



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Biologie

### Mémoire de fin d'études

En vous de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV  
Filière sciences Biologiques

Option : .....Biologie Moléculaire et Cellulaire.....

Thème :

Caractérisation moléculaire de cestodes parasites du céphalopode  
*Loligo vulgaris* ( Lamarck , 1798) du littoral algérois

**Présenté par :**

**Date de soutenance :** 15/07/2021

- Assameur Yahia
- El Orabi Oussama

**Devant le jury :**

• Nom	Grade	Lieu	Qualité
• Cherralah A	MCB	SNV/USDB1	Président
Abdul Hussaine A	MCB	SNV/USDB1	Examineur
• Benyahia N	MAA	SNV/USDB1	Promoteur
• Aissani R	MCB	SNV/USDB1	Co- promoteur

**Promotion 2020/2021**

## Remerciements

Cette étude a été réalisée au sein de l'université Saad Dahleb, Blida 1, à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, au département BPC, durant la période s'étendant de mars à juin 2021

Dans cette partie nous tenant à remercier toutes personnes qui nous a soutenus le long de ce travail.

Nous remercions tout d'abord à Monsieur Benyahia .N promoteur de ce travail PFE pour tous les efforts qu'il a fournis pour l'aboutissement de ce travail et pour sa disponibilité le long de la durée de sa réalisation

Nous remercions Madame Aissani. R Co-promotrice pour les idées proposées pour l'amélioration du travail.

Nous tenant à remercier Madame Cherrallah. A qui nous fait l'honneur de présider le jury. Ainsi que Madame Abedul Hussain. A l'examinatrice de ce travail.

Nous tenant à remercier nos familles pour leur soutien et confiance le long de ce parcours

# Résumé

Résumé :

Les céphalopodes sont des hôtes intermédiaires ou paraténiques dans le cycle de vie des cestodes parasites des élastombranches, cependant les informations disponibles sur ses parasites et leurs cycles de vie sont fragmentaires. Notre étude a consisté à identifier des larves plerocéroïdes des cestodes récoltés chez le calmar *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798 captures dans les eaux Algériennes. La caractérisation des larves est basée sur l'analyse moléculaire du domaine D1-D3 de l'ADNr 28s .

La comparaison des résultats avec les séquences archivées dans Genbank.

Nos résultats nous ont permis d'assigner les larves étudiées au genre *Anthobothrium* sp de l'ordre des Tetraphyllidea, ce qui suggère que *Loligo vulgaris* a un rôle important comme un hôte intermédiaire ou paraténique dans la transmission des cestodes parasites des élastombranches. Cependant l'espèce reste à être identifiée cela revient au fait que peu de séquences de cestodes sont archivées dans les banques de données. Malgré cela et grâce à l'analyse moléculaire nous étions capable de proposer des espèces probables pour ses larves et par extension des cycles de développement.

Il serait intéressant d'augmenter les études et les échantillonnages des cestodes récoltés chez les élastombranches et les céphalopodes dans le but d'enrichir les banques de données nucléotidiques permettant ainsi de raffiner la systématique de ses parasites

Mots clés : cestodes, *Loligo vulgaris*, domaine D1-D3, ADNr 28s, *Anthobothrium* sp, phylogénie moléculaire, Maximum Likelihood.

Abstract :

Cephalopods are intermediate or paratenic hosts in the life cycle of cestodes parasites of elasmobranchs, however the information available concerning these parasites and their life cycles is fragmentary, our study aims to identify plerouocercoid larvae of cestodes collected from the squid *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798 captured in the Algerian waters. The characterization of the larvae is based on the molecular analysis of the D1-D3 domain of the 28S rDNA and the comparison of the results with the sequences available in Genbank .

Our results obtained allowed us to assign the larvae studied to the genus *Anthobothrium* sp of the Tetraphyllidea order, which suggest that *Loligo vulgaris* has an important role as an intermediary or paratenic in the transmission of cestodes parasites of elasmobranchs. However, the species remains to be identified, this comes down to the fact that few cestodes sequences are available in the databases. Despite this and thanks to the molecular analysis we were able to suggest probable species and by extension cycles of evolution.

We emphasize the importance of increasing the studies and sampling of cestodes collected from elasmobranchs and cephalopods in order to enrich the databases thus allowing the refine the systematics of these parasites.

Key words: cestods, *Loligo vulgaris*, D1-D2 domain, 28S rDNA, *Anthobothrium* sp, molecular phylogeny, Maximum Likelihood

رأسيات الأرجل هي مضيفات وسيطة أو مضيضة في دورة حياة الديدان الورقية الطفيلية من صفيحية الخياشيم الغضروفية ومع ذلك فإن المعلومات المتاحة عن الطفيليات ودورات حياتها مجزأة. يهدف العمل هنا إلى التعرف على يرقات الدودة الحلزونية الحلقية التي تم جمعها من الحبار *Loligo vulgaris*, 1798

تم الاستيلاء عليها في المياه الجزائرية. يعتمد توصيف اليرقات على التحليل الجزيئي للمجال D1-D3 لـ s rDNA28 ومقارنة النتائج مع التسلسلات المتوفرة في Genbank ، مما يسمح بإنشاء شجرة النشوء والتطور.

بناءً على النتائج التي تم الحصول عليها ، تمكنا من تعيين اليرقات المدروسة إلى جنس *Anthobothrium* sp من رتبة *Tetraphyllidea* ، والتي تشير إلى أن *Loligo vulgaris* له دور مهم في انتقال طفيليات الديدان الخيطية من *elasmobranchs*.

ومع ذلك ، لا يزال يتعين تحديد الأنواع ، وهذا يرجع إلى حقيقة أن عددًا قليلاً من سلاسل الديدان الخيطية المتاحة في قواعد البيانات. على الرغم من ذلك وبفضل التحليل الجزيئي ، تمكنا من اقتراح الأنواع المحتملة ودورات التطور الممتدة. تؤكد على أهمية زيادة الدراسات وأخذ عينات من الديدان الخيطية التي تم جمعها من صفيحية الخياشيم الغضروفية ورأسيات الأرجل من أجل إثراء قواعد البيانات وبالتالي السماح بتحسين النظم المنهجية لهذه الطفيليات.

الكلمات الأساسية: *Loligo vulgaris* ، cestods ، مجال D1-D2 ، s rDNA 28 ، *Anthobothrium* sp ، السلالة الجزيئية ، الاحتمالية القصوى

<b>Remerciements</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Liste des Tableaux</b>	
<b>Liste des Figures</b>	
<b>I. Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>II. Synthèse Bibliographique.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Céphalopodes.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Anatomie des céphalopodes.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.1. Anatomie générale.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.2. Système digestif.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2. Exploitation commerciale des céphalopodes .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3. <i>Loligo vulgaris</i>.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3.1. Classification.....</b>	<b>7</b>
<b>1.3.2. Distribution géographique et bathymétrie.....</b>	<b>7</b>
<b>1.3.3. Migrations.....</b>	<b>8</b>
<b>1.3.4. Ecologie trophique.....</b>	<b>9</b>
<b>1.3.4.1. Proies.....</b>	<b>9</b>
<b>1.3.4.2. Prédateurs.....</b>	<b>9</b>
<b>2. Parasites de céphalopodes.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. Cestodes.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2. Tetraphyllidea.....</b>	<b>11</b>
<b>3. Phylogénie.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1. Arbre phylogénétique.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2. Phylogénie moléculaire.....</b>	<b>13</b>

<b>3. 3. Méthodes de construction phylogéniques.....</b>	<b>13</b>
<b>3. 3. 1. Méthodes basées sur la distance.....</b>	<b>13</b>
<b>3. 3. 2. Méthodes basées sur le caractère.....</b>	<b>14</b>
<b>3. 4. Bootstrap.....</b>	<b>15</b>
<b>3. 4. 1. Types de Bootstrap.....</b>	<b>15</b>
<b>III. Matériels et Méthodes .....</b>	
<b>1. Matériels.....</b>	<b>16</b>
<b>1. 1. Matériels biologiques.....</b>	<b>16</b>
<b>1. 2. Matériels non biologiques.....</b>	<b>17</b>
<b>1. 2. 1. Logiciels d'analyse phylogénétique.....</b>	<b>17</b>
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.Échantillonnage.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2. Analyse moléculaire.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3. Analyse phylogénétique.....</b>	<b>18</b>
<b>IV. Résultats.....</b>	
<b>1. Résultats de BLASTn.....</b>	<b>20</b>
<b>2. Reconstruction de l'arbre phylogénétique.....</b>	<b>25</b>
<b>3. Identification de la larve plérocercóide LV.....</b>	<b>27</b>
<b>V. Discussion .....</b>	<b>28</b>
<b>VI. Conclusion .....</b>	<b>38</b>



**Références** ..... 40

## Liste de tableaux

Tableau 1: Amorces utilisées pour la PCR .....	18
Tableau 2: Liste des taxa obtenus de GenBank inclus dans l'analyse phylogénétique .....	20
Tableau 2(suite). Liste des taxa obtenus de GenBank inclus dans l'analyse phylogénétique.....	21
Tableau 2(suite). Liste des taxa obtenus de GenBank inclus dans l'analyse phylogénétique ....	22
Tableau 2(suite). Liste des taxa obtenus de GenBank inclus dans l'analyse phylogénétique.....	23
Tableau 3: Mutations observées entre la séquence Plérocercœide LV et <i>Anthobothrium</i> sp. 16/06b avec indication de leurs positions .....	24
Tableau 4.: Espèces potentielles correspondants à nos larves <i>Anthobothrium</i> sp.....	32

## Liste de figures

Figure 1: Arbre phylogénétique simplifiée des céphalopodes vivants (Jereb et al., 2014) ....	3
Figure 2: Schéma illustrant l’anatomie générale d’un céphalopode (calmar) (Hanlon et al., 2018).....	4
Figure 3: Schéma illustrant les formes et les proportions des organes du système digestif des céphalopodes (Hanlon et al., 2018).....	5
Figure 4: Débarquements (en tonnes) mondiaux des céphalopodes, entre 2005 et 2018 (FAO 2011 et 2018 modifié) .....	6
Figure 5: Aspect externe de <i>Loligo vulgaris</i> (Hanlon et al., 2018) .....	6
Figure 6 : Distribution géographique de <i>Loligo vulgaris</i> dans le nord-est de l’Atlantique et en Méditerranée (Jereb et al., 2015) .....	8
Figure 7: Représentation schématique des cestodes (Klimpel et al., 2019) .....	10
Figure 8: Représentation schématique du cycle de développement des cestodes. De A à H, photomicrographies des scolex de certains adultes de cestodes (Rohde, 2005) .....	11
Figure 9: Structure d’un arbre phylogénétique raciné. Les deux arbres (a) et (b) ont des topologies identiques, avec des rotations différentes des nœuds internes (Lemey et al., 2009)..	12
Figure 10: Diagramme représentant le protocole expérimental de l’analyse moléculaire....	15
Figure 11: Arbre phylogénétique construit à partir d’un modèle de Maximun Likelihood reconstituant les relations phylogénétiques entre les larves plérocercoides récoltées chez <i>Loligo vulgaris</i> et 38 cestodes adultes Tetraphyliidea et Phyllobothriidea. Les supports au niveau des nœuds représentent le bootstrap. ....	26

Figure 12 : Proposition de cycle évolutif pour les larves plerocercoides <i>Anthobothrium cornucopia</i> et <i>Anthobothrium galeorhini</i> .....	34
Figure 13 : Cycle probable pour <i>Anthobothrium laciniatum</i> dans les eaux algériennes .....	35
Figure 14 : Cycle probable pour <i>Anthobothrium altavelae</i> dans les eaux algériennes .....	36
Figure 15 ; Cycle probable pour <i>Anthobothrium lyndoni</i> dans les eaux algériennes.....	37

# I. Introduction

Les cycles de vie des cestodes, en particulier ceux qui atteignent la maturité sexuelle chez les élasmobranches (requins et les raies), sont très peu connus (Caira et Reyda, 2005). Une des principales raisons de ce manque d'information sur les cycles évolutifs des cestodes marins est la dissemblance entre les stades larvaires et leurs adultes correspondants. Par conséquent, une identification des larves basée sur les caractères morphologiques des adultes sur lesquels repose la taxonomie des cestodes (Joyeux and Baer, 1961 in Jensen et Bullard, 2010), est impossible. Pendant longtemps des termes généraux ont été donnés aux larves de cestodes, comme *Scolex pleuronectis* et *Scolex polymorphus* (Dollfus, 1929 in Jensen et Bullard, 2010), ce qui a causé par la suite des problèmes d'identification taxonomique pour ces parasites.

Avec le développement des techniques de biologie moléculaire, de nouvelles stratégies ont été adoptées pour essayer de résoudre les problèmes d'identification taxonomique des larves de cestodes. Parmi ces stratégies, l'utilisation du domaine D1-D3 de l'ADNr 28s, une région opérante pour l'identification taxonomique, du fait de la variabilité génétique observée dans cette région chez divers cestodes congénères (Olson *et al.*, 2001).

Les céphalopodes sont des mollusques qui peuvent héberger diverses larves de cestodes parasites des élasmobranches, transmis d'un hôte à un autre via la chaîne alimentaire (Klimpel *et al.*, 2019). Malgré le peu d'informations concernant leur rôle dans le cycle de vie des cestodes, de nombreux rapports suggèrent qu'ils constituent des hôtes intermédiaires ou paraténiques pour les larves plérocercoides (Brickle *et al.*, 2001, Guardon *et al.*, 2020, Tedesco *et al.*, 2020).

L'émergence de techniques moléculaires a fourni un outil puissant pour résoudre le problème des identifications taxinomiques des larves de cestodes et ouvre de nouvelles perspectives pour combler les lacunes sur les cycles de vie (Littlewood, 2015; Caira, 2011).

En mer Méditerranée, il existe peu de rapports sur les parasites des céphalopodes (Mangold-Wirz, 1963; Dollfus, 1964; Pascual & Hochberg, 1996; Gestal *et al.*, 1999; Farjallah *et al.*, 2008; Petriç *et al.*, 2011;).

Ces travaux ont mis en évidence la biodiversité des parasites appartenant à divers groupes protozoaires ou métazoaires. Si dans la plupart des cas ils ne semblent pas avoir un im

négatif sur la condition des hôtes, certains helminthes signalés constituent un risque potentiel de zoonoses (Mattiucci *et al.*, 2018).

En Algérie, peu de travaux ont concerné les céphalopodes bien qu'ils constituent une partie des débarquements dans les pêcheries. Ces études ne se sont intéressées qu'à la biologie, à l'écologie et à l'exploitation des seiches, telle *S. officinalis* Linnaeus, 1758 (Guedioura, 2017) et du calmar *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798 (Benyahia, 1999). Par contre, il n'existe aucune étude sur la parasitologie liée aux céphalopodes. Cet aspect est pourtant important à prendre en considération car au-delà du fait qu'il renseigne sur l'état des stocks et de leur condition sanitaire, il peut servir à évaluer le risque d'infestation dû à des espèces potentiellement porteuses de zoonoses.

Dans le cadre de notre projet de PFE, réalisé au sein de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de l'Université Saad Dahlab Blida 1, nous nous sommes fixés comme objectif :

- 1- l'identification de larves d'helminthes parasites du calmar *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798.
- 2- l'identification la plus précise possible des larves de cestodes à l'aide de marqueurs moléculaires (ADNr 28 S).
- 3- la détermination de cycles évolutifs des helminthes identifiés.

## II. Synthèse bibliographique

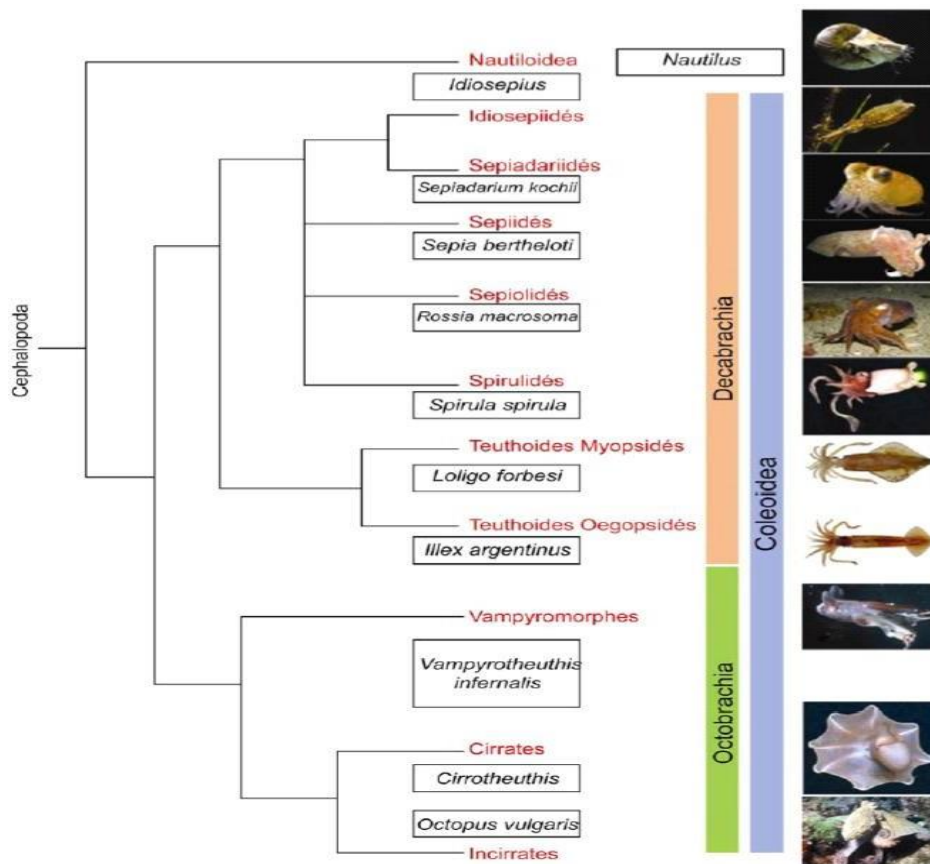


## 1. Céphalopodes

Les mollusques céphalopodes sont des Bilatériens, Protostomiens, Lophotrochozoaires, présents dans tous les océans et les mers du monde, de la surface jusqu'aux profondeurs de plus de 7000 mètres, de la province néritique du littoral au domaine pélagique hauturier (Mangold et Boletzky, 1987).

Les céphalopodes comprennent actuellement près de 800 espèces (-1% des mollusques) (Arkhipkin *et al.*, 2015) colonisant la plupart des biotopes marins, ce qui témoigne de leur succès évolutif.

Le groupe des céphalopodes est subdivisé en deux sous-classes : les Nautiloidea (6 espèces), qui possèdent une coquille externe et deux paires de branchies et les Coleoidea (700 espèces), qui diffèrent par une coquille interne et une seule paire de branchies (Jereb et Roper, 2006) (**Figure 1**).



**Figure 1.** Arbre phylogénétique simplifié des céphalopodes vivants (Jereb *et al.*, 2014)

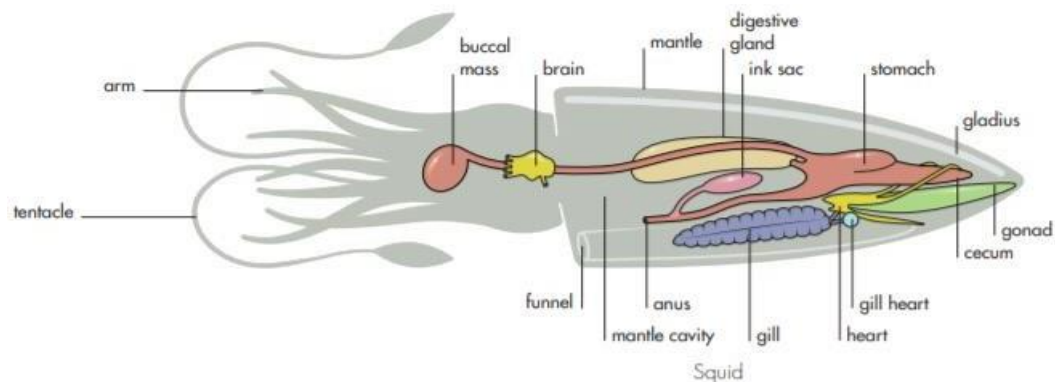
## 1. 1. Anatomie des céphalopodes

### 1. 1. 1. Anatomie générale

Les bras et tentacules des céphalopodes sont attachés directement sur la tête, qui peut se traduire par ‘pieds sur tête’. De chaque côté de la tête se trouvent deux grands yeux et entre les deux, un large cerveau qui peut avoir plus de 30 lobes distincts et 150 millions de cellules nerveuses.

La bouche est située à la rencontre de 8 bras, elle possède un puissant bec et une langue munie de nombreuses dents formant une râpe, ‘la radula’, qui réduit la taille de la nourriture en petits morceaux, à cause du passage de l’œsophage au milieu du cerveau. Le corps et les organes comme l’estomac, le cœur, les branchies et les organes sexuels sont regroupés dans le manteau de l’animal. L’eau est aspirée dans la cavité du manteau puis expulsée par l’entonnoir pour la respiration ou bien la propulsion pour se mouvoir (**Figure 2**).

Les ventouses sur les bras et les tentacules sont des marqueurs typiques de l’anatomie des céphalopodes. Elles ne servent pas uniquement à saisir, mais aussi pour le toucher et le goût, grâce à la présence de cellules sensorielles sur les ventouses des bras. (Hanlon, Vecchione et Allcock, 2018)

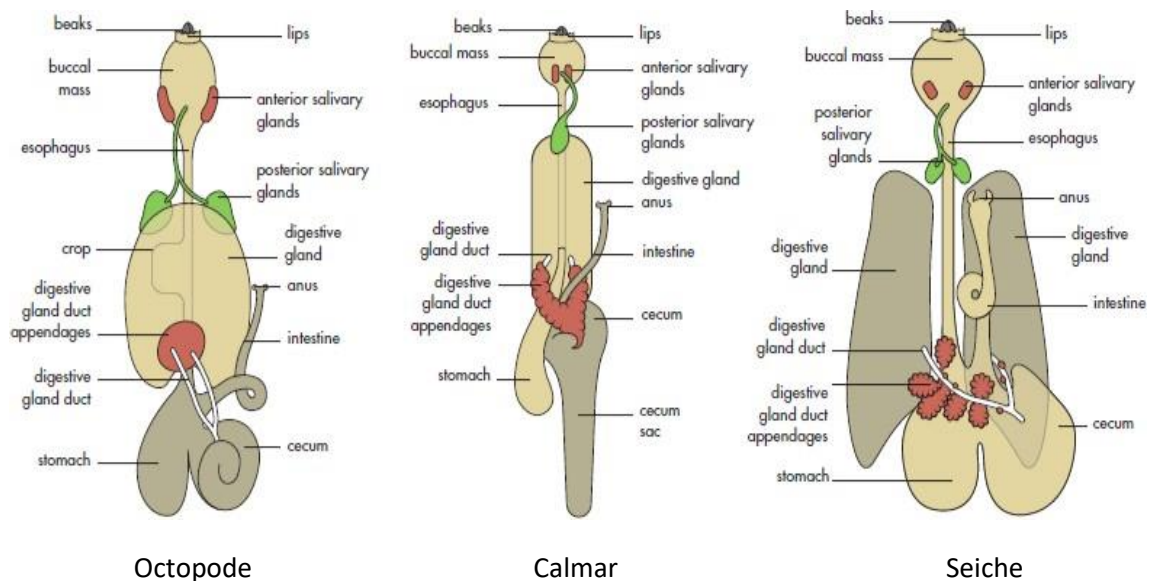


**Figure 2.** Schéma illustrant l’anatomie générale d’un céphalopode (calmar)

(Hanlon *et al.*, 2018)

### 1. 1. 2. Système digestif

Comme chez la plupart des mollusques, le système digestif des céphalopodes a la forme de la lettre U. L'œsophage conduit de la masse buccale dans la tête à la jonction avec l'estomac et le cæcum dans la partie postérieure de la cavité du manteau. Par la suite l'intestin remonte vers la tête, s'ouvrant dans la cavité du manteau près de l'entonnoir (**Figure 3**).



**Figure 3.** Schéma illustrant les formes et les proportions des organes du système digestif des céphalopodes (Hanlon *et al.*, 2018)

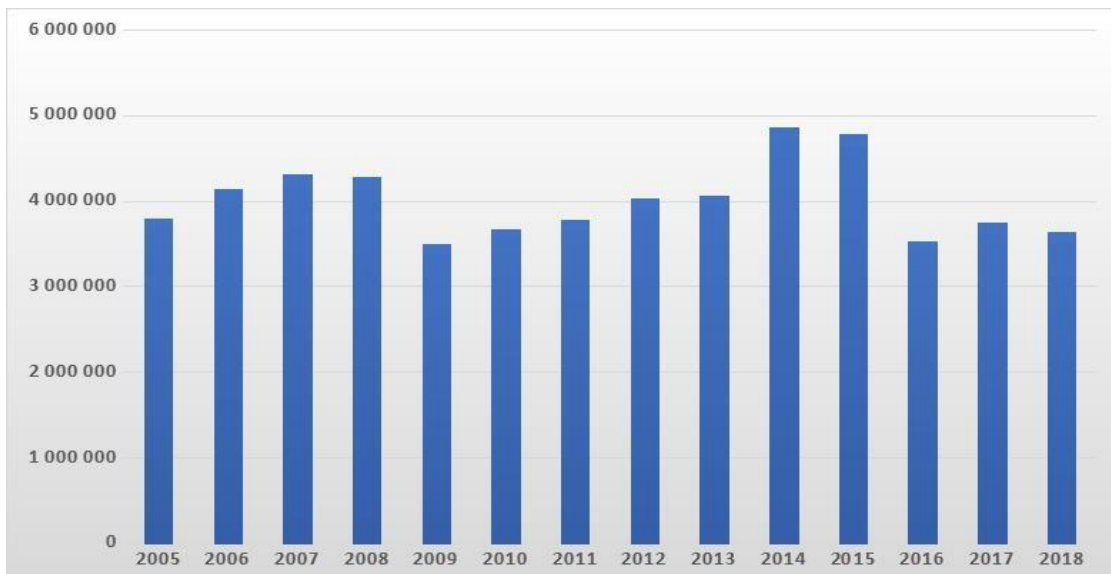
Du fait de l'évolution du cerveau des céphalopodes à partir de l'anneau nerveux autour de l'œsophage des mollusques, les particules de nourritures doivent être suffisamment petites pour passer à travers le cerveau. Généralement l'estomac est bordé par des crêtes cuticulaires pour aider la digestion de la nourriture, le cæcum tend à avoir des structures enroulées et ciliées qui trient les particules résultant de la digestion. D'où le nom de cæcum spiralé (Hanlon, Vecchione et Allcock, 2018) (**Figure 3**).

### 1. 2. Exploitation commerciale des céphalopodes

La production mondiale des céphalopodes n'a cessé d'augmenter à partir de 1960, en parallèle au déclin des stocks de poissons démersaux, à cause d'une forte demande des produits de la mer (Le Bihan, 2006). Cette augmentation est consécutive à deux phénomènes importants

:

Un intérêt accru pour cette ressource considérée comme alternative aux autres produits de la mer et l'accroissement de l'abondance des céphalopodes (Royer, 2002 ; Le Bihan, 2006 ; Safi, 2013) (**Figure 4**).



**Figure 4.** Débarquements (en tonnes) mondiaux des céphalopodes, entre 2005 et 2018 (FAO 2011 et 2018 modifié)

### 1. 3. *Loligo vulgaris* :

Le calmar *Loligo vulgaris* est un mollusque céphalopode décapodiforme car il a 8 bras et 2 tentacules rétractiles. Il a un manteau musclé, il est de forme cylindrique, élancé et fusiforme postérieurement. De larges tâches de chromatophores rouges recouvrent le manteau et des irisations vertes/bleues dans la partie postérieure du manteau. Les nageoires sont rhomboïdes, dont la longueur dépasse 50 % de la longueur du manteau. Les plus gros spécimens de la mer Méditerranée ont été trouvés dans le bassin occidental (les longueurs du manteau des mâles atteignant 54 cm et chez les femelles 34 cm) (Worms, 1979) (**Figure 5**).



**Figure 5.** Aspect externe de *Loligo vulgaris* (Hanlon *et al.*, 2018)

### 1. 3. 1. Classification

**Règne:** Animalia Linnaeus, 1758

**Sous-Règne:** Eumetazoa Bütschli, 1910

**Clade:** Bilateria Haeckel, 1874

**Infra-Règne:** Protostomia Grobben, 1908

**Clade:** Lophotrochozoa Halanych, Bacheller, Aguinaldo & Liva, 1995

**Phylum:** Mollusca Linnaeus, 1758

**Classe:** Cephalopoda Cuvier, 1795

**Sous-Classe:** Coleoidea Bather, 1888

**Super-Ordre:** Decapodiformes Young, Vecchione & Donovan, 1998

**Ordre:** Myopsida

**Famille:** Loliginidae Lesueur, 1821

**Genre:** *Loligo* Lamarck, 1798

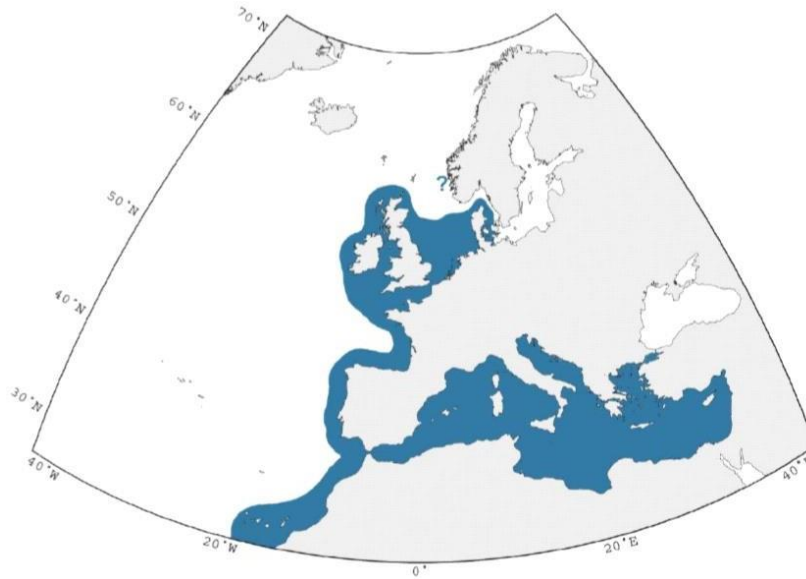
**Espèce:** *vulgaris* Lamarck, 1798

### 1. 3. 2. Distribution géographique et bathymétrique

*Loligo vulgaris* (Lamarck 1798) communément connu par encornet ou le calmar commun, est un céphalopode retrouvé dans le nord-est de l'Atlantique entre 55°N et 20°S et dans la méditerranée (Jereb *et al.*, 2015) (**Figure 6**).

*Loligo vulgaris* n'est pas une espèce exclusivement néritique mais s'apparente à une espèce littorale aux déplacements incessants. Espèce semi-pélagique, *Loligo vulgaris* alterne des périodes de nage en plein eau, et des périodes où elle se rapproche de la côte (Worms, 1983a, in Jereb *et al.*, 2010).

Dans la méditerranée, *Loligo vulgaris* est trouvée dans des profondeurs de 60 à 150 m, cependant que sur le plateau continental algérien elle a été capturée à des profondeurs allant jusqu'à 550 m (Mangold-Wirz, 1963a ; Worms, 1983a, in Jereb *et al.*, 2015).



**Figure 6.** Distribution géographique de *Loligo vulgaris* dans le nord-est de l'Atlantique et en Méditerranée (Jereb *et al.*, 2015)

### 1. 3. 3. Migrations

Les migrations horizontales de *Loligo vulgaris* sont principalement reliées à la maturité sexuelle et la saison de reproduction (Worms, 1983b, in Jereb *et al.*,2015)

La migration vers les rivages en relation avec la reproduction est bien décrite pour les populations de la méditerranée où les individus matures se déplacent vers les eaux côtières peu profondes pour l'accouplement (Mangold-Wirz, 1963a, in Jereb *et al.*,2015)

Dans l'atlantique, *Loligo vulgaris* migre sur des longues distances s'étendant jusqu'à 500 km. Selon Tinbergen and Verwey (1945) ils migrent activement vers le nord au printemps, entrant probablement dans la mer du Nord depuis la Manche et migrant le long des côtes belges, néerlandaises, nord-ouest de l'Allemagne et du Danemark.

L'alimentation est la principale raison de migration verticale quotidienne, les différences dans les prises entre le jour et la nuit suggèrent que *Loligo vulgaris* vit près des fonds marins le jour et se déplace verticalement dans la colonne d'eau la nuit (Roper and Young, 1975, in Jereb *et al.*,2015)

### **1. 3. 4. Ecologie trophique**

#### **1. 3. 4. 1. Proies**

*Loligo vulgaris* est un céphalopode actif caractérisé par un taux de croissance et une digestion rapide (Bidder, 1950, in Jereb *et al.*, 2015), suggérant que l'abondance des proies pourrait être un facteur décisif influençant la distribution des espèces. Cependant, le large spectre de sa composition de proies ne le limite pas à un biotope spécifique, sauf dans les premiers stades, lorsqu'une gamme plus restreinte de proies pélagiques de petite taille sont nécessaires.

Les poissons sont la proie la plus commune de *Loligo vulgaris* adulte, leur incidence augmente dans le régime alimentaire avec l'augmentation de la taille du calmar (Rocha *et al.*, 1994, in Jereb *et al.*, 2015).

Les céphalopodes et les crustacés sont des proies de moindre importance, bien qu'il y ait des preuves de différences régionales (Guerra et Rocha, 1994 ; Hasan *et al.*, 1994 ; Pierce *et al.*, 1994a, in Jereb *et al.*, 2015).

Des restes de polychètes ont également été trouvés dans le contenu de l'estomac de *Loligo vulgaris* capturé sur la côte atlantique ibérique (Jereb *et al.*, 2015)

#### **1. 3. 4. 2. Prédateurs**

*Loligo vulgaris* a été identifié dans le contenu de l'estomac de plusieurs grands poissons pélagiques et démersaux ainsi que chez des mammifères marins (Jereb *et al.*, 2015).

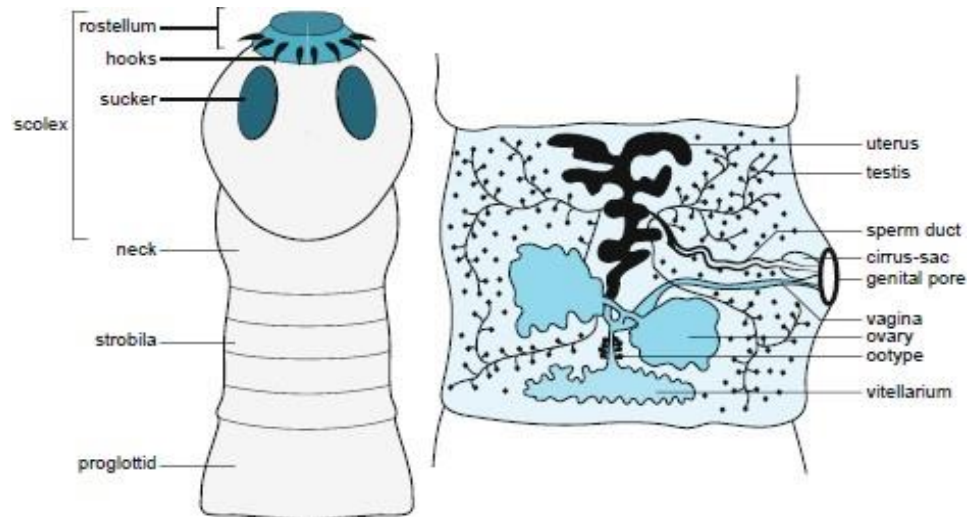
## **2. Parasites de céphalopodes**

Plusieurs parasites, incluant des cestodes, nématodes, trématodes, copépodes et isopodes ont été décrits chez les céphalopodes, cependant la plupart d'entre eux ne semblent pas avoir une grande importance comme facteur de mortalité pour leurs hôtes (Kinne, 1990).

### **2. 1. Cestodes**

Les cestodes sont des endoparasites qui infectent plusieurs espèces marines. L'adulte est hébergé dans le tube digestif ou occasionnellement les organes associés. Une fois ancré à la paroi intestinale de l'hôte « élasmobranche », les cestodes absorbent les nutriments et restent stationnaires pour le reste de leur durée de vie. Ils peuvent atteindre des tailles considérables

de plusieurs mètres et produisent continuellement des proglottis « contenant les organes génitaux » qui augmentent de taille à l'extrémité terminale du corps où ils atteignent des stades de maturité plus développés. Par la suite, ils se détachent et sont expulsés avec les fèces de l'hôte, libérant ainsi les œufs (Klimpel *et al.*, 2019) (**Figure 7**).

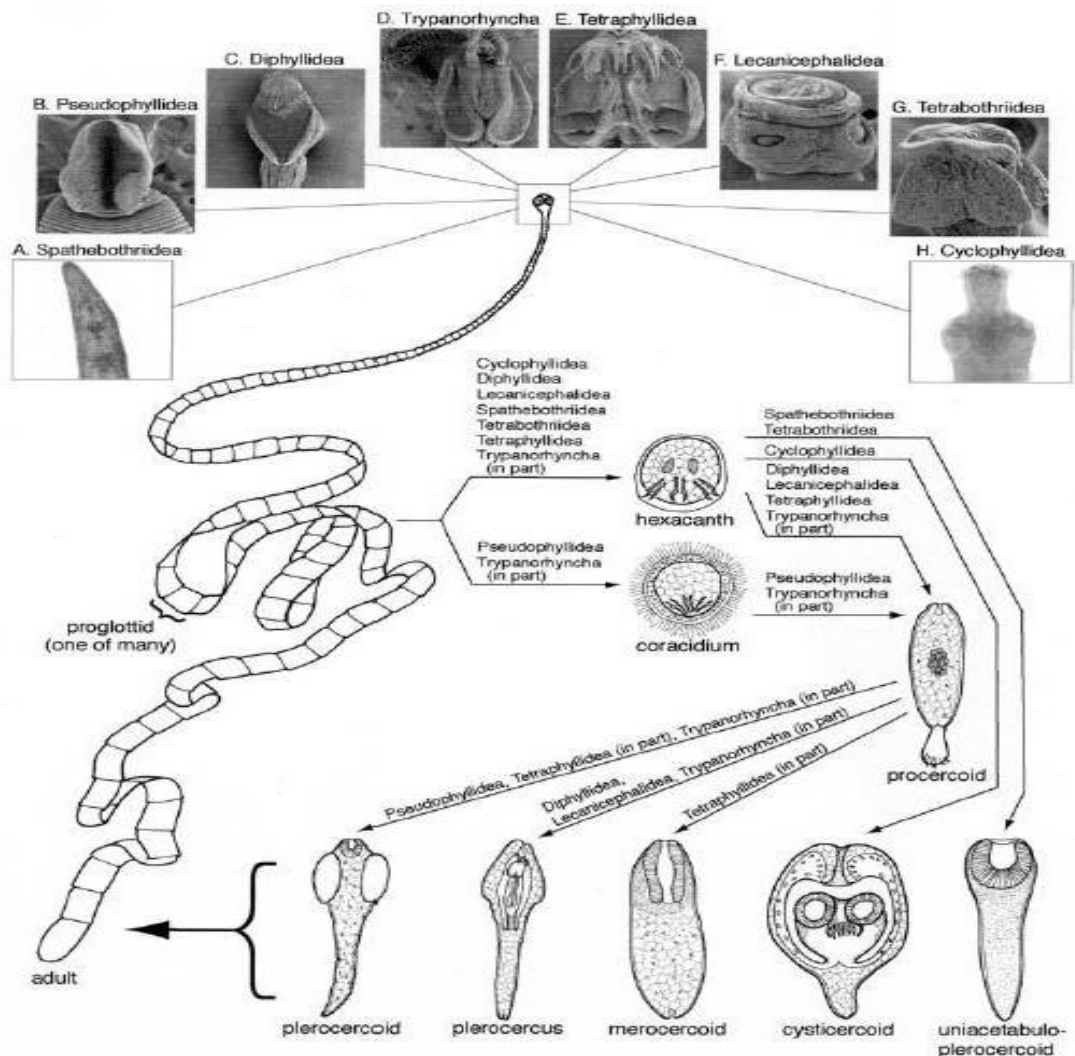


**Figure 7.** Représentation schématique des cestodes (Klimpel *et al.*, 2019)

Les cestodes adultes n'ont jamais été signalés chez les céphalopodes. Cependant, des stades larvaires et post-larvaires ont été décrits plusieurs fois chez les céphalopodes. Cette diversité montre que les céphalopodes jouent un rôle important comme hôtes intermédiaires ou paraténiques pour les cestodes qui atteignent leur maturité chez les élastombranches et qui sont transmis d'un hôte à un autre via la chaîne alimentaire (Kinne, 1990) (**Figure 8**).

Les cestodes parasitant les élastombranches appartiennent à 9 des 19 ordres actuels reconnus (Cathetocephaldea, Diphyllidea, Lecanicephalidea, Litobothriidea, Onchoproteocephalidea, Phylobothriidea, Rhinebothriidea, Trypanorhyncha et reliques des Tetrphyllidea) (Caira et Jensen, 2017).





**Figure 8.** Représentation schématique du cycle de développement des cestodes.  
De A à H, photomicrographies des scolex de certains adultes de cestodes  
(Rohde, 2005)

## 4. 2. Tetraphyllidea

Ce groupe a son origine avec van Beneden (1850 a in Caira, Jensen et Ruhnke, 2017), qui a établi l'ordre des « Tétraphyllidea » pour les cestodes à « quatre lobes mobiles et à formes très variables, pédiculés ou sessiles armés de crochets ou inermes », qui parasitent les élastombranches tels les requins et les raies (Caira, Jensen et Ruhnke, 2017). Il comprend quelques 60 genres et environ 800 espèces décrites. Les Tétraphyllidea ont des morphologies de scolex particulières, qui sont les plus variés et les plus complexes parmi tous les ordres de cestodes (Tomáš, Euzet, František, 1998). La systématique de cet ordre a fait l'objet de

plusieurs révisions apporté par différents chercheurs Euzet (1956), Jensen *et al* (2007) et Caira *et al* (2017) visant à rendre cet ordre moins problématique

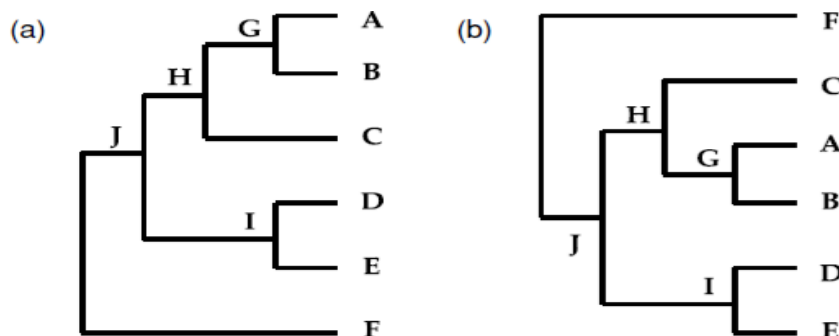
Grace au développement de l’outil de biologie moléculaire divers changement ont été apporté à cet ordre dans le but de réduire sa polyphylie en conséquence plusieurs familles qui appartenait aux Tetrphyllidea été élevées aux statu d’ordres (Caira *et al.*, 2017).

## 5. Phylogénie

La phylogénie correspond à l’étude des liens existant entre espèces apparentées. Grâce à elle, il est possible de retracer les principales étapes de l’évolution des organismes depuis un ancêtre commun et ainsi de classifier plus précisément les relations de parenté entre les êtres vivants.

### 3. 1. Arbre phylogénétique

Les relations évolutives entre les gènes et les organismes peuvent-être illustrées en utilisant la phylogénie. Les différents diagrammes utilisés pour représenter ces relations sont appelés arbres phylogénétiques (**Figure 9**) car ils ressemblent à la structure d’un arbre et les termes utilisés pour les diverses parties de ces diagrammes (i.e. Racine, branche, nœud, feuille.) rappellent également les structures d’un arbre. Les nœuds ou les feuilles externes représentent les taxons existants et sont souvent appelés unités taxonomique opérationnelles (OTUs) un terme générique qui peut représenter de nombreux types de taxons comparable (famille d’organismes, individus etc...). De même, les nœuds internes peuvent être appelés unités taxonomiques hypothétiques (HTUs) pour souligner qu’ils sont les ancêtres communs hypothétiques des OTUs. Un groupe de taxon qui partage la même branche a une origine monophylétique est appelé un clade, ce qui montre qu’ils ont un ancêtre commun (Lemey *et al.*, 2009).



**Figure 9.** Structure d’un arbre phylogénétique raciné. Les deux arbres (a) et (b) ont des topologies identiques, avec des rotations différentes des nœuds internes (Lemey *et al.*, 2009)

### **3. 2. Phylogénie moléculaire**

Pendant de nombreuses années les arbres phylogénétiques ont été construits sur la base de comparaisons de caractères morphologiques et physiologiques entre individus. Les progrès récents de la biologie moléculaire et des techniques de séquençage ont créé un volume exponentiellement croissant de données sur les séquences d'ADN. Etant donné que ces données macromoléculaires peuvent être interprétées comme une chaîne linéaire de caractères multi-états (avec quatre états possibles pour la séquence d'ADN A, T, C, G). Il est clairement évident qu'il existe une horloge moléculaire telle que les différences dans les séquences de nucléotides homologues devrait être de bons indicateurs de leurs relations. De plus, l'universalité du code génétique permet l'utilisation des séquences nucléotidiques pour déduire des relations phylogénétiques même entre les organismes qui étaient si éloignés qu'ils ne partageaient aucun caractère morphologique ou physiologique perceptible (De Bruyn *et al.*, 2014).

### **3. 3. Méthodes de construction phylogéniques**

#### **3. 3. 1. Méthodes basées sur la distance**

Les méthodes basées sur la distance reposent sur le calcul des distances génétiques entre chaque paire de séquences dans un ensemble de données avec des arbres phylogénétiques construits à partir de la matrice de distance construite à l'aide d'un algorithme de clustering (Van de Peer, 2009). La mesure la plus simple, la p-distance (également appelée distance de Hamming) correspond à la proportion de sites différents entre chaque paire de taxon. Cette valeur est une sous-estimation de la véritable distance évolutive, car la possibilité que de multiples mutations invisibles aient pu se produire sur des sites individuels n'est pas prise en considération. Etant donné que les analyses phylogénétiques concernent principalement l'inférence des relations évolutives, il est souhaitable dans la plupart des cas de calculer les distances évolutives plutôt que les p-distances. Ceci peut être réalisé en utilisant un modèle d'évolution explicite qui corrige la p-distance (De Bruyn *et al.*, 2014). Etant donné une matrice de distance évolutive, un arbre peut être obtenu en utilisant le groupement de paires non pondérées avec :

Moyenne arithmétique (UPGMA) (Michener et Sokal, 1956, in De Bruyn *et al.*, 2014), least squares (LS appelé aussi minimum évolution) (Fitch et Margoliash, 1967, in De Bruyn *et al.*, 2014), Neighbor-joining (NJ) (Saitou et Nei, 1987, in De Bruyn *et al.*, 2014) ou les méthodes de BIONJ (Gascuel, 1997, in De Bruyn *et al.*, 2014). Le principal avantage de ces méthodes

basées sur la distance est leur vitesse de calcul. Ces méthodes sont donc idéalement adaptées à l'exploration initiale des relations évolutives de séquences. Beaucoup de ces méthodes aident aussi directement à accélérer des méthodes de construction d'arbres basées sur les caractères plus lentes mais plus précises.

Malgré leurs utilités évidentes, les méthodes basées sur la distance ont tendance à ignorer une grande partie des informations potentiellement importantes au sein d'un alignement, en les comprimant en des ensembles de distance évolutive par paire (Darlu et Tassy, 1993 ; Steel et al., 1988, in De Bruyn *et al.*, 2014). En effet, toutes les informations fournies par la distribution des états des caractères ou les relations entre les caractères particuliers et l'arbre sont perdues dans le processus de calcul de distance par paire (Felsenstein, 2014).

### **3. 3. 2. Méthodes basées sur le caractère**

Alors que les méthodes basées sur la distance compressent les informations phylogénétiques contenues dans un ensemble de séquences en une matrice de distance par paires, les méthodes basées sur le caractère tient compte de toutes les informations disponibles dans les séquences à chaque site homologue (De Bruyn *et al.*, 2014). Les méthodes les plus utilisées sont :

#### **- Le maximum de parcimonie :**

Jusqu'à récemment cette méthode était l'une des méthodes les plus largement utilisées pour l'inférence phylogénétique. Initialement développée pour l'analyse des traits morphologiques, son idée principale peut être mieux résumée par le principe du rasoir d'Ockham, qui stipule que lorsque plusieurs hypothèses avec des degrés de complexités différentes sont proposées pour expliquer un même phénomène, il faut choisir l'hypothèse la plus simple. Dans un contexte phylogénétique, le principe propose que l'arbre phylogénétique le plus crédible ou parcimonieux sera l'arbre qui invoque le plus petit nombre de changements évolutifs lors de la divergence des séquences qu'il représente (De Bruyn *et al.*, 2014).

#### **- Le maximum de vraisemblance (Maximum Likelihood) :**

Cette méthode est un concept statistique popularisé par Fischer au début des années 1900 et qui a été appliquée pour la première fois dans le domaine de la phylogénie par Joseph Felsenstein en 1973. Le concept de base est relativement simple à appréhender ; considérant certaines données D (dans notre cas, les séquences nucléotidiques) sous un modèle d'évolution

M (qui était explicitement défini et décrit le processus de mutation d'une base à l'autre), la vraisemblance d'ensemble de paramètres O (topologie de l'arbre, la longueur des branches, paramètres du modèle de substitution), correspond à la probabilité d'obtenir D sous le modèle M avec les paramètres O. Les estimations du maximum de vraisemblance des valeurs des paramètres incluses dans O correspondent à l'ensembles des valeurs qui maximisent cette probabilité (De Bruyn *et al.*, 2014).

### **3. 4. Bootstrap**

Cette méthode a été introduite pour la première fois par Efron (1979) comme méthode alternative pour produire des erreurs-types sur les estimations de l'emplacement central autre que la moyenne (par exemple la médiane), mais elle a depuis été étendue pour couvrir également les intervalles de confiance probabilistes (Efron et Tibshirani 1993; Davison et Hinkley 1997). Il a été introduit dans les études phylogénétiques par Penny et al. (1982) puis formalisé par Felsenstein (1985), qui a suggéré qu'il pourrait être mis en œuvre en maintenant les taxons constants et en ré échantillonnant les caractères au hasard avec remise, l'analyse de construction d'arbre étant ensuite appliquée à chacun des ré échantillonnages bootstrap ( Morrison, 2014).

le principe est basé sur le calcul des valeurs d'amorçage, indiquant combien de fois sur (100, 500 ou 1000) la même branche a été observée lors de la répétition de la reconstruction phylogénétique sur un ensemble ré échantillonné des données.

#### **3. 4. 1. Types de Bootstrap**

- La technique originale est le **bootstrap percentile** qui repose sur le principe de l'utilisation du nombre minimum d'hypothèses ad hoc (Efron 1979).

- la 2<sup>ème</sup> technique consiste en l'**estimation du bootstrap corrigé et accéléré** (B C A).

Cette méthode est beaucoup plus lente à calculer que le bootstrap de centile simple, car elle nécessite l'estimation d'un paramètre supplémentaire pour chacune des corrections de biais et d'asymétrie mais cette technique est celui habituellement recommandé pour une utilisation pour les études phylogénétiques car il corrige à la fois le biais et l'asymétrie (Carpenter et Bithell, 2000).

## II. Matériels et Méthodes

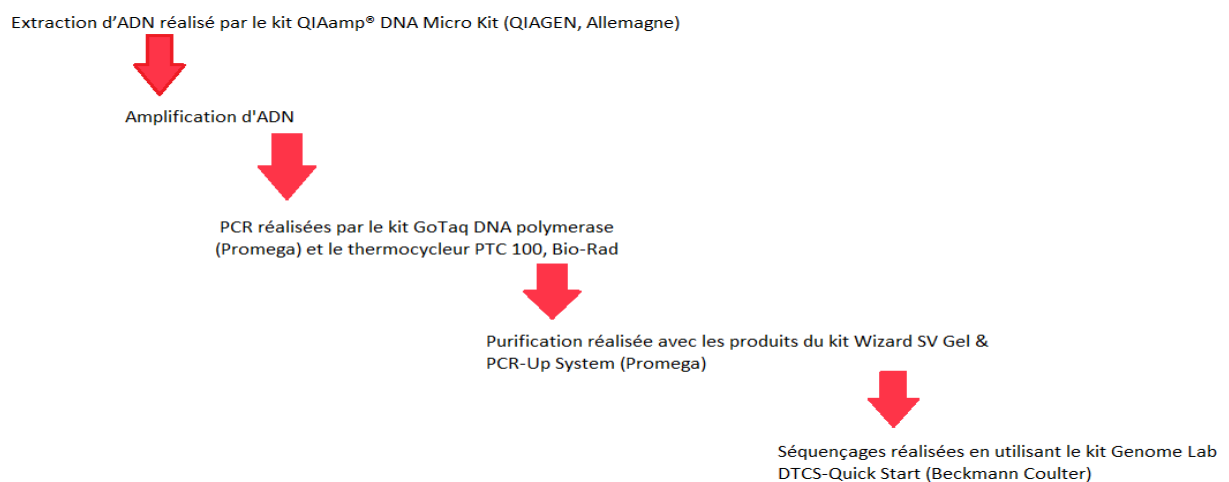
Notre étude a été réalisée au sein de l'université Saad Dahleb, Blida 1, à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, au département BPC, durant la période s'étendant de mars à juin 2021. L'étude a consisté en une analyse phylogénétique de séquences nucléotidiques obtenues à partir de larves de cestodes parasites du calmar *Loligo vulgaris*.

## 1. Matériels

### 1. 1. Matériels biologiques

L'étude a consisté en une analyse phylogénétique de séquences nucléotidiques obtenues à partir de 5 larves pléroceroïdes de cestodes parasites du calmar *Loligo vulgaris*. Les cestodes ont été récoltés dans le tube digestif du calmar *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798. Ce dernier a été prélevé au cours d'opérations de pêche effectuées sur le littoral Algérois.

Le prélèvement des pléroceroïdes, l'extraction de l'ADN, l'amplification du domaine D1-D3 de l'ADNr 28s par PCR et le séquençage, ont été réalisés dans une étude précédente menée dans le cadre d'un projet de recherche PNR (projet national de recherche) ayant pour objet l'étude des parasites des organismes marins des côtes algériennes. Les séquences obtenues nous ont été fournies pour la réalisation de la présente étude (Benyahia, communication personnelle). Le protocole expérimental suivi pour l'obtention des séquences nucléotidiques est résumé dans la **figure 10**.



**Figure 10.** Diagramme représentant le protocole expérimental de l'analyse moléculaire

Les séquences générées par l'analyse moléculaire du domaine D1-D3 de l'ADNr 28s chez chacune des 5 larves de cestodes sont strictement identiques entre elles (aucune variabilité génétique) et ont une taille de 1270 pb (Benyahia, communication personnelle). Par conséquent, seule une séquence, notée LV et représentant les 5 larves, a été utilisée dans notre présente analyse.



## **1. 2. Matériels non biologiques**

### **3. 2. 1. Logiciels d'analyse phylogénétique**

-Le programme BLASTn (McGinnis et Madden, 2004)

-Le logiciel Clustal W

-Le logiciel MEGA X (Tamura et al., 2021)

## **4. Méthodes**

### **2. 1. Échantillonnage**

Les calmars ont été capturés au cours d'opération de pêche sur le littoral algérois, les échantillons ont été traités à l'état frais.

-Exploration des échantillons :

Une incision est pratiquée le long du manteau de chaque calmar, le tube digestif est extrait et déposé sur une boîte de Petri remplie d'eau de mer. Le tractus digestif est ensuite extrait et séparé en ses différents compartiments, œsophage, estomac, caecum, sac caecal et intestin, chaque partie placée dans une boîte Petri différente remplie d'eau de mer. Les organes sont ouverts et minutieusement explorés sous la loupe binoculaire afin de repérer et récolter les parasites.

Les larves de cestodes sont récoltées à l'aide d'une pipette à partir de l'organe où elles ont été retrouvées, puis directement placées dans des flacons contenant de l'alcool à 95 et portant les références de l'échantillon

### **2.2. Analyse moléculaire**

-Extraction d'ADN :

L'extraction de l'ADN génomique à partir d'un échantillon de 5 cestodes conservés dans l'éthanol 95% a été réalisée par le kit QIAamp® DNA Micro Kit (QIAGEN, Allemagne) suivant les instructions du fabricant.

- Amplification de l'ADN :

La région D1-D3 (1270 nucléotides) de l'ADNr 28S a été amplifiée par les amorces LSU5 et 1200R (**Tableau 1**), cette région considérée opérante pour les identifications taxonomiques et études phylogénétiques chez les Tetraphyllidea (Brickle *et al.*, 2001).

Les PCR ont été réalisées par le kit GoTaq DNA polymerase (Promega) et le thermocycleur PTC 100, Bio-Rad. Les conditions sont les suivantes :

-2min 30s de dénaturation à 96°C ; 40 cycles de 30s à 96°C, 20 s à 62°C et 40s à 72°C suivi par une étape de polymérisation à 72°C pendant 90s

La séparation des produits de la PCR a été faite sur gel d'agarose à 1.5%. L'estimation de la concentration d'ADN a été faite grâce au marqueur de taille 100 pb DNA ladder (Promega). La purification des produits de la PCR a été réalisée avec les produits du kit Wizard SV Gel & PCR-Up System (Promega) suivant les instructions du fabricant.

Les réactions des séquences ont été réalisées en utilisant le kit Genome Lab DTCS-Quick Start (Beckmann Coulter), en utilisant les mêmes amorces LSU5 et 1200R, plus les amorces internes ECD2 et 300F (**Tableau1**) pour amplifier la partie centrale de la région D1-D3 couvrant la région variable D2

**Tableau 1.** Amorces utilisées pour la PCR

Amorces	Séquence 5'-3'	Direction
LSU5	5'TAGGTCGACCCGCTGAATTTAAGC-3`	Forward
1200R	5`GCATAGTTCACCATCTTTCGG-3`	Reverse
ECD2	5`-CAAGTACCGTGAGGGAAAGTT-3`	Forward
300F	5`-CTTGGTCCGTGTTTCAAGACGGG-3`	Reverse

La technique du Dye terminator a été utilisée pour obtenir les séquences, c'est une adaptation de la technique de Sanger à l'aide d'un séquenceur automatique Cep 8000 (Beckman coulter).

L'assemblage et la correction des séquences ont été réalisés à l'aide du logiciel Sequencher 4.5 TM (Gene Codes corp., Ann Arbor, MI, Etats-Unis), les régions sans chevauchements situés en amont et en aval de la séquence ont été retirées avant l'analyse.

### 2.3. Analyse phylogénétique

- Le programme BLASTn (McGinnis et Madden, 2004)

Il a été utilisé pour comparer les séquences obtenues avec celles enregistrées sur la base de données du **NCBI (National Center for Biotechnology Information)**.

**- Logiciel Clustal W**

Ce logiciel a été utilisé pour l'alignement des séquences générées par l'analyse moléculaire avec des séquences appartenant à des cestodes principalement adultes enregistrés dans GenBank.

**- Logiciel MEGA X (Tamura et al., 2021)**

Utilisé pour l'analyse phylogénétique, la construction de l'arbre phylogénétique a été réalisée en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance (maximum likelihood )

L'alignement a consisté en 39 séquences :

- 1 séquence générée à partir des 5 larves pléroceroïdes de notre étude,
- 38 séquences de cestodes principalement adultes (tableau 2) disponibles dans GenBank dont 2 séquences appartenant au groupe externe (Onchoproteocephallidea), *Acanthobothrium romanowi* isolate CF-123 (FJ843599) et *Acanthobothrium hypermekkolpos* isolate CF33 (HQ917929).

**- Le maximum likelihood**

C'est le modèle d'analyse phylogénétique choisi pour l'analyse des séquences de notre étude.

**- Le bootstrap :**

Utilisé pour évaluer la robustesse de l'arbre phylogénétique construit à partir des séquences de notre analyse. Le nombre de répliqués a été de 500.

# III. Résultats

## 1. Résultats de BLASTn

La recherche sur GenBank, à partir du BLASTn, a fait ressortir des séquences nucléotidiques partageant divers degrés de similitudes avec notre séquence. Nous avons sélectionné 38 séquences (**Tableau 2**) que nous avons intégré à notre analyse phylogénétique.

**Tableau 2.** Liste des taxa obtenus de GenBank inclus dans l'analyse phylogénétique

	<b>Ordre</b>	<b>Hôte</b>	<b>Pays</b>	<b>No. d'accès GenBank</b>
<i>Anthobothrium</i> sp.16/06b	<b>Tet</b>	<i>Octopus vulgaris</i>	Italy: Tyrrhenian sea	MN660290.1
<i>Anthobothrium</i> sp.MS05-34-21	<b>Tet</b>	<i>Trichiuruslepturus</i>	USA: northern Gulf of Mexico	GQ470162
<i>Anthobothrium</i> sp.1C KJ-2010 voucher MS05-396-1	<b>Tet</b>	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i>	USA: northern Gulf of Mexico	GQ470161
<i>Anthobothrium</i> sp.MS05-78-1	<b>Tet</b>	<i>Ariopsis felis</i>	USA: northern Gulf of Mexico	GQ470164
<i>Anthobothrium</i> sp. MS05-36-1	<b>Tet</b>	<i>Trichiurus lepturus</i>	USA: northern Gulf of Mexico	GQ470168.1
<i>Anthobothrium</i> sp.1B KJ-2010 voucher MS05-435-2	<b>Tet</b>	<i>Carcharhinuslimbatus</i>	USA: northern Gulf of Mexico	GQ470166.1
<i>Anthobothrium</i> sp.MS05-34-17	<b>Tet</b>	<i>Trichiuruslepturus</i>	USA: northern Gulf of Mexico	GQ470167.1
<i>Anthobothrium</i> sp. MS05-34-6	<b>Tet</b>	<i>Trichiurus lepturus</i>	USA: northern Gulf of Mexico	GQ470170.1

**Tableau 2(suite).** Liste des taxa obtenus de GenBank inclus dans l'analyse phylogénétique

<i>Anthobothrium</i> sp.1B KJ-2010 voucher MS05- 435-1	<b>Tet</b>	<i>Carcharhinuslimbatus</i>	USA: northern Gulf ofMexico	GQ470165.1
<i>Anthobothrium</i> <i>caseyi</i> isolate TE-100	<b>Tet</b>	<i>Prionace glauca</i>	USA: Montauk, New York	<a href="#">KF685879</a>
<i>Anthobothrium</i> sp.n. 1 AW-2013 isolate TE-119	<b>Tet</b>	<i>Carcharhinustilstoni</i>	Australia: WesselIslands, Northern Territory	KF685752.1
<i>Pelichnibothrium</i> <i>speciosum</i>	<b>Phy</b>	<i>Prionace glauca</i>	Japan: Kochi, off Tosashimizu	LC195128.1
<i>Clistobothrium</i> <i>montaukensis</i>	<b>Phy</b>	<i>Isurus oxyrinchus</i>	USA: Montauk, New York	EF095259
<i>Thysanocephalum</i> sp. OLBM1	<b>Phy</b>	<i>Galeocerdo cuvier</i>	USA	AF286963
<i>Orectolobicestus</i> <i>randyi</i> isolate TE-105	<b>Phy</b>	<i>Chiloscylliumhasseltii</i>	Borneo: Mukah, Sarawak	KF685767
<i>Clistobothrium</i> <i>montaukensis</i>	<b>Phy</b>	<i>Isurus oxyrinchus</i>	Japan: Tokyo, off OgasawaraIslands	LC195134.1
<i>Orectolobicestus tyleri</i> isolate TE- 101	<b>Phy</b>	<i>Chiloscyllium</i> <i>punctatum</i>	Borneo: Mukah, Sarawak	KF685890
Tetraphyllidea sp.1 NB- 2015	<b>Tet</b>	<i>Illex coindetii</i>	Mediterranean Sea(Algerian coast)	KT148970.1
<i>Paraorygmatobothrium</i> <i>prionacis</i> isolate TE-49	<b>Phy</b>	<i>Prionace glauca</i>	USA: Montauk, New York	KF685892

<i>Clistobothrium montaukensis</i>	<b>Phy</b>	<i>Isurus oxyrinchus</i>	USA	AF286957.1
<i>Nandocestus guariticus</i> isolate TE-34A	<b>Phy</b>	<i>Paratrygon aiereba</i>	Peru: Mouth of Rio Shilve, Madre de Dios	KF685888
<i>Marsupiobothrium</i> sp. 1 AW-2013 isolate TE-145	<b>Phy</b>	<i>Alopias pelagicus</i>	Mexico: Santa Rosalia, Baja California Sur	KF685771
<i>Scyphophyllidium</i> cf. <i>giganteum</i> AW-2013 isolate TE-170	<b>Phy</b>	<i>Galeorhinus galeus</i>	New Zealand: Chatham Rise	<a href="#">KF685901</a>
<i>Paraorygmatobothrium exiguum</i> isolate TE-98	<b>Phy</b>	<i>Alopias vulpinus</i>	USA: Montauk, New York	KF685769.1
<i>Clistobothrium tumidum</i> isolate LN-15-1v	<b>Phy</b>	<i>Carcharodon carcharias</i>	USA: Cape May, New Jersey, Atlantic Ocean	MT732143.1
<i>Ruhnkecestus latipi</i> isolate TE-167	<b>Phy</b>	<i>Scoliodon macrorhynchus</i>	Borneo: Mukah, Sarawak	KF685900
<i>Myzocephalus</i> sp. 1 AW-2013 isolate TE-27A	<b>Tet</b>	<i>Aetobatus ocellatus</i>	Australia: Darwin, Northern Territory	KF685887
Phyllobothriidea gen n. sp. 2 HR-2018	<b>Phy</b>	<i>Bathyraja brachyurops</i>	Atlantic Ocean: Falkland Islands	MH688717.1
<i>Rhoptrobothrium</i> cf. <i>gambangii</i> AW-	<b>Tet</b>	<i>Stegostoma fasciatum</i>	Borneo: Mukah, Sarawak	KF685774

2013 isolate TE-146				
Phyllobothriidea gen n. sp. 3 HR-2018	<b>Phy</b>	<i>Psammobatis sp.</i> 3	Atlantic Ocean: Falkland Islands	MH688722.1
<i>Phyllobothrium</i> <i>piriei</i>	<b>Phy</b>	<i>Leucoraja naevus</i>	North Sea	MH688721.1
<i>Phyllobothrium</i> <i>squali</i> isolate TE-180	<b>Phy</b>	<i>Squalus acanthias</i>	USA: Rhode Island	KF685897
<i>Hemipristicola</i> <i>gunterae</i> isolate HE167D	<b>Phy</b>	<i>Hemipristis</i> <i>elongata</i>	Australia	HQ680623
<i>Alexandercestus</i> <i>gibsoni</i>	<b>Phy</b>	<i>Negaprion</i> <i>acutidens</i>	Australia: Buffalo Creek, Timor Sea, Northern Territory, Australia	KC505623
<i>Ceratobothrium</i> <i>xanthocephalum</i> isolate TE-7	<b>Phy</b>	<i>Isurus oxyrinchus</i>	USA: Montauk, New York	KF685756
<i>Clistobothrium</i> sp. JH-2016	<b>Phy</b>	<i>Arctocephalus</i> <i>pusillus pusillus</i>	Germany: zoo, original wild caught South Africa	KU724058.2
<i>Acanthobothrium</i> <i>romanowi</i> isolate CF-123	<b>Ocp</b>	<i>Himantura sp.</i>	Australia	FJ843599
<i>Acanthobothrium</i> <i>hypermekkolpos</i> isolate CF33	<b>Ocp</b>	<i>Rhynchobatus</i> <i>laevis</i>	Australia	HQ917929

**Tet:** Tetrphyllidea. **Phy:** Phyllobothriidea, **Ocp :** Onchoproteocephalidea



Les séquences présentant les plus grandes similitudes génétiques, avec plus de 90% d'identité génétique, correspondent toutes au même taxon, le cestode correspondant au genre *Anthobothrium* sp. Van Beneden 1850, appartenant à l'ordre des Tetraphyllidea.

La séquence partageant la plus grande homologie génétique appartient à un stade larvaire plérocercóide du cestode *Anthobothrium* sp. 16/06b (numéro d'accès Genbank : MN 660290) provenant d'un céphalopode octopode, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, pêché dans les eaux italiennes de la Mer Tyrrhénienne. Sur un recouvrement de 99% du segment D1-D3 de l'ADNr 28s, il y a une identité génétique de 98,58 %, avec 18 mutations dont 1 gap, 14 transitions et 3 transversions. Le **Tableau 3** indique les positions et le type de mutation sur la séquence d'ADN.

**Tableau 3.** Mutations observées entre la séquence Plérocercóide LV et *Anthobothrium* sp. 16/06b avec indication de leurs positions

Mutation	Position sur la séquence	Type de mutation
G / A	33	Transition
A / G	45	Transition
T / C	297	Transition
G / A	307	Transition
A / G	375	Transition
G / A	391	Transition
T / A	461	<b>Transversion</b>
G / A	497	Transition
T / C	500	Transition
A / -	552	<b>Gap</b>
G / A	586	Transition
T / A	587	<b>Transversion</b>
T / G	590	<b>Transversion</b>
T / C	593	Transition
G / A	598	Transition
G / A	604	Transition
A / G	676	Transition
C / T	794	Transition

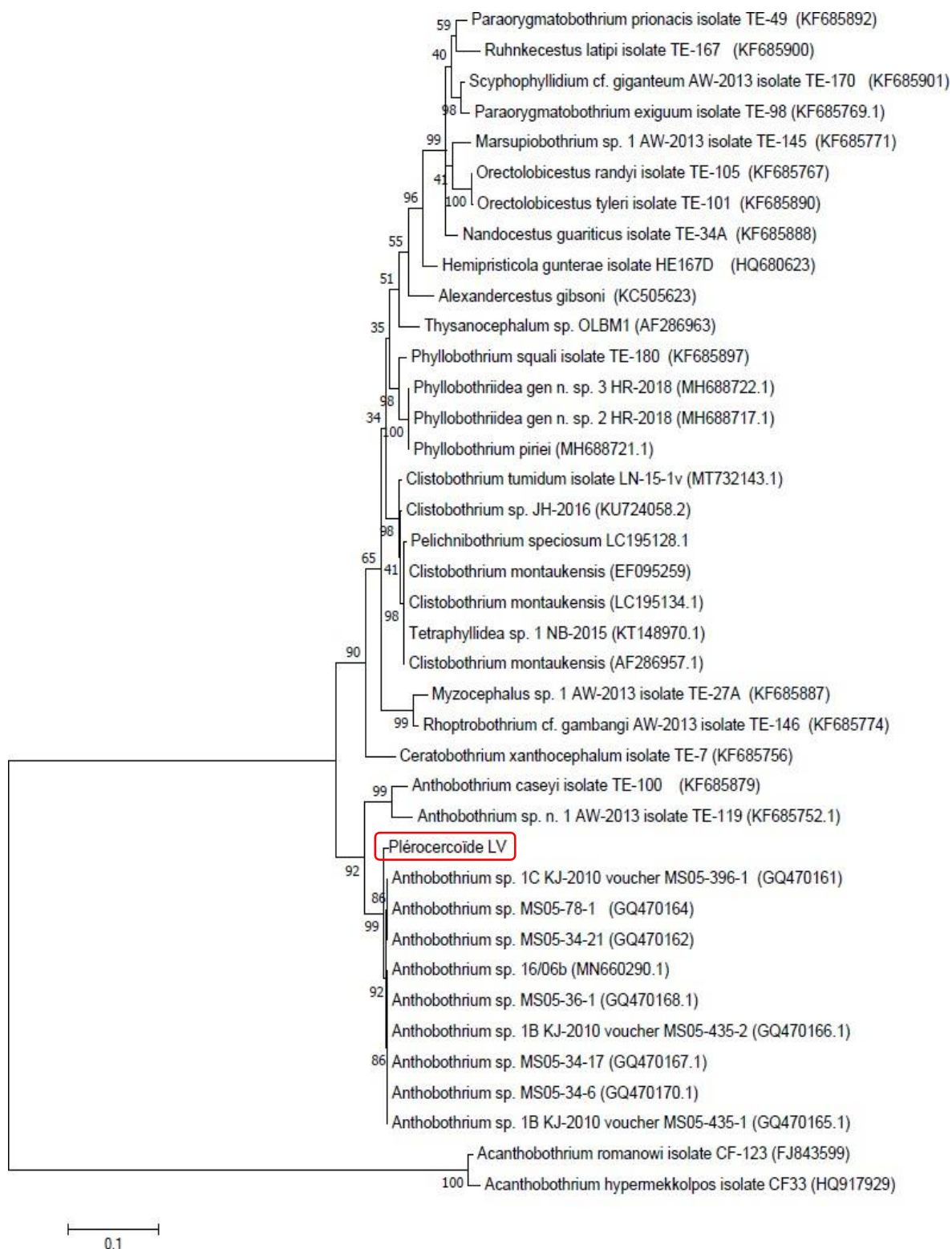
Une autre séquence a montré 1 affinité de 98,86%, mais sur 1 recouvrement de 97% du domaine D1-D3 de l'ADNr 28s. Elle correspond à une larve plerocercóide du cestode *Anthobothrium* sp. MS 05.34.21 (numéro d'accès Genbank : GQ 470162) récolté chez le poisson sabre *Trichiurus lepturus* Linnaeus, 1758 au nord du golfe du Mexique dans les eaux atlantiques des USA.

## 2. Reconstruction de l'arbre phylogénétique

L'analyse phylogénétique réalisée à partir de 39 séquences de l'ADN ribosomal (segment D1-D3 de la grosse sous-unité ribosomale) dont 38 obtenues dans GenBank (**Tableau2**) a généré un arbre phylogénétique reconstituant les relations entre différents taxons (**Figure11**). La taille du segment analysé est de 1348 nucléotides dont 824 positions informatives.

La séquence de 1270 pb, partagée par les cinq larves, correspond au groupe désigné « Plerocercóide LV ». Elle constitue un clade à part, dont le clade frère est constitué uniquement de séquences correspondant au genre *Anthobothrium* sp. avec qui elle partage plus de 98 % d'identité génétique, à l'exception de la séquence *Anthobothrium* sp. 05-34-6 (GQ470167.1) (**Figure 11**). Avec cette dernière le recouvrement n'est que de 95% ce qui explique la similitude génétique.

Un autre clade, constituant un clade frère des 2 précédents, ne comprend que 2 séquences provenant d'individus adultes, correspondant pour l'un à *Anthobothrium* sp, (*Anthobothrium* sp. n .1 AW-2013 isolate TE-119) obtenu à partir du requin *Carcharhinus tilstoni* (Whitley, 1950) et l'autre à *Anthobothrium caseyi* (KF685879) dont la séquence provient d'un cestode adulte prélevé chez le requin *Prionace glauca* Linnaeus, 1758.



**Figure 11.** Arbre phylogénétique construit à partir d'un modèle de Maximum Likelihood reconstituant les relations phylogénétiques entre les larves plérocercoides récoltées chez *Loligo vulgaris* et 38 cestodes adultes Tetraphylliidea et Phyllobothriidea. Les supports au niveau des nœuds représentent le bootstrap.

### 3. Identification de la larve pléroceroïde LV

Le bootstrap de 99% montre la robustesse de la configuration de l'arbre phylogénétique reconstitué par notre analyse. Il semble bien confirmer que l'analyse moléculaire et phylogénétique indique que les séquences de notre étude, obtenues à partir de larves de cestodes récoltées chez *L. vulgaris*, appartiennent au genre *Anthobothrium*.

Les séquences de notre analyse appartiennent à des larves congénériques du cestode *Anthobothrium* sp., mais dont l'espèce reste encore indéterminée à ce stade de développement

## IV. Discussion

La compréhension de la diversité et des cycles de vie des cestodes parasites des élasmobranches est souvent problématique, du fait de la difficulté de l'identification morphologique des larves chez les hôtes intermédiaires. Le manque d'informations valides et utiles pour la reconnaissance des larves de cestodes dans la littérature, la difficulté à mener des études expérimentales sur les cycles de vie dans le milieu marin qui est un environnement ouvert, empêchent l'accès à une bonne connaissance des hôtes intermédiaires des cestodes marins. Par conséquent, à ce jour aucun cycle de vie de cestodes en milieu marin n'est complètement connu (Rohde, 2005; Randhawa, 2011).

Chez les cestodes appartenant à l'ordre des Tetrphyllidea, l'identification est d'autant plus difficile que le scolex des larves reste très peu différencié. Ce n'est que lorsque ces dernières atteignent le stade adulte chez leur hôte définitif, qu'elles acquièrent toutes leurs caractéristiques morphologiques, qui sont à la base de la taxonomie des cestodes (Euzet, 1994). C'est pourquoi l'utilisation de la biologie moléculaire et de la phylogénie moléculaire est indispensable pour clarifier l'appartenance taxonomique des larves (Jensen et Bullard, 2010).

Les études phylogénétiques sont basées sur l'analyse de la sous-unité 28s de l'ADNr, qui présente une variabilité génétique suffisante pour permettre une discrimination entre taxons différents (Olson *et al.*, 2001). Le domaine D1-D3 de l'ADNr 28s est privilégié dans les analyses phylogénétiques des cestodes (Littlewood *et al.*, 2000).

Les larves pléroceroïdes récoltées chez le calmar *Loligo vulgaris* capturé dans les eaux algériennes et étudiées dans le travail présent, appartiennent au genre *Anthobothrium* sp., correspondent au clade 2 de l'ordre des Tetrphyllidea (Caira *et al.*, 2017).

Cet ordre est en cours de démantèlement du fait de sa monophylie. En effet, les précédentes analyses phylogénétiques ont montré que plusieurs genres présentaient des positions dans l'arbre phylogénétique qui les rapprochaient d'autres ordres, notamment les Proteocephalidea ou les Cyclophyllidea (Olson *et al.*, 2001; Waeschenbach *et al.*, 2007). Les différentes analyses moléculaires opérés sur les Tetrphyllidea ces dernières années ont permis de mettre en évidence des clades plus homogènes, donnant naissance à de nouveaux ordres tels les Rhinebothriidea (Healy *et al.*, 2009), les Phyllobothriidea et les Onchoproteocephaliidea (Caira, *et al.*, 2014).

L'identification des larves dans notre cas, reste assignée au genre *Anthobothrium* sp., mais l'espèce n'a pu être précisée. Cela peut être expliqué par deux hypothèses :

- soit l'espèce est connue et validée taxonomiquement mais aucune analyse moléculaire n'a été réalisée et par conséquent il n'y a pas de séquences nucléotidiques archivées dans les banques de données moléculaires,

- ou alors il se pourrait que l'espèce soit nouvelle pour la science et dans ce cas il faudrait que l'adulte correspondant soit d'abord décrit morphologiquement puis séquencé afin d'enrichir les banques de données moléculaires.

Ce dernier point met en évidence la principale contrainte rencontrée lorsqu'il s'agit d'identifier les larves de cestodes. En effet, la pauvreté des banques de données en séquences de cestodes ne permet pas d'avoir des BLAST suffisants pour faire correspondre des séquences d'adultes et de larves. Il y a environ un peu plus de 1200 espèces de cestodes parasites d'élaémobranches identifiés et décrits, mais il est considéré qu'ils en hébergeraient potentiellement plus de 2400. Sur le plan moléculaire, seuls moins de 200 espèces ont été séquencées et inscrites dans les banques génétiques (Caira, 2011). C'est pourquoi, il y a une augmentation récente des analyses moléculaires des cestodes afin de pourvoir en séquences les banques de données génétiques.

Peu de travaux parasitologiques ont été réalisés chez les céphalopodes qui constituent pourtant des prises commerciales très importantes dans les pêcheries mondiales et interviennent comme hôtes intermédiaires ou paraténiques dans le cycle évolutif des cestodes.

Dans le cas de la famille des calmars *Loliginidae* à laquelle appartient *Loligo vulgaris*, Brickle *et al* (2001) est l'auteur d'une étude sur les cestodes récoltés chez le calmar *Doryteutis gahi* (D'Orbigny, 1835) (anciennement nommé *Loligo gahi*) dans les îles Falklands de l'atlantique sud. Cette investigation est d'autant plus intéressante qu'elle constitue la première enquête utilisant l'outil moléculaire. En effet, les chercheurs ont utilisé le marqueur moléculaire du domaine D2 de la sous-unité 28s de l'ADNr pour l'identification des larves récoltées chez le calmar. Ils ont montré qu'elles appartenaient à deux genres, *Clistobothrium montaukensis* Ruhnke, 1993 et *Ceratobothrium xanthocephalum* Monticelli, 1892. Cependant, la trop grande divergence génétique observée avec les séquences analysées, rend les résultats concernant le deuxième genre moins évidents et peu probables.

Guardone *et al.* (2020) a consacré une autre étude chez un calmar *Loliginidae* sur les larves de cestodes trouvées chez *Doryteutis pealeii* Lesueur, 1821, basée sur le marqueur moléculaire du domaine D2 de la sous-unité 28s de l'ADNr et la sous-unité I du Cytochrome c Oxydase. Les larves étudiées semblent appartenir au genre *Clistobothrium* mais dont ils n'ont pu déterminer l'espèce. Ce résultat se rapproche de nos résultats d'où il ressort que

l'identification au rang taxonomique de l'espèce reste compliquée, pour les raisons que nous avons présentées plus haut.

Ce qui distingue l'identification taxonomique de nos larves de celles des deux auteurs précédents, pourrait s'expliquer par la différence du régime alimentaire de *Loligo vulgaris*, *Doryteutis gahi* et *Doryteutis pealeii* qui évoluent dans des régions géographiques séparées. *Loligo vulgaris* évolue dans les eaux du Nord-est de l'atlantique et de la Méditerranée (Jereb *et al.*, 2015) sous un climat plus tempéré, tandis que *Doryteutis gahi* se trouve au large des îles Falkland au sud-ouest de l'Atlantique (Brickel *et al.*, 2001) dans des eaux froides. *Doryteutis pealeii* vit dans la partie ouest de l'Atlantique, sur la côte est des USA et s'étend jusqu'aux côtes du Venezuela (Guardone *et al.*, 2020) supportant des écarts de température s'étendant entre 9 et 30 degré Celsius. La transmission des cestodes se faisant à travers la chaîne alimentaire pour accomplir leur cycle de vie (Rohde, 2005), des hôtes intermédiaires différents et des conditions écologiques et environnementales distinctes peuvent influencer la biodiversité des cestodes de la parasitofaune.

En Méditerranée, Tedesco *et al.* (2020) ont travaillé sur les cestodes prélevés dans le tractus digestif du céphalopode *Octopus vulgaris* (poulpe) capturé dans la mer Tyrrhénienne, au large des côtes italiennes. Ils ont mené une recherche moléculaire et phylogénétique reposant sur l'examen du domaine D1-D3 de la sous-unité 28s de l'ADNr. Tout comme dans notre cas, ils n'ont récolté que des larves plérocercoides de cestodes dont l'identification moléculaire a révélé la présence de trois genres appartenant à trois ordres :

- *Acanthobothrium sp.*, appartenant à l'ordre des Oncoproteocephalidea,
- *Nybelinia sp.*, membre de l'ordre des Trypanorhyncha
- et le Tetrphyllidea *Anthobothrium sp.*

Ce dernier partage une identité génétique de 98.58% avec nos larves plerocercoides sur un recouvrement de 99%. Cela pourrait indiquer que ces deux larves soient conspécifiques.

A la lumière des résultats de notre analyse phylogénétique, il nous est apparu qu'il y avait une possibilité d'en tirer bénéfice dans l'élucidation du cycle de vie probable du cestode *Anthobothrium*. En effet, en raison de la complexité des cycles évolutifs en milieu marin nécessitant plusieurs hôtes intermédiaires pour compléter tout le cycle, les techniques de biologie moléculaire sont une réponse à la résolution de ce point encore largement indéterminé (Randhawa *et al.*, 2011; Caira *et al.*, 2014).



*Loligo vulgaris* et *Octopus vulgaris* soient respectivement des céphalopodes Décapodiformes au mode de vie semi-pélagique (Jereb *et al.*, 2015) et Octopodiformes vivant sur des fonds rocheux et parfois sableux ((Jereb *et al.*, 2015), cependant, ils peuvent partager la même niche écologique épisodiquement. En effet, le calmar peut s'approcher des côtes pour se nourrir ou se reproduire et donc se retrouver partageant un même assemblage sur des fonds de moins de 50 mètres, avec le poulpe ou la seiche, comme cela a été rapporté sur les côtes tyrrhéniennes (Sánchez *et al.*, 1998a in Jereb *et al.*, 2015).

*Loligo vulgaris* est une espèce carnassière très agressive pouvant s'alimenter de toute proies se trouvant dans son voisinage, poissons, mollusques et crustacés; *Octopus vulgaris* a également la même gamme de proies mais pas forcément les mêmes espèces. Cependant, certaines espèces de proies sont partagées, par exemple les crustacés. Ces proies communes peuvent transporter des œufs ou des larves d'un même cestode. Ceci peut constituer une stratégie adoptée par ce parasite pour augmenter les chances de rencontre avec son hôte définitif en parasitant différents hôtes intermédiaires et /ou paraténiques.

Comme il été mentionné précédemment, il n'a pas été possible d'assigner une espèce en particulier au cestode identifiée dans cette étude. La raison essentielle de cette insuffisance est la pauvreté des banques de données moléculaires. Ainsi, parmi les 8 espèces valides d'*Anthobothrium* Van Beneden, 1850 (Caira *et al.*, 2017) qui ont pour hôtes définitifs des requins Carcharhinidae et Triakidae, seul le genre *Anthobothrium caseyi* Rhunke et Caira, 2009 (KF685879 ) a été séquencé et enregistré dans GenBank. Son hôte définitif est le requin bleu *Prionace glauca*, un requin Carcharhinidae que l'on retrouve dans les eaux algériennes (Refes *et al.*, 2010). Cependant, il n'a pas été retenu comme un candidat potentiel pour nos larves, dont la similitude génétique n'est que de 91.09% sur un recouvrement de 100%, ce qui laisse une trop grande divergence génétique.

Etant donné que les 7 autres espèces ne possèdent pas de séquences enregistrées dans les banques de données, nous avons émis des suppositions sur les identités éventuelles de nos larves en nous focalisant sur les critères suivants :

- L'espèce a été décrite en Méditerranée.
- L'hôte définitif est observé dans le bassin occidental de la Méditerranée, de préférence au voisinage des eaux algériennes.

Dans ce qui suit, des espèces ont été retenues pour proposer l'évolution de cycles de vie probables :

- *Anthobothrium cornucopia* van Beneden, 1850 et *Anthobothrium galeorhini* Suriano, 2002 pourraient correspondre aux larves de notre étude car elles partagent le même hôte définitif, le requin à grands ailerons *Galeorhinus galeus* Linnaeus, 1758, observé et régulièrement pêché dans les eaux algériennes (Hemida, 2005). Toutefois, *Anthobothrium cornucopia* Van Beneden, 1850 serait plus probable car l'espèce a déjà été décrite en Méditerranée par Euzet (1959). Une autre espèce plausible serait *Anthobothrium laciniatum* Linton, 1890, décrite également en Méditerranée par Euzet (1959) et qui a pour hôte *Carcharhinus obscurus* Lesueur, 1818, un signalé dans les eaux algérienne (Refes *et al.*, 2010). *Anthobothrium altavelae* Neifar, Euzet & Ben Hassine, 2002, décrite en Tunisie (Neifar, Euzet et Ben Hassine, 2002) est un candidat très probable qui pourrait correspondre à nos larves; cette espèce est particulière car parmi les 8 espèces valides c'est la seule qui a pour hôte définitif une raie *Gymnura altavela* Linnaeus, 1758, signalée en Algérie (Refes *et al.*, 2010). *Anthobothrium lyndoni* Rhunke et Caira, 2009 constitue une autre espèce probable puisque son hôte définitif, le requin *Carcharhinus plumbeus* a été signalé dans les eaux algériennes (Refes *et al.*, 2010).

A partir des 8 espèces valides représentant le genre *Anthobothrium* nous avons donc retenu 5 espèces potentielles (**Tableau 4**) qui pourraient correspondre à nos larves plerocercoides, les 3 espèces restantes n'ont pas été retenues car elles n'ont jamais été signalées, ni même leurs hôtes définitifs, en Méditerranée.

**Tableau 4.** Espèces potentielles correspondants à nos larves *Anthobothrium sp.*

Espèces probables	Hôte
<i>Anthobothrium cornucopia</i> van Beneden, 1850	<i>Galeorhinus galeus</i>
<i>Anthobothrium laciniatum</i> Linton, 1890	<i>Carcharhinus obscurus</i>
<i>Anthobothrium altavelae</i> Neifar, Euzet et Ben Hassine, 2002	<i>Gymnura altavela</i>
<i>Anthobothrium galeorhini</i> Suriano, 2002	<i>Galeorhinus galeus</i>
<i>Anthobothrium lyndoni</i> Rhunke et Caira, 2009	<i>Carcharhinus plumbeus</i>

A partir de nos hypothèses sur l'identité probable des larves de cestodes de notre étude, nous proposons la reconstruction partielle du cycle évolutif du cestode *Anthobothrium*, car certains hôtes intermédiaires ne sont toujours pas identifiés, tels les crustacés constituant les 1<sup>ers</sup> hôtes intermédiaires.

L'hôte définitif, dans notre exemple *Galeorinus galeus*, libère les œufs hexacanthés des cestodes avec les fèces (Klimpel *et al.*, 2019) qui par la suite sont ingérés par le 1<sup>er</sup> hôte intermédiaire, probablement un crustacé non encore identifié où ils se transforment en une larve procercoïde. Par la suite, le deuxième hôte intermédiaire, un poisson osseux (téléostéen), ingérera le crustacé et la larve procercoïde qui évoluera en une larve plérocercœide. Un troisième hôte, le céphalopode *Loligo vulgaris* joue un rôle d'hôte paraténique, c'est-à-dire un hôte d'attente pour la larve plérocercœide avant qu'elle ne puisse poursuivre son développement ontologique et atteindre son stade adulte dans l'intestin de son hôte définitif, le requin *Galeorinus galeus* (**Figure 12**).

Il est également possible qu'un autre cas de figure se pose, à savoir que *Loligo vulgaris* constitue un 2<sup>ème</sup> hôte intermédiaire à la place du poisson osseux et transmette la larve plérocercœide directement au requin après avoir été ingéré.

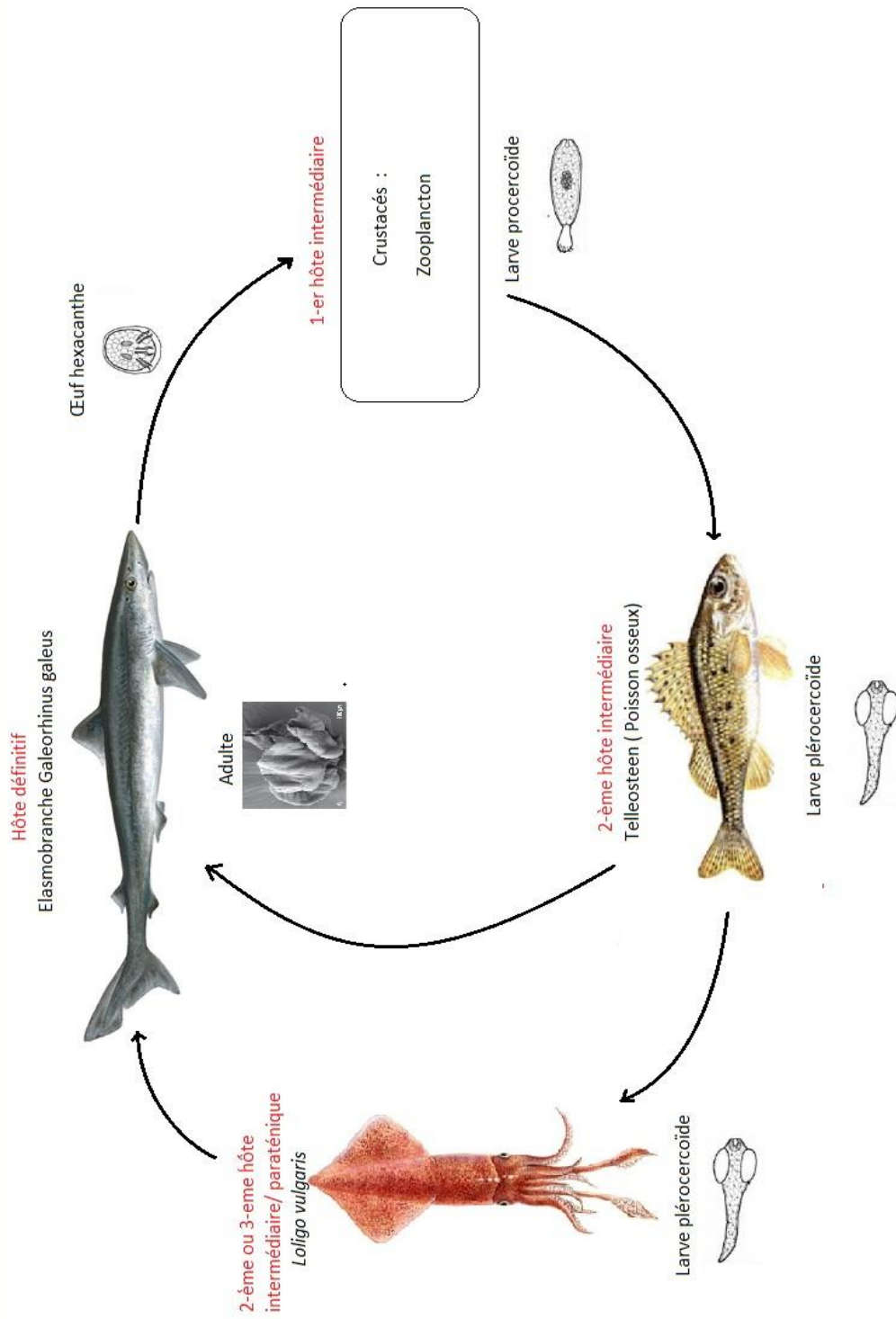


Figure .12: Proposition de cycle évolutif pour les larves plerocercoides *Anthobothrium cornucopia* et *Anthobothrium galeorhini*

Autre cycle probable (**Figure :13**) celui de *Anthobothrium laciniatum* suit le même exemple précédant appart que l'hôte définitif s'agit de *Carcharhinus obscurus*

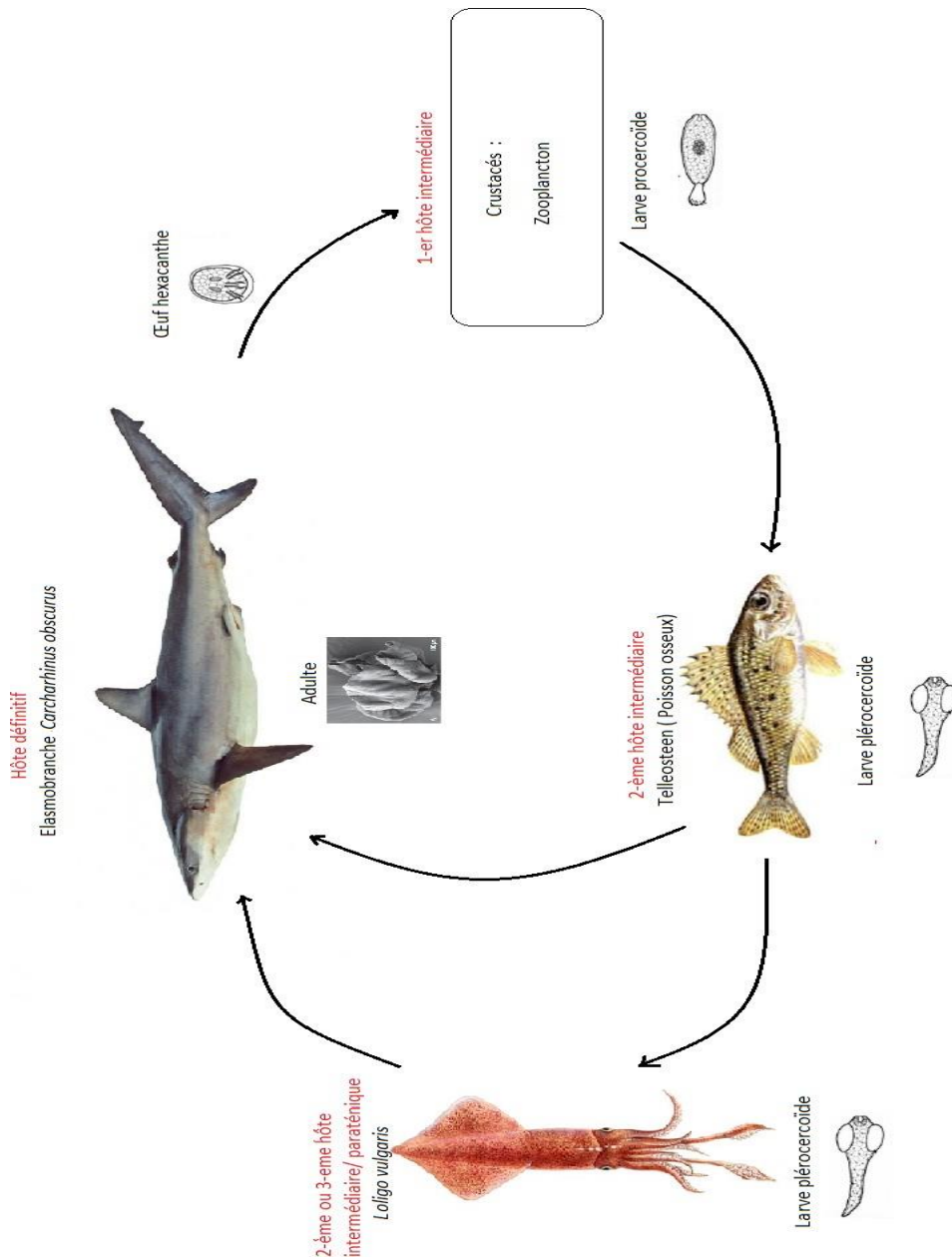
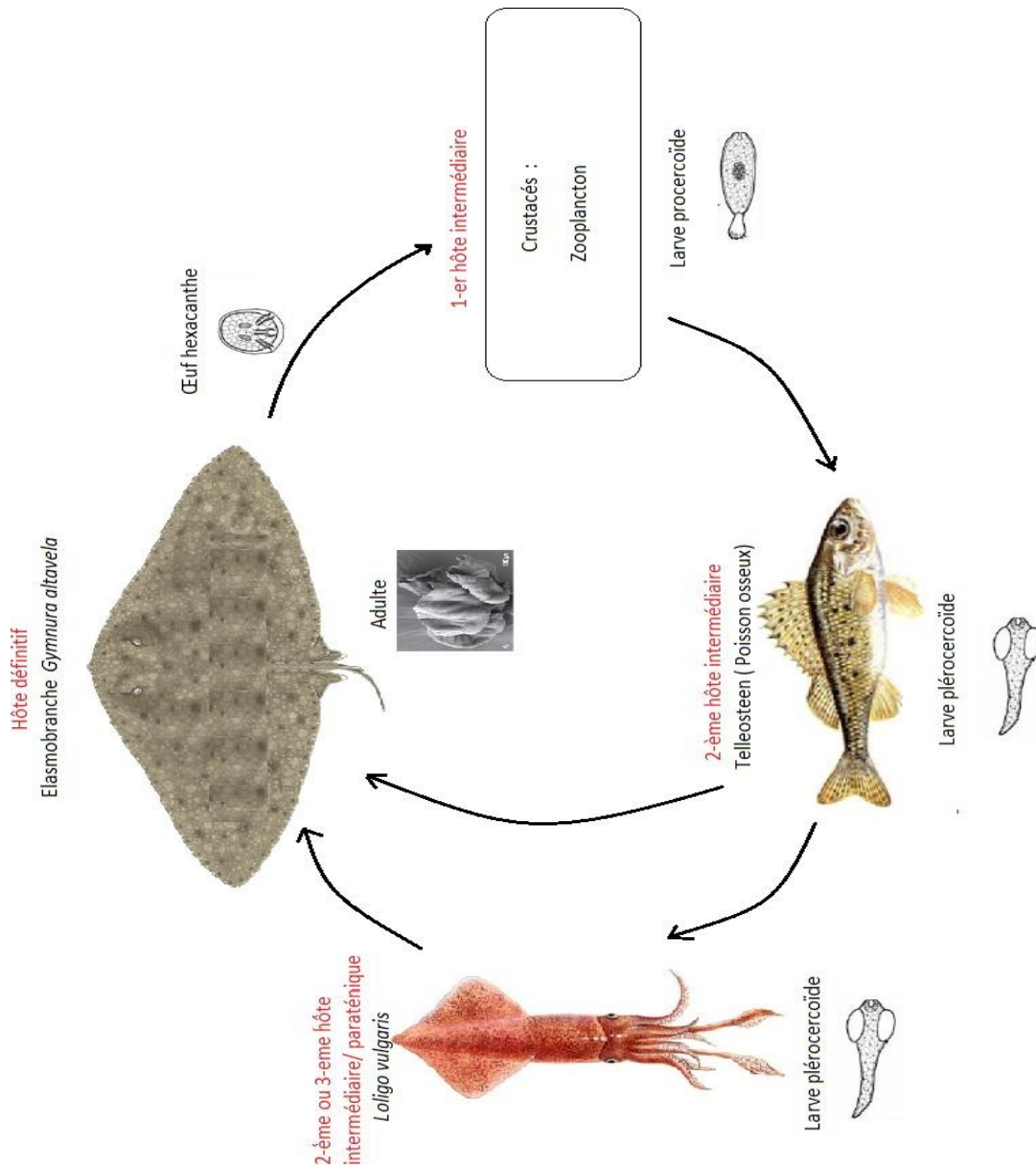


Figure 13 : cycle probable pour *Anthobothrium laciniatum* dans les eaux Algériennes

Un troisième cycle (**Figure: 14**) est proposé celui d' *Anthobothrium altavelae* hébergé chez *Gymnura altavela*



**Figure 14** : cycle probable pour *Anthobothrium altavelae* dans les eaux Algériennes

Le dernier cycle (**Figure :15**) propose est celui d' *Anthobothrium lyndoni* parasite de *Carcharhinus plumbeus*

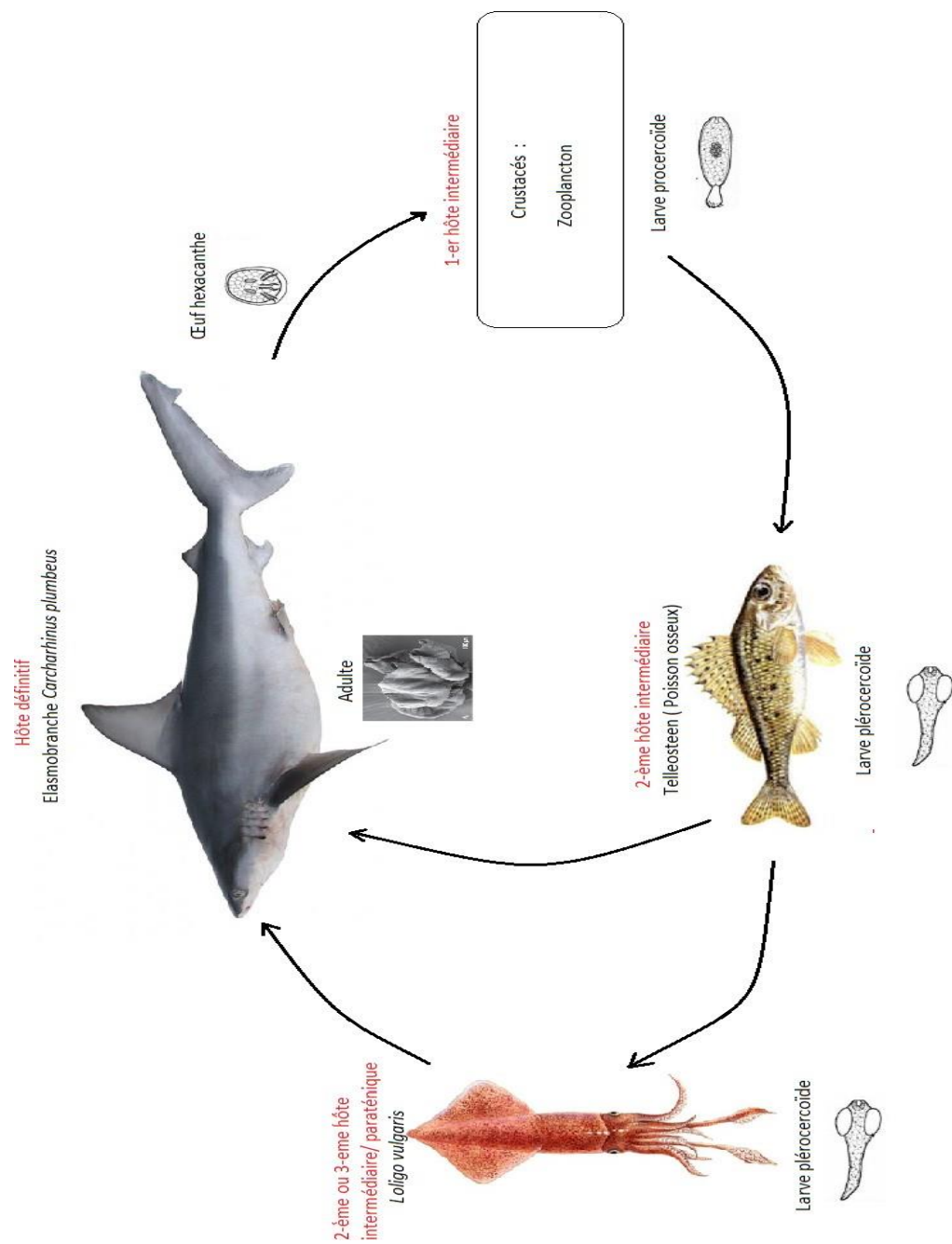


Figure 15 : cycle probable pour *Anthobothrium lyndoni* dans les eaux Algériennes

# V. Conclusion



Les résultats de cette étude moléculaire, informe sur la biodiversité des parasites cestodes du calmar *Loligo vulgaris* dans les eaux algériennes et en Méditerranée.

Ils suggèrent également que le calmar *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798, joue un rôle important dans la transmission des cestodes parasites des élasmobranches, en particulier le cestode *Anthobothrium* sp. appartenant à l'ordre des Tetraphyllidea.

La séquence générée par l'analyse du segment D1-D3 de la sous-unité 28s de l'ADNr obtenue chez 5 larves de cestode, a révélé qu'elle correspondait à un seul et même taxon identifié au niveau du genre, le cestode *Anthobothrium*. L'espèce n'a pu être précisée du fait de la pauvreté des banques de données moléculaires en séquences nucléotidiques exploitables.

Nous avons proposé 5 espèces probables pour notre séquence, en fondant notre raisonnement sur la présence ou non des espèces validées du genre *Anthobothrium* en Méditerranée et de leur hôte définitif correspondants:

- *Anthobothrium Anthobothrium cornucopia* van Beneden, 1850
- *Anthobothrium altavelae* Neifar, Euzet et Ben Hassine, 2002
- *Anthobothrium galeorhini* Suriano, 2002
- *Anthobothrium laciniatum* Linton, 1890
- *Anthobothrium lyndoni* Rhunke et Caira, 2009

Nos résultats nous ont permis de proposer un schéma partiel du cycle évolutif de *Anthobothrium*. *Loligo vulgaris* constituerait un 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> hôte intermédiaire ou un hôte paraténique. Ces informations contribuent à enrichir la détermination des cycles évolutifs des cestodes d'élasmobranches, encore largement inconnus.

L'analyse du segment D1-D3 de l'ADNr 28s a montré son importance dans la discrimination entre taxons distincts et la puissance de sa résolution pour faire correspondre les larves non identifiables morphologiquement à leur correspondant adulte.

Elle a également mis à jour les principales contraintes à la découverte de la biodiversité parasitaire en milieu marin, entre autres, mais également l'insuffisance des contenus en séquences nucléotidiques de cestodes dans les banques moléculaires. D'où l'importance d'augmenter les études et les échantillonnages des cestodes récoltés chez les élasmobranches et les céphalopodes afin d'enrichir les banques de données nucléotidiques et faciliter toutes les études en lien avec la recherche de la biodiversité, la taxonomie, l'écologie parasitaire, etc....

D'un point de vue sanitaire les cestodes des élasmobranches ne présentent pas de risques majeurs pour la sante publique, à notre connaissance, car ils sont hébergés dans le tractus digestif de leurs hôtes et sont généralement éliminés avec les déchets. Néanmoins, certains parasites constituent un véritable risque sanitaire pour la santé publique, tels les nématodes du genre *Anisakis* qui provoquent de graves lésions intestinales et sont soupçonnés de provoquer des cancers gastriques. L'identification de ces parasites repose sur une reconnaissance moléculaire précise.

Ceci montre l'importance d'une bonne maîtrise des techniques de biologie moléculaire qui doit être généralisée dans différents domaines de recherche.

## VI- Références

1. De Bruyn, A., Martin, D.P., Lefeuvre, P., 2014. Phylogenetic Reconstruction Methods: An Overview., Pascale Besse (ed.), Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1115.
2. Dollfus, R.-Ph., 1929. Addendum à mon «Énumération des cestodes du plancton et des invertébrés marins» In Jense, k. Bullard, S, A., 2010. Characterization of a diversity of tetraphyllidean and rhinebothriidean cestode larval types, with comments on host associations and life-cycles. Elsevier Ltd, International Journal for Parasitology 40 (2010) 889–910.
3. Dollfus, R.-Ph., 1964. Énumération des cestodes du plancton et des invertébrés marins (6e contribution). Annales de Parasitologie Humaine et Comparée 39, 329–379.
4. Euzet, L., 1956. RECHERCHES SUR LES CESTODES TETRAPHYLLIDES Vie et Milieu / Life & Environment, Observatoire Océanologique - Laboratoire Arago, 1952, 3 (4), pp.397-411
5. Farjallah, S., Ben Slimane, B., Busi, M., Paggi, N., Belel, H., Said, K., D'Amelio, S., 2008. Occurrence and molecular identification of Anisakis spp. from the North African coasts of Mediterranean Sea. Parasitol Res (2008) 102:371–379.
6. Felsenstein, J., 2004. Inferring phylogenies. Sinauer Associates, Sunderland.
7. Fitch, W.M., Margoliash, E., 1967. Construction of phylogenetic trees. Science 155:279–284, In: De Bruyn, A., Martin, D.P., Lefeuvre, P., 2014. Phylogenetic Reconstruction Methods: An Overview., Pascale Besse (ed.), Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1115.
8. Gascuel O (1997) BIONJ: an improved version of the NJ algorithm based on a simple model of sequence data. Mol Biol Evol 14: 685–695, In: De Bruyn, A., Martin, D.P., Lefeuvre, P., 2014. Phylogenetic Reconstruction Methods: An Overview., Pascale Besse (ed.), Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1115.
9. Guardone, L., Giusti, A., Bilska-Zajac, E., Malandra, R., Rózycki, M., Armani, A., 2020. Molecular Characterization of Clistobothrium sp. Viable Plerocercoids in Fresh Longfin Inshore Squid (*Doryteuthis pealeii*) and Implications for Cephalopod Inspection. Pathogens 2020, 9, 596.

10. Guerra, Á., and Rocha, F. 1994. The life history of *Loligo vulgaris* and *Loligo forbesi* (Cephalopoda: Loliginidae) in Galician waters (NW Spain). In: Jereb, P., Allcock, A.L., Lefkaditou, E., Piatkowski, U., Hastie, L.C., Pierce, G.J., 2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe : II. Species Accounts. ICES COOPERATIVE RESEARCH REPORT, No.325.
11. Gusal, C., Belcari, P., Abollo, E., Pasual, S., 1999. Parasites of cephalopods in the northern Tyrrhenian Sea (western Mediterranean): new host records and host specificity. *SCI. MAR.*, 63 (1) : 39-43.
12. Hanlo, R., Vecchione, M., Allcock, L., 2018. Octopus, Squid & Cuttlefish. A visual scientific guide to the oceans' most advanced invertebrates. Quarto Publishing plc, 2018.
13. Hasan, A. K., Riad, R., and Atta, M. 1994. Trophic relations of *Sepia officinalis* and *Loligo vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda) in Alexandria waters. In: Jereb, P., Allcock, A.L., Lefkaditou, E., Piatkowski, U., Hastie, L.C., Pierce, G.J., 2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe : II. Species Accounts. ICES COOPERATIVE RESEARCH REPORT, No.325.
14. Healy, C., Caira, J., Jensen, K., Webster, B., Littlewood, D., 2009. Proposal for a new tapeworm order, Rhinebothriidea. *International Journal for Parasitology* 39, 497–511.
15. Jense, K., Bullard, S. A., 2010. Characterization of a diversity of tetraphyllidean and rhinebothriidean cestode larval types, with comments on host associations and life-cycles. Elsevier Ltd, *International Journal for Parasitology* 40 (2010) 889–910.
16. Jereb, P., Roper, C. F. E., 2006. Cephalopods of the Indian Ocean. A review. Part I. Inshore squids (Loliginidae) collected during the international Indian Ocean Expedition. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 119 : 91-136.
17. Jereb, P., Roper, C. F. E., Norman, M. D., Finn, J. K., 2014. Cephalopods of the World: An Annotated and Illustrated Catalogue of Cephalopod Species Known to Date. Volume 3. Octopods and Vampire squids. *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*, FAO, Rome, No 4, Vol3 : 352.
18. Jereb, P., Allcock, A.L., Lefkaditou, E., Piatkowski, U., Hastie, L.C., Pierce, G.J., 2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe : II. Species Accounts. ICES COOPERATIVE RESEARCH REPORT, No.325.

19. Joyeux, C., Baer, J.G., 1961. Classe des Cestodaires. In: Jense, k. Bullard, S. A.,2010. Characterization of a diversity of tetraphyllidean and rhinebothriidean cestode larval types, with comments on host associations and life-cycles. Elsevier Ltd, International Journal for Parasitology 40 (2010) 889–910.
20. Kinne,O., 1990.Diseases of marine animals. Vol 3 Introduction, Cephalopoda, Annelida, Crustacea,Chaetognatha, Echinodermata, Urochordata. Biologische Anstalt Helgoland. Hamburg.
21. Klimpel, S., Kuhn,T., Münster,J., Dörge,D.D., Klapper,R., Kochmann,J., 2019.Parasites of Marine Fish and Cephalopods. Springer Nature Switzerland AG.
22. Le Bihan,E.,2006.Valorisation des co-produits issus de la peche des Cephalopodes
23. Lemey,P.,Salemi,M.,Vandamme,A-M.,2009. The Phylogenetic Handbook A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing SecondEdition. Cambridge University Press 2009.
24. Littlewood, D.T.J.,Hetniou, E.,Galletti, M.,2000. The Interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) Tested with Molecules and Morphology. Molecular Phylogenetics and Evolution 16(3):449-66.
25. Mangold-Wirz, K. 1963 Biologie des céphalopodes benthiques et nectoniques de la Mer Catalane. Vie Millieu, suppl. 13 :1-285.
26. Mattiucci,S., Cipriani,P.,Levesen,A.,Paoletti,M.,Nascetti,G.,2018. Chapter Four -Molecular Epidemiology of *Anisakis* and Anisakiasis: An Ecological and Evolutionary Road Map.Advances in Parasitology ,Vol. 99, 2018, pp 93-263.
27. MaGinnis, S., Madden,T.I.,2004. BLAST: at the core of a powerful and diverse setof sequence analysis tools. *Nucleic Acids Research*, Vol 32, Issue suppl\_2, 1 July 2004, ppW20–W25.
28. Michener, C.D., Sokal, R.R., 1956.A quantitative approach to a problem in classification.Evolution 11:130–162,In: De Bruyn,A.,Martin,D.P.,Lefeuvre,P., 2014.Phylogenetic Reconstruction Methods: An Overview., Pascale Besse (ed.), Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1115.
29. Olson,D.P., Littlewood, D.T. J., Bray,R.A., Mariauxt, J.,2001. Interrelationships and Evolution of the Tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). Molecular Phylogeneticsand Evolution Vol. 19, No. 3, June 2001, pp. 443–467.

30. Pascual, S., Hochberg, 1996. Marine parasites as biological tags of cephalopod hosts. Elsevier Ltd, Parasitology Today Vol 12, Issue 8, August 1996, pp. 324-327.
31. Pierce, G. J., Boyle, P. R., Hastie, L. C., and Santos, M. B. 1994a. Diets of squid *Loligo forbesi* and *Loligo vulgaris* in the northeast Atlantic. In: Jereb, P., Allcock, A.L., Lefkaditou, E., Piatkowski, U., Hastie, L.C., Pierce, G.J., 2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe : II. Species Accounts. ICES COOPERATIVE RESEARCH REPORT, No.325.
32. Randhawa, H.S., Brickle, P., 2011. Larval parasite gene sequence data reveal cryptic trophic links in life cycles of porbeagle shark tapeworms. Mar. Ecol. Prog. Ser. 431, 215–222.
33. Refes, W., Semah, N., Boulahdid, M., Quignard J.P., 2010. INVENTAIRE DE LA FAUNE ICHTYOLOGIQUE DU SECTEUR ORIENTAL DE LA COTE ALGERIENNE (EL KALA; ANNABA; SKIKDA; JIJEL; BEJAÏA). Rapp. Comm. int. Mer Médit., 39, 2010
34. Rocha, F., Castro, B. G., Gil, M. S., and Guerra, Á. 1994. The diets of *Loligo vulgaris* and *Loligo forbesi* (Cephalopoda: Loliginidae) in Northwestern Spanish Atlantic waters, In: Jereb, P., Allcock, A.L., Lefkaditou, E., Piatkowski, U., Hastie, L.C., Pierce, G.J., 2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe : II. Species Accounts. ICES COOPERATIVE RESEARCH REPORT, No.325.
35. Rohde, K. (Ed.), 2005. Marine Parasitology. CSIRO Publishing, Collingwood.
36. Roper, C. F. E., and Young, R. E. 1975. Vertical distribution of pelagic cephalopods In: Jereb, P., Allcock, A.L., Lefkaditou, E., Piatkowski, U., Hastie, L.C., Pierce, G.J., 2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe : II. Species Accounts. ICES COOPERATIVE RESEARCH REPORT, No.325.
37. Royer, J., Peries, P., Robin, J. P., 2002. Stock assessments of English Channel loliginid squids: updated depletion methods and new analytical methods. ICES Journal of Marine Science, 59: 445-457.
38. Safi, G., 2013. Etude de la variabilité spatio-temporelle des caractéristiques physiologiques des jeunes stades de vie de la seiche *Sepia officinalis* L. en Manche. Thèse vue de l'obtention du Doctorat de l'Université de Caen Basse-Normandie : 244 pp.
39. Saitou, N., Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 4:406–425, In: De

- Bruyn,A.,Martin,D.P.,Lefeuvre,P., 2014. Phylogenetic Reconstruction Methods: An Overview., Pascale Besse (ed.), Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1115.
40. Sánchez, P., Belcari, P., and Sartor, P. 1998a. Composition and spatial distribution of cephalopods in two north-western Mediterranean areas, In Jereb, P.,Allcock, A.L.,Lefkaditou, E.,Piatkowski, U.,Hastie, L.C.,Pierce, G.J.,2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe : II. Species Accounts. ICES COOPERATIVE RESEARCH REPORT, No.325.
  41. Steel MA, Hendy MD, Penny D (1988) Loss of information in genetic distances. Nature 336:118, In: De Bruyn,A.,Martin,D.P.,Lefeuvre,P., 2014. Phylogenetic Reconstruction Methods: An Overview., Pascale Besse (ed.), Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1115.
  42. Tamura, K.,Kumar, S.,Stecher, G.2021.(MEGA X) Molcular Evolutionary GeneticAnalysis. <https://www.megasoftware.net/>
  43. Tedesco,P., Caffara,M., Gustinelli,A., Fiorito,G., Fioravanti, M.L.,2020. Metacestodes of Elasmobranch Tapeworms in Octopus vulgaris (Mollusca, Cephalopoda) from Central Mediterranean—SEM and Molecular Data. Animals 2020, 10, 2038.
  44. Waeschenbach, A.,Webster, B.L.,Bray, R.A.,Littlewood, D.T.J.,2007. Added resolution among ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with complete small and large subunit nuclear ribosomal RNA genes.Molecular Phylogenetics and Evolution Vol 45, Issue 1, October 2007, pp 311-325.
  45. Worms, J. 1979. L'utilisation des prises commerciales en biologie des pêches. Application à l'étude d'une population de Loligo vulgaris (Cephalopoda, Teuthoïdea) du golfe du Lion. PhD thesis, USTL Montpellier, France. 197 pp
  46. Worms, J. 1983a. Loligo vulgaris. In Cephalopod Life Cycles. In: Jereb, P.,Allcock,A.L.,Lefkaditou, E.,Piatkowski, U.,Hastie, L.C.,Pierce, G.J.,2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe : II. Species Accounts. ICES COOPERATIVE RESEARCH REPORT, No.32