Développement embryonnaire de deux *Phyllobothriidae* (Cestoda : *Tetraphyllidea*)

par L. EUZET et F. MOKHTAR-MAAMOURI

Laboratoire de Parasitologie comparée, Université des Sciences et Techniques du Languedoc,
Place E.-Bataillon, F 34060 Montpellier Cedex

Résumé.

Caulobothrium longicollis (Linton, 1890) et *Phyllobothrium gracile* (Weld, 1855) (Cestoda : *Tetraphyllidea*, *Phyllobothriidae*) ont un développement embryonnaire semblable dont les caractéristiques sont les suivantes :

- un petit nombre de cellules vitellines (2 ou 3) accompagnent l'ovocyte fécondé dans l'ootype ;
- une coque peu épaisse non operculée ;
- une segmentation totale et égale du zygote suivie par des divisions inégales menant à la formation de 4 types de blastomères (Macromères, Macromère secondaire, Mésomères et Micromères) ;
- la différenciation de deux enveloppes embryonnaires syncytiales au cours de la phase préoncosphère ; l'enveloppe externe englobant le reste du matériel vitellin et trois Macromères, parmi lesquels le Macromère secondaire ; l'enveloppe interne ou embryophore se formant à partir de 5 à 6 Mésomères ;
- l'existence d'une membrane oncosphérale ;
- une larve hexacanthé, constituée par un petit nombre de cellules (24) ;
- l'ontogénèse des *Phyllobothriidae* est semblable à celle des *Onchobothriidae*. Par leurs caractéristiques embryonnaires, les *Tetraphyllidea* se rapprochent des *Cyclophyllidea*. Cette ressemblance permet d'envisager une parenté phylogénique entre les deux ordres de Cestodes.

Summary.

Embryogenesis in two *Phyllobothriidae* (Cestoda : *Tetraphyllidea*).

Caulobothrium longicollae (Linton, 1890) and *Phyllobothrium gracile* (Weld, 1855) (Cestoda : *Tetraphyllidea*, *Phyllobothriidae*) have the same embryonic development with the following characteristic data :

- a small number of vitelline cells (2 or 3) pass with the zygote in the ootype ;
- a non operculate thin egg-shell ;
- the entire and equal zygote cleavage following by unequal divisions leading to the formation of four blastomere types (Macromeres, secondary Macromere, Mesomeres and Micromeres) ;
- the differentiation of two syncytial embryonic envelopes during the preoncospheral phase. The outer envelope encloses the vitelline material remnant and three Macromeres among which the secondary Macromere. The inner envelope or embryophore, originates from five or six Mesomeres ;
- the presence of the oncospheral membrane ;
- the *Phyllobothriidae* ontogenesis is similar to that of the *Onchobothriidae*. By their embryonic features, the *Tetraphyllidea* are close to the *Cyclophyllidea*. This similarity suggests a phylogenetic relationship between those two Cestoda orders.

Un précédent travail sur l'embryologie de 3 Cestodes *Tetraphyllidea* du genre *Acanthobothrium* a révélé qu'il existe chez ces *Onchobothriidae* un schéma commun de l'ontogénèse. Pour vérifier si les autres *Tetraphyllidea* suivent le même mode de développement, nous avons étudié deux espèces de *Phyllobothriidae* appartenant à des genres différents.

Ces deux Cestodes parasites de l'intestin spiral de Sélaciens sont :

Caulobothrium longicollae (Linton, 1890), espèce apolitique, prélevé chez *Myliobatis aquila* (L).

Phyllobothrium gracile (Weld, 1855), espèce europolitique, recueilli chez *Torpedo marmorata* Risso.

Les méthodes d'étude sont identiques à celles employées pour les *Onchobothriidae* :

- Examen histologique des coupes sériées de segments du strobile et de proglottis libres.
- Coloration *in toto* de proglottis matures suivie d'une dissection de l'utérus dans une goutte de baume du Canada.
- Compression énergétique d'œufs frais, fixation et coloration entre lame et lamelle.

C'est cette dernière technique qui nous a donné les meilleurs résultats. En effet, chez ces deux Cestodes, les œufs ont une coque munie de filaments polaires,

qui, par leur enchevêtrement, gênent la séparation des œufs dans l'utérus fixé et coloré *in toto*.

Il nous faut souligner que chez *P. gracile*, tous les œufs utérins d'un proglottis sont pratiquement au même stade de l'ontogénèse.

A. Développement de *Caulobotbrium longicolle* (Linton, 1890)

I. Formation de l'œuf.

Les ovocytes primaires, situés non loin de l'ovicapte, sont de grosses cellules, légèrement polygonales, de 12 μm de largeur. Leur cytoplasme, finement granuleux, montre de petites inclusions plus claires. Le noyau (5 μm de diamètre) présente un gros nucléole (2 μm de diamètre) et une chromatine, en filaments enchevêtrés, condensée contre la membrane nucléaire.

L'ovocyte primaire quitte l'ovaire par l'ovicapte musculieux et passe dans l'oviducte. La fécondation a lieu au niveau du débouché vaginal. Deux cellules vitellines, rarement trois, sont libérées dans l'oviducte. Elles viennent alors s'accoler à l'ovocyte fécondé (*fig. 1*) et l'ensemble s'engage dans l'ootype.

Ces cellules vitellines, de forme variable, mesurent au plus 13 μm de longueur et 7 μm de largeur. Leur cytoplasme est bourré d'inclusions éosinophiles. Le noyau, à contour peu net, a 3 μm de diamètre. La chromatine est fortement condensée en grande partie contre la membrane nucléaire. Le nucléole, s'il est présent, se distingue mal du reste des granules chromatiques (*fig. 1*).

L'ovocyte fécondé, accompagné des cellules vitellines, sort de l'ootype et s'engage dans l'utéroducte. Ce passage se traduit par l'apparition d'une mince pellicule autour de l'ensemble. Les cellules vitellines présentent, alors, un net remanement cytoplasmique et semblent être vidées de leurs inclusions éosinophiles (*fig. 2*).

La mince pellicule qui apparaît ainsi est l'ébauche de la coque de l'œuf. Elle acquiert sa constitution définitive dans l'utéroducte où elle devient très nette, mais reste peu épaisse.

L'œuf, ainsi formé, parvient dans l'utérus. Les cellules vitellines perdent leur intégrité, leur membrane plasmique n'est plus visible. Il se forme autour de l'ovocyte fécondé, une sorte de syncytium où l'on peut encore observer les 2 noyaux des cellules vitellines (*fig. 3*).

Dans l'utérus, la coque, première enveloppe protectrice, est piriforme. Elle a environ 60 μm de long et 45 μm de large et est munie d'un filament polaire de 300 μm de longueur.

L'un des noyaux du syncytium vitellin dégénère très rapidement. Le deuxième subsiste quelques temps à côté de l'ovocyte fécondé, puis s'efface. Ainsi, lorsque le zygote commence sa segmentation, les noyaux des cellules vitellines ne sont plus visibles.

FIG. 1 à 5. — Développement embryonnaire de *Caulobothrium longicolle* (Linton, 1890). Fig. 1. Ovocyte fécondé et cellules vitellines, dans l'oviducte, avant l'ootype. Fig. 2. Ovocyte fécondé et cellules vitellines entourés par la coque, dans l'utéroducte, à la sortie de l'ootype. Le filament polaire (f) n'est représenté que par sa racine. Fig. 3. Œuf dans l'utérus. A l'intérieur de la coque, le zygote est entouré par le syncytium vitellin. Fig. 4. Zygote après l'expulsion des globules polaires. Stade à 2 pronuclei. Fig. 5. Métaphase de la première division de segmentation.

Abréviations : Cq : Coque ; CV : Cellule vitelline ; f : filament polaire de la coque ; gp : globule polaire ; g.p.i. : globule polaire à profil incurvé ; NV : noyau de cellule vitelline ; OV : Ovocyte fécondé ; P : Pronuclei (♂ et ♀) ; SV : Syncytium vitellin ; Zy : Zygote.

A son arrivée dans l'utérus, l'ovocyte primaire fécondé subit les divisions méiotiques. Deux globules polaires sont émis (fig. 4) et, dans le zygote, on distingue les 2 pronuclei. Un troisième globule, montrant un noyau dense, à profil incurvé, est présent. Mais, n'ayant pas observé de globule polaire en division, nous ne pouvons préciser son origine. Ces globules, y compris celui reconnaissable à son profil, subsistent jusqu'à la fin de la phase segmentation.

L'amphimixie est suivie par la métaphase de première division (fig. 5).

II. Segmentation.

Les divisions se font par des mitoses normales. Nous avons souvent observé le fuseau achromatique et les asters.

A la fin de la première division, on obtient deux blastomères semblables, désignés sous le nom de MACROMÈRES INITIAUX (Ma). Ce sont de grosses cellules qui rappellent le zygote bien que de taille inférieure (fig. 6).

La segmentation est donc au départ égale et totale.

L'observation de mitoses simultanées permet d'affirmer que les deux blastomères initiaux se divisent. Cependant, les divisions peuvent être :

— soit synchrones et on observe le noyau des deux Macromères au même stade de la mitose (*fig. 8 et 9*) ;

— soit asynchrones avec le noyau des Macromères à des stades différents (*fig. 7*).

Les deux cas paraissent aussi fréquents l'un que l'autre.

Dans le cas des divisions synchrones (*fig. 8 et 9*), les deux premiers Macromères donnent chacun un nouveau Macromère et un blastomère nettement plus petit, à cytoplasme peu abondant et dont le noyau, à chromatine fortement condensée et sans nucléole, ne dépasse pas 1,5 μ m. Ces deux petits blastomères ont été nommés MICROMÈRES (Mi). On passe ainsi directement au stade à 4 blastomères (*fig. 12*) (2 Macromères et 2 Micromères).

Dans le cas des divisions asynchrones, on rencontre des stades à 3 blastomères avec 2 Macromères dont l'un est en mitose, l'autre ayant déjà donné 1 Micromère (*fig. 11*). On passe ensuite au stade à 4 blastomères (2 Ma, 2 Mi) (*fig. 12*). Mais il est aussi fréquent d'observer au stade à 3 blastomères (2 Ma, 1 Mi) les deux Macromères au même stade de la mitose (*fig. 10*) ce qui mènera directement à un stade à 5 blastomères (*fig. 13*) (2 Macromères et 3 Micromères).

Mais on peut aussi accéder à ce stade-là (*fig. 15*) à partir du stade à 4 blastomères (*fig. 12*), l'un des Macromères, se divisant avant l'autre, donnant un nouveau Micromère.

Les deux Macromères de ce stade 5 peuvent s'observer au même stade (*fig. 13 et 14*) ou à des stades différents de division (*fig. 15*).

Au stade à 5 blastomères, l'un des Macromères donne un Macromère et un blastomère de taille intermédiaire entre Macromère et Micromère. Ce nouveau blastomère nommé MÉSOMÈRE (Me) mesure environ 4 μ m de diamètre. Il possède un noyau à chromatine en fins filaments enchevêtrés avec un petit nucléole et un cytoplasme relativement abondant.

Le stade à 6 blastomères (*fig. 16*) comprend alors 2 Macromères dont l'un prépare une nouvelle division, un Mésomère et 3 Micromères.

A la segmentation suivante, un quatrième Micromère apparaît et à ce stade à 7 blastomères (*fig. 17*) on peut observer 2 Macromères dont l'un est en métaphase, 1 Mésomère et 4 Micromères identiques.

Le stade 7 (*fig. 17*) peut aussi dériver du stade 5 (*fig. 14*) par divisions simultanées des 2 Macromères, l'un donnant 1 Mésomère, l'autre 1 Micromère.

Le stade à 8 blastomères est caractérisé par l'apparition à partir d'un Macromère, d'un second Mésomère (*fig. 18 et 19*).

Au stade à 9 blastomères (fig. 20), un nouveau type de blastomère se forme. Sa taille est légèrement inférieure à celle d'un Macromère, mais le noyau, ovoïde, où on ne distingue pas de nucléole net, contient une chromatine très réticulée. Il représente le MACROMÈRE SECONDAIRE (Ma II).

A cette phase de la segmentation, la masse de cellules embryonnaires est donc composée de 2 Macromères, 1 Macromère secondaire, 2 Mésomères et 4 Micromères (fig. 20).

L'existence chez les Macromères de mitoses simultanées ou nettement décalées ne permet pas de déterminer avec certitude l'origine exacte des différents blastomères.

Cependant, la présence d'une division synchrone des 2 Macromères initiaux (Ma 1 et Ma 2) (fig. 8) et d'un stade à 2 Macromères et 2 Micromères (fig. 12) permet d'affirmer que les 2 Macromères initiaux donnent chacun un Micromère.

Mais nous avons noté ci-dessus que la division des premiers Macromères (Ma 1 et Ma 2) pouvait être nettement décalée (fig. 7), un Micromère apparaît avant l'autre, sans que nous puissions préciser quel est le Macromère qui se divise le premier.

L'existence d'une division simultanée des 2 Macromères au stade à 3 blastomères (fig. 10) ne laisse aucun doute sur l'origine du troisième Micromère. Il provient de la division d'un Macromère et non de celle d'un Micromère.

Pour le début de la segmentation, un schéma unique peut être adopté (fig. 28, 29, 30) :

- du Macromère Ma 1 dérivent 2 Micromères (Mi 12 et Mi 112),
- du Macromère Ma 2 dérive le Micromère Mi 22.

Le premier Mésomère (fig. 16) et le quatrième Micromère (fig. 17) proviennent sûrement de Macromères différents puisque nous avons observé des mitoses simultanées au stade à 5 blastomères (fig. 14).

FIG. 6 à 17. — Développement embryonnaire de *Caulobothrium longicollis* (Linton, 1890). Fig. 6. Stade à 2 blastomères égaux (Macromères initiaux). Fig. 7. Division décalée des 2 premiers Macromères (début et fin de prophase). Fig. 8. Mitose simultanée des 2 premiers Macromères (métaphase). Fig. 9. Mitose simultanée des 2 premiers Macromères (fin de Télaphase). Fig. 10. Stade à 3 blastomères : 2 Macromères en division simultanée (métaphase) et 1 Micromère. Fig. 11. Stade à 3 blastomères : 2 Macromères dont l'un est en métaphase et 1 Micromère. Fig. 12. Stade à 4 blastomères : 2 Macromères dont l'un est en fin de prophase et 2 Micromères. Fig. 13. Stade à 5 blastomères : 2 Macromères et 3 Micromères. Fig. 14. Stade à 5 blastomères : 2 Macromères en division simultanée (métaphase) et 3 Micromères. Fig. 15. Stade à 5 blastomères : 2 Macromères dont l'un est en prophase et 3 Micromères. Fig. 16. Stade à 6 blastomères : 2 Macromères dont l'un est en métaphase, 1 Mésomère et 3 Micromères. Fig. 17. Stade à 7 blastomères : 2 Macromères dont l'un est en fin de prophase, 1 Mésomère et 4 Micromères.

Abréviations : Ma : Macromère ; Me : Mésomère ; Mi : Micromère.

L'origine du second Mésomère (fig. 18 et 19) et du Macromère secondaire (fig. 20) est discutable. Ils peuvent être issus de l'une ou l'autre lignée des Macromères initiaux (Ma 1 et Ma 2).

Trois schémas peuvent être proposés pour expliquer les diverses possibilités :

SCHÉMA 1 (fig. 28) :

La lignée d'un Macromère initial (Ma 1) donne 3 Micromères et le Macromère secondaire (Ma II). Celle de l'autre Macromère (Ma 2) fournit 1 Micromère et les 2 Mésomères.

Les 2 Macromères initiaux (Ma 1 et Ma 2) n'ont pas la même valeur puisqu'ils sont à l'origine de 2 lignées différentes ne comprenant pas les mêmes types de blastomères, mis à part les Micromères.

SCHÉMA 2 (fig. 29) :

Le Macromère initial Ma 1 fournit 3 Micromères (Mi 12, Mi 112, Mi 1112) et un Mésomère (Me 11112), tandis que le Macromère initial Ma 2 donne seulement un Micromère, le premier Mésomère et le Macromère secondaire (Ma II).

SCHÉMA 3 (fig. 30) :

Le Macromère initial Ma 1 est à l'origine de 2 Micromères (Mi 12 et Mi 112), du premier Mésomère (Me 1112) et du Macromère secondaire (Ma II).

Du Macromère initial Ma 2 dérivent 2 Micromères (Mi 22 et Mi 212) et le second Mésomère (Me 2112).

Les schémas 2 et 3 impliquent une certaine équivalence des lignées issues des 2 Macromères initiaux (Ma 1 et Ma 2), chacune donnant Micromères et Mésomères. La seule différence porte sur l'origine du Macromère secondaire (Ma II).

FIG. 18 à 27. — Développement embryonnaire de *Caulobothrium longicollis* (Linton, 1890). Fig. 18. Stade à 8 blastomères : 2 Macromères, 2 Mésomères et 4 Micromères. Fig. 19. Stade à 8 blastomères. Un des 2 Macromères prépare une division. Fig. 20. Stade à 9 blastomères : 2 Macromères, 2 Mésomères, 4 Micromères et apparition du Macromère secondaire. Fig. 21. Stade à 10 blastomères : 2 Macromères, 1 Macromère secondaire, 3 Mésomères et 4 Micromères. Fig. 22. Jeune préoncosphère où plusieurs blastomères sont en division. Noter la position périphérique du Macromère secondaire. Fig. 23 et 24. Enveloppe externe en formation. Fig. 25. Enveloppe syncytiale externe formée où l'on distingue le noyau du Macromère secondaire et 2 noyaux de type Macromère. Fig. 26. Jeune oncosphère entourée par la coque, l'enveloppe externe et l'enveloppe interne. La différenciation cellulaire est avancée, mais le nombre de cellules somatiques est encore assez important. Fig. 27. Oncosphère avec ces différentes enveloppes. Le nombre de cellules somatiques est réduit.

Abréviations : Cq : Coque ; E. ex : Enveloppe externe ; Em : Embryophore ; Ma II : Macromère secondaire ; m. o : membrane oncosphérique ; n. Ma II : noyau du Macromère secondaire ; N. p : Noyau picnotique.

FIG. 28 à 30. — Développement embryonnaire de *Caulobothrium longicollis* (Linton, 1890).
 Fig. 28. Premier schéma possible de la segmentation. Le Macromère initial Ma 1 donne 3 Micromères (Mi 12, Mi 112 et Mi 1112) et le Macromère secondaire Ma II. Le Macromère initial Ma 2 donne 1 Micromère (Mi 22) et 2 Mésomères (Me 212 et Me 2112).
 Fig. 29. Deuxième schéma possible de la segmentation. Le Macromère initial Ma 1 fournit 3 Micromères (Mi 12, Mi 112 et Mi 1112) et 1 Mésomère (Me 11112). Le Macromère initial Ma 2 fournit 1 Micromère (Mi 22), 1 Mésomère (Me 212) et le Macromère secondaire (Ma II).
 Fig. 30. Troisième schéma possible de la segmentation. Le Macromère initial Ma 1 est à l'origine de 2 Micromères (Mi 12 et Mi 112), 1 Mésomère (Me 1112) et le Macromère secondaire (Ma II). Le Macromère initial Ma 2 est à l'origine de 2 Micromères (Mi 22 et Mi 212) et 1 Mésomère (Me 2112).

Abréviations : Ma : Macromère ; Ma II : Macromère secondaire ; Me : Mésomère ; Mi : Micromère ; Zy : Zygote.

III. Préoncosphère.

MULTIPLICATION CELLULAIRE.

A la fin de la phase segmentation proprement dite, les divisions se succèdent à un rythme plus accéléré et concernent plusieurs cellules à la fois (*fig. 21 et 22*).

Le nombre de Mésomères augmente rapidement, par contre, les Micromères dégénèrent assez tôt.

En même temps, les blastomères diminuent de taille. Les membranes plasmiques ne se distinguent plus et l'embryon acquiert l'allure d'un syncytium (*fig. 23, 24 et 25*) où les noyaux présentent une chromatine fortement condensée contre la membrane nucléaire. Cependant (*fig. 24*), on peut distinguer deux gros noyaux contenant un nucléole et qui peuvent être considérés, d'après leur taille, comme étant ceux de Macromères.

Le Macromère secondaire garde son aspect et ne prend pas part à la multiplication cellulaire. Il reste constamment à la limite de la masse embryonnaire (*fig. 22, 23 et 24*).

L'embryon acquiert finalement l'allure d'une morula où l'on compte 80 à 100 blastomères à noyau très colorable (*fig. 25*).

FORMATION DES ENVELOPPES EMBRYONNAIRES.

Pendant que s'effectue la multiplication cellulaire, le Macromère secondaire s'isole très tôt et vient se placer à la périphérie de la couche vitelline anucléée (*fig. 22, 23 et 24*). Par la suite, deux blastomères, ressemblant aux Macromères par la présence dans le noyau d'un nucléole et d'une chromatine en réseau fin, quittent la masse des cellules embryonnaires (*fig. 25*) et viennent dans cette couche vitelline. L'embryon se trouve alors entouré par une ENVELOPPE EXTERNE assez épaisse, de type syncytial, comprenant dans le reste du cytoplasme vitellin, le noyau du Macromère secondaire et 2 noyaux de type Macromère. Ces derniers, peu colorables, deviennent de plus en plus difficiles à distinguer.

Par la suite, cinq cellules dont le noyau rappelle celui des Mésomères se placent entre la masse embryonnaire et l'enveloppe externe formant une nouvelle couche syncytiale qui entoure l'embryon. Cette ENVELOPPE INTERNE constitue l'embryophore qui atteint 5 μ m d'épaisseur (*fig. 26*).

DIFFÉRENCIATION CELLULAIRE.

Durant la formation de l'enveloppe interne, une différenciation cellulaire s'opère dans la masse embryonnaire.

On note l'apparition de 3 paires de crochets, puis, une nette diminution du nombre des noyaux, donc des cellules, formant l'embryon (*fig. 26*).

Les 6 crochets, semblables, mesurant 11 μ m de longueur apparaissent. Ils occupent, dans la région postérieure de l'embryon, une position classique : deux

paires latérales symétriques par rapport à la paire centrale. Les deux crochets de cette dernière paire sont eux-mêmes situés de part et d'autre du plan médio-longitudinal de l'embryon.

La membrane oncosphérale qui apparaît à ce stade de l'ontogénèse est surtout visible, dans la région postérieure de la larve, au niveau de la pointe des crochets. Son origine reste à déterminer.

IV. Oncosphère (fig. 27).

Nous avons observé dans l'oncosphère 24 cellules de 3 types différents :

— une paire de grosses cellules (10 μm de diamètre) à cytoplasme abondant, contenant un volumineux noyau (6 μm) à nucléole bien distinct et chromatine finement granuleuse. Ces 2 cellules, situées dans la région antérieure de l'embryon, sont disposées de part et d'autre du plan de symétrie de la larve. Elles sont à l'origine des glandes de pénétration ;

— une paire de cellules à cytoplasme moins abondant, dont le noyau est aussi gros que celui des cellules décrites ci-dessus. Ces deux cellules, situées un peu en arrière des premières, sont considérées comme étant à l'origine des cellules germinatives ou de multiplication ;

— 20 petites cellules à membrane plasmique peu distincte, reconnaissables par l'aspect identique de leur noyau, apparemment sans nucléole, mais contenant une chromatine en filaments épais. Ces cellules se localisent principalement dans un champ médio-longitudinal.

L'embryon hexacanthé ainsi formé, est protégé de l'extérieur vers l'intérieur par :

- la coque ayant pour origine du matériel provenant des cellules vitellines ;
- l'enveloppe externe formée par le reste du syncytium vitellin, le Macromère secondaire et 2 cellules de type Macromère ;
- l'enveloppe interne ou embryophore qui a pour origine 5 ou 6 cellules du type Mésomère ;
- la membrane oncosphérale.

B. Développement de *Phyllobotbrium gracile* (Weld, 1855)

I. Formation de l'œuf.

L'ovocyte primaire est une cellule légèrement ovoïde atteignant 22 μm de longueur et 19 μm de largeur. Le cytoplasme apparaît finement granuleux avec des inclusions retenant intensément les colorants nucléaires. Le noyau (8 μm de dia-

mètre) contient un gros nucléole (2,5 μm de diamètre) et une chromatine formant quelques épaississements contre la membrane nucléaire.

Dans l'oviducte, l'ovocyte primaire subit la fécondation au niveau du débouché vaginal, puis, là où se déverse le vitelloducte médian, il est entouré par 3 cellules vitellines (*fig. 3*). L'ensemble passe alors dans l'ootype dont la paroi est garnie par de nombreuses glandes de Mehlis.

Les cellules vitellines, globuleuses, pratiquement aussi grosses que l'ovocyte primaire, mesurent 22 μm de largeur. Leur cytoplasme présente de nombreuses inclusions éosinophiles. Le noyau (3 μm de diamètre) contient, entre le gros nucléole et la membrane nucléaire, une chromatine condensée en croûtes.

A la sortie de l'ootype, dans l'utéroducte, l'ovocyte fécondé et les 3 cellules vitellines sont entourés par une mince pellicule (*fig. 32*). Cette pellicule paraît avoir pour origine les globules éosinophiles qui ont quitté les cellules vitellines lors du passage à travers l'ootype. Difficilement décelable au début de sa formation, cette structure assimilée à la coque s'épaissit par la suite, et devient de plus en plus distincte. Dans l'utérus, la coque, fusiforme (150 μm de longueur et 60 μm de largeur) possède 2 longs et minces filaments polaires (500 μm). Cette morphologie reste inchangée au cours du développement.

A l'intérieur de la coque, les 3 cellules vitellines subissent un remaniement profond. Leur membrane plasmique n'est plus discernable (*fig. 33*) puis, dans le syncytium ainsi formé, les noyaux dégénèrent l'un après l'autre.

Pendant ce temps, l'ovocyte primaire fécondé subit les deux divisions de la méiose. Deux globules polaires sont expulsés. Un troisième globule est parfois visible. Il peut provenir de la division du premier globule émis bien que nous ne l'ayons jamais observé en division (*fig. 33*).

II. Segmentation.

Les mitoses sont normales, mais la prophase est caractérisée par la fragmentation du nucléole en une dizaine de petits granules qui, avant de s'effacer, s'éparpillent dans le noyau. La chromatine se condense en filaments de plus en plus épais.

A la fin de la première division, il se forme deux blastomères égaux que nous nommons Macromères initiaux (*fig. 35*).

La segmentation du zygote est donc totale et égale.

L'observation de figures de mitose légèrement décalées nous permet d'affirmer que les 2 Macromères initiaux se divisent.

La segmentation se poursuit et il apparaît successivement un Mésomère (*fig. 36*), deux Micromères (*fig. 37 et 38*). Un second Mésomère (*fig. 39*) provient de la division du premier; en effet, au stade à 5 blastomères (*fig. 38*), le premier Mésomère a été observé en métaphase. Ensuite, apparaissent un troisième Mésomère (*fig. 40 et 41*), puis un Macromère secondaire (*fig. 42*) qui présente peu de différence avec les autres Macromères. Le 3^e Mésomère et le Macromère secondaire proviennent sûrement de la division de Macromères différents.

A la fin de la phase de segmentation proprement dite, l'embryon est donc constitué par 2 Macromères, 1 Macromère secondaire, 3 Mésomères et 2 Micromères (fig. 42). Par la suite, les mitoses se déroulent simultanément dans plusieurs blastomères et il est alors impossible de déterminer l'origine des différentes cellules formées (fig. 43 et 44).

En ce qui concerne la segmentation proprement dite, il existe des différences nettes entre les deux *Phyllobothriidae* étudiés. Elles portent essentiellement sur l'ordre d'apparition et le nombre des Micromères et des Mésomères.

— Chez *Caulobothrium longicolle*, à partir des Macromères, deux Mésomères se forment après les 4 Micromères. Les Mésomères commencent leur division après l'apparition du Macromère secondaire.

— Chez *Phyllobothrium gracile*, à partir des Macromères, le premier Mésomère se forme avant les 2 Micromères. Ce Mésomère est à l'origine du deuxième Mésomère. Un troisième Mésomère issu d'un Macromère apparaît avant le Macromère secondaire.

Cependant, à la fin de la phase segmentation, on retrouve les mêmes types de blastomères : Macromères, Macromère secondaire, Mésomères et Micromères.

Mais chez *C. longicolle* il se forme 4 Micromères et 2 Mésomères et chez *P. gracile*, 2 Micromères et 3 Mésomères.

FIG. 31 à 48. — Développement embryonnaire de *Phyllobothrium gracile* (Weld, 1855). Fig. 31. Ovocyte fécondé avec 3 cellules vitellines dans l'oviducte. Fig. 32. Zygote et cellules vitellines entourés par la coque à la sortie de l'ootype. Fig. 33. Œuf dans l'utérus, à l'intérieur de la coque épaissie, le syncytium vitellin est formé, les globules polaires expulsés et les pronuclei (♂ et ♀) sont apparents. Les filaments polaires ne sont représentés que par leur racine. Fig. 34. Anaphase de première division de segmentation. Fig. 35. Stade à 2 blastomères égaux. Les mitoses des deux Macromères sont décalées. Fig. 36. Stade à 3 blastomères : 2 Macromères préparant une division et 1 Mésomère. Fig. 37. Stade à 4 blastomères : 2 Macromères préparant une division, 1 Mésomère et 1 Micromère. Fig. 38. Stade à 5 blastomères : 2 Macromères en début de prophase, 1 Mésomère en métaphase et 2 Micromères. Fig. 39. Stade à 6 blastomères : 2 Macromères en prophase, 2 Mésomères et 2 Micromères. Fig. 40. Stade à 7 blastomères : 2 Macromères dont l'un est en début de prophase et l'autre en télophase, 3 Mésomères et 2 Micromères. Fig. 41. Stade à 7 blastomères : 2 Macromères en début de prophase. Fig. 42. Stade à 8 blastomères : 2 Macromères, 1 Macromère secondaire, 3 Mésomères et 2 Micromères. Fig. 43. Stade à 9 blastomères avec plusieurs cellules en division et 5 noyaux picnotiques. Fig. 44 et 45. Préoncosphère, début de la formation de l'enveloppe externe. Fig. 46. Enveloppe externe constituée. Fig. 47. Enveloppe interne ou embryophore formée et différenciation cellulaire dans la préoncosphère. Fig. 48. Oncosphère entourée par toutes ses enveloppes.

Abréviations : Cq : Coque ; CV : cellule vitelline ; E. ex : Enveloppe externe ; Em : Embryophore ; f : filament polaire ; gp : globule polaire ; Ma : Macromère ; Ma II : Macromère secondaire ; Me : Mésomère ; Mi : Micromère ; mo : membrane oncosphérique ; n C V : noyau de cellule vitelline ; N p : noyau picnotique ; OV : ovocyte fécondé ; P : pronuclei (♂ et ♀) ; S V : Syncytium vitellin ; Zy : Zygote.

III. Préoncosphère.

La phase de multiplication cellulaire est suivie par la dégénérescence de certains blastomères parmi lesquels les Micromères (*fig. 43 et 44*).

Lorsque, dans la préoncosphère, on compte une quarantaine de blastomères, le Macromère secondaire, qui ne semble pas avoir pris part aux divisions, s'éloigne de la masse cellulaire (*fig. 44*) et se place à la limite du syncytium vitellin. L'enveloppe externe se constitue alors autour de l'embryon. Dans le cytoplasme abondant de cette couche syncytiale, on distingue aussi 2 noyaux, parfois 4, de type Macromère, à chromatine fragmentée et petit nucléole. Le noyau du Macromère secondaire, nettement plus gros et contenant un nucléole volumineux, est toujours situé à la limite de cette enveloppe externe (*fig. 45, 46 et 47*).

L'enveloppe interne, que nous nommons embryophore, se forme à partir de 6 cellules qui se séparent de la masse embryonnaire. Ces cellules sont semblables aux Mésomères qui se trouvent à l'intérieur de l'embryon (*fig. 47*).

Pendant la mise en place de ces deux enveloppes syncytiales (externe et interne) une différenciation cellulaire s'effectue à l'intérieur de la masse embryonnaire. Trois paires de crochets se constituent à partir des oncoblastes, puis le nombre de blastomères diminue.

À ce stade, la membrane oncosphérale apparaît entre l'enveloppe interne et l'embryon. Difficile à distinguer, elle ne semble pas, cependant, avoir une origine cellulaire. Sa formation mérite une étude plus approfondie.

IV. L'oncosphère (*fig. 48*).

Elle est constituée par 3 types de cellules :

- une paire de grosses cellules à gros nucléole qui correspondent aux glandes de pénétration ;
- une paire de cellules légèrement plus petites qui représentent les cellules germinatives ;
- une vingtaine de petites cellules que nous pensons être les cellules somatiques. Ces cellules se répartissent dans l'axe antéro-postérieur et dans la région des crochets.

L'oncosphère ainsi formée est entourée de l'extérieur vers l'intérieur par :

- la coque ;
- l'enveloppe externe comprenant le reste du syncytium vitellin, le Macromère secondaire et 2 ou 4 noyaux rappelant des Macromères ;
- l'embryophore ;
- la membrane oncosphérale.

C. Comparaison du développement embryonnaire des deux *Phyllobothriidae*

Caulobothrium longicolle et *Phyllobothrium gracile* présentent une ontogénèse semblable qui comporte des caractéristiques constantes.

1. Un petit nombre de cellules vitellines (2 chez *C. longicolle*, 3 chez *P. gracile*) accompagnent l'ovocyte fécondé dans l'ootype.

2. La coque de l'œuf, peu épaisse, paraît avoir pour origine du matériel issu des cellules vitellines, mais elle acquiert sa forme et sa constitution définitive dans l'utérus.

La coque de l'œuf de *C. longicolle*, piriforme, se prolonge par un filament polaire. Celle de *P. gracile*, fusiforme, en possède deux diamétralement opposés.

3. Les cellules vitellines perdent leur intégrité lorsque l'œuf arrive dans l'utérus. Dans le syncytium étalé autour du zygote, les noyaux vitellins persistent quelques temps, puis s'effacent.

4. La première division du zygote est totale et égale, les suivantes sont inégales. A la fin de la phase segmentation proprement dite, il existe quatre types de blastomères (Macromères, Macromère secondaire, Mésomères et Micromères) définis d'après leur taille et l'aspect du noyau.

5. Les enveloppes embryonnaires se forment ensuite, au cours du stade pré-oncosphère :

— l'enveloppe externe comprend le reste du syncytium vitellin, le noyau du Macromère secondaire situé à la limite externe de cette enveloppe et 2 noyaux (parfois 4 chez *P. gracile*) ressemblant à celui des Macromères ;

— l'enveloppe interne ou embryophore se forme à partir de 5 à 6 cellules de type Mésomère ;

— une membrane oncosphérale existe autour de l'embryon, mais elle est difficile à distinguer, sauf au niveau des crochets.

6. L'oncosphère, dans les œufs utérins, est constituée par 24 cellules de 3 types différents définis d'après l'abondance de leur cytoplasme, l'allure et la taille du noyau.

Dans la moitié antérieure de l'hexacanthé et symétriquement par rapport au plan médio-longitudinal on distingue :

- 1 paire de grosses cellules glandulaires ;
- 1 paire de cellules germinatives ou de multiplication ;
- 20 cellules somatiques qui se répartissent généralement suivant l'axe antéro-postérieur et à la base des 3 paires de crochets.

Les seules différences rencontrées au cours de l'étude de l'ontogénèse des deux *Phyllobothriidae* portent sur le déroulement de la segmentation proprement dite. Elles se limitent à l'ordre d'apparition et au nombre relatif des Micromères et des Mésomères.

L'ontogénèse des deux *Phyllobothriidae* étudiés est comparable à celle décrite chez trois *Onchobothriidae* (*Acanthobothrium coronatum*, *A. filicollis* et *A. zschokkei*, Euzet et Mokhtar-Maamouri, 1976).

Cependant, les espèces étudiées, chez les *Onchobothriidae* et les *Phyllobothriidae*, présentent des particularités ontogéniques qui nous paraissent caractéristiques de la famille à laquelle elles appartiennent.

1. La coque de l'œuf des *Onchobothriidae* est très mince. Celle des *Phyllobothriidae* est nettement plus épaisse.

2. Chez les *Onchobothriidae*, dans le syncytium vitellin qui se forme autour du zygote, le noyau d'une cellule vitelline subsiste jusqu'à la fin de l'ontogénèse.

Chez les *Phyllobothriidae*, les noyaux des cellules vitellines disparaissent rapidement.

3. L'enveloppe externe des *Onchobothriidae* englobe avec le noyau et le reste du matériel vitellin le Macromère secondaire.

Chez les *Phyllobothriidae*, le reste du matériel vitellin inclut le Macromère secondaire et aussi 2 Macromères (parfois 4).

Au cours de la phase segmentation proprement dite, il existe des variations dans l'ordre d'apparition et le nombre relatif des Micromères et des Mésomères. Mais ces variations sont aussi importantes entre les représentants des *Phyllobothriidae* qu'entre ceux-ci et les *Onchobothriidae* étudiés.

Il n'est pas possible d'établir un schéma unique de la segmentation, mais la première division est toujours totale et égale. A la fin de cette phase, on observe constamment quatre types de blastomères : Macromères, Macromère secondaire, Mésomères et Micromères.

Conclusion

Le développement embryonnaire des *Phyllobothriidae* concorde dans l'ensemble avec celui que nous avons décrit chez les *Onchobothriidae*. Rien n'étant, jusqu'à maintenant, connu chez les *Tetraphyllidea*, nos résultats permettent de définir un type d'ontogénèse pour cet ordre. Ce développement rappelle en général celui décrit chez les autres Cestodes (Rybicka, 1966), mais il se rapproche nettement de celui des *Cyclophyllidea* par plusieurs caractéristiques importantes (nombre de cellules vitellines accompagnant l'ovocyte, épaisseur de la coque, évolution de l'enveloppe interne ou embryophore).

En 1969, Smyth J. D. a distingué chez les Cestodes deux groupes :

— Dans le groupe A il inclut les Cestodes à nombreuses glandes vitellogènes qui ont des œufs à coque épaisse operculée. Le développement est lié à la vie aquatique. De l'œuf qui éclot dans l'eau sort une larve ciliée nageante, le Coracidium.

Smyth place dans ce groupe les *Pseudophyllidea*, les *Tetrarhynchidea*, les *Tetraphyllidea* et les *Proteocephalidea*.

— Dans le groupe B il place les Cestodes à vitellogènes réduits qui possèdent des œufs à coque mince non operculée. Pondus embryonnés dans le milieu terrestre, ces œufs ne donnent pas de larve ciliée libre. Ce groupe ne comprend que les Cestodes *Cyclophyllidea*.

Ainsi le milieu, aquatique ou terrestre, donc les conditions écologiques, paraissent avoir une importance capitale sur le mode de développement des Cestodes.

Nos observations sur l'ontogénèse des *Tetraphyllidea* (*Phyllobothriidae* et *Onchobothriidae*) prouvent que ces Cestodes, à vitellogènes assez développés, ont des œufs à coque mince non operculée.

Ces œufs, bien que libérés dans l'eau, puisque les Sélaciens, hôtes définitifs sont aquatiques, ne donnent pas de larve nageante avec embryophore ciliée.

La structure des enveloppes de l'œuf n'est donc pas une adaptation au milieu (aquatique ou terrestre), mais traduit des caractéristiques de l'ordre lui-même. L'ensemble des caractères ontogéniques permet des rapprochements d'ordre phylogénique.

Par les premiers stades de l'ontogénèse, par l'anatomie de l'oncosphère et la structure de ses enveloppes, les Cestodes *Tetraphyllidea* se placent plus près des *Cyclophyllidea* à cycle terrestre que des *Pseudophyllidea* à cycle aquatique.

Ce rapprochement *Tetraphyllidea* *Cyclophyllidea* se présente comme un nouvel argument en faveur des idées sur l'évolution diphylétique des Cestodes exposé lors du troisième Congrès International de Parasitologie (Euzet, 1974).

Bibliographie

- EUZET (L.), 1974. — Essai sur la phylogénèse des Cestodes à la lumière de faits nouveaux. *I.C.O.P.A. III, proceedings 1*, Section B3, 378-379.
- EUZET (L.), MOKHTAR-MAAMOURI (F.), 1975. — Développement embryonnaire de 3 Cestodes du genre *Acanthobothrium* (*Tetraphyllidea*, *Onchobothriidae*). *Ann. Parasit. hum. comp.*, 50, 675-690.
- RYBICKA (K.), 1966. — Embryogenesis in Cestodes. *Adv. in Parasitol.*, 4, 107-186.
- SMYTH (J. D.), 1969. — The physiology of Cestodes. *Olivier and Boyd*, édit., Edinburgh and London, 279 p.