

Etude morpho-anatomique et génétique de deux nouveaux *Proteocephalus* Weinland, 1858 (Cestoda: Proteocephalidae) parasites de *Platydoras costatus* (L.), poisson siluriforme du Paraguay

Alain de Chambrier et Claude Vaucher

Muséum d'Histoire naturelle, case postale 6434, 1211 Genève 6, Suisse

Accepted for publication 27th November, 1992



Vlaams Instituut voor de
Flanders Marine Institute

Abstract

The cat-fish *Platydoras costatus* (L.) is abundantly parasitised by the cestode genus *Proteocephalus* in Paraguay, previously unrecorded from this host. Morpho-metrical studies suggest the presence of two species, *Proteocephalus soniae* n. sp. and *P. renaudi* n. sp. They differ in the scolex, the distribution of the testes, the mean number of testes and uterine diverticula, the presence or absence of a vaginal sphincter, and the shape of the eggs and their envelopes. A single specimen, representing a possible third taxon, is morphologically similar to *P. renaudi*. Data from protein electrophoresis on amidon gel confirm the morpho-metrical conclusions. Of the 13 enzymes investigated, ACP, AAT, GPI and MDH have alleles of different electrophoretic mobilities in the three taxa. Only two alleles are distinguishable on locus HK. There is no evidence of heterozygotes in the tested systems. The specific status of the examined taxa is therefore confirmed. More material of the third species is required for establishing a species definition. *P. renaudi* has following unique anatomical features: the egg bears an enormous external envelope and an elongate embryophore with a unilateral appendix; the vitelline glands are paramuscular; and the eggs, laid in packets, are evacuated in an unusual way.

The establishment of species based on protein electrophoresis allows a critical examination of the validity of anatomical characters usually used for taxonomic purpose. Good specific characters are the presence or absence of an apical organ and a vaginal sphincter and the relatively constant ratio between ovary width and the width of mature proglottids. The number of testes and uterine diverticula, both frequently used in species diagnoses, show variations which are often considerable and are, therefore, less unequivocal. The coefficients of variation observed calculating the mean numbers of testes can be high and reach up to 28%. This variation is itself a specific character in our opinion.

Introduction

Platydoras costatus (L.), poisson-chat cuirassé siluriforme (Doradidae), héberge au Paraguay des cestodes Proteocephalidea que nous avons récoltés pour la première fois en 1989. Les quelque 30 exemplaires réunis semblaient représenter deux taxa morphologiquement voisins mais pourtant

distincts. Sur ce petit lot, nous avons également procédé à une première étude de génétique des populations par électrophorèse des protéines, qui révéla l'existence possible de trois taxa. Une nouvelle récolte en 1991, dans la même localité, nous a permis de récolter 122 exemplaires supplémentaires chez la même espèce-hôte. Une analyse morpho-anatomique détaillée a confirmé la pré-

sence certaine de deux espèces; un individu, malheureusement unique, pourrait représenter un troisième taxon. L'analyse par électrophorèse des protéines a confirmé les conclusions morpho-anatomiques. Par conséquent, nous décrivons dans ce travail deux espèces nouvelles: *Proteocephalus soniae* n. sp. et *Proteocephalus renaudi* n. sp. Nous avons renoncé à définir une troisième espèce sur la base d'un unique exemplaire.

Aucun cestode Proteocephalidae n'était connu jusqu'ici chez ce poisson.

Matériel et méthodes

Les cestodes sont préparés immédiatement après la mort de l'hôte. Les techniques utilisées pour la récolte et pour l'électrophorèse des protéines sont celles que nous avons décrites précédemment (de Chambrier *et al.*, 1992). Des témoins de chaque individu étudiés en électrophorèse sont conservés pour la comparaison morpho-anatomique.

Treize systèmes enzymatiques ont été testés: AAT (aspartate-amino-transférase E.C. 2.6.1.1.), ACP (phosphatase acide E.C. 3.1.3.2.), AK (adénylate-kinase E.C. 2.7.4.3.), CK (créatine-kinase E.C. 2.7.3.2.), FK (fructo-kinase E.C. 2.7.1.4.), GPI (glucose-phosphate-isomérase E.C. 5.3.1.9.), HK (hexokinase E.C. 2.7.1.1.), MDH (malate-déhydrogénase E.C. 1.1.1.37.), ME (enzyme malique E.C. 1.1.1.40.), MPI (mannose-phosphate-isomérase E.C. 5.3.1.8.), NP (purine-nucléoside-phosphorylase E.C. 2.4.2.1.), 6PGD (6-phosphogluconate-déhydrogénase E.C. 1.1.1.44.), PGM (phosphoglucomutase E.C. 2.7.5.1.) (nomenclature selon Richardson *et al.*, 1986; Pasteur *et al.*, 1987). Le tampon TCE 9,4 est utilisé pour séparer ACP, AAT, GPI, HK, le tampon TC 8,0 pour séparer MDH.

Le matériel, hôtes et parasites, est conservé au Muséum de Genève. Des cestodes ont été déposés au Département de Parasitologie de l'Institut Oswaldo Cruz et au British Museum (Natural History).

Sauf indication contraire, toutes les mesures sont données en micromètres.

Abréviations utilisées: x, moyenne; n, nombre

de mesures ou d'observations, CV, coefficient de variation.

Proteocephalus soniae n. sp (Figs 1,4,8,10–11,13)

Hôte: *Platydoras costatus* (L., 1766).

Localité: General E. Diaz, province Neembucu, Paraguay; 18.10.1989 et 07.11.1991.

Localisation: Moitié antérieure de l'intestin.

Prévalence: 38%, n = 13 hôtes.

Intensité: 1–3 exemplaires.

Abondance: 0.8.

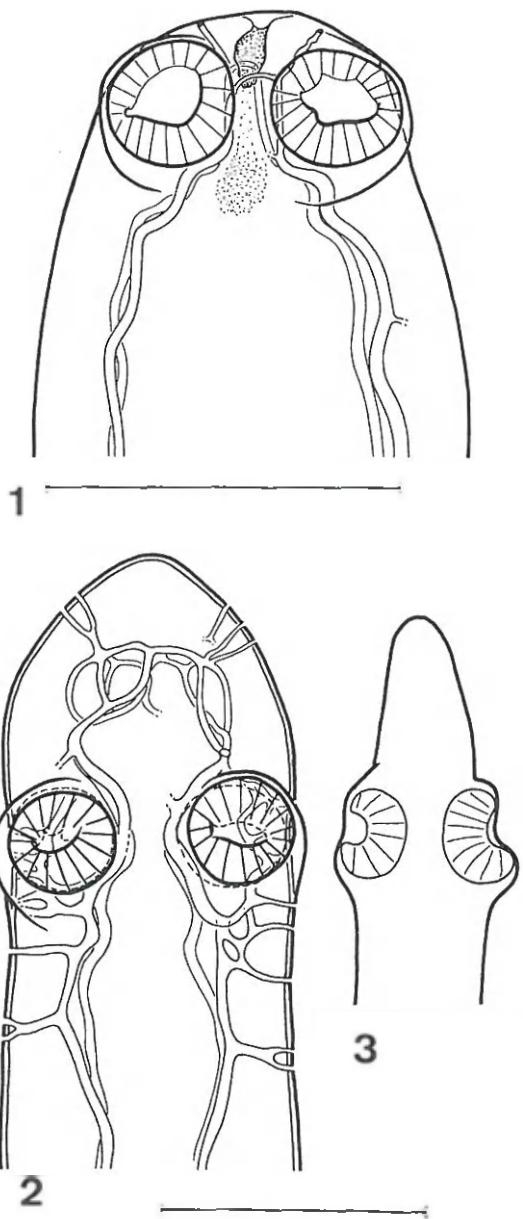
Matériel examiné

Sept spécimens, holotype MHNG No. Inve 17876; 4 paratypes No. MHNG Inve 17875, 17876, 17877; BMNH No. 1992.9.22.1; autre matériel MHNG No. Inve 17878, 17879, 17880.

Description

Strobiles acraspidotes, de taille moyenne avec des plis tégumentaires transversaux sur toute leur longueur, à maturation lente, aplatis dorso-ventralement, long de 84–145 mm. Environ 145 proglottis jusqu'à l'apparition des spermatozoïdes dans les testicules, environ 195 jusqu'à l'apparition des premiers oeufs dans l'utérus et plus de 235 au total. Zone de croissance longue, avec des cellules sous-tégumentaires irrégulières allongées, piri-formes, à cytoplasme granuleux, dont l'extrémité rejoint le plus souvent la couche superficielle du tégument. La densité de ces cellules diminue progressivement de l'avant vers l'arrière. Proglottis matures plus larges que longs d'un rapport longueur/largeur variable, de 1:0.3–1. Proglottis gravides généralement plus longs que larges, d'un rapport longueur/largeur très variable de 1:0.5–5.5. Présence de plusieurs proglottis tératologiques (hypertrophie des vitellogènes, proglottis comprenant deux poches du cirre, etc.) qui ne sont pas pris en compte dans la description.

Scolex aussi large que le cou, d'un diamètre de 190–245. Quatre ventouses latérales s'ouvrant vers l'avant et d'un diamètre de 80–100. Organe apical bien visible, profond de 30–40 et d'un diamètre de 20–25. En arrière des ventouses, un



Figs 1-3. Scolex. 1. *Proteocephalus soniae* n. sp., paratype, préparation totale. 2. *P. renaudi* n. sp., paratype, préparation totale. 3. *P. renaudi* n. sp., coupe sagittale schématique. Echelles: 250 µm.

amas de cellules arrondies ou oblongues au cytoplasme finement granuleux, prolongé en pointe en direction de l'apex, mais dont nous n'avons pas pu préciser la nature (Fig. 1). Musculature longitudinale interne très dense composée de faisceaux très anastomosés.

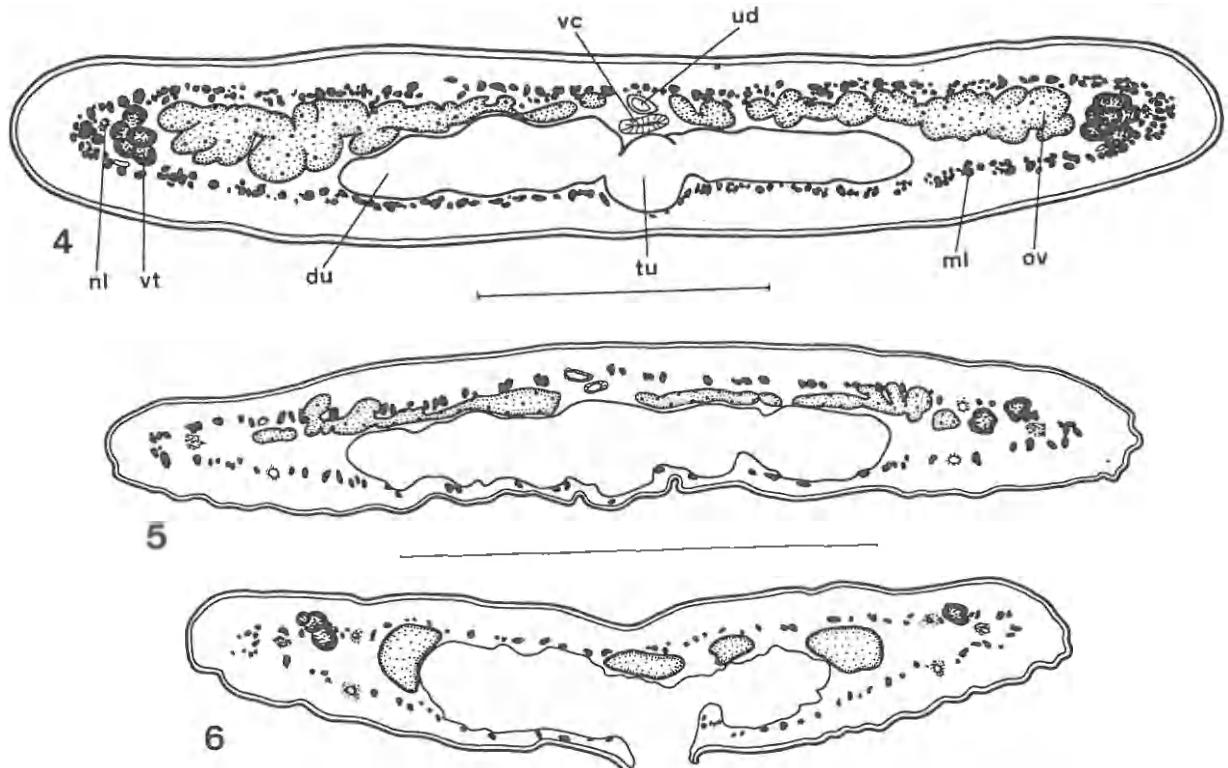
Canaux excréteurs situés au niveau des vitello-gènes, chevauchant et passant parfois à l'extérieur de ceux-ci. Canaux excréteurs ventraux, parfois anastomosés, d'un diamètre de 10-30, émettant des canalículos débouchant à la surface ventrale du proglottis. Canaux excréteurs dorsaux d'un diamètre d'environ 10-20.

Testicules médullaires arrondis, de 50-120 de diamètre, au nombre de 139-371 ($x = 222$, $n = 35$, CV = 28.3), disposés en 2 champs latéraux médullaires séparés, dépassant les canaux excréteurs ventraux, atteignant les vitellogènes, parfois situés dorsalement au niveau de la poche du cirre et du vagin (Fig. 8). 22-97 ($x = 49$, $n = 35$) testicules préporaux, 32-83 ($x = 59$, $n = 35$) testicules postporaux et 62-192 ($x = 114$, $n = 35$) testicules antiporaux. Dégénérescence des testicules dans les anneaux gravides terminaux.

Poche du cirre allongée, à paroi terminale plus épaisse, longue de 245-385 et large de 65-115 dont la longueur représente 12-25% de la largeur du proglottis, située entre les canaux excréteurs dorsaux et ventraux (Fig. 10). Cirre invaginé, long de 165-245 et large de 50-75, occupant les 48-88% de la longueur de la poche du cirre.

Canal ejaculateur long et contourné. Canal différent très sinué occupant un champ situé entre la partie proximale de la poche du cirre et la partie médiane de l'utérus et s'étendant au-delà de celui-ci. Atrium génital peu profond. Pores génitaux alternant irrégulièrement, situés entre 33% et 52% ($x = 42\%$, $n = 66$) de la longueur du proglottis (Figs 8, 11).

Ovaire médullaire bilobé, papilionacé, lobulé, composé de deux lobes allongés antérieurement, réunis par un mince isthme postérieur situé ventralement par rapport au réceptacle séminal et à l'utéroducte (Figs 4, 8). Ovaire large de 495-1,950 et long de 230-725, sa largeur représentant 68-78% (CV = 5.5) de la largeur du proglottis. Vagin postérieur (92%) ou antérieur (8%) au cirre, avec une portion terminale épaisse nettement différenciée, mesurant 245-550 sur 60-115, comprenant de nombreuses cellules musculaires (Fig. 10). Présence de cils dans la partie antérieure du canal vaginal. Canal vaginal situé dorsalement par rapport à l'utérus. Glande de Mehlis importante,



Figs 4–6. 4. *Proteocephalus soniae* n. sp., paratype, coupe transversale d'un proglottis gravide au niveau de l'ovaire. 5–6. *P. renaudi* n. sp., paratype. 5. Coupe transversale d'un proglottis gravide au niveau de l'ovaire. Remarquez les excroissances dorsales de l'ovaire aboutissant dans le parenchyme cortical. 6. Coupe transversale d'un proglottis gravide dans sa partie postérieure. Echelles: 500 µm. Abréviations: du, diverticules utérins; ml, musculature longitudinale interne; nl, nerf latéral longitudinal; ov, ovaire; tu, tronc utérin; ud, utéroducte; vc, canal vaginal; vt, vitellogènes.

ovoïde, située dorsalement, d'un diamètre de 80–185. Utéroducte rejoignant l'utérus au quart postérieur de sa longueur.

Vitellogènes médullaires disposés en deux bandes latérales le long du proglottis atteignant presque les marges antérieure et postérieure de l'anneau, représentant du côté aporal 93–99% de la longueur du proglottis, du côté poral 95–99% de la longueur du proglottis (Figs 8, 11).

Utérus médullaire, préformé, visible dans les proglottis immatures, situé ventralement, de forme tubulaire avec une lumière dans les anneaux matures (Fig. 8). Formation des diverticules à partir du tronc utérin avant ou simultanément à l'apparition des œufs. Utérus avec 29–40 diverticules de chaque côté, occupant jusqu'à 80% de la largeur du proglottis (Fig. 11).

Oncosphères (mesurées dans une préparation totale) de 20–24 de diamètre, pourvues de 6

crochetons longs d'environ 9–10. Embryophores de 29–32 de diamètre (Fig. 13). Enveloppe externe hyaline collasée.

Proteocephalus renaudi n. sp. (Figs 2–3, 5–7, 9, 12, 14–17)

Hôte: *Platydoras costatus* (L., 1766).

Localité: General E. Diaz, province Neembucu, Paraguay; 18.10.1989 et 07.11.1991.

Localisation: Moitié antérieure de l'intestin.

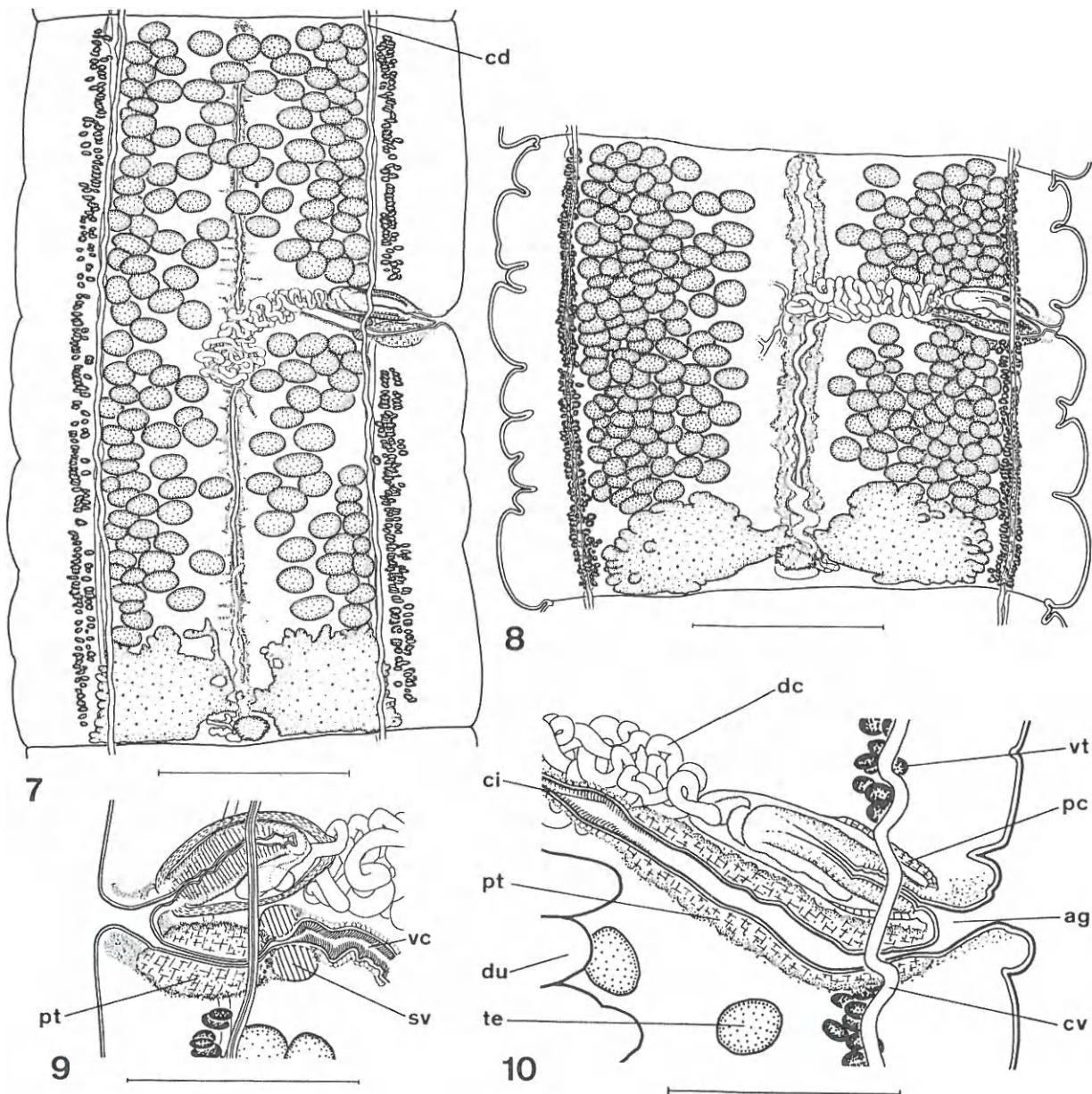
Prévalence: 85%, n = 13 hôtes.

Intensité: 2–51 exemplaires.

Abondance: 11.

Matériel examiné

65 spécimens, holotype MHNG No. Inve 17881; 10 paratypes MHNG No. Inve 17882–17889;



Figs 7-10. 7. *Proteocephalus renaudi* n. sp., holotype, proglottis mature, vue dorsale. 8. *Proteocephalus soniae* n. sp., holotype, proglottis mature, vue dorsale. Remarquez la disposition des testicules en deux champs atteignant latéralement les vitellogènes ainsi que la situation des canaux excréteurs par rapport aux vitellogènes. 9. *P. renaudi* n. sp., paratype, poche du cirre et vagin, vue dorsale. 10. *P. soniae* n. sp., paratype, poche du cirre et vagin, vue ventrale. Echelles: 7,8, 500 µm; 9,10, 250 µm. Abréviations: ag, atrium génital; cd, canal excréteur dorsal; ci, cils vaginaux; cv, canal excréteur ventral; dc, canal déférent; du, diverticules utérins; pc, poche du cirre; pt, portion terminale épaisse du vagin; sv, sphincter vaginal; te, testicule; vc, canal vaginal; vt, vitellogènes.

BMNH No. 1992.9.22.2; IOC No. 32.888; autre matériel MHNG No. Inve 17890–17900.

Description

Strobiles acraspédotes, de grande taille, à maturation lente, aplatis dorso-ventralement, long de 120–480 mm. Environ 160 proglottis jusqu'à l'apparition des spermatozoïdes dans les testicules, environ 180 jusqu'à l'apparition des premiers oeufs dans l'utérus et plus de 260 au total. Zone de croissance très longue. Proglottis matures généralement plus longs que larges, d'un rapport longueur/largeur variable de 1:0.9–3.8. Proglottis gravides plus longs que larges, d'un rapport longueur/largeur très variable de 1:1.2–10.8. Présence de plusieurs proglottis tératologiques (double poche du cirre, ovaire déformé, etc.) qui ne sont pas pris en compte dans la description.

Scolex ne se délimitant pas du corps, d'un diamètre de 205–340 ($x = 260$, $n = 53$), sans organe apical. Quatre ventouses d'un diamètre de 70–110, dirigées dorso-ventralement deux par deux, situées en arrière d'un apex en forme de pain de sucre (Figs 2, 3). Musculature longitudinale interne dense composée de faisceaux peu anastomosés.

Canaux excréteurs internes par rapport aux vitellogènes dans les anneaux immatures et matures (Fig. 7), chevauchant parfois les vitellogènes dans les anneaux gravides. Canaux excréteurs ventraux, d'un diamètre de 8–16 avec parfois des anastomoses. Canaux excréteurs dorsaux d'un diamètre plus régulier d'environ 4–8.

Testicules médullaires arrondis, de 50–120 de diamètre, au nombre de 124–276 ($x = 188$, $n = 124$, CV = 18.1), disposés en un champ légèrement plus dense latéralement, ne dépassant pas les canaux excréteurs ventraux (Figs 7, 12). 29–84 ($x = 48$, $n = 124$) testicules préporaux, 20–68 ($x = 43$, $n = 124$) testicules postporaux et 60–145 ($x = 97$, $n = 124$) testicules antiporaux. Dégénérescence des testicules dans les anneaux gravides terminaux.

Poche du cirre allongée à ovoïde, à paroi d'apparence musculaire épaisse, longue de 155–280 et large de 60–110, dont la longueur représente 18–

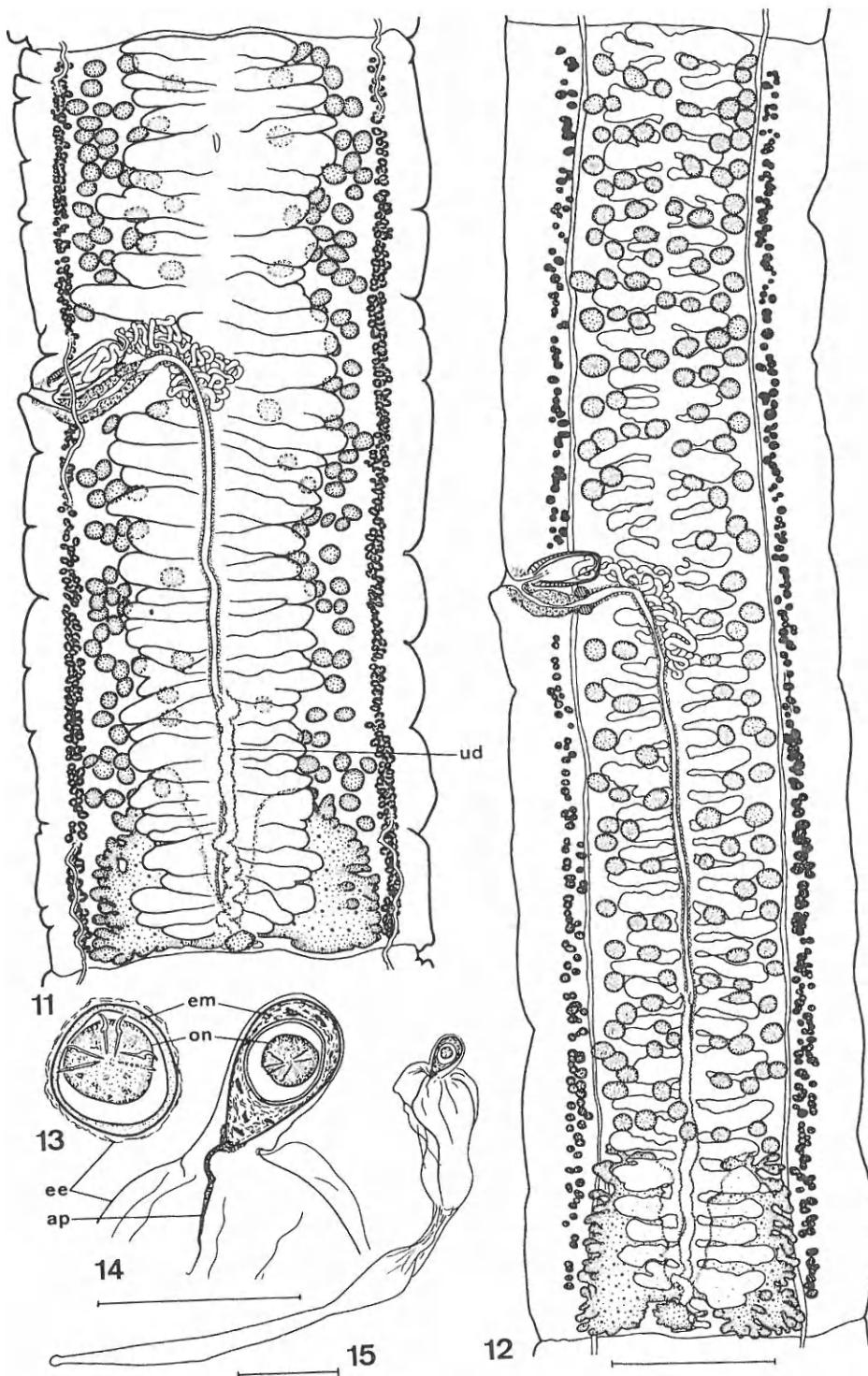
32% (atteignant jusqu'à 43% dans quelques proglottis gravides terminaux) de la largeur du proglottis, située entre les canaux excréteurs dorsaux et ventraux (Fig. 9). Cirre invaginé, long de 130–245 et large de 45–75, occupant les 70–88% de la longueur de la poche du cirre.

Canal ejaculateur court et contourné. Canal différent très sinuex occupant un champ situé entre la partie proximale de la poche du cirre et la partie médiane de l'utérus et s'étendant au-delà de celui-ci. Atrium génital peu profond. Pores génitaux alternant irrégulièrement, situés entre 32% et 52% ($x = 41\%$, $n = 299$) de la longueur du proglottis (Figs 7, 12).

Ovaire médullaire, papilionacé, lobulé, composé de deux lobes très allongés antérieurement dans les anneaux gravides, réunis par un mince isthme postérieur situé ventralement par rapport au réceptacle séminal et à l'utéroducte, émettant des excroissances dorsales aboutissant dans le parenchyme cortical (Figs 5, 7, 12). Ovaire large de 580–975 et long de 250–775, sa largeur représentant 62–77% (CV = 4.01) de la largeur du proglottis. Vagin postérieur (77%) ou antérieur (23%) au cirre, avec une zone terminale épaisse longue de 130–255 et large de 60–100 pourvue d'un puissant sphincter musculaire postérieur, ainsi que d'une portion sub-terminale épaisse comprenant de nombreuses cellules musculaires (Figs 7, 9, 12). Présence de cils dans la partie antérieure du canal vaginal (Fig. 9). Canal vaginal situé dorsalement par rapport à l'utérus. Glande de Mehlis importante, ovoïde, située dorsalement, d'un diamètre de 85–130. Utéroducte rejoignant l'utérus au quart postérieur de sa longueur.

Vitellogènes paramusculaires, c'est-à-dire accolés à la musculature longitudinale interne et débordant en partie dans le cortex et en partie dans la medulla (de Chambrier, 1990), disposés en deux bandes latérales dorsales le long du proglottis, atteignant presque les marges antérieure ou postérieure de l'anneau, représentant du côté aporal 93–97% de la longueur du proglottis, du côté poral 92–98% (Figs 5–6, 7, 12).

Utérus médullaire préformé, visible dans des proglottis immatures, tubulaire, situé ventrale-



Figs 11-15. 11. *Proteocephalus soniae* n. sp., paratype, proglottis gravide, vue ventrale. Les canaux excréteurs ne sont pas entièrement représentés. 12. *P. renaudi* n. sp., holotype, proglottis gravide, vue dorsale. 13. *P. soniae* n. sp., paratype, oeuf avec enveloppe externe complètement décomposée. Oeuf dessiné à partir d'une préparation totale. 14-15. *P. renaudi* n. sp., paratype, oeufs montés dans l'eau distillée. 14. Détail de l'oeuf. 15. Oeuf entier. Echelles: 11,12, 500 µm; 13,14, 50 µm; 15, 100 µm. Abréviations: ap, appendice; em, embryophore; ee, enveloppe externe; on, oncosphère; ud, utéroducte.

ment. Formation au niveau du tronc utérin, dans les premiers anneaux matures, de nombreuses petites excroissances latérales composées d'un amas diffus et allongé de petites cellules chromophiles, préfigurant le futur emplacement des diverticules utérins (Fig. 7). Lumière se formant à la base de ces excroissances, et s'étendant perpendiculairement à partir du tronc utérin, se remplissant d'oeufs sur toute la longueur de l'utérus simultanément ou immédiatement après la formation des diverticules. Parenchyme au niveau du tronc utérin s'amincissant dans sa partie ventrale longitudinale dans les premiers proglottis gravides. Utérus avec 52–88 diverticules de chaque côté, occupant jusqu'à 80% de la largeur du proglottis (Fig. 12). Diverticules utérins d'aspect parfois ramifié avec un amas de cellules chromophiles à leur extrémité, après l'évacuation des oeufs (Fig. 16). Pas de proglottis détachés ni d'oeufs isolés observés dans l'intestin de l'hôte.

Oeuf très particulier avec enveloppe externe très mince, allongée, hyaline, longue de 630–730, accolée à l'embryophore dans sa partie apicale, gonflée dans sa partie succédant l'embryophore, tubulaire dans sa partie postérieure (Figs 14–15, 17). Oncosphères de 13–14 de diamètre, pourvues de 6 crochetons longs d'environ 6–8. Embryophore piriforme, d'un diamètre de 23–26 et long de 34–42, possédant toujours un appendice, dans sa partie externe pointue, long d'environ 30. Embryophore non adhérent à l'oncosphère. Oeufs émis en amas par une ouverture ventrale longitudinale s'étendant souvent sur toute la longueur du proglottis, réunis par enchevêtrement des portions terminales amincies. Au cours de l'émission, zone médiane renflée de l'enveloppe externe se gonflant de liquide (Figs 14, 17).

Proteocephalus sp.

Hôte: *Platydoras costatus* (L., 1766).

Localité: General E. Diaz, province Neembucu, Paraguay, 18.10.1989.

Localisation: Moitié antérieure de l'intestin.

Prévalence: 8%.

Intensité: Un exemplaire gravide.

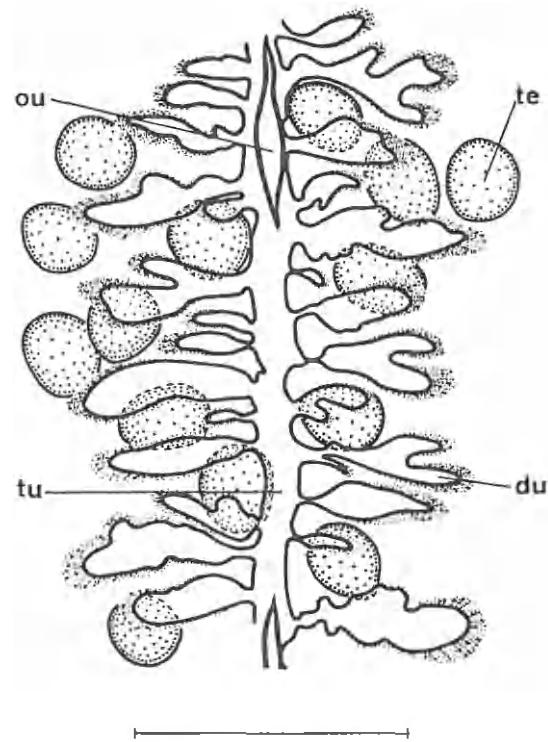


Fig. 16. *Proteocephalus renaudi* n. sp., paratype, vue ventrale. détail de l'utérus d'un proglottis mûr vide d'oeufs. Remarquez la forme ramifiée de certains diverticules ainsi que la concentration de cellules chromophiles à leur extrémité. Echelle: 250 µm. Abréviations: du, diverticules utérins; ou, ouverture utérine; te, testicule; tu, tronc utérin.

Abondance: 0.08.

Material examiné

Un spécimen MHNG No. Inve 17901.

Description

Un unique spécimen ressemble beaucoup à *Proteocephalus renaudi* et ne diffère que par une zone terminale du vagin plus courte, par un nombre moyen de testicules plus faible (90–162, $x = 112$), par un rapport longueur de la poche du cirre/largeur du proglottis mature légèrement plus faible (9–14%), par un nombre plus faible de diverticules utérins (17–26 de chaque côté) ainsi que par une musculature longitudinale interne plus puissante.

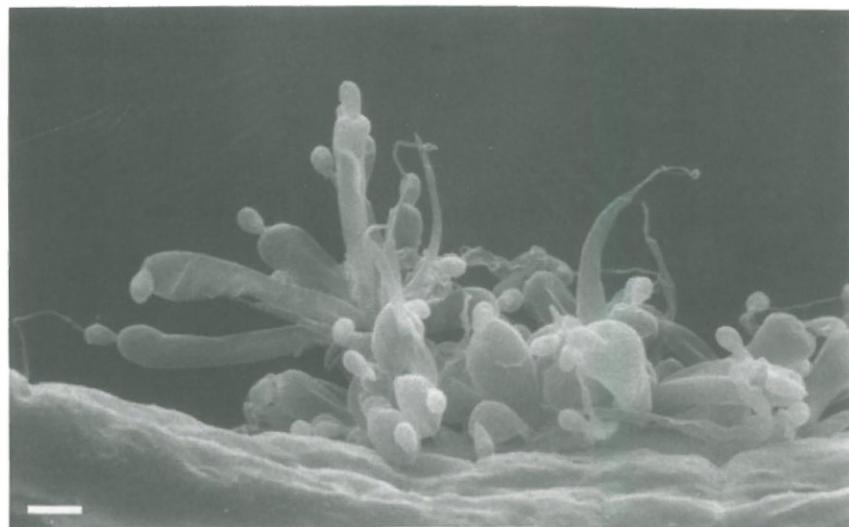


Fig. 17. *Proteocephalus renaudi* n. sp., paratype, photographie au MEB montrant un amas d'oeufs au cours de l'évacuation par l'ouverture utérine. Echelle: 50 µm.

Discussion

Morpho-anatomie

Les deux espèces décrites ci-dessus se diffèrent par les caractères suivants:

Forme du scolex. Présence chez l'un d'un apex très allongé et chez l'autre d'un organe apical.

Disposition des champs testiculaires. Dans un cas, deux champs testiculaires latéraux atteignant les vitellogènes, dépassant les canaux excréteurs ventraux et dans l'autre un seul champ testiculaire ne dépassant pas les canaux excréteurs ventraux.

Sphincter vaginal. Présence d'un puissant sphincter vaginal postérieur dans l'un des taxa.

Position des canaux excréteurs. Dans un cas, vitellogènes superposés aux canaux excréteurs, dans l'autre, vitellogènes internes par rapport aux canaux excréteurs.

Forme et dimensions des oeufs. Présence d'un embryophore piriforme et d'un diamètre inférieur de l'oncosphère associé à une longueur inférieure des crochetons dans un taxon.

Position des vitellogènes. Une espèce possède des vitellogènes médullaires, l'autre des vitellogènes paramusculaires, situés de plus dorsalement.

Nombre de diverticules utérins. Les deux espèces

Tableau I. Allèles observés pour trois taxa de *Proteocephalus* au niveau de l'analyse de cinq gènes de structure.

Loci	<i>P. soniae</i> 3 échantillons	<i>P. renaudi</i> 55 échantillons	<i>Proteocephalus</i> sp. 1 échantillon
AAT	<i>Aat</i> ^a	<i>Aat</i> ^b	<i>Aat</i> ^c
ACP	<i>Acp</i> ^a	<i>Acp</i> ^b	<i>Acp</i> ^c
GPI	<i>Gpi</i> ^a	<i>Gpi</i> ^b	<i>Gpi</i> ^c
MDH	<i>Mdh</i> ^a	<i>Mdh</i> ^b	<i>Mdh</i> ^c
Hk	<i>Hk</i> ^a	<i>Hk</i> ^b	<i>Hk</i> ^a

se distinguent par un nombre différent de diverticules utérins.

Analyse génétique (électrophorèse des protéines)

Cinquante neuf échantillons ont été utilisés pour tester 13 enzymes (AAT, ACP, AK, CK, FK, GPI, HK, MDH, ME, MPI, NP, 6PGD, PGM); cinq d'entre eux ont fourni des zymogrammes présentant des mobilités électrophorétiques clairement interprétables (Tableau I).

Les enzymes ACP, AAT, GPI, MDH permettent de séparer les trois taxa (Fig. 18). Au locus HK, il n'y a que deux allèles. Aucun hétérozygote n'a été observé, de sorte qu'il n'existe aucun indice de flux génique entre les différents génomes, alors que les deux taxa les plus abondants coexistent.

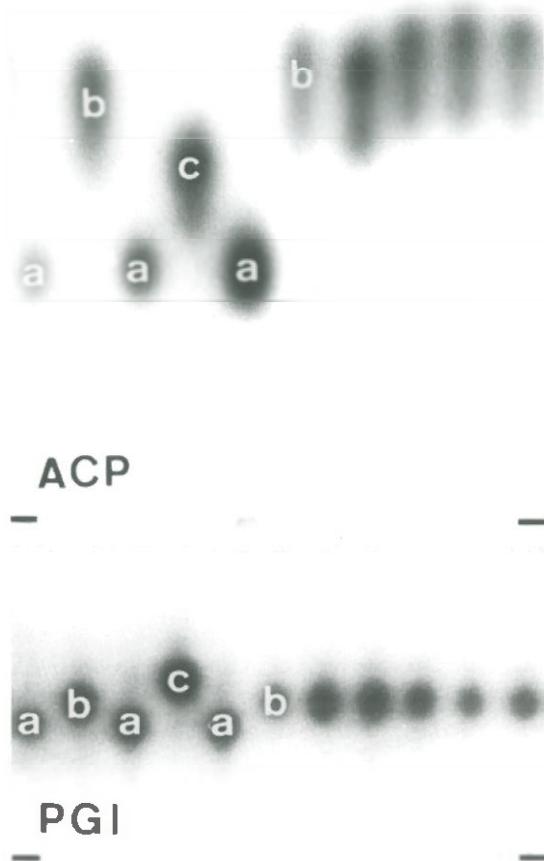


Fig. 18. Zymogrammes des ACP (phosphatase acide) et GPI (glucose-phosphate-isomérase) de *Proteocephalus soniae* n. sp. (a), *P. renaudi* n. sp. (b) et *Proteocephalus* sp. (c).

ent dans 23% des cas d'infestation. Nous en concluons que la séparation de *P. soniae* n. sp. et de *P. renaudi* n. sp. est justifiée par la démonstration d'un isolement reproductif total. Le troisième taxon n'existant qu'à un seul et unique exemple, nous ne pouvons pas confirmer qu'il représente une troisième espèce.

Discussion générale

Position systématique

Nous plaçons ces trois taxa dans le genre *Proteocephalus* Weinland, 1858, en raison de la forme du

scolex non armé, des ventouses sessiles uniloculées ainsi que de la disposition des vitellogènes (Schmidt, 1986). Le troisième taxon ne correspond à aucune espèce connue et l'analyse des protéines semble démontrer qu'il n'est pas un hybride et qu'il représente une entité génétique distincte des deux autres. Nous renonçons cependant à décrire une espèce sur la base d'un seul individu.

Les deux autres taxa, décrits ci-dessus en détail, sont à comparer avec les 12 espèces connues de *Proteocephalus* parasites de poissons néotropicaux d'eau douce (de Chambrier & Vaucher, 1984; Diesing, 1850; Lynsdale, 1959; Rego & Pavanelli, 1990; Rego *et al.*, 1974; Rigenbach, 1896; Szidat & Nani, 1951; Vigueras, 1936; Woodland, 1933, 1934a, 1935).

Nos deux taxa diffèrent des espèces suivantes par le nombre de testicules:

P. gaspari de Chambrier & Vaucher, 1984, parasite de *Leptostomus tropicus*, du Nicaragua; *P. jandia* Woodland, 1934 parasite de *Rhamdia* sp. du Brésil; *P. macdonaghi* (Szidat & Nani, 1951), parasite de *Basilichthys microlepidotus* d'Argentine; *P. macrophallus* (Diesing, 1850), parasite de *Cichla monoculus* du Brésil; *P. manjuariphilus* Vigueras, 1936, parasite de *Lepisosteus tristoechus* de Cuba; *P. microscopicus* Woodland, 1935, parasite de *Cichla ocellaris* du Brésil; *P. gibsoni* Rego & Pavanelli, 1991 (= *P. ocellatus* Rego & Pavanelli, 1990 nec Rudolphi, 1802), parasite de *Geophagus brasiliensis*, de *Astronotus ocellatus* et de *Astronotus* sp. du Brésil; *P. piramutab* (Woodland, 1933), parasite de *Brachyplatystoma vaillanti* du Brésil; *P. platystomi* Lynsdale, 1959, parasite de *Platystoma* sp. du Brésil; *P. serrasalmus* Rego & Pavanelli, 1990, parasite de *Serrasalmus spilopleura* et *S. nattereri* du Brésil.

P. fossatus (Rigenbach, 1896), parasite de *Luopimelodus pati* du Paraguay a un nombre de testicules comparable, mais se distingue par les caractères suivants:

Forme et diamètre du scolex, position du pore génital et position antérieure du vagin par rapport à la poche du cirre. De *P. renaudi* n. sp., il diffère par la présence d'un organe apical.

P. jandia Woodland, 1934 *sensu* Rego, Santos

& Silva (1974), parasite de "Bagre do Rio" du Brésil, est trop mal connu pour le comparer avec notre matériel.

Aucune espèce du genre *Proteocephalus* parasites de poissons néotropicaux d'eau douce ne présente les caractéristiques des deux taxa que nous avons découverts chez *Platydoras costatus* au Paraguay. Notre matériel appartient donc à deux espèces nouvelles. Nous proposons de nommer la première *Proteocephalus soniae* n. sp. et la seconde *Proteocephalus renaudi* n. sp., en l'honneur de nos collègues Sonia Muller, du Muséum de Genève et François Renaud, de l'Université de Montpellier.

Remarques taxonomiques

Chez ces deux espèces, nous avons constaté que le rapport de la largeur de l'ovaire sur la largeur du proglottis mature présente un coefficient de variation très faible (≤ 5 , 5%). Nous avons réuni l'ensemble de nos observations relatives à 12 autres espèces des genres *Vaucherella* de Chambrier, 1987, *Proteocephalus* Weinland, 1858, *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 et *Nomimosclex* Woodland, 1934 précédemment étudiées (voir de Chambrier, 1987, 1988, 1989a, 1989b, 1990; de Chambrier & Vaucher, 1984, 1992; de Chambrier *et al.*, 1991, 1992) et constaté un coefficient de variation qui varie peu, de 2% à 7.6% seulement. Nous considérons donc le rapport de la largeur de l'ovaire sur la largeur du proglottis mature comme un excellent caractère.

Dans ces deux taxa, la pars copulatrix vaginae est particulièrement allongée avec une paroi épaisse d'abondantes fibres musculaires. Dans la bibliographie, les descriptions et illustrations concernant le vagin sont souvent sommaires. Or, si la structure de cet organe peut varier de manière importante d'une espèce à l'autre (présence ou non d'un sphincter vaginal, paroi plus ou moins épaisse), elle semble très constante à l'intérieur d'une espèce. Nous concluons qu'il s'agit là d'un très bon critère discriminant au niveau spécifique.

Le nombre de testicules est un caractère spécifique souvent utilisé. Pour les deux espèces dé-

crites ici, nos comptages montrent que ce nombres varient dans de fortes proportions, avec des coefficients de variation (CV) élevés: 28.3% chez *P. soniae* et 18.1% chez *P. renaudi*. Mead & Olsen (1971) observaient également un CV élevé (23%) chez *Ophiotaenia filaroides* (La Rue, 1909). Anikieva (1991) rapporte un CV de 17.4% chez *P. pollanicola* (Gresson, 1952). Dans un précédent travail (de Chambrier, 1989b), nous avions relevé des CV variant de 9.1 à 20.8% chez les espèces des genres *Crepidobothrium* et *Vaucherella*. Par conséquent, il peut se révéler difficile de séparer deux espèces qui ont des nombres de testicules peu différents lorsque les CV ont tendance à être plutôt élevés; dans ce cas, il est important que d'autres critères spécifiques confirmen la distinction spécifique. Les CV élevés observés chez *P. soniae* et *P. renaudi*, dont l'électrophorèse des protéines a prouvé l'appartenance à des entités génétiques homogènes et totalement séparées, ne nous paraissent pas résulter d'un quelconque défaut au niveau des observations réalisées sur de nombreux proglottis ($n = 35$ et 124). Au contraire, ils constituent à notre avis des caractères propres aux espèces en question. Autrement dit, nous pensons que la variabilité dans le nombre de ces organes est en elle-même un caractère de distinction spécifique.

Contrairement à *P. soniae* n. sp., *P. renaudi* n. sp. a des vitellogènes paramusculaires. La constance de cette disposition en fait à notre avis un bon critère taxonomique. Nous avons déjà observé cette disposition chez plusieurs *Proteocephalidea* (de Chambrier 1990; de Chambrier *et al.*, 1992). Chez tous les représentants du genre *Proteocephalus* possédant ce caractère, les vitellogènes sont de plus en situation dorsale, comme c'est d'ailleurs le cas chez *P. renaudi*.

Chez *Proteocephalus renaudi* n. sp., la forme et le mode d'évacuation des œufs sont très particuliers. La forme de ces œufs, au niveau de l'enveloppe externe, est très différente, à notre connaissance, de tous les autres œufs de *Proteocephalidea*.

D'autre part, la présence d'appendices¹ sur des

¹ Nous préférons le terme d'appendice contrairement à Wood-

oeufs de Proteocephalidea a déjà été signalée chez *Goezeella siluri* sensu Woodland (1933) nec Fuhrmann, 1916 [synonyme de *Goezeella piramutab* Woodland, 1933 selon Rego (1975)], parasite de *Cetopsis caecutiens*, chez *Spatulifer rugata* (Rego, 1975) parasite de *Calophysus macropterus* et chez *Rudolphiella piranabu* (Woodland, 1934) parasite de *Pinirampus pirinampu* (Woodland 1933, 1934b; Rego 1975). Si chez *G. siluri* Fuhrmann, 1916 sensu Woodland (1933), les appendices sont situés sur l'embryophore dans tous les oeufs observés, chez *S. rugata* et chez *R. piranabu*, ils sont situés sur l'enveloppe externe, et de plus, ne sont présents que sur quelques oeufs, comme le constatent Rego et Woodland. La présence d'un embryophore piriforme avec un seul appendice est unique chez les Proteocephalidea.

L'observation de nombreux utérus vides montre que les oeufs sont pondus. Cependant, nous n'avons pas trouvé d'oeufs dans le contenu intestinal fixé. La présence de proglottis mûrs vidés de leurs oeufs suggère une ponte cyclique ou discontinue.

Lors de leur évacuation, les oeufs s'accrochent le plus souvent entre eux par la portion étirée de l'enveloppe externe. La forme allongée des oeufs, ainsi que cette particularité d'être pondus en paquets, suggère l'intervention d'un phénomène de favorisation lors de l'infestation de l'hôte intermédiaire.

Conclusion

L'électrophorèse des protéines s'est de nouveau révélée performante pour confirmer le statut spécifique de populations sympatriques de Cestodes Proteocephalidae (voir de Chambrier *et al.*, 1992). Par ailleurs, les arguments fournis par cette méthode ont permis une évaluation critique de la validité des caractères morpho-anatomiques utilisés. La répartition des testicules en champs convergents ou séparés, la présence ou l'absence d'un

land (1933, 1934b) et Rego (1975) afin de ne pas créer de confusions avec les filaments polaires présents dans les oeufs de certains Cyclophyllides.

organe apical et d'un sphincter vaginal, le rapport largeur de l'ovaire/largeur du proglottis sont des éléments fiables. Le nombre de testicules, très fréquemment utilisé comme critère d'identification par les auteurs, demande à être employé avec discernement. La variabilité de ce nombre, exprimé par son coefficient de variation résultant d'un calcul de moyenne fondé sur un nombre suffisant d'échantillons, est importante: quelques données de la bibliographie ainsi que nos propres observations font état de CV allant de 8 à 28%. Nous estimons que cette variabilité est aussi un caractère spécifique. Ainsi admettrions-nous sans difficulté que deux espèces apparentées, possédant des nombres de testicules très voisins, mais caractérisés par des CV notablement éloignés, pourraient appartenir à des taxa différents.

Remerciements

Nous remercions vivement Sonia Muller, Genève et Carlo Dlouhy, Asuncion pour leur collaboration sur le terrain, ainsi que le Ministère de l'Agriculture et des Elevages du Paraguay pour son appui lors des missions du Muséum de Genève. Nous remercions également le Dr François Renaud, Montpellier, pour ses conseils dans le domaine de l'électrophorèse des isoenzymes, Gilles Roth, Genève, pour la réalisation des illustrations et le Dr Jean Wuest pour l'étude au microscope électronique à balayage.

Références

- Anikieva, L.V. (1991) The use of morphological indices of *Proteocephalus pollanicola* (Cestoda: Proteocephalidae) for more precise definition of the origin of its host, *Coregonus pollan* Thompson. *Parazitologiya*, **25**, 228–233.
- de Chambrier, A. & Vaucher, C. (1984) *Proteocephalus gaspari* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae), parasite de *Leptostomus tropicus* (Gill) au Lac Managua (Nicaragua). *Revue Suisse de Zoologie*, **91**, 229–233.
- de Chambrier, A. (1987) *Vauchertella bicheti*, n. gen., n. sp. (Cestoda: Monticellidae, Zygobothriinae) parasite de *Tropidophis cf. taczanowskyi* (Steindachner, 1880) (Serpentes: Tropidophidae) des Andes équatorielles. *Revue Suisse de Zoologie*, **94**, 829–840.
- de Chambrier, A. (1988) *Crepidoboethrium garzonii* n. sp.

- (Cestoda: Proteocephalidae) parasite de *Bothrops alternatus* Dum. Bibr & Dum. 1854 (Serpentes: Viperidae) au Paraguay. *Revue Suisse de Zoologie*, **95**, 1163–1170.
- de Chambrier, A. (1989a) Révision du genre *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 (Cestoda: Proteocephalidae) parasite d'Ophidiens néotropicaux. II. *C. gerrardii* (Baird, 1860) et *C. viperis* (Beddard, 1913). *Revue Suisse de Zoologie*, **96**, 191–217.
- de Chambrier, A. (1989b) Révision du genre *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 (Cestoda: Proteocephalidae) parasite d'Ophidiens néotropicaux. I. *C. dollfusi* Freze, 1965, *C. lachesisidis* (MacCallum, 1921) et conclusions. *Revue Suisse de Zoologie*, **96**, 345–380.
- de Chambrier, A. (1990) Redescription de *Proteocephalus paraguayensis* (Rudin, 1917) (Cestoda: Proteocephalidae) parasite de *Hydrodynastes gigas* (Dum., Bibr. & Dum., 1854) du Paraguay. *Systematic Parasitology*, **16**, 85–97.
- de Chambrier, A., d'Alessio, M.L. & F.M. de Azevedo Corrêa (1991) Redescription de *Proteocephalus jarara* (Fuhrmann, 1927) (Cestoda: Proteocephalidae) parasite de *Bothrops alternatus* (Viperidae) au Brésil. *Revue Suisse de Zoologie*, **98**, 15–32.
- de Chambrier, A. & Vaucher, C. (1992). *Nomimoscolex touzeti* n. sp. (Cestoda), a parasite of *Ceratophrys cornuta* (L.): first record of a Monticellidae in an amphibian host. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, **87**, Suppl. I, 61–67.
- de Chambrier, A., Cl. Vaucher & F. Renaud (1992). Étude des caractères morpho-anatomiques et des flux génétiques chez quatre *Proteocephalus* (Cestoda: Proteocephalidae) parasites de *Bothrops jararaca* au Brésil et description de trois espèces nouvelles. *Systematic Parasitology*, **23**, 141–156.
- Diesing, C.M. (1850) *Systema helminthum*. Vol. I. Vindobonae, xiii + 679 pp.
- Locquin, M. & Langeron, M. (1978) *Manuel de microscopie*. Paris, etc.: Masson, 352 pp.
- Lynsdale, J.A. (1959) On a new species of *Proteocephalus* from Brazil. *Journal of Helminthology*, **34**, 43–46.
- Mead, R.W. & Olsen, O.W. (1971) The life cycle and development of *Ophiotaenia filaroides* (La Rue, 1909) (Proteocephala: Proteocephalidae) *The Journal of Parasitology*, **57**, 869–874.
- Pasteur, N., Pasteur, G., Bonhomme, F., Catalan, J. & Britton-Davidian, J. (1987) *Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines*. Paris: Lavoisier, 217 pp.
- Rego, A.A. (1975) Estudos de Cestóides de peixes do Brasil. 2º nota: revisão do gênero *Monticella* La Rue, 191 (Cestoda, Proteocephalidae). *Revista Brasileira de Biologia*, **35**, 567–586.
- Rego, A.A. (1987) Cestóides proteocephálidos do Brasil. Reorganização taxonômica. *Revista Brasileira de Biologia*, **47**, 203–212.
- Rego, A.A., Dos Santos, J.C. & Silva, P.P. (1974) Estudo de cestóides de peixes do Brasil. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, **72**, 187–204.
- Rego, A.A. & Pavanelli, G.C. (1990) Novas espécies de cestóides proteocephálidos parasitas de peixes não siluri formes. *Revista Brasileira de Biologia*, **50**, 91–101.
- Richardson, B.J., Baeverstock, P.R. & Adams, M. (1986) *Allozyme electrophoresis, a handbook for animal systematics and population studies*. San Diego, California: Academic Press Inc., 410 pp.
- Riggenbach, E. (1896) Das Genus *Ichthyotaenia*. *Revue Suisse de Zoologie*, **4**, 165–275.
- Schmidt, G.D. (1986) *Handbook of tapeworm identification*. Boca Raton, Florida: C.R.C. Press Inc., 675 pp.
- Szidat, L. & Nani, A. (1951) Diplostomiasis cerebralis de Pejerrey. Una grave epizootia que afecta a la economía nacional producida por larvas de trematodos que destruyen el cerebro de los Pejerreyes. *Revista del Instituto nacional de Investigación de las Ciencias naturales y Museo argentino de Ciencias naturales "Bernardo Rivadavia"*, **1**, 324–384.
- Vigueras, I.P. (1936) *Proteocephalus manjuariphilus*, n. sp (Cestoda) parasito de *Atractosteus tristoechus* (Bloch & Schn.) (Pisces). *Revista de Parasitología, Clínica y Laboratorio*, **2**, 17–18.
- Woodland, W.N.F. (1933) On two new cestodes from the Amazon siluroid fish *Brachyplatystoma vaillanti* Cuv. and Val. *Parasitology*, **25**, 485–490.
- Woodland, W.N.F. (1934a) On six new cestodes from Amazon fishes. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 33–44.
- Woodland, W.N.F. (1934b) On the Amphilorchidinae, a new subfamily of proteocephalid cestodes, and *Myzophorus admonticellia*, gen. et sp. n., parasitic in *Pirinampus* spp. from the Amazon. *Parasitology*, **26**, 141–149.
- Woodland, W.N.F. (1935) Some new proteocephalids and a ptychobothrid (Cestoda) from the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 619–623.

