mature spermatozoon of *Anomotaenia quelea*. AC, apical cone; ASE, anterior spermatozoon extremity; Ax, axoneme; C, centriole; CB, crest-like body; CM, cortical microtubules; D, doublets; G, electron-dense granules; N, nucleus; PM, plasma membrane; PS, periaxonemal sheath; PSE, posterior spermatozoon extremity; S, singlets.

Table 1

Comparison of ultrastructural characters of the sperematozoon of Dilepididae.

Species	AC	СВ	PS	G	PSE	References
Dilepis undula	?	1	+	+	Ax	Świderski et al. (2000)
Kowalewskiella glareola	?	1	?	+	Ax	Świderski et al. (2002)
Angularella beema	?	1	+	+	Ax	Yoneva et al. (2006)
Molluscotaenia crassiscolex	+	1	+	+	Ax	Świderski and Tkach (1996) and Marigo et al. (2011a)
Anomotaenia quelea	+	2	+	+	Ax+N	Present study

AC, apical cone; Ax, axoneme; CB, number of crest-like bodies; G, granules; N, nucleus; PS, periaxonemal sheath; PSE, posterior spermatozoon extremity. +/- presence/absence of considered character; ? unknown data.

madagascariensis and Inermicapsifer guineensis, and Monoecocestus americanus (MacKinnon and Burt, 1984; Bâ et al., 1991; Bâ and Marchand, 1992a,b, 1994c,d; Miquel and Marchand, 1998a; Li et al., 2003; Miquel et al., 2004; Eira et al., 2005, 2006). In addition two crested bodies have been observed in Mesocestoididae (see Miquel et al., 1999, 2007). Further studies are needed to show the variation of the number of crest-like bodies among the dilepidid genera.

An apical cone has been described in the anterior extremity of the spermatozoon of Cyclophyllidea (for example it has been described also in some anoplocephalids, catenotaeniids, davaineids, dipylidiids, hymenolepidids and nematotaeniids) (Bâ et al., 2005a,b, 2011; Yoneva et al., 2008, 2009, 2010, 2012; Miquel et al., 2009, 2010), Proteocephallidea (Bâ and Marchand, 1994b; Sène et al., 1997; Marigo et al., 2012b), Tetraphyllidea (Quilichini et al., 2007; Marigo et al., 2011b), Diphyllidea (Marigo et al., 2011c) and Bothriocephalidea (Bâ et al., 2007; Marigo et al., 2012a). Among the Dilepididae, an apical cone has been illustrated in M. crassiscolex only (Marigo et al., 2011a). The latter authors describe only one crest-like body and, although they do not mention the characteristics of the apical cone, their TEM micrographs clearly show the presence of an electron lucent layer of cytoplasm surrounding this apical cone. In the present study we show that the anterior extremity of A. quelea is also characterized by the presence of an apical cone surrounded by an electron lucent cytoplasm and cortical microtubules, but differs from M. crassiscolex in the presence of two crest-like bodies. In contrast, this character has never been observed in the other three dilepidids studied, D. undula, K. glareola and Angularella bema (Świderski et al., 2000, 2002; Yoneva et al., 2006).

An interesting feature of *A. quelea*, is the presence of a periaxonemal sheath. This structure has been described in all previous studied dilepidids (see Table 1). However, its position along the length of the spermatozoon shows some variation within the family. In *A. beema* (see Yoneva et al., 2006) and *M. crassiscolex* (see Marigo et al., 2011a), it has been observed only in the area containing the electron-dense granules. On the other hand, in *D. undula* (see Świderski et al., 2000) and *A. quelea* (present study), it appears anterior to the granules of glycogen and persist until in the nuclear region.

In most Cyclophyllidea, the axoneme becomes disorganized after the nuclear region. However, in *A. quelea* we describe for the first time in a dilepidid cestode the disorganization of the axoneme before the posterior extremity of the nucleus. Similar observations are so far only reported from five species of Cyclophyllidea, namely the anoplocephalids *Paranoplocephala omphalodes* (see Miquel and Marchand, 1998b), *Gallegoides arfaai* (see Miquel et al., 2004) and *M. ctenoides* (Eira et al., 2006), the hymenolepidid *Echinocotyle dolosa* (see Bâ et al., 2002) and the taeniid *Taenia saginata* (see Bâ et al., 2011).

Acknowledgements

Authors wish to thank Online Access to Research in the Environment (OARE) for facilitating access to literature. We are also grateful to Núria Cortadellas and Almudena García from the "Unitat de Microscòpia, Facultat de Medicina, Centres Científics i Tecnològics de la Universitat de Barcelona (CCiTUB)" for their support in the preparation of samples.

References

- Bâ, A., Bâ, C.T., Marchand, B., 2002. Ultrastructural study of the spermatozoon of *Echinocotyle dolosa* (Cestoda, Cyclophyllidea, Hymenolepididae). Acta Parasitol. 47, 131–136.
- Bâ, A., Bâ, C.T., Quilichini, Y., Dieng, T., Marchand, B., 2011. Ultrastructure of the spermatozoon of *Taeniarhynchus saginatus* (syn. *Taenia saginata*) (Goeze, 1782) Weinland, 1858 (Cestoda, Taeniidae) an intestinal parasite of human. Parasitol. Res. 108, 831–836.
- Bâ, C.T., Bâ, A., Marchand, B., 2005a. Ultrastructure of the spermatozoon of Paroniella reynoldsae (Cyclophyllidea Davaineidae) an intestinal parasite of Corvus albus (Aves, Corvidae). Acta Parasitol. 50, 208–214.
- Bâ, C.T., Bâ, A., Marchand, B., 2005b. Ultrastructure of the spermatozoon of *Raillietina* (*Raillietina*) baeri (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of the multimammate rat, *Mastomys huberti* (Rodentia, Muridae). Parasitol. Res. 97, 173–178.
- Bâ, C.T., Bâ, A., Marchand, B., 2007. Ultrastructure of the spermatozoon of Bothriocephalus claviceps (Cestoda Pseudophyllidea): a parasite of Anguilla anguilla (Fish, Teleostei). Parasitol. Res. 101, 77–83.
- Bâ, C.T., Marchand, B., 1992a. Ultrastructural particularities of the spermatozoon of *Stilesia globipunctata* (Cestoda) parasite of the small intestine of sheep and goats in Senegal. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 24, 29–34.
- Bâ, C.T., Marchand, B., 1992b. Étude ultrastructurale sur le spermatozoïde de Moniezia expansa et M. benedeni (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). Ann. Parasitol. Hum. Comp. 67, 111–115.
- Bâ, C.T., Marchand, B., 1994a. Similitude ultrastructurale des spermatozoïdes de quelques Cyclophyllidea. Parasite 1, 51–55.
- Bâ, C.T., Marchand, B., 1994b. Ultrastructure of the spermatozoon of Sandonella sandoni (Cestoda Proteocephalidea, Sandonellinae). Invertebr. Reprod. Dev. 25, 9–17.
- Bâ, C.T., Marchand, B., 1994c. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Raillietina* (*Raillietina*) tunetensis (Cyclophyllidea, Davaineidae) intestinal parasite of turtle doves in Senegal. Int. J. Parasitol. 24, 237–248.
- Bâ, C.T., Marchand, B., 1994d. Comparative ultrastructure of the spermatozoa of Inermicapsifer guineensis and I. madagascariensis (Cestoda Anoplocephalidae, Inermicapsiferinae) intestinal parasites of rodents in Senegal. Can. J. Zool. 72, 1633–1638.
- Bâ, C.T., Marchand, B., Mattei, X., 1991. Demonstration of the orientation of the Cestodes spermatozoon illustrated by ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon of a Cyclophyllidea: *Thysaniezia ovilla*, Rivolta, 1874. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 23, 605–612.
- Burt, D.R.R., 1940. New species of cestodes from Charadriiformes, Ardeiformes and Pelicaniformes. Ceylon J. Sci. Sec. B., Spolia Zeylani XXII, 1–63.
- Clerc, W., 1906. Notesur les cestodes d'oiseaux de l'Oural. II. Centralbl. Bakteriol. I. Abt. 42, 713–720.
- Eira, C., Miquel, J., Świderski, Z., Młocicki, D., Torres, J., Marchand, B., 2005. Spermatogenesis in the cestode *Gallegoides arfaai* (Anoplocephalidae). Acta Parasitol. Port. 12, 477–478.
- Eira, C., Miquel, J., Vingada, J., Torres, J., 2006. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the cestode *Mosgovoyia ctenoides* (Cyclophyllidea: Anoplocephalidae), an intestinal parasite of *Oryctolagus cuniculus* (Lagomorpha: Leporidae). J. Parasitol. 92, 708–718.
- Hidalgo, C., Miquel, J., Torres, J., Marchand, B., 2000. Ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon in *Catenotaenia pusilla*, an intestinal parasite of *Mus musculus*. J. Helminthol. 74, 73–81.
- Justine, J.-L., 1998. Spermatozoa as phylogenetic characters for the Eucestoda. J. Parasitol. 84, 385–408.
- Khalil, L.F., Jones, A., Bray, R.A., 1994. Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. CAB International, Cambridge, 751 pp.
- Levron, C., Miquel, J., Oros, M., Scholz, T., 2010. Spermatozoa of tapeworms (Platyhelminthes, Eucestoda): advances in ultrastructural and phylogenetic studies. Biol. Rev. 85, 523–543.

- Li, H.-Y., Brennan, J.P., Halton, D.W., 2003. Spermatogenesis, spermiogenesis and spermatozoon in the cestode (*Moniezia expansa*) (Cyclophyllidea Anoplocephalidae). Acta Zool. Sin. 49, 370–379.
- MacKinnon, B.M., Burt, M.D.B., 1984. The comparative ultrastructure of spermatozoa from Bothrimonus sturionis Duv. 1842 (Pseudophyllidea), Pseudanthobothrium hanseni Baer, 1956 (Tetraphyllidea), and Monoecocestus americanus Stiles, 1895 (Cyclophyllidea). Can. J. Zool. 62, 1059–1066.
- Marigo, A.M., Bå, C.T., Miquel, J., 2011a. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the diledidid cestode *Molluscotaenia crassiscolex* (von Linstow, 1890), an intestinal parasite of the common shrew *Sorex araneus*. Acta Zool. (Stockh) 92, 116–125.
- Marigo, A.M., Delgado, E., Torres, J., Bâ, C.T., Miquel, J., 2012a. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the bothriocephalidean cestode *Clestobothrium crassiceps* (Rudolphi, 1819), a parasite of the teleost fish *Merluccius merluccius* (Gadiformes: Merluccidae). Parasitol. Res. 110, 19–30.
- Marigo, A.M., Eira, C., Bâ, C.T., Miquel, J., 2011b. Spermatological characters of Acanthobothrium crassicolle Wedl, 1855 (Tetraphyllidea, Onchobothriiidae), a parasite of the common stingray Dasyatis pastinaca. Acta Parasitol. 56, 191–201.
- Marigo, A.M., Eira, C., Bâ, C.T., Miquel, J., 2011c. Spermatogenesis and spermatozoon ultrastructure of the Diphyllidean cestode *Echinobothrium euterpes* (Neifar, Tyler and Euzet 2001) Tyler 2006, a parasite of the common guitarfish *Rhinobatos rhinobatos*. Parasitol. Res. 109, 809–821.
- Marigo, A.M., Levron, C., Bâ, C.T., Miquel, J., 2012b. Ultrasrtuctural study of spermiogenesis and the spermatozoon of the proteocephalidean cestode *Barsonella lafoni* de Chambrier et al. 2009, a parasite of the catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) (Siluriformes, Clariidae). Zool. Anz. 251, 147–159.
- Mettrick, D.F., 1961. A new cestode Anomotaenia quelea sp. nov. from the red-billed quelea, Quelea quelea (L.). J. Nat. Hist. Series 13 4, 589–592.
- Miquel, J., Bâ, C.T., Marchand, B., 1997. Ultrastructure of the spermatozoon of Skrjabinotaenia lobata (Cyclophyllidea, Catenotaeniidae), intestinal parasite of Apodemus sylvaticus (Rodentia Muridae). J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 29, 521–526.
- Miquel, J., Eira, C., Świderski, Z., Conn, D.B., 2007. Mesocestoides lineatus (Goeze, 1782) (Mesocestoididae): new data on sperm ultrastructure. J. Parasitol. 93, 545–552.
- Miquel, J., Feliu, C., Marchand, B., 1999. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mesocestoides litteratus* (Cestoda, Mesocestoididae). Int. J. Parasitol. 29, 499–510.
- Miquel, J., Foronda, P., Torres, J., Świderski, Z., Feliu, C., 2009. Ultrastructural study of the spermatozoon of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae), an intestinal parasite of *Felis catus* from La Palma (Canary Islands, Spain). Parasitol. Res. 104, 1477–1483.
- Miquel, J., Marchand, B., 1998a. Ultrastructure of the spermiogenesis and the spermatozoon of *Anoplocephaloides dentata* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae), an intestinal parasite of Arvicolidae Rodents. J. Parasitol. 84, 1128–1136.
- Miquel, J., Marchand, B., 1998b. Ultrastructure of the spermatozoon of the bank vole tapeworm *Paranoplocephala omphalodes* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). Parasitol. Res. 84, 239–245.
- Miquel, J., Świderski, Z., Młocicki, D., Marchand, B., 2004. Ultrastructure of the spermatozoon of the Anoplocephalid cestode *Gallegoides arfaai* (Mobedi

and Ghadirian, 1977) Tenora and Mas-Coma, 1978, an intestinal parasite of the wood mouse (*Apodemus sylvaticus* Linnaeus, 1758). Parasitol. Res. 94, 460–467.

- Miquel, J., Torres, J., Foronda, P., Feliu, C., 2010. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the davaineid cestode *Raillietina micracantha* (Fuhrmann, 1909). Acta Zool. (Stockh) 91, 212–221.
- Polyakova-Krusteva, O., Vassilev, I., 1973. On the ultrastructure of the tail of *Raillietina carneostrobilata* spermatozoa. Bull. Cent. Helminthol. Lab. (Sofia) 16, 153–160.
- Quilichini, Y., Foata, J., Bâ, C.T., Marchand, B., 2007. Ultrastructure of the spermatozoon of *Calliobothrium verticillatum* (Cestoda, Tetraphyllidea, Onchobothriidae). Acta Parasitol. 52, 219–224.
- Schmidt, G.D., 1986. CRC Handbook of Tapeworm Identification. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 688 pp.
- Sène, A., Bâ, C.T., Marchand, B., 1997. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of Nomimoscolex sp. (Cestoda Proteocephalidea) intestinal parasite of Clarotes laticeps (Fish, Teleost) in Senegal. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 29, 1–6.
- Świderski, Z., Salamatin, R.V., Kornyushin, V.V., 2002. Ultrastructure of the spermatozoon of the Dilepidid cestode Kowalewskiella glareola (Burt, 1940) Lopez-Neyra, 1952. In: Proceedings of the 12th Conference Ukr. Soc. Parasitol. Sevastopoul, Crimea, p. 132.
- Świderski, Z., Salamatin, R.V., Tkach, V.V., 2000. Electron microscopical study of spermatozoa of the cestode *Dilepis undula* (Cyclophyllidea, Dilepididae). Vest. Zool. 34, 3–7.
- Świderski, Z., Tkach, V.V., 1996. Ultrastructure of the spermatozoon in dilepidid cestode Molluscotaenia crassiscolex (von Linstow, 1890). Parassitol 38, 97.
- Thomas, I.D., 1935. The Anatomie of *Dilepis undula* (Schrank, 1788). J. Zool. 105, 717–722.
- Von Linstow, O.F.B., 1890. Beitrag zur Kenntnis der Vogeltaenien. Arch. Naturg. 56, 171–188.
- Yamaguti, S., 1959. Systema Helminthum. Vol. 2. The Cestodes of Vertebrates. Interscience Publishers, New York, 465 pp.
- Yoneva, A., Georgieva, K., Mizinska, Y., Nikolov, P.N., Georgiev, B.B., Stoitsova, S.R., 2010. Ultrastructure of spermiogenesis and mature spermatozoon of *Anon-chotaenia globata* (von Linstow, 1879) (Cestoda, Cyclophyllidea, Paruterinidae). Acta Zool. (Stockh) 91, 184–192.
- Yoneva, A., Georgieva, K., Nikolov, P.N., Mizinska, Y., Georgiev, B.B., Stoitsova, S.R., 2009. Ultrastructure of spermiogenesis and mature spermatozoon of *Triaenorhina rectangula* (Cestoda, Cyclophyllidea: Paruterinidae). Folia Parasitol. 56, 275–283.
- Yoneva, A., Levron, C., Nikolov, P.N., Mizinska, Y., Mariaux, J., Georgiev, B.B., 2012. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the Paruterinid cestode *Notopentorchis* sp. (Cyclophyllidea). Parasitol. Res. 111, 135–142.
- Yoneva, A., Miquel, J., Świderski, Z., Georgieva, K., Mizinska, Y., Georgiev, B.B., 2006. Ultrastructure of spermiogenesis and mature spermatozoon of *Angularella* beema (Clerc, 1906) (Cestoda, Cyclophyllidea, Dilepididae). Acta Parasitol. 51, 264-272.
- Yoneva, A., Świderski, Z., Georgieva, K., Nikolov, P.N., Mizinska, Y., Georgiev, B.B., 2008. Spermiogenesis and sperm ultrastructure of *Valipora mutabilis* Linton, 1927 (Cestoda, Cyclophyllidea, Gryporhynchidae). Parasitol. Res. 103, 1397–1405.

Titre : Morpho-anatomie, Bioécologie et Ultrastructure chez les cestodes Cyclophyllidea et Bothriocephalidea

Nom du candidat : Mme Aïssatou Bâ Mbodji

Nature du mémoire : Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences

Jury :

Président :	M. Ousmane Faye	Professeur Titulaire	FST/UCAD
Rapporteurs :	M. Bernard Marchand	Professeur Titulaire	FST/UCPP
	M. Jordi Miquel	Professeur Titulaire	FF/UB
Examinateurs :	M. Ben Sikina Toguebaye	Professeur Titulaire	FST/UCAD
	M. Mady Ndiaye	Professeur Titulaire	FST/UCAD
Directeur de thèse :	M. Cheikh Tidiane Bâ	Professeur Titulaire	FST/UCAD

Résumé

Le présent travail porte sur onze espèces de Cestodes dont Six Cyclophyllidea (Anomotaenia quelea, Echinocotyle dolosa, Paroniella reynoldsae, Raillietina (R) baeri, Sudarikovina taterae et Taeniarhynchus saginatus) et cinq Bothriocephalidea (Bothriocephalus claviceps, Bothriocotyle sp., Glossobothrium nipponicum, Glossobothrium sp.1 et Glossobothrium sp. 2). Ces helminthes ont été récoltés chez sept espèces de vertébrés : deux poissons (Anguilla anguilla et Schedophilus velaini), deux oiseaux (Corvus albus et Quelea quelea) et trois mammifères (Mastomys erythroleucus, Gerbilluscus gambianus et Homo sapiens). L'étude morpho-anatomique de quatre Bothriocephalidea nous a permis de signaler la présence de trois nouvelles espèces : (Bothriocotyle velaini, Glossobothrium velaini et Glossobothrium senegalensis) et de nouveaux caractères de diagnose. L'étude de la répartition géographique des hôtes nous a permis de mettre en évidence l'existence de nouveaux hôtes (Corvus albus et Schedophilus velaini) et de nouvelles localités (Sénégal, Afrique).

L'étude utrastructurale de la spermiogenèse de *Sudarikovina taterae* a permis de révéler pour la première fois la présence chez les cestodes de deux centrioles à caractères ultrastructuraux distinctifs et parallèles entre eux.

L'étude ultrastructurale du spermatozoïde de six Cyclophyllidea (*Anomotaenia quelea, Echinocotyle dolosa, Paroniella reynoldsae, Raillietina (R) baeri, Sudarikovina taterae* et *Taeniarhynchus saginatus*) et trois Bothriocephalidea (*Bothriocephalus claviceps, Bothriocotyle* sp., *Glossobothrium* sp.) nous a permis de mettre en évidence pour la première fois l'existence chez les cestodes de sept corps en crête, chez les Bothriocephalidea d'un cône apical, uniquement de microtubules transparents aux électrons ou la coexistence de microtubules transparents et opaques aux électrons dans le même spermatozoïde et chez les Cyclophyllidea de cônes apicaux de longueur et d'aspect différents, d'un disque apical en lieu et place du cône apical, d'un noyau rectiligne à sections polylobées, d'un noyau dans l'extrémité postérieure du spermatozoïde, de microtubules corticaux spiralés uniquement à leur extrémité antérieure. De plus, la présence de deux corps en crête est signalée pour la première fois dans la famille des Dilepididae.

Mots-clés : Morpho-anatomie, Bioécologie, Ultrastructure, Spermatozoïde, Cyclophyllidea, Bothriocephalidea, cône apical, corps en crête.