ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DU SPERMATOZOÏDE DE *MONIEZIA EXPANSA* ET *M. BENEDENI* (CESTODA, CYCLOPHYLLIDEA, ANOPLOCEPHALIDAE)

C. T. BÂ, B. MARCHAND

RÉSUMÉ

Moniezia expansa et *Moniezia benedeni* ont un spermatozoïde dont l'organisation ultrastructurale est quasi identique. Il est dépourvu de mitochondrie, filiforme et effilé à ses deux extrémités comme chez les autres Cestodes. Nous avons pu mettre en évidence pour la première fois, chez *M. expansa* et *M. benedeni*, l'existence d'un axonème n'atteignant pas les extrémités du sper-

matozoïde, de 2 à 4 champs de microtubules corticaux, d'un cône apical de matériel opaque aux électrons et de 2 corps en crête hélicoïdaux. En outre, nos observations sont en faveur de l'hypothèse de Freeman (1973) selon laquelle les Cyclophyllidea dériveraient des Tetraphyllidea Phyllobothriidae.

SUMMARY: Ultrastructural study of the spermatozoon of *Moniezia expansa* and *M. benedeni* (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae).

Moniezia expansa and *M. benedeni* have a spermatozoon whose ultrastructural organization is virtually identical. It lacks mitochondria, is filiform and tapered at both its extremities as in other Cestodes. We have been able to show for the first time, in *M. expansa* and *M. benedeni* the existence of an axoneme that

does not reach the extremities of the spermatozoon, 2 to 4 fields of cortical microtubules, an apical cone of electron dense material, an two crested-like bodies. Moreover, our results are in favour of Freeman's hypothesis (1973) according to which the Tetraphyllidea Phyllobothriidae would be the ancestors to the Cyclophyllidea.

INTRODUCTION

Les Anoplocephalidae sont, à l'état adulte, parasites de l'intestin et des canaux biliaires des Reptiles, des Oiseaux et des Mammifères terrestres. Leurs gamètes ont été peu étudiés en microscopie électronique. A notre connaissance, seuls ont été décrits l'ultrastructure du spermatozoïde de *Moniezia expansa* (Swiderski, 1968), *Monococcestus americanus* (Mackinnon et Burt, 1984), *Stilesia globipuncta* (Bâ et Marchand, 1992a) ainsi que la spermiogenèse et le spermatozoïde de *Thysaniezia ovilla* (Bâ et al., 1991). Cette dernière étude nous a permis de démontrer que le ou les corps en crête marquent toujours l'extrémité antérieure du spermatozoïde des Cestodes. Dans le présent travail, nous avons repris l'étude ultrastructurale du spermatozoïde de *M. expansa* (Rudolphi, 1810) Blanchard, 1891 qui n'avait été que partiellement faite en microscopie électronique (Swiderski, 1968) et décrivons pour la première fois le spermatozoïde de *M. benedeni* (Moniez, 1879) Blanchard, 1891.

Laboratoire de Parasitologie, Département de Biologie animale,
Faculté des Sciences et Techniques, Université Ch. A. Diop de
Dakar, Dakar, Sénégal.

Accepté le : 13 mars 1992.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les cestodes ont été récoltés aux abattoirs de Dakar, dans l'intestin grêle de bovins, ovins et caprins. Ils ont été prélevés puis maintenus vivants dans du sérum physiologique (NaCl à 9 ‰) où ils demeurent actifs pendant plusieurs heures. Des portions de strobile de 3 à 6 cm de longueur constituées de proglottis mûrs ont été rapidement prélevées, puis étalées avec un pinceau imbibé de glutaraldéhyde froid à 2,5 % tamponné par une solution de cacodylate de sodium 0,1 M à pH 7,2. Des fragments de proglottis contenant une poche du cirre et des conduits spermatiques ont été prélevés sous la loupe, fixés dans le glutaraldéhyde à 4° C pendant environ 24 heures, rincés une nuit dans du tampon cacodylate de sodium, post-fixés au tétroxyde d'osmium froid à 1 % pendant 1 heure, déshydratés par l'éthanol et l'oxyde de propylène, puis inclus dans l'épon. Les coupes ultrafines ont été réalisées à l'ultramicrotome Porter-Blum MT1, puis contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Les observations ont été faites aux microscopes électroniques, Siemens Elmiskop 101 et Jeol 100 CXII.

OBSERVATIONS

Les spermatozoïdes mûrs de *M. expansa* et de *M. benedeni* sont dépourvus de mitochondrie, filiformes et effilés à leurs deux extrémités (fig. 1 et 5). Ils possèdent tous les deux un axonème de type 9 + "1", entouré d'un noyau réalisant une spirale irrégulière, des granules cytoplasmiques opaques aux électrons et des microtubules corticaux accolés à la membrane plasmique et

décrivant une hélice sur presque toute leur longueur. Dans les deux cas, nous avons pu distinguer 5 régions (I-V) différentes mais ne présentant pas de discontinuité morphologique nette entre elles.

La région I (fig. 1, 2, 6) correspond à l'extrémité antérieure du spermatozoïde. Dans sa plus grande largeur, elle atteint environ 0,25 μm . A ce niveau, les microtubules corticaux sont spiralés et réalisent deux champs latéraux qui se recouvrent partiellement l'un l'autre (fig. 6). Deux formations de matériel amorphe opaque aux électrons prolongent vers l'extérieur les champs microtubulaires, réalisant deux corps en crêtes hélicoïdaux (fig. 6) dont les spires font un angle d'environ 40° par rapport à l'axe du spermatozoïde (fig. 1). Chez *M. expansa*, les corps en crêtes sont épais d'environ 30 à 60 nm (fig. 1), tandis que chez *M. benedeni* ils mesurent 30 à 40 nm d'épaisseur. Cette extrémité à crêtes du spermatozoïde est coiffée d'un matériel dense conique rappelant un acrosome. Il peut atteindre 1 μm de long et 250 nm de large. L'axonème n'atteint pas l'extrémité antérieure du gamète et est toujours séparé du matériel dense terminal par un espace clair de 100 à 200 nm de long (fig. 2).

La région II (fig. 7) est large d'environ 0,25 à 0,5 μm . Le cytoplasme est clair autour de l'axonème et renferme à sa périphérie quelques granules opaques aux électrons. Les microtubules corticaux réalisent maintenant 3 à 4 champs qui se recouvrent partiellement entre eux.

La région III (fig. 3, 4 et 7) est large de 0,4 à 0,5 μm chez *M. expansa* et de 0,5 à 0,7 μm chez *M. benedeni*. Elle est caractérisée par la présence du noyau très opaque aux électrons qui, dans les deux espèces, est enroulé en une spirale irrégulière autour de l'axonème (fig. 3). En coupe transversale, il apparaît sous la forme d'un croissant (fig. 7) dont la face interne est régulièrement concave et la face externe présente un contour irrégulier. Les microtubules corticaux poursuivent leur course hélicoïdale, mais forment 3 à 4 faisceaux, moins réguliers que dans la région à crêtes, qui se recouvrent partiellement entre eux (fig. 7). Le cytoplasme, de faible opacité, renferme de nombreux granules opaques aux électrons.

La région IV (fig. 4, 8 et 9) est une zone de transition large d'environ 0,4 à 0,7 μm . Elle est marquée par l'interruption brutale de l'axonème. En coupe transversale, on observe ainsi de rares coupes présentant des doublets associés à des singulets (fig. 8) et d'autres ne présentant plus que quelques singulets (fig. 9). Les microtubules corticaux forment encore 3 à 4 faisceaux (fig. 9).

La région V (fig. 4, 5 et 10) correspond à l'extrémité postérieure du spermatozoïde. Elle est dépourvue d'axonème sur toute sa longueur. Elle présente un cytoplasme légèrement opaque aux électrons mais contient encore de nombreux granules périphériques opaques aux électrons (fig. 4 et 10). Les microtubules corticaux sont toujours présents, mais ils terminent leur course hélicoïdale en devenant parallèles à l'axe du spermatozoïde (fig. 5 et 10).

DISCUSSION

Les spermatozoïdes de *M. expansa* et de *M. benedeni* ne peuvent, par leur simple étude ultrastructurale, être distingués de celui de *Thysaniezia ovilla* (Bâ et al., 1991).

Pour Swiderski (1968), le spermatozoïde de *M. expansa* comporterait une extrémité postérieure effilée et une extrémité antérieure aplatie. En outre, l'axonème irait d'un bout à l'autre du gamète et le noyau aurait une section circulaire et présenterait une chromatine peu opaque aux électrons. Nous sommes en désaccord avec cette interprétation, qui correspond, pour nous, à des observations faites sur des spermatides âgées et non sur des spermatozoïdes mûrs. Nos observations sont donc en contradiction avec l'essentiel de l'interprétation de Swiderski (1968) mais sont par contre en accord avec nos observations chez *Thysa-*

FIG. 1. — Extrémité antérieure du spermatozoïde de *Moniezia expansa* enfoncée dans la paroi d'une vésicule séminale. A, axonème; Ca, cône apical; Cc, corps en crête; Mt, microtubules corticaux. Barre = 0,5 μm .

FIG. 2. — Extrémité antérieure du spermatozoïde de *Moniezia benedeni*. A, axonème; Ca, cône apical; Cc, corps en crête; E, espace clair; Mt, microtubules corticaux. Barre = 0,5 μm .

FIG. 3. — Coupe longitudinale de la région III du spermatozoïde de *M. benedeni*. Gp, granule cytoplasmique opaque aux électrons; N, noyau. Barre = 1 μm .

FIG. 4. — Coupe longitudinale des régions III, IV et V du spermatozoïde de *M. expansa*. A, axonème; Ct, cytoplasme; Gp, granule opaque aux électrons; N, noyau. Barre = 0,5 μm .

FIG. 5. — Coupe longitudinale tangentielle de l'extrémité postérieure du spermatozoïde de *M. benedeni*. Mt, microtubules corticaux. Barre = 0,2 μm .

FIG. 6. — Coupe transversale de l'extrémité antérieure du spermatozoïde de *M. expansa*. Cc, corps en crête; Fm, faisceau de microtubules; Ct, cytoplasme; M, membrane plasmique. Barre = 0,2 μm .

FIG. 7. — Coupes transversales des régions II et III du spermatozoïde de *M. expansa*. Ct, cytoplasme; Gp, granule opaque aux électrons; Mt, microtubules corticaux; N, noyau. Barre = 0,2 μm .

FIG. 8 et 9. — Coupes transversales de la région IV du spermatozoïde de *M. benedeni*. Mt, microtubules corticaux; D, doublets; S, singulets. Barre = 0,2 μm .

FIG. 10. — Coupe transversale de la région V du spermatozoïde de *M. expansa*. Ct, cytoplasme; Gp, granule opaque aux électrons. Barre = 0,2 μm .

niezia ovilla (Bâ et al., 1991). Nous signalons, pour la première fois chez *M. expansa* et *M. benedeni*, l'existence de plusieurs champs de microtubules corticaux et d'un cône

de matériel opaque aux électrons à l'extrémité antérieure du spermatozoïde.

Un unique corps en crête a déjà été décrit chez un Pseu-

FIGS. 1 à 10.

diphyllidea (Justine, 1986), quelques Diphyllidea (Azzouz-Draoui, 1985; Azzouz-Draoui et Mokhtar-Maamouri, 1986), des Tetrephyllidea (Mokhtar-Maamouri et Swiderski, 1975; 1976; Mokhtar-Maamouri, 1976; 1979; 1982; Mackinnon et Burt, 1984; Mahendrasingam *et al.*, 1989) et des Cyclophyllidea (Mokhtar-Maamouri et Azzouz-Draoui, 1990; Bâ et Marchand, 1992a). Deux corps en crête ont été signalés chez *Thysaniezia ovilla* (Bâ *et al.*, 1991). Enfin, chez deux autres Cyclophyllidea, nous avons précédemment mis en évidence l'existence de 6 corps en crête à l'avant du spermatozoïde de *Retinometra serrata* (Bâ et Marchand, 1992b) et de 12 corps en crête chez *Hymenolepis nana* (Bâ et Marchand, 1992c). Nous signalons ici pour la première fois l'existence de deux corps en crête chez les *Moniezia*.

Deux types de spermatozoïdes ont été décrits chez les Cestodes. Le premier, à 2 axonèmes, se rencontre chez quelques Diphyllidea (Azzouz-Draoui, 1985), chez les Tetrephyllidea Onchobothriidae (Mokhtar-Maamouri, 1976; 1982; Mokhtar-Maamouri et Swiderski, 1975; Mahendrasingam *et al.*, 1989), les Proteocephalidea (Swiderski et Eklun-Natey, 1978; Swiderski, 1985), les Haplobothrioidea (Mackinnon et Burt, 1985), les Trypanorhynchidea (Swiderski, 1976) et les Pseudophyllidea (Rybicka, 1962a; Bonsdorf et Telkka, 1965; Kazacos et Mackiewicz, 1972; Swiderski et Mackiewicz, 1976; Swiderski et Mokhtar-Maamouri, 1980; Mackinnon et Burt, 1984; Justine, 1986). Le second type, à un axonème, a été signalé chez quelques Diphyllidea (Azzouz-Draoui, 1985; Azzouz-Draoui et Mokhtar-Maamouri, 1986), les Tetrephyllidea Phyllobothriidae (Mokhtar-Maamouri et Swiderski, 1976; Mokhtar-Maamouri, 1979; Mackinnon et Burt, 1984), les Caryophyllidea (Swiderski et Mackiewicz, 1976) et les Cyclophyllidea (Rybicka, 1962b; Rosario, 1964; Lumsden, 1965; Swiderski, 1968; 1970; 1984; Morseth, 1969; Featherston, 1971; Sun, 1972; Kelsoe *et al.*, 1977; Robinson et Bogitsh, 1978; Mackinnon et Burt, 1984; Mokhtar-Maamouri et Azzouz-Draoui, 1990; Bâ *et al.*, 1991; Bâ et Marchand, 1992a, b et c).

Le spermatozoïde à un axonème dériverait du type ancestral à 2 axonèmes par avortement précoce de l'un des axonèmes au cours de la spermiogénèse. Euzet *et al.* (1981), en utilisant l'ultrastructure du spermatozoïde des Cestodes et en particulier le nombre d'axonèmes ont fait dériver les Cyclophyllidea des Proteocephalidea alors que Freeman (1973), se basant sur le développement post-embryonnaire, les fait dériver des Tetrephyllidea Phyllobothriidae. L'absence de corps en crête chez les Proteocephalidea et leur présence chez tous les Tetrephyllidea et les Cyclophyllidea, en particulier, chez *M. expansa* et *M. benedeni* semblent confirmer l'hypothèse de Freeman selon laquelle les Cyclophyllidea dériveraient des Tetrephyllidea. Toutefois, l'étude détaillée de la spermiogénèse et du spermatozoïde d'un plus grand nombre de Cestodes nous semble nécessaire pour préciser la valeur phylogénétique des corps en crête.

RÉFÉRENCES

- Azzouz-Draoui N. : Étude ultrastructurale comparée de la spermiogénèse et du spermatozoïde de quatre cestodes Diphyllidea. *Thèse de 3^e cycle*, Tunis, 1985, 120 p.
- Azzouz-Draoui N., Mokhtar-Maamouri F. : Ultrastructure comparée de la spermiogénèse et du spermatozoïde de *Echinobothrium affine* Diesing, 1863 et *E. harfordi* Mac Vicar, 1976 (Cestoda, Diphyllidea). *Bull. Soc. Sc. nat. Tunisie*, 1986, 18, 9-20.
- Bâ C. T., Marchand B. : Ultrastructural particularities of the spermatozoon of *Stilesia globipunctata*, (Cestoda) parasite of the small intestine of sheep and goats in Senegal. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 1992a, 24, 29-34.
- Bâ C. T., Marchand B. : Ultrastructure of the *Retinometra serrata* spermatozoon (Cestoda) intestinal parasite of turtles-doves in Senegal. *J. Submicroscopic Cytol. Pathol.* 1992b, (sous presse).
- Bâ C. T., Marchand B. : 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*, 1992c (sous presse).
- Bâ C. T., Marchand B., Mattei X. : 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.*, 1991, 23, 605-612.
- Bonsdorf C. H., Telkka A. : The spermatozoon flagella in *Diphyllbothrium latum* (fish tapeworm). *Z. Zellforsch.*, 1965, 66, 643-648.
- Euzet L., Swiderski Z., Mokhtar-Maamouri F. : Ultrastructure comparée du spermatozoïde des Cestodes. Relations avec la phylogénèse. *Ann. Parasitol.*, 1981, 58, 247-259.
- Featherston D. W. : *Taenia hydatigena*: III. Light and electron microscope study of spermatogenesis. *Z. Parasitenkde.*, 1971, 37, 148-168.
- Freeman R. S. : Ontogeny of Cestodes and its bearing on their phylogeny and systematics. *Adv. Parasitol.*, 1973, 11, 481-557.
- Justine J. L. : Ultrastructure of the spermatozoon of the cestode *Duthiersia fimbriata* Diesing, 1854 (Pseudophyllidea, Diphyllbothriidae). *Can. J. Zool.*, 1986, 64, 1545-1548.
- Kazacos K., Mackiewicz J. S. : Spermatogenesis in *Hunterella nodulosa* Mackiewicz and Mac Graw, 1962 (Cestoidea, Caryophyllidea). *Z. Parasitenk.*, 1972, 38, 21-31.
- Kelsoe G. H., Ubelakker J. E., Allison V. F. : The fine structure of spermatogenesis in *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) with a description of the mature spermatozoon. *Z. Parasitenkde.*, 1977, 54, 175-187.
- Lumsden R. D. : Microtubules in the peripheral cytoplasm of cestode spermatozoa. *J. Parasitol.*, 1965, 51, 929-931.
- Mackinnon B. M., Burt M. D. B. : The comparative ultrastructure of spermatozoa from *Bothrimonus sturionis* Duv. 1842 (Pseudophyllidea), *Pseudanthobothrium henseni* Baer, 1956 (Tetrephyllidea) and *Monoecocestus americanus* Stiles, 1895 (Cyclophyllidea). *Can. J. Zool.*, 1984, 62, 1059-1066.
- Mackinnon B. M., Burt M. D. B. : Ultrastructure of spermatogenesis and the mature spermatozoon of *Haplobothrium globuliforme* Cooper, 1914 (Cestoda: Haplobothrioidea). *Can. J. Zool.*, 1985, 63, 1478-1487.
- Mahendrasingam S., Fairweather I., Halton D. W. : Spermatogenesis and the fine structure of the mature spermatozoon in the free proglottis of *Trilocularia acanthiaevulgaris* (Cestoda, Tetrephyllidea). *Parasitol. Res.*, 1989, 75, 287-298.

- Mokhtar-Maamouri F. : Étude ultrastructurale de la gamétogénèse et des premiers stades du développement de deux cestodes Tetracophyllidae. *Thèse d'État*, Montpellier, 1976, 224 p.
- Mokhtar-Maamouri F. : Étude en microscopie électronique de la spermiogénèse et du spermatozoïde de *Phyllobothrium gracile* Weld, 1955 (Cestoda, Tetracophyllidae, Phyllobothriidae). *Z. Parasitenkd.*, 1979, 59, 245-258.
- Mokhtar-Maamouri F. : Étude ultrastructurale de la spermiogénèse de *Acanthobothrium filicollae* var. *filicollae* Zschokke, 1888 (Cestoda, Tetracophyllidae, Onchobothriidae). *Ann. Parasitol.*, 1982, 5, 429-442.
- Mokhtar-Maamouri F., Azzouz-Draoui N. : Étude de la spermiogénèse et de l'ultrastructure du spermatozoïde de *Nematotaenia chantalae* Dollfus, 1957 (Cestoda, Cyclophylloidea, Nematotaeniidae). *Ann. Parasitol.*, 1990, 65, 221-228.
- Mokhtar-Maamouri F., Swiderski Z. : Étude en microscopie électronique de la spermatogénèse de deux cestodes *Acanthobothrium filicollae benedenii* Loennberg, 1889 et *Onchobothrium uncinatum* (Rud., 1819) (Tetracophyllidae, Onchobothriidae). *Z. Parasitenkd.*, 1975, 47, 269-281.
- Mokhtar-Maamouri F., Swiderski Z. : Ultrastructure du spermatozoïde d'un cestode Tetracophyllidae Phyllobothriidae, *Echeneiobothrium beauchampi*, Euzet, 1959. *Ann. Parasitol.*, 1976, 51, 673-674.
- Morseth D. J. : Sperm tail fine structure of *Echinococcus granulosus* and *Dicrocoelium dendriticum*. *Expl. Parasitol.*, 1969, 24, 47-53.
- Robinson J. M., Bogitsh B. J. : A morphological and cytochemical study of sperm development in *Hymenolepis diminuta*. *Z. Parasitenkd.*, 1978, 56, 81-92.
- Rosario B. : An electron microscope study of spermatogenesis in cestodes. *J. Ultrastruct. Res.*, 1964, 11, 412-427.
- Rybicka K. : Observations sur la spermatogénèse d'un cestode Pseudophyllidae *Triaenophorus lucii* (Müll., 1776). *Bull. Soc. Neuchâtel. Sc. Nat.*, 1962a, 85, 177-185.
- Rybicka K. : La spermatogénèse d'un cestode Cyclophylloidea *Dipylidium caninum*. *Bull. Soc. Zool. France*, 1962b, 87, 225-228.
- Sun C. N. : The fine structure of sperm tail of cotton rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta*. *Cytobiol.*, 1972, 6, 382-386.
- Swiderski Z. : The fine structure of the spermatozoon of sheep tapeworm, *Moniezia expansa* (Rud., 1810) Cyclophylloidea, Anoplocephalidae. *Zool. Pol.*, 1968, 18, 475-486.
- Swiderski Z. : An electron microscope study of spermatogenesis in Cyclophylloidean cestodes with emphasis on the comparison of fine structure of mature spermatozoa. *J. Parasitol.*, 1970, 56, 337-338.
- Swiderski Z. : Fine structure of spermatozoon of *Lacystorhynchus tenuis* (Cestoda, Trypanorhyncha). *Sixth Eur. Cong. Electron Microscopy, Jerusalem*, 1976, 2, 309-310.
- Swiderski Z. : Ultrastructure of the spermatozoon of the Davaineid cestode *Inermicapsifer madagascariensis*. *Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr.*, 1984, 14, 131-132.
- Swiderski Z. : Spermiogenesis in the Proteocephalid Cestode, *Proteocephalus longicollis*. *Proc. Electron Microsc. Soc. South Afr.*, 1985, 15, 181-182.
- Swiderski Z., Eklun-Natey R. D. : Fine structure of the spermatozoon of *Proteocephalus longicollis* (Cestoda: Proteocephalidae). *Proc. Ninth Int. Cong. Electron Microscopy, Toronto*, 1978, 2, 572-573.
- Swiderski Z., Mackiewicz J. S. : Fine structure of the spermatozoon of *Glaridacris catostomi* (cestoda, caryophyllidae). *Sixth Eur. Cong. Electron Microscopy, Jerusalem*, 1976, 2, 307-308.
- Swiderski Z., Mokhtar-Maamouri F. : Étude de la spermatogénèse de *Bothriocephalus clavibothrium* Ariola, 1899 (Cestoda, Pseudophyllidae). *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1980, 57, 323-347.