Etude morphologique et phylogénie des Ciliés Astomes endocommensaux d'Oligochètes terricoles de la région de Yaoundé et ses environs

Zéphyrin Fokam

▶ **To cite this version:**

Zéphyrin Fokam. Etude morphologique et phylogénie des Ciliés Astomes endocommensaux d'Oligochètes terricoles de la région de Yaoundé et ses environs. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Yaoundé I, 2012. Français. NNT : . tel-00918304

HAL Id: tel-00918304
https://theses.hal.science/tel-00918304

Submitted on 13 Dec 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTÉ DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

Etude morphologique et phylogénie des Ciliés Astomes endocommensaux d'Oligochètes terricoles de la région de Yaoundé et ses environs

THÈSE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en Biologie des Organismes Animaux
Option : Parasitologie

Par :

FOKAM Zéphyrin

Matricule : 90T092

Docteur 3ème cycle

Devant le jury composé de :

Président : BILONG BILONG Charles Félix, Professeur, Université de Yaoundé I

Rapporteur : NGASSAM Pierre, Professeur, Université de Yaoundé I

Membres : FOMENA Abraham, Professeur, Université de Yaoundé I

MPOAME MBIDA, Professeur, Université de Dschang

NJIOKOU Flobert, Maître de Conférences, Université de Yaoundé I

SIME NGANDO Télesphore, Directeur de Recherches au CNRS

(Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand, France)

ANNÉE 2012

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS

UNIVERSITE DE YAOUNDE I **FACULTE DES SCIENCES** Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		**UNIVERSITY OF YAOUNDE I** **FACULTY OF SCIENCE** Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		**LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF**

ANNEE ACADEMIQUE 2010/2011 (Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION : 5 mars 2011

ADMINISTRATION DE LA FACULTÉ DES SCIENCES

DOYEN : BITJONG NDOMBOL (Professeur)
VICE-DOYEN / DPSAA : NJOPWOUO Daniel (Professeur)
VICE-DOYEN / DSSE : OWONO OWONO Luc C. (Maître de Conférences)
VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique (Chargée de Cours)
Chef de division administrative et financière : NDOYE FOE Marie C.F. (Chargée de cours)

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (B.C) : 33

N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	ETOA François Xavier	Professeur	**Chef de Département CT/PM**
2	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	En poste
3	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Maître de Conférences	En poste
4	ESSIA NGANG Jean justin	Maître de Conférences	En poste
5	FEKAM BOYOM Fabrice	Maître de Conférences	En poste
6	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
7	MBACHAM Wilfried	Maître de Conférences	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Maître de Conférences	En poste
9	ACHU Mercy BIH	Chargé de Cours	En poste
10	ATOGHO Barbara MMA	Chargé de Cours	En poste
11	BELINGA née NDOYE FOE	Chargé de Cours	En poste
12	BIGOGA Jude	Chargé de Cours	En poste
13	BIYITI née AKAM ADA L. F.	Chargé de Cours	*CT/MINRESI*
14	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
15	BOUJEKO Thaddée	Chargé de Cours	En poste
16	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
17	DJOKAM TAMO Rosine Rachel	Chargé de Cours	En poste
18	EFFA ONOMO Pierre	Chargé de Cours	En poste
19	EVEHE BEBANDOUE Marie Solange	Chargé de Cours	En poste
20	GONDI Judith Laure	Chargé de cours	En poste
21	KANSCI Germain	Chargé de Cours	En poste
22	MINKA Samuel	Chargé de Cours	En poste
23	MOFOR née TEUGWA C.	Chargé de cours	*CE SEP MINESUP*
24	NGUEFACK Julienne	Chargé de Cours	En poste
25	NJAYOU Frédéric Nico	Chargé de Cours	En poste

26	NKENFOU NGEUFEU Céline	Chargé de Cours	En poste
27	NYEGUE Maximilienne	Chargé de cours	En poste
28	RIWOM Sarah Honorine	Chargé de Cours	En poste
29	SHANG DZELAMBONG Judith	Chargé de Cours	En poste
30	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste
31	WAKAM née NANA Louise	Chargé de Cours	En poste
32	BOUGNOM Blaise Pascal	Assistant	En poste
33	SADO KAMDEM Sylvain	Assistant	En poste

2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A) : 32

N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	**Chef de Département**
2	DIMO Théophile	Professeur	En poste
3	FOMENA Abraham	Professeur	En poste
4	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
5	MIMPFOUNDI Rémy	Professeur	En poste
6	NGASSAM Pierre	Professeur	En poste
7	DJAMEN Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
8	DJIETO Lordon Champlain	Maître de Conférences	En poste
9	KAMGANG Réné	Maître de Conférences	En poste
10	NJIOKOU Flaubert	Maître de Conférences	En poste
11	NOLA Moïse	Maître de Conférences	En poste
12	TAN Paul	Maître de Conférences	En poste
13	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Maître de Conférences	En poste
14	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Chargé de Cours	En poste
15	BAPFBUSA Benoît Alain	Chargé de Cours	En poste
16	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
17	CHUNGAG ANYE née NKEH B.	Chargé de Cours	En poste
18	DZEUFIET DJOMENI P. Désiré	Chargé de Cours	En poste
19	ENO Anna Aret	Chargé de Cours	En poste
20	ESSOMBA née TSAMA M.	Chargé de Cours	En poste (*Hôpital Central*)
21	FOTO MENBOHAN Samuel	Chargé de Cours	*CT2 MIN. ENERGIE et EAU*
22	KEKENOU sévilor	Chargé de Cours	En poste
23	MEGNEKOU Rosette	Chargé de cours	En poste
24	RAKOTONIRINA Silvère	Chargé de cours	En poste
25	TOMBI Jeannette	Chargé de cours	En poste
26	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Chargé de cours	En poste
27	ALENE Désirée Chantal	Assistante	En poste
28	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Assistante	En poste
29	KEMKA NORBERT	Assistante	En poste
30	NDASSA Arouna	Assistant	En poste
31	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Assistant	En poste
32	NGUEMBOCK	Assistant	En poste

3- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B.P.V) : 25

N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	AMOUGOU AKOA	Professeur	**Chef de Département**
2	MOSSEBO Dominique Claude	Maitre de Conférences	En poste
3	NKONGMENECK Bernard Aloys	Maitre de Conférences	En poste
4	YOUMBI Emmanuel	Maitre de Conférences	En poste
5	AMBANG Zachée	Chargé de Cours	En poste
6	BELL Joseph Marie	Chargé de Cours	En poste

7	BIYE Elvire Hortense	Chargé de Cours	En poste
8	BOYOMO ONANA	Chargé de Cours	*Chef Service Rectorat UYI*
9	DJOCGOUE Pierre François	Chargé de Cours	En poste
10	KENGNE NOUMSI Yves	Chargé de Cours	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Chargé de Cours	*CEA MINESUP*
12	MBOLO Marie	Chargé de Cours	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Chargé de Cours	En poste
14	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
15	NSOM ZAMO Annie Claude	Chargé de Cours	En poste
16	NWAGA Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
17	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
18	ZAPFACK Louis	Chargé de Cours	En poste
19	ANGONI Hyacinthe	Assistant	En poste
20	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Assistante	En poste
21	MALA Armand William	Assistante	En poste
22	NGALLE Hermine BILLE	Assistant	En poste
23	NGOBO NKONGO épse MEKE	Assistant	En poste
24	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Assistant	En poste
25	NGONKEU MAGAPCHE E. L.	Assistant	En poste

4- DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) : 31

N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	KETCHA MBADCAM Joseph	Maître de Conférences	**Chef de Département**
2	NEMBA Robert	Professeur	*D.G. ANRP (MINRESI)*
3	NGAMENI Emmanuel	Professeur	En poste
4	NJOPWOUO D.	Professeur	***Vice-Doyen /DPSAA***
5	NOAH NGAMVENG Joseph	Professeur	En poste
6	AGWARA ONDOH	Maître de Conférences	En poste
7	AVOM Jérôme	Maître de Conférences	*Directeur IAI Gabon*
8	ELIMBI Antoine	Maître de Conférences	En poste
9	GHOGOMU Paul Mingo	Maître de Conférences	*Directeur Cabinet PM*
10	MELO née CHINGE Uphie F.	Maître de Conférences	*Directeur /Mipromalo*
11	NDIFON TEKE Peter	Maitre de Conférences	*IS1 / MINRESI*
12	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
13	BABALE née NDJAM DOUDOU	Chargé de Cours	*Chargé de mission P.R C.*
14	BAIZOUMI ZOUA	Chargé de Cours	*Chef Cellule MINTOUR*
15	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
16	GWET Simon - Pierre	Chargé de Cours	En poste
17	KONG SAKEO	Chargé de Cours	*C. M. au P. M.*
18	LAMINSI Samuel	Chargé de Cours	En poste
19	LIBOUM	Chargé de Cours	En poste
20	MOULIOM Christophe	Chargé de Cours	En poste
21	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Chargé de Cours	En poste
22	NDIKONTAR Maurice KOR	Chargé de Cours	En poste
23	NENWA Justin	Chargé de Cours	En poste
24	NGONO MANGA Horace	Chargé de Cours	*C. T. au P. M.*
25	PAYOM Gaston	Chargé de Cours	En poste
26	SIGNING Pierre	Chargé de Cours	En poste
27	EMADACK Alphonse	Assistant	En poste
28	KEUMEGNE MBOUGUEM Justin	Assistant	En poste
29	NJIOMOU Chantal épse DJANGANG	Assistante	En poste
30	NJOYA Dayirou	Assistant	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Assistant	En poste

5- DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) : 33			
N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	NKENFACK Augustin	Professeur	**Chef de Département**
2	DONGO Etienne	Professeur	En poste
3	FON KIMBU Samuel	Professeur	En poste
4	GHOGOMU TIH Raphael	Professeur	En poste
5	NGADJUI TCHALEU Bonaventure	Professeur	*Chef Dépt / FMSB*
6	NYASSE Barthélemy	Professeur	*Chef de cellule / MINESUP*
7	TSAMO Etienne	Professeur	En poste
8	WANDJI Jean	Professeur	En poste
9	FOLEFOC Gabriel	Maître de Conférences	En poste
10	KAPNANG Henriette	Maître de Conférences	En poste
11	MBAFOR Joseph	Maître de Conférences	En poste
12	NGOUELA Silvère Augustin	Maître de Conférences	En poste
13	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
14	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Maître de Conférences	*Chef de cellule / MINESUP*
15	TCHOUANKEU Jean Claude	Maître de Conférences	*Chef de service Rectorat UYI*
16	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
17	Alex de Théodore ATCHADE	Chargé de Cours	En poste
18	KEUMEDJO Félix	Chargé de Cours	En poste
19	KOUAM Jacques	Chargé de Cours	En poste
20	MBAZOA née DJAMA Céline	Chargé de Cours	En poste
21	MESSANGA Bernard Blaise	Chargé de Cours	En poste
22	MKOUNGA Pierre	Chargé de Cours	En poste
23	NTEDE NGA Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
24	NYEMBA née ETOUNOU Anne-M.	Chargé de Cours	En poste
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Chargé de Cours	En poste
26	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste
27	AMBASSA Pantaléon	Assistante	En poste
28	EYONG Kenneth OBEN	Assistant	En poste
29	NGO MBING Joséphine	Assistante	En poste
30	NGONO BOKOBO Dominique S.	Assistant	En poste
31	OUAHOUO WACHE Blandine M.	Assistant	En poste
32	TABOPDA Turibio	Assistant	En poste
33	TAGATSING FOTSING Maurice	Assistant	En poste

6- DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) : 26			
N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	LOUKA Basile	Chargé de Cours	**Chef de Département**
2	TCHUENTE Maurice	Professeur	*PCA U.Buea*
3	FOTSO Pauline Laure	Maître de Conférences	*Vice-Recteur UDs*
4	ATSA ETOUNDI Roger	Chargé de Cours	*Chef de cellule MINFOPRA*
5	FOUDA DJODO Marcel	Chargé de Cours	*IA4 /MINESUP/Chef Dépt ENS*
6	KAMGNIA Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
7	NDOUNDAM Réné	Chargé de Cours	En poste
8	NZALI Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
9	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
10	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
11	CHEUDOM FOTSO Donatien	Assistant	En poste
12	EBELE Serge Alain	Assistant	En poste
13	HAMZA AMADOU	Assistant	En poste
14	KAMDEM KEGNE Christine	Assistant	En poste

15	KOUOKAM KOUOKAM Etienne	Assistant	En poste
16	LONLAC KONLAC Jerry Garvin	Assistant	En poste
17	MELATAGIA YONTA Paulin	Assistant	En poste
18	MEYEMDOU Sylviane Nadège	Assistant	En poste
19	MONTHE DIADEU Valérie M.	Assistant	En poste
20	MOTTO MPONG Serge Alain	Assistant	En poste
21	NGOKO Yanick Martial	Assistant	En poste
22	SOUOPBGUI Innocent	Assistant	En poste
23	TAPAMO Hyppolite	Assistant	En poste
24	THUENTE FOGUEM Germaine	Assistant	En poste
25	TSOPZE Norbert	Assistant	En poste
26	WAKU KOUAMO J.	Assistant	En poste

7- DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) : 40

N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	WAMON François	Maître de Conférences	**Chef de Département**
2	BEKOLLE David	Professeur	*Vice Recteur U. Ndéré*
3	BITJONG Ndombol	Professeur	***Doyen Fac. Sciences***
4	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
5	NGUETSENG Gabriel	Professeur	*Chef du centre CUTI UYI*
6	NOUTCHEGUEME Norbert	Professeur	En poste
7	TONGA Marcel	Maître Conférences	En poste
8	BINZOULI Etienne Jean	Chargé de Cours	En poste
9	EMVUDU WONO Yves	Chargé de Cours	*Chef de cellule MINESUP*
10	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
11	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
12	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
13	MBIANDA Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14	MEWOLI Boulchard	Chargé de Cours	En poste
15	NDAKBO Victor	Chargé de Cours	En poste
16	NGUIMTSA Charles	Chargé de Cours	En poste
17	NKUIMI JUGNIA Célestin	Chargé de Cours	En poste
18	NOUNDJEU Pierre	Chargé de Cours	En poste
19	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
20	TCHAPDA NJABO Sophonie Blaise	Chargé de Cours	En poste
21	TIAYA TSAGUE N. Anne Marie	Chargé de Cours	En poste
22	ZAME Alfred	Chargé de Cours	En poste
23	AKOA François	Assistant	En poste
24	AYISSI Raoult	Assistant	En poste
25	BATKAM Cyril Joel	Assistant	En poste
26	CHENDJOU Gilbert	Assistant	En poste
27	DJIADEU NGAHA Mchel	Assistant	En poste
28	KIANPI Maurice	Assistant	En poste
29	KONLACK SOCGNIA Virginie	Assistante	En poste
30	MBANG Joseph	Assistant	En poste
31	MBEHOU Mohamed	Assistant	En poste
32	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
33	MENGUE MENGUE David Joel	Assistant	En poste
34	NDOUNE	Assistant	En poste
35	NGUEFACK Bertrand	Assistant	En poste
36	NIMPA PEFOUNKUE Romain	Assistant	En poste
37	POLA DOUNDOU Emmanuel	Assistant	En poste
38	TAN AHANDA Barnabé	Assistant	*Chef de service MINPLAMAT*

39	TCHOUNDJA Adgar Landry	Assistant	En poste
40	TESADJIO TCHELEPECK M. E.	Assistante	En poste

8- DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) : 36

N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	**Chef de Département**
2	WOUAFO Paul	Professeur	*Vice-Doyen /DRC*
3	DJOMO Donatien	Maître de Conférences	En poste
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Maître de Conférences	En poste
5	MKANKAN KAMGA François	Maître de Conférences	En poste
6	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	*Recteur UYI*
7	OWONO ATEBA	Maître de Conférences	*Vice-Recteur UYII*
8	TCHAWOUA Clément	Maître de Conférences	En poste
9	BEN-BOLIE Germain Hubert	Chargé de Cours	En poste
10	BIYA MOTTO Frédéric	Chargé de Cours	*Chef de service UYI*
11	DJAKA Jean Marie Bienvenue	Chargé de Cours	En poste
12	DJUIDJE K. G. épse ALOYEM KAZE	Chargé de Cours	En poste
13	EKOBENA FOUDA Henri Paul	Chargé de Cours	En poste
14	MAGA Emire Mondésir	Chargé de Cours	En poste
15	MBANE BIOUELLE	Chargé de Cours	En poste
16	MBONO SAMBA Yves Christian	Chargé de Cours	*Vice-Doyen UDs*
17	MOUSSA ILDOKO S. B.	Chargé de Cours	*Sous Directeur MINUH*
18	NANA BENDJO Blaise Roméo	Chargé de Cours	En poste
19	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
20	NJANJOCK NOUCK Philippe	Chargé de Cours	*Chargé d'études /MINRESI*
21	NOUAYOU Robert	Chargé de Cours	En poste
22	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	En poste
23	PEMHA Elkana	Chargé de Cours	En poste
24	SIEWE SIEWE Martin	Chargé de cours	En poste
25	SIMO Elie	Chargé de Cours	En poste
26	TABOD Charles TABOD	Chargé de Cours	En poste
27	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
28	ZEKENG Serge Sylvain	Chargé de Cours	En poste
29	BODO Bertrand	Assistant	En poste
30	EDONGUE Hervais	Assistant	En poste
31	EYEBE FOUDA Jean Sire	Assistant	En poste
32	FEWO Serge Ibraid	Assistant	En poste
33	HONA Jacques	Assistant	En poste
34	SEIDOU	Assistant	En poste
35	TABI Conrad Bertrand	Assistant	En poste
36	WOULACHE Rosalie Laure	Assistante	En poste

9- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (36)

N°	NOM ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Chargé de Cours	**Chef de Département VD/DSSE**
2	BILONG Paul	Professeur	*Doyen FS UNIV. D'LA*
3	EKODECK George EKODECK	Professeur	*VR2 /UNI D'LA*
4	BITOM Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
5	FOUATEU Rose épse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
6	MVONDO ONDOA Joseph	Maître de Conférences	*Sous Directeur MINVILLE*
7	NGOS III Simon	Maître de Conférences	En poste
8	NZENTI Jean Paul	Maître de Conférences	En poste

9	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
10	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	*Directeur Projet barrage Memvele*
11	BONDJE Charles Henri	Chargé de Cours	En poste
12	DJEUDA TCHAPNGA H. Bosco	Chargé de Cours	En poste
13	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	En poste
14	ESSONO Jean	Chargé de Cours	*C.E. Assistant MINES*
15	GHOGOMU TANWI Richard	Chargé de Cours	En poste
16	KAMGANG Pierre	Chargé de Cours	En poste
17	LAMILEN BILA Daniel	Chargé de Cours	En poste
18	LIENOU Gaston	Chargé de Cours	En poste
19	MEDJO EKO Robert	Chargé de Cours	*S/Directeur MINCOM*
20	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
21	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
22	MOUNDI HAMIDOU	Chargé de Cours	En poste
23	NDAM NGOUPAYOU	Chargé de Cours	En poste
24	NDJIGUI Paul Désiré	Chargé de Cours	En poste
25	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
26	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	En poste
27	NJILAH KONFOR Isaac	Chargé de Cours	En poste
28	NJOM Bernard de Lattre	Chargé de Cours	En poste
29	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
30	ONANA Vincent	Chargé de Cours	En poste
31	TCHAKOUNTE Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
32	TCHANKOUE Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
33	TEMDJIM Robert	Chargé de Cours	En poste
34	YENE ATANGANA Joseph Q.	Chargé de Cours	*CE. Assistant MINEF*
35	NGO BELNOUN Rose Noel	Assistant	En poste
36	ZO'O ZAME Philémon	Assistant	*Attaché / PRC*

REPARTITION CHIFFREE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS PAR DEPARTEMENT

DEPARTEMENTS	**NOMBRE D'ENSEIGNANTS**				
	PR	**MC**	**CC**	**ASS**	**Total**
BC	**2(0)**	**6(1)**	**23(12)**	**2(0)**	**33(13)**
BPA	**4(0)**	**8(0)**	**14(5)**	**6(2)**	**32(7)**
BPV	**1(0)**	**3(0)**	**14(3)**	**7(2)**	**25(5)**
C.I	**4(0)**	**8(1)**	**14(1)**	**5(1)**	**31(3)**
C.O.	**8(0)**	**8(1)**	**10(5)**	**8(2)**	**34(8)**
IN	**1(0)**	**1(1)**	**5(0)**	**19(4)**	**26(5)**
MA	**5(0)**	**2(0)**	**15(2)**	**18(1)**	**40(3)**
PH	**3(0)**	**6(0)**	**19(2)**	**8(1)**	**36(3)**
ST	**3(0)**	**6(1)**	**25(2)**	**2(1)**	**36(5)**
Total	**31(0)**	**48(5)**	**139(32)**	**75(14)**	**293(53)**

Soit un total de 293 dont :

- 31 Professeurs
- 48 Maîtres de Conférences
- 139 Chargés de Cours
- 75 Assistants
- ( ) = Nombre de femmes

DEDICACE

A
La famille FOKAM

AVANT-PROPOS

Il y a quelques années, le Professeur Pierre NGASSAM me proposait comme sujet l'étude des Ciliés Astomes. Sa rigueur scientifique, sa disponibilité sans limite, ont permis son aboutissement. Je voudrais exprimer le plaisir que j'ai eu à travailler avec lui et témoigner de sa perspicacité dans la direction des travaux.

Ces travaux ont été réalisés au laboratoire de Biologie Générale (Unité de Protistologie) de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, en collaboration avec le Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement de l'Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand II (France) et le Laboratoire de Biologie Intégrative de l'Université de Guelph (Ontario, CANADA). Aussi est-ce un agréable devoir pour moi d'exprimer ma profonde et respectueuse reconnaissance aux Docteurs Télesphore SIME NGANDO et Geneviève BRICHEUX pour nous avoir permis de garder un contact effectif avec leur structure de recherche, contact sans lequel ce travail n'aurait jamais été réalisé sous cette forme.

J'exprime toute ma gratitude à l'endroit du Professeur Denis H. LYNN et du Docteur Michaela C. STRÜDER-KYPKE du Département de Biologie Intégrative de l'Université de Guelph d'Ontario CANADA qui m'ont fait bénéficier de leur forte expérience dans les analyses phylogénétiques.

Il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma gratitude au Professeur Pierre de PUYTORAC pour la lecture critique de ce travail et notamment sa contribution substantielle à la révision systématique de la sous famille des Metaracoelophryinae.

J'adresse mes vifs remerciements à tous les enseignants du laboratoire de Biologie Générale de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I et plus particulièrement aux Professeurs, C-F. BILONG BILONG, A. FOMENA, L-A. TCHUEM TCHUENTE, F. NJIOKOU; le Docteur S. H. ZEBAZE TOGOUET pour leurs conseils et leurs encouragements constants.

J'exprime toute ma reconnaissance à l'équipe de l'unité de Protistologie du laboratoire de Biologie Générale, particulièrement à Monsieur NANA Paul Alain, pour sa collaboration sans faille.

SOMMAIRE pages

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS i

DEDICACE viii

AVANT-PROPOS ix

SOMMAIRE x

LISTE DES ABREVIATIONS xiii

RESUME xix

ABSTRACT xxi

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE 5

I - 1 - Données générales sur les Ciliés 5

I - 1 - 1 - Description et caractérisation sommaire des Ciliés 5

I - 1 - 2 - Evolution de la systématique et classifications proposées 8

I - 2 - Evolution de la méthodologie 12

I - 2 - 1 - Niveau de l'espèce 13

I - 2 - 2 - Niveau supraspécifique 17

I - 3 - Phylogénie moléculaire 18

I - 3 - 1 - Quelques données générales sur la phylogénie 18

I - 3 - 2 - Position des Ciliés dans l'arbre phylogénétique de la vie 19

I - 3 - 3 - Quelques principes fondamentaux de la phylogénie 20

I - 3 - 4 - Conditions du choix et disponibilité d'un marqueur moléculaire 21

I - 3 - 5 - Méthodes de construction d'un arbre phylogénétique 22

I - 3 - 6 - Test de validité des analyses : le bootstrap 23

I - 4 - Symbiose et parasitose 25

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES 27

II - 1 - Situation géographique et localisation des sites prospectés 27

II - 2 - Matériel biologique examiné 28

II - 3 – Méthodes d'étude 30

II - 3 – 1- Dissection des vers et prélèvement des Ciliés 30

II - 3 – 2- Observation sur le vivant 30

II - 3 – 3- Observations sur les spécimens fixés et colorés. 31

II - 3 – 4- Microscopie Electronique à Balayage (MEB) 33

II - 3 – 5- Etude moléculaire 34

II - 3 – 6- Construction d'un arbre phylogénétique 35

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION 34

III - 1- RESULTATS. 36

III-1-1- Etude morphologique des différentes espèces récoltées. 36

III-1-2- Phylogénie moléculaire de la sous-classe Astomatia 80

III-2- DISCUSSION 87

III-2-1 Affinités des espèces décrites avec d'autres taxons 87

III-2-2- Phylogénie moléculaire 98

CONCLUSION ET PERSPECTIVES 99

BIBLIOGRAPHIE. 102

ANNEXES 119

LISTE DES ARTICLES TIRES DE LA THESE 138

LISTE DES ABREVIATIONS

Ba: Bouton d'amarrage
BI: Bayesian Interfernce
Brsq : Branche squelettique
Ce : Couronne ectoplasmique
Clit : Clitellum
Cr : Crochet
Cth : Champ thigmotactique
DAPI : Di Aminido Phenyl lndol
Ec : Ectoplasme
Ep : Épine
ETS: « External Transcribed Spacer » : espaceur externe transcrit
F : Fibres squelettique
Fi : Fibrilles
Fo : Fibres de l'opisthe
Fsqo : Fibres squelettiques de l'opisthe
ga : Aire glabre antérieure
Gl cal : Glande calcifère
gp : Aire glabre postérieure
Gt : Gouttière
ITS: « Internal transcribed spacer » : espaceur interne transcrit
MEB : Microscopie Electronique à Balayage
Mi : Micronoyau
Mn: Macronoyau
MP: Maximum Parcimony
NJ: Neighbor Joining
NTS: « Non Transcribed Spacer » : espaceur non transcrit
Op : Opisthe
PAF: Paraformaldéhyde
PBS: Phosphate Buffered saline
PCR : Polymerase Chain Reaction
Pfo : Pimordium des fibres de l'opisthe
Pr : Proter
Pros : Prostomium
Psq : Pellicule squelettogène
Pyg : Pygidium
S : Ligne de suture
S1, S2 : Satellites
Sa : Signe de suture antérieure
Ssad : Système sécant antérieur droit
Ssag: Système sécant antérieur gauche

Sspd : Système sécant postérieur droit
Sspg : Système sécant postérieur gauche
Vp : Vacuole pulsatile
ZE : Zone d’étranglement

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cycle de développement des protozoaires ciliés (d'après Lynn et Small, 1989 ; 2002) 7
Figure 2: Position des ciliés dans l'arbre phylogénétique de la vie (d'après Woese et *al*., 1990) 20
Figure 3: Unité de transcription d'ADNr d'eucaryote avec son espaceur non transcrit. 22
Figure 4: Schéma résumant les grandes étapes d'une analyse phylogénétique (d'après Hillis et *al.*, 1996). 25
Figure 5: Réseau hydrographique de la région du Centre (Cameroun). Les flèches indiquent les stations de récolte. Source : Institut National de Cartographie (modifié, 2011).....27
Figure 6: Hôtes des Ciliés étudiés. A : Megascolecidae du genre *Eupolytoreutus* ; B : Lumbricidae du genre *Lumbricus* ; C : Glossoscolecidae de l'espèce *Alma emini* ; D : Glossoscolecidae de l'espèce *Alma nilotica*.....29
Figure 7: Schéma de principe de fonctionnement d'un microscope à fluorescence (d'après Jean-Claude Garaud et Guy Roussel, 2004) 32
Figure 8 : *Anoplophrya marylandensis* Conklin, 1930.....36
Figure 9: *Njinella prolifera* Ngassam, 1983. 37
Figure 10: Photographies montrant les variations morphologiques du macronoyau chez *Amophrya bivacuolata*. 38
Figure 11: Photographies d'*Amophrya bivacuolata* (à macronoyau en « X ») après coloration au DAPI). 39
Figure 12: Photographies d'*Almophrya bivacuolata* (à macronoyau en « H ») après coloration au DAPI).....40
Figure 13: Photographies d'*Almophrya bivacuolata* (Observation vitale à contraste de phase) 40
Figure 14: Photographies d*'Almophrya mediovacuolata* (à macronoyau en « H ») après coloration au DAPI) 41
Figure 15: *Almophrya nkoldensis* n. sp. 43
Figure 16: Photographies d*'Almophrya nkoldensis* n. sp (à macronoyau en « X » modifié) après coloration au DAPI) 43
Figure 17: *Paraclausilocola constricta* n. sp. (Photo d'un Jeune tomite) 44
Figure 18 : *Paraclausilocola constricta* n. sp. 45
Figure 19: *Paraclausilocola elongata* n. sp., imprégnation au carbonate d'argent ammoniacal pyridiné (Photo).....47

Figure 20: *Paraclausilocola elongata* n. sp., imprégnation au carbonate d'argent ammoniacal pyridiné 49
Figure 21: *Paracoelophrya falcifera* n. sp 50
Figure 22: *Metaracoelophrya almae* n. sp. 52
Figure 23: *Metaracoelophrya ebebdae* n. sp. 53
Figure 24: *Metaracoelophrya intermedia* de Puytorac et Dragesco, 1969. 55
Figure 25: *Coelophrya coronata* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008 56
Figure 26: Morphologie générale de *Coelophrya coronata* 57
Figure 27: *Coelophrya ovales* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008 58
Figure 28: *Coelophrya ebebdensis* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008 60
Figure 29: Photographies de *Dicoelophrya almae* de Puytorac et Dragesco, 1969. 62
Figure 30 : *Dicoelophrya almae* de Puytorac et Dragesco, 1969 63
Figure 31: *Dicoelophrya nkoldensis* n. sp 64
Figure 32 : *Dicoelophrya nkoldensis* n. sp. (Photographie) 65
Figure 33: *Dicoelophrya mediovacuolata* n. sp. 66
Figure 34: Photographie *de Dicoelophrya mediovacuolata* n. sp 67
Figure 35: Cytosquelette des genres representatifs de la famille des Radiophryidae 70
Figure 36: *Eudrilophrya complanata* de Puytorac et Dragesco, 1970 71
Figure 37: Morphogenèse de bipartition chez *Eudrilophrya complanata* de Puytorac et Dragesco, 1970 72
Figure 38: *Metaradiophrya simplex* n. sp. 74
Figure 39 : Morphogenèse de bipartition chez *Metaradiophrya simplex* n. sp. 75
Figure 40: Photographies de quelques étapes de la mophogenèse de bipartition chez *Metaradiophrya simplex* n. sp 75
Figure 41: Photographies de quelques stades de la conjugaison chez *Metaradiophrya simplex* n. sp 76
Figure 42: *Buchneriella eupolytoreuti* n. sp. 78
Figure 43 : Morphogenèse de bipartition chez *Buchneriella eupolytoreuti* n. sp.. 79
Figure 44: Photographies de quelques stades de la mophogenèse de bipartition chez *Buchneriella eupolytoreuti* n. sp. 80

Figure 45: Arbre phylogénétique de la sous-classe des Astomatia, inférant les séquences de gènes ARN de la petite sous unité ribosomale, selon les méthodes d'inférence bayesienne ; maximum de parcimonie et neihgbor joining. 85
Figure 46: Position de la sous classe Astomatia dans l'arbre phylogénétique inféré des séquences de gènes ARN de la petite sous unité ribosomale, selon les méthodes d'inférence bayesienne ; maximum de parcimonie et neihgbor joining. 86
Figure 47: Evolution du cytosquelette dans la sous famille des Metaracoelophryinae. 93

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification sommaire du sous phylum Ciliophora Doflein, 1901 telle que proposée par Corliss en 1961.. 10

Tableau II : Classification sommaire du phylum Ciliophora telle que proposée par Corliss en 1979. 111

Tableau III : Localisation des sites d'échantillonnage et hôtes des Ciliés étudiés. 28

Tableau IV : Caractérisation morphométrique du cilié astome *Paraclausilocola constricta* nov. gen., n. sp. récolté et imprégné au carbonate d'argent selon la méthode de Fernandez-Galiano 46

Tableau V : Caractérisation morphométrique du cilié astome *Paraclausilocola elongata* n. sp. récolté et imprégné au carbonate d'argent selon la méthode de Fernandez-Galiano 48

Tableau VI : Présentation synoptique des caractéristiques des ciliés des genres *Metaracoelophrya* et *Paracoelophrya* 61

Tableau VII : Présentation synoptique des caractéristiques des ciliés du genre *Dicoelophrya*.....68

Tableau VIII : Répartition des espèces de Ciliés ayant fait l'objet d'une analyse moléculaire 81

Tableau IX : Espèces d'Astomes collectées pour l'extraction du DNA et l'amplification des RNA de la petite sous unité ribosomale.....82

Tableau X : Deux classifications parallèles des Familles dans la Sous-classe des Astomatia, avec en gras les Familles dans lesquelles des genres ont été échantillonnés pour l'étude de la diversité génétique. 83

RESUME

L'étude porte sur la systématique de l'endofaune microbienne des Oligochètes terricoles Megascolecidae et Glossoscolecidae de la région de Yaoundé et ses environs, avec un accent particulier sur l'analyse morphologique et génétique des Ciliés Astomes présents dans leur tractus digestif. Une révision taxonomique de la famille des Radiophryidae de Puytorac 1972 est menée, avec la description de cinq espèces nouvelles de la sous-famille des Metaracoelophryinae de Puytorac, 1972. Elle permet de confirmer d'une part, la présence des genres *Paracoelophrya* et *Dicoelophrya* dans le tube digestif des Oligochètes du genre *Alma* du Cameroun et de confirmer l'homogénéité de ce groupe d'autre part. La question de la parenté phylogénétique des Hoplitophryida est exposée. La diversité d'organisation de l'appareil nucléaire dans le genre *Almophrya* a été étudiée à travers des observations sur ses variations morphologiques après coloration des spécimens au Diamidino Phényl Indol (Johnson et *al*., 1982), au Feulgen ou au carbonate d'argent ammoniacal (Fernandez Galiano, 1994). Une nouvelle espèce d'*Almophrya* à vacuoles axiales est décrite, *Almophrya nkoldaensis* n. sp., imposant une révision des clés d'identification des espèces au sein de ce genre. Bien plus, le processus de morphogenèse de bipartition chez trois espèces d'Astomes a été étudié, montrant diverses variantes de cette division : à côté de la fission binaire classique chez *Eudrilophrya complanata*, la palintomie radiaire et distale chez *Buchneriella eupolytoreuti* n. sp. a été précisée. De plus, le processus de la conjugaison a été exploré chez *Eudrilophrya simplex* n.sp. L'analyse des séquences de gènes RNA de la petite sous unité ribosomale (SSrRNA) chez *Anoplophrya marylandensis* Conklin, 1930 montre l'appartenance de cette espèce d'Astome à la Classe des Oligohymenophora (Affa'a et *al.*, 2004). Cependant, la séquence de gènes d'une seule espèce est insuffisante pour établir avec certitude, les relations phylétiques dans un grand groupe. Par conséquent, nous avons obtenu les séquences de gènes SSrRNA de neuf espèces additionnelles distribuées dans six genres appartenant aux trois ordres de la sous-classe des Astomatia : Hoplitophryida Cheissin, 1930 em., de Puytorac, 1972 ; Anoplophryida Cépède, 1910 et Haptophryida Cépède, 1923. Dans le cadre de l'analyse moléculaire, un nouveau genre de Clausilocolidae de Puytorac *in* Corliss, 1979 est proposé : *Paraclausilocola* nov. gen., avec deux espèces nouvelles : *P. elongata* n. sp. et *P. constricta* n. sp. Ce nouveau

genre est représentatif de l'ordre des Haptophryida. Le cladogramme obtenu montre une forte affinité des séquences des nouveaux Astomes étudiés avec celle d'*A. marylandensis* Conklin, 1930. La branche de l'arbre contenant les Astomes est précise et montre une distance génétique considérable avec les autres sous-classes des Oligohymenophorea. Cet arbre établit les Astomes comme un clade frère des Scuticociliés, confirmant l'hypothèse selon laquelle les Astomes forment une sous-classe monophylétique appartenant à la classe des Oligohymenophora (de Puytorac, 1954 ; Affa'a et *al*., 2004). Dans la sous-classe des Astomatia, nous observons deux branches bien distinctes : l'une avec les genres *Anoplophrya*, *Almophrya* et *Metaracoelophrya*, la seconde avec les genres restants : *Eudrilophrya*, *Metaradiophrya*, *Paraclausilocola* et *Njinella*. Au regard de ce regroupement, les attributions ordinales et les assignations des genres aux familles dans les deux classifications actuelles, celle de de Puytorac (1994) et de Lynn (2008), ne semblent plus respectées.

Mots clés : Ciliés Astomes, Oligochètes, morphologie, morphogenèse de bipartition, diversité génétique, cladistique, DAPI.

ABSTRACT

The study deals with the systematic of the microbial endofauna of terricolous Oligochaeta Megascolecidae and Glossoscolecidae of the area of Yaounde, with a particular emphasis on the morphological and genetic analysis of Astomatous ciliates present in their digestive tract. A systematic revision of the family of Radiophryidae de Puytorac 1972 is carried out, with the description of five new species of the subfamily of Metaracoelophryinae de Puytorac, 1972. It makes it possible on the one hand, to confirm the presence of the genera *Paracoelophrya* and *Dicoelophrya* in the digestive tract of Oligochaeta earthworms of the genus *Alma* of Gabon and Cameroun and to confirm the homogeneity of this group on the other hand. The question of the phylogenetic relationship of Hoplitophryida is raised once more. The diversity of organisation of the nuclear apparatus in the genus *Almophrya* is studied through observations on the morphological variations of the nuclear apparatus after staining of the specimens with Diamidino Phényl Indol (Johnson et *al*., 1982), Feulgen or the ammoniacal silver carbonate (Fernandez Galiano, 1994). A new species is described: *Almophrya nkoldensis* n. sp. Futher more, the process of the morphogenesis of bipartition in three species of Astomes was studied; showing various alternatives of this division, besides traditional binary fission (*Eudrilophrya complanata*), the radiate and distal palintomie in *Buchneriella eupolytoreuti* n.sp.was specified. In addition, the process of the conjugation was explored in *Eudrilophrya simplex* n.sp. The analysis of the RNA gene sequences of small sub unit of ribosomal RNA (SSrRNA) in *Anoplophrya marylandensis* places this species of Astomatous Ciliate in the Class Oligohymenophorea (Affa'a et *al.*, 2004). However, the gene sequence of only one species is insufficient to establish with confidence the phylogenetic relations in a large group. Consequently, we obtained sequences SSrRNA the gene of nine additional species distributed in six genera and the three orders of the subclass Astomatia: Hoplitophryida Cheissin, 1930 em., de Puytorac, 1972 ; Anoplophryida Cépède, 1910 et Haptophryida Cépède, 1923 (1910). A new genus of clausilocolidae de Puytorac *in* Corliss, 1979 is proposed: *Paraclausilocola* nov. gen., with two new species: *P. constricta* n. sp and *P. elongata* n. sp. This new genus is representative of the order Haptophryidae. The phylogenetic tree obtained shows a strong affinity of the

sequences of new Astomatous Ciliates studied with that of *A. marylandensis*. The branch is precise and shows a considerable genetic distance with the other subclasses of Oligohymenophorea. This tree reveals Astomes like a sister clade of Scuticociliates, confirming the hypothesis that Astomes form a monophyletic group belonging to the class of Oligohymenophorea de Puytorac, 1954; Affa'a et *al*., 2004). In the subclass of Astomatia, we find two branches quite distinct: one with the genera *Anoplophrya*, *Almophrya* and *Metaracoelophrya;* the second with the remaining genera: *Eudrilophrya*, *Metaradiophrya*, *Paraclausilocola*, and *Njinella*. Taking into consideration this grouping, ordinal attributions and assignments of the genus to the families in the two current classifications: that of de Puytorac (1994) and Lynn (2008) do not seem supported any more.

Key words: Astome Ciliates, Oligochaeta, morphology, morphogenesis, genetic diversity, cladistics, DAPI.

INTRODUCTION

Au sein des écosystèmes ou au sein des communautés, les organismes entretiennent des relations complexes : prédation, symbiose, commensalisme, parasitisme. Ces relations peuvent être issues d'une longue histoire évolutive (coévolution, cospéciation, cophylogénie) et sont dépendantes des conditions environnementales (écologiques et anthropiques). La compréhension de la nature, la dynamique et l'évolution de ces interactions est indispensables à la gestion de problèmes épidémiologiques (santé animale, santé des plantes, santé humaine). Un autre domaine concerne la maîtrise des adaptations et de l'évolution des traits de vie en relation avec les mécanismes génétiques (Berger, 1978).

La compréhension de ces interactions se fait par l'étude des mécanismes de résistance, de virulence, de spécificité, des interactions parasitaires, symbiotiques ou commensales et de leurs supports fonctionnels. Elle fait appel à des disciplines comme la physiologie, l'immunologie, la biologie évolutive. Ces recherches impliquent le développement de marqueurs génétiques soumis à la sélection et à l'usage d'outils du domaine de la génomique (Berger, 1978).

La systématique permet d'analyser la biodiversité dans sa capacité à distinguer un organisme d'un autre. L'estimation de cette biodiversité par la description et l'identification des espèces est un défi continu. Cette tâche reste d'envergure pour les micro-organismes tels que les Bactéries, les Champignons et les Eucaryotes unicellulaires. Ceci est particulièrement vrai pour les Protozoaires Ciliés, commensaux du tube digestif d'Oligochètes impliqués dans la digestion des sols (Brugerolle, 2006). Les apports des connaissances liées aux avancées techniques ont permis durant ces dernières décennies, une évolution significative de l'étude de la faune du tractus digestif des vers Megascolecidae et Glossocolecidae.

Dans la classe des Oligohymenophora de Puytorac, 1974, les ciliés de la sous classe Astomatia Schewiakoff, 1896 sont caractérisés essentiellement par l'absence d'un appareil buccale. De ce fait, les critères généralement utilisables pour la systématique se focalisent sur les caractéristiques du cinétome et sur celles d'un appareil squelettique lorsqu'il est présent (de Puytorac, 1994).

La diversité des astomes est remarquable en raison de leur présence dans le tube digestif des Oligochètes essentiellement, mais aussi de quelques Polychètes, Triclades, Mollusques et Batraciens. De nombreuses données ont été acquises sur ce phylum (de Puytorac & Schrevel, 1965 ; Ngassam, 1983 ; de Puytorac, 1994).

A côté des Anoplophryida Cépède, 1910 et des Hapotohryida Cépède, 1920 qui en sont dépourvus, les Hoplitophryida Cheissin, 1930 em., de Puytorac, 1972 sont porteurs d'un appareil squelettique au moins présent sur la partie antérieure de la cellule et aboutissant à une pièce en « V ». Dans cet ordre sont incluses les familles des Hoplitophryidae Cheissin, 1930 em., de Puytorac, 1972, Radiophryidae de Puytorac, 1972, Contophryidae de Puytorac, 1972, Maupasellidae Cépède, 1910, Intoshellinidae Cépède, 1910.

Dans la famille des Radiophryidae, aux sous familles Eudrilophryinae, de Puytorac, 1971, Radiophryinae Rossolimo, 1929 emend de Puytorac, 1972, Anthonyellinae de Puytorac, 1972, Metaradiophryinae de Puytorac, 1972, Durchoniellinae de Puytorac, 1972, Acanthodiophryinae de Puytorac, 1972, de Puytorac (1972) a ajouté celle des Metaracoelophryinae.

Cette sous famille des Metaracoelophryinae est caractérisée par un cytosquelette antérieur formé d'un élément en « V » porteur d'un crochet plus ou moins marqué et, sur la face inférieure de la cellule, de fibres squelettiques. Ces dernières s'épaississent sur une partie de leur parcours, en des arceaux qui renforcent les armatures d'une gouttière plus ou moins longue. La ligne antérieure de suture des cinéties se prolonge en deux systèmes sécants. Une aire thigmotactique antérieure peut être présente. Il y a deux à plusieurs systèmes sécants postérieurs. 4 genres ont été décrits : *Metaracoelophrya* de Puytorac & Dragesco, 1968, *Paracoeloprya*de Puytorac, 1969, *Coelophrya* de Puytorac & Dragesco, 1969, *Dicoelophrya* de Puytorac & Dragesco, 1969.

Nous avons repris l'étude des représentants de la sous famille Metaracoelophryinae en examinant le tube digestif des vers Glossoscolecidae *Alma emini* et *A. nilotica*, récoltés dans 3 stations de la région du Centre : Ebebda, Nkolbikobo et Nkolda.

La phylogénie permet de tester de nombreuses hypothèses en utilisant les méthodes de l'analyse comparative, par exemple l'identification des facteurs clés de la diversification, scénarios d'évolution des adaptations et de co-spéciation (Yi et *al.*, 2008).

Les premières analyses phylogénétiques cladistiques chez les Ciliés (Fauré-Fremiet, 1950 ; Corliss, 1961, 1979b ; Jankowski, 1975 ; de Puytorac et *al.*, 1974 ; 1993 ; Lynn, 1976, 1979a, 1981) ont été effectuées à partir des caractères morphologiques et ultrastructuraux. Parallèlement, un autre type de caractère s'est distingué : le caractère moléculaire, c'est-à-dire l'analyse des séquences des macromolécules comme les protéines,

l'ADN (Katz, 2001 ; Katz et *al.*, 2004 ; 2005 ; 2006) ou l'ARN (Lynn et *al.*, 2002 ; 2005 ; 2006).

L'importance des investigations à ces deux niveaux d'analyses : morphologique et/ ou ultrastructural d'une part, et des séquences de gènes d'autre part, réside dans la convergence des révisions de classifications au sein de la sous-classe des Astomatia dans de Puytorac et *al.* (1994) proposent 11 classes alors que Lynn et Small (1997et 2002) en proposent 10. Neuf de ces classes sont pratiquement équivalentes dans ces deux systèmes de classification. Ceci montre dans la plupart des groupes de Ciliés étudiés, que les traits morphologiques ont probablement un déterminisme génétique.

Dans le champ de la protozoologie, la technique de la PCR (Polymerase Chain Reaction) a été utilisée avec succès pour la systématique des Ciliés. Nous pouvons citer les travaux de Kusch et Heckmann (1996), Stoeck et Schmidt (1998), Lynn et *al.* (1999), Chen et *al.* (2000), Chen et Song (2002), Affa'a et *al.* (2004), Zufall et *al.* (2006), Katz et *al.* (2006) et Strüder-Kypke et *al.* (2006). Cependant, en prélude à ces méthodes de la biologie moléculaire, l'utilisation des techniques immunohistochimiques a permis une détermination de base des protozoaires sur le plan de leur organisation structurale et ultrastructurale. De nombreux travaux utilisant cette dernière technique ont été menés pour les Flagellés symbiotes des termites (Brugerolle et Bordereau, 2004 ; Brugerolle, 2006 ; Brugerolle et Radek, 2006).

De nos jours, les analyses moléculaires sur le vaste groupe de Ciliés Astomes sont rares. C'est dans l'optique de combler cette lacune que nous nous proposons d'utiliser des marqueurs appropriés en vue d'étudier la diversité des populations de Ciliés Astomes sur le plan génétique, en comparant leurs séquences de gènes ARNr de la petite sous-unité ribosomale.

L'objectif général de ce travail est l'analyse taxonomique de la diversité des Ciliés Astomes endocommensaux du tractus digestif des Oligochètes terricoles de la région de Yaoundé et ses environs. Le but étant de préciser la position systématique de cette de Sous-classe regroupant les Ciliés dépourvus de bouche au sein de la classe des Oligohymenophora.

Cinq objectifs spécifiques se dégagent :

- étudier la diversité morpho-anatomique ou cytologique à travers les genres représentatifs de la famille des Radiophryidae, avec un accent particulier sur la

topographie du cytosquelette. Cette étude sera faite dans la perspective d'utiliser un caractère morphologique pour inférer la phylogénie.

- étudier les différentes modalités de la division chez les Astomes. L'intérêt étant le suivi de la formation et de la mise en place des structures cellulaires.
- Etudier les variations morphologiques de l'appareil nucléaire dans le genre *Almophrya* à partir de l'échantillonnage des Oligochètes Glossoscolecidae du genre *Alma* récoltés dans deux localités du Centre (Ebebda, Nkolda). Le but étant de savoir si la différence d'aire de répartition impacte cette variabilité.
- séquencer les gènes (ARN) de la petite sous unité ribosomal d'un nombre d'espèces représentatives de la sous-classe des Astomatia, dans la perspective d'établir les relations phylétiques dans ce groupe et de savoir à quelle sous classe il faut les rattacher au sein des Oligohymenophora.

CHAPITRE I :
REVUE DE LA LITTERATURE

I - 1 - Données générales sur les Ciliés

Les Ciliés constituent un groupe monophylétique dont la forte diversité fascine les protistologues depuis les premières observations microscopiques de Leeuwenhoek (1674). Il existe plus de 8000 espèces de Ciliés dont les deux tiers mènent une vie libre et le reste est soit parasite, symbiotique, commensal, ou mutualiste (Lynn, 2008).

Les formes libres peuvent être rencontrées partout dans le monde (Finlay et *al.*, 1998), pratiquement dans tous les habitats où l'eau peut s'accumuler. Les Ciliés sont communs aux sédiments ou au benthos des habitats marins et des eaux douces (Finlay et *al.*, 1998), dans le plancton marin (Pierce et Turner, 1992), les eaux douces (Fenchel, 1987) et dans les sols (Foissner, 1987). Ils sont même retrouvés dans des environnements aux conditions extrêmes tels que les sources chaudes et les courants de glace de l'Arctique et de l'Antarctique. Les Ciliés se trouvent au sommet du réseau trophique microbien : ils se nourrissent de bactéries, de flagellés et du phytoplancton. Ils sont à leur tour consommés par le zooplancton, les méduses et les petits poissons. Ils participent ainsi au transfert d'énergie à travers des chaînes trophiques aquatiques.

Les assemblages uniques de formes commensales sont trouvés dans les microhabitats aussi divers que l'intestin des vers, d'oursins et les ferments digestifs de l'estomac des ruminants.

Les mutualistes ne sont pas très communs: certains nyctothères, qui à leur tour hébergent des bactéries méthanogènes vivent dans le tractus digestif des cafards dont le développement est favorisé par la présence de ces Ciliés porteurs de méthanogènes. Les Ciliés parasites par exemple *Ichthyophthirius* se déplace dans l'épithélium de la peau et les branchies de poissons et cause la maladie dite des taches blanches alors que *Balantidium* peut envahir l'épithélium intestinal des cochons et des êtres humains (Lynn et Small, 1989 ; Lynn et Small, 2002).

I - 1 - 1 - Description et caractérisation sommaire des Ciliés

I - 1 - 1- 1 - Morphologie des Ciliés

Les Ciliés ont trois caractéristiques essentielles :

1- Ils présentent un dimorphisme nucléaire, c'est-à-dire qu'ils ont deux types différents de noyaux dans leur cytoplasme ;

- le macronoyau qui a une activité transcriptionnelle car synthétise l'acide ribonucléique messager (ARNm) qui contrôle les fonctions cellulaires. Le macronoyau contient typiquement plusieurs copies du génome du Cilié qui est habituellement hautement modifié lorsqu'il se développe à partir du micronoyau lors de la conjugaison.
- le micronoyau qui est un noyau diploïde typique des Protistes. Il fonctionne comme le génome : acide désoxyribonucléique (ADN) pour chaque espèce, et subit la méiose pendant la conjugaison.

2- La conjugaison est le second trait distinctif des ciliés. C'est la fusion temporaire de deux individus pendant laquelle les deux partenaires échangent les noyaux gamétiques qui sont les produits de la méiose des micronoyaux de chaque partenaire (Lynn, 2008).

3- Les Ciliés sont typiquement revêtus de cils pendant au moins un stade de leur cycle de développement. Chez certaines espèces, cette ciliature couvre entièrement la cellule ; chez d'autres, les cils forment des organelles ciliaires. Chez quelques espèces sessiles, ces éléments se réduisent à la région orale et au corps (cils somatiques) quand les ciliés se dispersent, alors que chez d'autres espèces sessiles, telles que les Suctorians, les cils sont absents à tous les stades sauf pendant les stades de dispersion.

Ainsi, si un protiste présente ces trois caractéristiques (dimorphisme nucléaire, conjugaison, possession de cils), alors il s'agit d'un Cilié.

I - 1 - 1- 2 - Cycle de développement des Ciliés

Les ciliés ont un cycle de développement qui varie en fonction des stratégies adaptatives des espèces. Le cycle typique des Ciliés a trois phases majeures :

- la croissance et la reproduction : si les conditions sont favorables, les Ciliés se nourrissent, se développent et se reproduisent. Cette reproduction se fait surtout par fission binaire transversale mais rarement longitudinale (cytocinèse et cytodiérèse) avec mitose du micronoyau et bipartition du macronoyau (Raïkov, 1996).
- la conjugaison : très souvent, lorsque les éléments nutritifs deviennent limités, le signal pour que les Ciliés deviennent sexuellement actifs est donné et ces derniers entrent en phase

de conjugaison de leur cycle de développement. Certains généticiens des Ciliés ont su tirer avantage de ce processus pour induire et explorer les processus sexuels en laboratoire.

- l'enkystement et la germination : les Ciliés peuvent subir l'enkystement, en formant une membrane épaisse, sorte de mur protecteur autour de la cellule, qui empêche la dessiccation. Les spores peuvent germer dès lors que les conditions redeviennent favorables (Fig. 1a).

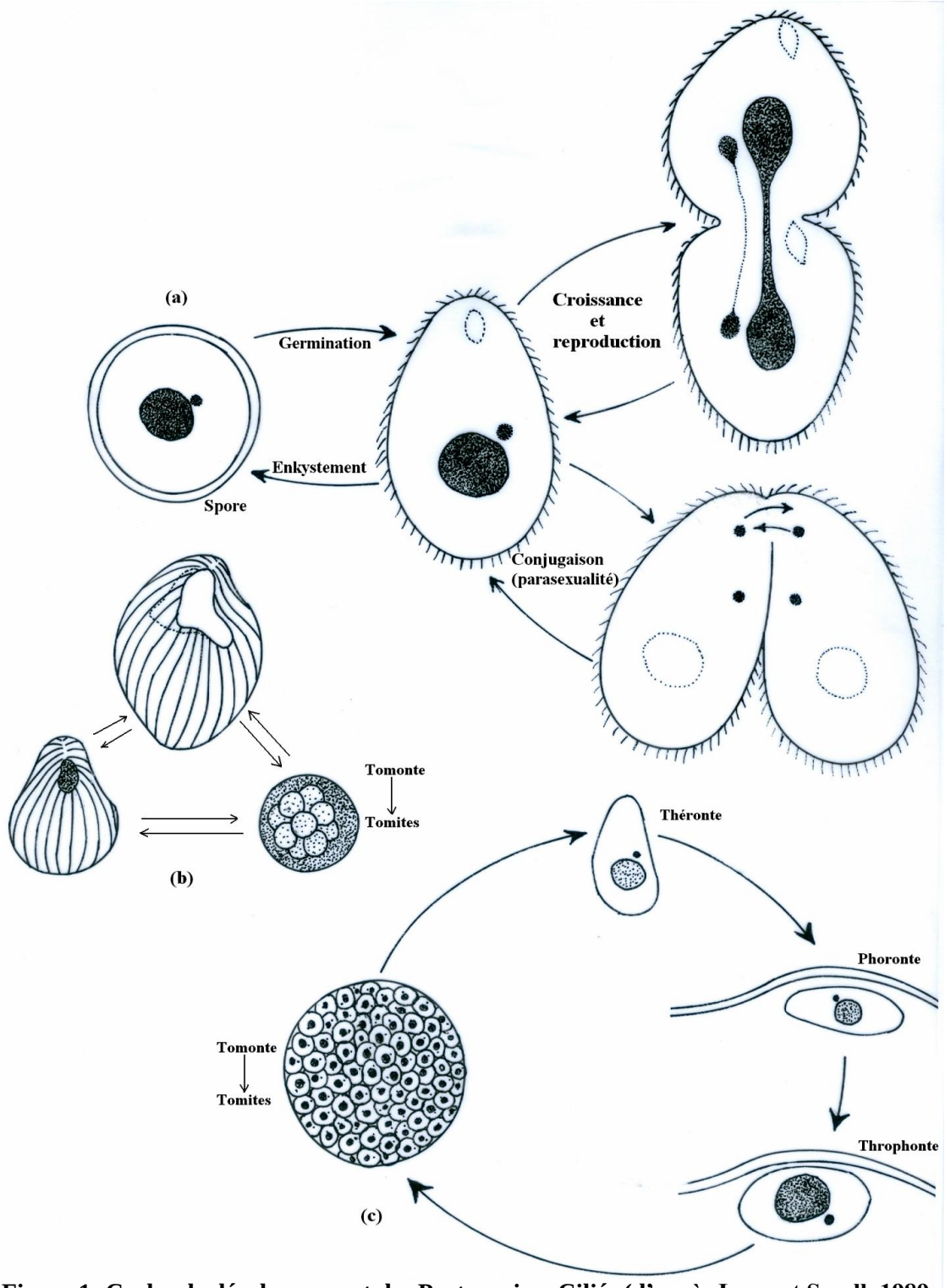

Figure 1: Cycles de développement des Protozoaires Ciliés (d'après Lynn et Small, 1989 et 2002)
(a) : enkystement-germination, croissance et reproduction, conjuguaison ; (b) croissance et reproduction ; (c) : parasitisme.

Il existe plusieurs variations de ce cycle de base (Corliss, 1979 b). Deux types intéressants sont décrits chez *Tetrahymena patula* et *Ichthyophtirius multifilis Tetrahymena patula* de petite taille (microstome) peut se développer en macrostome avec un élargissement de la bouche lorsque les proies de petite taille disparaissent et que celles de grande taille abondent (Fig. 1b). Ils peuvent même devenir cannibales et se dévorer entre eux.

Ichthyophtirius multifilis est un parasite de l'épithélium des poissons. Les spécimens de petite taille sont des chasseurs (thérontes). Ils cherchent un poisson et se loge sous sa peau où, ingérant fluide et cellules, se développent en cellules de grande taille (trophontes). Ces dernièrs quittent le poisson et tombent au fond de l'eau, deviennent des tomontes qui subissent plusieurs divisions, libérant parfois chacune plus de 1000 tomites (Fig. 1c).

I - 1 - 2 - Evolution de la systématique et classifications proposées

La systématique ou étude scientifique des genres, de la diversité des organismes et de tous les types de relations entre eux, peut être considérée comme une discipline de base en biologie (Simpson, 1961). Entre autres, les systématiciens sont intéressés par des modèles inconnus de variation dans les populations naturelles, les mécanismes de spéciation et l'histoire phylogénétique des organismes. Ils sont aussi impliqués dans l'établissement des systèmes de classifications les plus significatives reflétant au mieux les mécanismes évolutifs et leur histoire. La systématique des Ciliés n'est pas en reste dans cette logique.

Diverses approches de la systématique des Ciliés ont fait l'objet de nombreuses études (Berger, 1978 ; Corliss, 1974a, 1976 ; Gates, 1978a). Les approches philosophique et méthodologique de cette diversité nous ont aidés pendant ces dernières années, à une compréhension complète de l'histoire évolutive dans le Phylum Ciliophora Doflein, 1901. L'historique de la systématique des Ciliés est l'histoire d'une science à l'origine consacrée à la comparaison des genres représentatifs des grandes lignées ou unités taxonomiques. Cet historique a été fait par Corliss (1974) ; Corliss et *al.*, (1986) qui considèrent que cette discipline a débuté avec la publication entre 1887 et 1889 des travaux majeurs de Bütschli sur les Protozoaires.

Ces travaux marquent **la période des découvertes (1880-1930)**, pendant laquelle les Ciliés sont étudiés à la lumière de la microscopie photonique et classés initialement sur la base des caractéristiques des infraciliatures buccale et somatique.

Les techniques d'étude cytologiques étaient basées sur les imprégnations et l'observation des Ciliés. Leur maîtrise était des facteurs limitants pour des descriptions morphologiques précises. Cependant, les innovations des techniques d'imprégnations argentiques de Klein (1926) Chatton et Lwof (1930, 1935b), et Gelei et Horváth (1931) ont été les principales techniques qui ont caractérisé la seconde période majeure : **l'âge d'exploitation (1924-1950)**.

Kahl (1930 et 1935) a produit des travaux taxonomiques de poids, avec la description de plus de 3000 espèces pour cette période. Malgré les implications de la microscopie et l'usage des techniques de coloration argentique, les taxonomistes n'ont pas su apprécier leur pertinence jusqu'à ce qu'un ensemble de données descriptives soient accumulées.

Pendant la troisième période majeure : **« l'âge de l'infraciliature » (1933-1950)**, le nombre d'espèces décrites a doublé. Les classifications bien que différentes n'étaient pas plus complexes que les schémas de classification de la période des découvertes. Elles sont basées sur la connaissance de l'infraciliature qui est l'assemblage total des cinétosomes tant oraux que somatiques et leurs structures fibrillaires associées (Pitelka, 1969 ; Corliss, 1979b). La classification reposant sur les caractères infraciliaires et morphogénétiques a été présentée par Chatton et Lwoff (1930 ; 1935b). Fauré-Fremiet (1950 a) a présenté une classification qui a été amendée par Corliss (1956 et 1961). Cette révision montre 15 ordres répartis dans deux sous-classes et réunis dans un sous-phylum Ciliophora (tableau I).

Tableau I: Classification sommaire du sous phylum des Ciliophora Doflein, 1901 selon Corliss, 1961. (L'ordre d'intérêt est encadré).

Ciliophora Doflein, 1901

Classe Ciliata

Sous-classe I. Holotricha

Ordre 1. Gymnostomatida
Ordre 2. Trichostomatida
Ordre 3. Chonotrchida
Ordre 4. Suctorida
Ordre 5. Apostomatida
Ordre 6. Astomatida
Ordre 7. Hymenostomatida
Ordre 8. Thigmotrichina
Ordre 9. Peritrichina

Sous-classe II. Heterotricha

Ordre 1. Heterotrichida
Ordre 2. Oligotrichida
Ordre 3. Tintinnida
Ordre 4. Entodiniomorphida
Ordre 5. Odontostomatida
Ordre 6. Hypotrichida

La quatrième période majeure, **l'âge de l'ultrastructure (1963-1985)**, débute avec une analyse précise de l'ultrastructure des protozoaires où Pitelka (1963), introduit la microscopie électronique comme technique moderne d'étude des Ciliés. Bien que juste une faible fraction des 8000 espèces décrites est examinée en utilisant la microscopie électronique, son impact est substantiel (Corliss, 1979a). L'examen de l'infraciliature en microscopie électronique de quelques genres représentatifs a démontré un certain nombre de modèles d'arrangements fibrillaires associés aux cinétosomes (Lynn, 1991). Ces assemblages appelés cinéties ont actuellement permis la caractérisation des groupes monophylétiques majeurs. La classification selon Corliss (1979) montre un progrès très net dans l'inventaire faunistique des ciliés et organise le phylum des Ciliophora en trois classes subdivisées en 22 ordres (tableau II).

Tableau II: Classification sommaire du phylum des Ciliophora selon Corliss, 1979. (La classe d'intérêt est encadrée)

Phylum des Ciliophora Doflein, 1901

Classe I. Kinetophragminophora

Sous classe (1) Gymnostomata

Ordre 1. Primociliata
Ordre 2. Karyorelictida
Ordre 3. Prostomatida
Ordre 4. Haptorida
Ordre 5. Pleurostomatida

Sous classe (2) Vestibulifera

Ordre 1. Trichostomatida
Ordre 2. Entodiniomorphida
Ordre 3. Colpodida

Sous classe (3) Hypostomata

Ordre 1. Synhymeniida
Ordre 2. Nassulida
Ordre 3. Cyrtophorida
Ordre 4. Chonotrichida
Ordre 5. Rhynchodida
Ordre 6. Apostomatida

Sous classe (4) Suctoria

Ordre 1. Suctorida

Classe II. Oligohymenophora

Sous classe (1) Hymenostomata

Ordre 1. Hymenostomatida
Ordre 2. Scuticociliata
Ordre 3. Astomatida

Sous classe (2) Peritricha

Ordre 1. Peritrichida

Classe III. Polyhymenophora

Ordre 1. Heterotrichida
Ordre 2. Odontostomatida
Ordre 3. Oligotrichida
Ordre 4. Hypotrichida

Les lignées phylogénétiques majeures ont été reconnues principalement par les similarités dans la disposition globale des structures de la région orale avec secondairement des informations fournies par les structures somatiques et nucléaires (Corliss, 1974 ; de Puytorac et *al.,* 1984). C'est ainsi que des noms tels que Spirotriches, Hymenostomes, Astomes dérivent des caractéristiques en rapport avec la structure buccale.

La période actuelle **(1985 à nos jours) peut être considérée comme «l'âge de raffinement »** (Greenwood et *al.,* 1991b). Du moment où la plupart des lignées ont été établies, les interrelations entre elles et les lignées aberrantes existantes demeurent à explorer. Ceci nécessite l'usage des techniques informatiques pour l'analyse des traits morphologiques (Corliss, 1994 ; Lipscomb et Riordan, 1990 ; Lynn, 1979 a, 1979 b ; de Puytorac et *al.,* 1994) et les séquences des acides nucléiques (Baroin et *al.,* 1988 ; Greenwood et *al.,* 1991a ; 1991b ; Lynn et Sogin, 1988 ; Schlegel et *al.,* 1988, 1991). Avec des techniques telles que la PCR « Polymerase Chain Reaction », il sera possible d'accumuler très rapidement, des données des séquences permettant de tester la validité des classifications existantes.

Il existe à ce jour, deux schémas compétitifs pour la classification du Phylum Ciliophora Doflein, 1901, celle de Puytorac (1994), basée pour l'essentiel sur les caractéristiques morphométriques (annexe 1A) et celle de Lynn (2008) qui s'appuie sur la combinaison des analyses cladistiques et phénétiques (annexe 1B).

I - 2 - Evolution de la méthodologie

L'identification des espèces de Ciliés et l'étude des variations intra et interpopulationnelles sont le but premier de leur systématique depuis l'époque de leurs premières observations (Sonneborn, 1939). A partir de 1939, la reconnaissance des espèces cryptiques, c'est-à-dire celles qui sont morphologiquement semblables mais génétiquement différentes, soulève des problèmes pour une identification précise. Malgré cette difficulté, les morpho-taxonomistes continuent à décrire des espèces nouvelles en s'appuyant sur le fait qu'une nouvelle morphologie, différente de celle de toutes les espèces préalablement connues, pourrait être suffisante pour la validité de la nouvelle espèce.

Aujourd'hui, une gamme d'approches et une diversité de techniques rendent possible les descriptions des variations intra et interpopulationnelles et permettent d'analyser ces variations par des procédures objectives afin d'arriver à des conclusions fiables.

Les approches méthodologiques d'études sont abordées à deux niveaux d'analyse : au niveau spécifique et au niveau supra-spécifique.

I - 2 - 1 - Niveau de l'espèce

Curds (1985) note que les Ciliés constituent un groupe taxonomiquement difficile à examiner pour deux raisons essentielles. D'une part, la découverte d'espèces cryptiques (Sonneborn, 1937et 1938), dont la nature même présente un problème pour l'identification. D'autre part, il n'y a pas eu une tradition taxonomique rigoureuse en protozoologie, où les types et les paratypes de matériels biologiques sont déposés dans les muséums. De plus, il n'existe que quelques clés d'identification définitives de genres et d'espèces.

Depuis plus de vingt ans, de plus en plus de taxonomistes déposent les types dans les muséums avec des clés d'identification des genres et d'espèces (Curds, 1975a ; Small et Lynn, 1985). Cependant, les techniques et les approches d'identification des espèces restent diverses.

L'étude des variations au niveau de l'espèce implique classiquement les mensurations des spécimens imprégnés par diverses techniques de coloration. Depuis 1930, ces techniques sont généralement des imprégnations argentiques. Avec l'avènement du traitement informatique des données, un grand nombre de caractères peut être mesuré et comparé entre les populations, utilisant différents types d'analyses statistiques. Finalement, les caractères biochimiques ont été examinés utilisant le polymorphisme des isoenzymes et les caractéristiques des acides nucléiques.

I - 2 - 1 - 1- Morphométrie

Sur le plan statistique, pour savoir si les différences morphologiques entre les populations sont significatives, il faut mesurer et comparer autant de caractères que possible. Berger (1965) était le premier à fournir une description morphométrique détaillée des populations d'*Euplotes* sp. et à utiliser les statistiques pour analyser cette variation. Il a conclu que les populations du tractus digestif de différentes espèces d'Echinoïdes ne variaient pas les unes des autres, indiquant que les microenvironnements de chaque espèce d'hôte, offraient les mêmes conditions de développement et de croissance. Lynn et Berger

(1972 et 1973) produisent d'autres publications sur les variations morphométriques des Echinoïdes endocommensaux, *Plagiopyella* sp. et *Thyophylax* sp., utilisant des techniques statistiques. Ils montrent des corrélations significatives entre beaucoup de caractéristiques morphologiques et enregistrent des différences entre les différentes populations provenant des hôtes différents d'urchinidaes même si les causes de ces différences n'étaient pas déterminées. Les taxonomistes continuent de fournir des caractéristiques biométriques détaillées des espèces (Berger et Foissner 1987, 1989a et b ; Wirnsberger et *al.*, 1986), permettant des comparaisons subséquentes d'espèces nouvelles par d'autres auteurs.

Les études sur des spécimens colorés à l'aide des imprégnations argentiques démontrent l'utilité et la précision soutenue par l'approche morphologique pour la systématique des Ciliés. Il faut cependant noter que les espèces cryptiques ne peuvent pas être identifiées efficacement par des analyses morphométriques.

I - 2 - 1 – 2- Génétique

Deux populations sont considérées comme appartenant à des espèces différentes, si leur évolution aboutit à une isolation reproductive. Les croisements entre ces populations ne peuvent plus produire une descendance fertile ou viable. C'est ce qui pose les bases du concept biologique de l'espèce (Mayr, 1942).

Sonneborn (1937 ; 1938 et 1939) établit que les ciliés peuvent aussi être considérés comme des espèces biologiques en démontrant le phénomène de conjugaison chez des populations cryptiques de *Paramecium aurelia*.

Eliott et Nanney (1952) redécrivent la conjugaison chez *Tetrahymena* sp. alors que Gruchy (1955) est le premier à documenter sur les systèmes de croisement type et la distribution d'espèces d'ancêtre commun pour le complexe *Tetrahymena pyriformis*.

En préparant les Ciliés pour la conjugaison (par privation de nourriture), les appariements peuvent être stimulés expérimentalement et les espèces connues utilisées comme témoins pour identifier les espèces non connues. De nouvelles espèces de *Tetrahymena* sp. (Simon et *al.*, 1985) et *Paramecium* sp. (Aufderheide et *al.*, 1983) ont été identifiées de cette manière. De nouveaux complexes spécifiques ont été aussi découverts chez les *Euplotes* sp. (Dini et Giani, 1985 ; Genermont et *al.*, 1976, 1985 ; Heckmann, 1963, Luporini et Dini, 1977). De plus, des variétés d'études utilisant cette approche pour dresser

la distribution géographique des espèces, ont été utilisées pour les espèces du complexe *Paramecium aurelia* (Komala et Przybos, 1990 ; Przybos, 1993, 1995).

L'approche génétique, malgré sa grande rigueur, est celle qui est recommandée comme contrainte technique de référence et prérequis nécessaire pour l'identification des espèces. La plupart d'espèces morphologiques seraient en fait, des groupes d'espèces cryptiques (Curds, 1985). Si c'est le cas, alors, le problème de l'identification des espèces reste posé.

Les espèces cryptiques peuvent actuellement être identifiées au moyen des techniques biochimiques (isoenzymes) et moléculaires (séquences de nucléotides ou de protéines).

I - 2 - 1 - 3 - Les isoenzymes

Les isoenzymes sont des protéines enzymatiques présentant des différences structurales mais ayant la même fonction enzymatique. Ces différences structurales se traduisent par des vitesses de migration variables sur un gel électrophorétique permettant l'identification des différentes formes ou allèles. Les résultats des études isoenzymatiques ont permis à Sonneborn (1975) de reconnaitre les lignées de *Paramecium aurelia*.

Les isoenzymes mitochondriales et cytoplasmiques pourraient fournir un moyen pratique pour distinguer les entirés morphologiquement semblables (Tait, 1970 ; Allen et *al*., 1971 ; Allen et *al*., 1973 ; Allen et Gibson, 1971).

Allen et *al*. (1983a et b) ont continué cette approche, et ont démontré aussi son utilité pour l'identification des échantillons de *Paramecium jenningsi*, *P. multinucleatum* sp. et *P. caudatum*. Dans la même optique, Allen et Weremuik (1971) démontrent pour la première fois l'existence d'isoenzymes chez les espèces de *Tetrahymena* sp.

Cette approche a aussi été appliquée avec succès pour les Hypotriches et les Stichotriches. Différentes espèces d'Hypotriches comme les Euplotes par exemple ont été caractérisées par différents systèmes d'isoenzymes (Machelon et Demar, 1984 ; Valbonesi et *al*., 1985) utilisés par Schlegel et *al*. (1988), dans des analyses pour montrer qu'elles sont des marqueurs efficaces pour l'identification des espèces. Ammerman et *al.* (1989) ; Steinbrück et Schlegel (1983) ont démontré cette même efficacité pour les espèces de Stichotriches, du genre *Stylonychia*. Le fait remarquable dans l'étude des Ciliés est que la

diversité génétique entre les espèces est très grande et indique une évolution moléculaire rapide des locus de ces enzymes.

I - 2 - 1 - 4 - Séquences des acides nucléiques

De nombreuses études ont été menées pour examiner la diversité des acides nucléiques dans le genre *Tetrahymena* par exemple, Allen et Li (1974) utilisent l'hybridation DNA-DNA pour examiner la diversité moléculaire dans ce genre, avec *Tetrahymena thermophila* comme espèce de référence standard.

Sogin et *al.* (1986 a) ont comparé les séquences d'ARN de la petite sous unité ribosomale (SSrRNA) des espèces de *Tetrahymena* sp. et n'ont enregistré aucune différence entre certaines espèces et parfois jusqu'à 33 différences entre d'autres. Brunk et *al.* (1990) ont comparé les séquences des histones des régions H3II/H4II du génome. Dans ces deux études sus cités, les arbres phylogénétiques obtenus sont comparables et pratiquement superposables à ceux obtenus par des analyses isoenzymatiques. Utilisant *Glaucoma chattoni* comme groupe externe (out-group), Brunk et *al.* (1990) montrent que *Tetrahymena* est un groupe monophylétique. Par ailleurs, l'analyse des séquences partielles dérivant d'une portion d'ARN de la grande sous-unité ribosomale (LSrRNA) suggère que *Tetrahymena* n'est pas un groupe monophylétique (Preparata et *al.,* 1989). Cette conclusion, en opposition avec les résultats obtenus avec les SsrRNA et les régions histoniques s'expliquerait par l'utilisation de séquences partielles dans cette étude.

L'analyse de la diversité des séquences de gènes est rare dans les autres groupes de Ciliés. Ammerman et *al.* (1989) ont montré que le DNA macronucléaire de *Stylonychia lemnae* récolté partout dans le monde avait des séquences similaires et ne présentait des différences que par son degré d'amplification au cours du développement du macronoyau. Est - ce que cette similarité des séquences est maintenue si des gènes spécifiques sont séquencés ?

La diversité moléculaire est plus intéressante lorsqu'elle est soutenue par les regroupements morphologiques sur la base de la ressemblance entre les espèces. Ceci suggère la forte sélection stabilisatrice pour une forme particulière du corps, malgré les diverses voies moléculaires que la forme peut regrouper (Nanney, 1984, 1985 ; Nanney et *al.*, 1998). Les données sur *Tetrahymena* sp. qui est le plus grand ensemble de Ciliés suggèrent qu'une forte sélection stabilisatrice conserve les formes des organismes chez les

ces organisme pendant que l'évolution moléculaire se fait à des niveaux inférieurs de l'organisation biologique.

Les études sur la diversité des séquences dans une espèce et entre les espèces d'un même genre sont rares chez les Ciliés. De ce fait, il est trop tôt pour généraliser l'allure de l'évolution au sein des lignées de Ciliés.

I - 2 - 2 - Niveau supraspécifique

L'histoire de la systématique des Ciliés est celle d'une science originellement dirigée vers les comparaisons des genres représentatifs des grandes lignées phylogénétiques ou unités taxonomiques.

A l'heure où les séquences de nucléotides des genres représentatifs sont utilisées pour tester les différents schémas de classification proposés, la stratégie reste inchangée.

I - 2 - 2 - 1 - Structure morphostatique

De manière classique, la morphologie des Ciliés est étudiée par la microscopie sur des cellules vivantes ou sur des spécimens fixés et imprégnés. Corliss (1961, 1974 et 1979b) a fourni une analyse détaillée de cette approche, cest-à-dire que les lignées phylogénétiques majeures sont reconnues par des analogies dans l'organisation et la disposition des structures de la région buccale, avec des informations secondaires fournies par les structures somatiques et nucléaires. Les noms Spirotriches, Hyménostomes et Astomes, par exemple, dénotent de traits oraux considérables.

Depuis la fin des années 1960 et le début des années 1970, la microscopie électronique a fourni des caractères supplémentaires pour déterminer les relations entre les espèces, incluant les détails des extrusomes (Hausmann, 1978) et la nature spécifique des cinéties somatiques et buccales (Corliss, 1979 a ; Grain, 1969 ; Grain et *al.*, 1976 ; de Puytorac et Grain, 1976).

Lynn (1976, 1979a et 1981) pense que les traits somatiques sont généralement plus stables sur le plan de l'évolution que les caractéristiques buccales, et devraient former les bases fondamentales pour établir des relations phylétiques.

I - 2 - 2 - 2 - Séquences des acides nucléiques

Les grandes différences morphologiques apparentes entre les taxa supérieurs de Ciliés en microscopie optique et électronique traduisent que relativement peu de caractères

sont disponibles pour les réunir en de grands assemblages. Il est présumé que les gènes qu'ils partagent fourniront des données que la morphologie ne peut révéler. Cette présomption souligne l'intérêt de l'analyse des séquences d'acides nucléiques des gènes à ces niveaux taxonomiques.

Les premiers travaux ont utilisé les séquences d'ARN ribosomal 5S et 5,8S (rRNA) pour examiner la phylogénie des protistes (Krishnan et *al.*, 1990 ; Kumazaki et *al.*, 1983 ; Walker, 1985) et les rapports au sein des genres de Tetrahymenidae (Van Bell, 1985). À cause du nombre limité de taxa et les informations encore plus limitées sur ces petites molécules de 120 à 160 nucléotides de longueur, de multiples branches de l'arbre phylogénétique étaient communes (Kumazi et *al.*, 1983 ; Walker, 1985) et il n'y avait habituellement pas de nucléotides permettant les diagnoses des taxons présumés apparentés (Van Bell, 1985).

En gros, plus d'informations ont été obtenues par le séquençage des SsrRNA (small subunit of ribosomal RNA) et des LSrRNA (larg subunit of ribosomal RNA), utilisant soit les gènes clonés (Elwood et *al.*, 1985 ; Sogin et Elwood, 1986 ; Sogin et *al.*, 1986b), soit des transcrits (Baroin et *al.*, 1988 ; Fleury et *al.*, 1992 ; Lynn et Sogin, 1988 ; Nanney et *al.*, 1989a, 1989b ; Preparata et *al.*, 1989).

L'utilisation de la PCR (Medlin et *al.*, 1988 ; Mullis, 1990) a fourni une alternative rapide au clonage, ce qui a permis le séquençage d'une proportion importante de SsrRNA, en utilisant des échantillons avec très peu de Ciliés (Schegel et *al.*, 1991).

Greenwood et *al.* (1991a et 1991b) et Leipe et *al.* (1994), ont utilisé cette approche, étendant les analyses à deux douzaines de genres de Ciliés représentant les classes majeures. Les principales lignées dans l'évolution des Ciliés ont ainsi été confirmées. Les recherches futures, utilisant ces techniques promettent de déterminer le degré de confiance qui peut être placé dans des phylogénies établies en utilisant les traits morphologiques et morphogénétiques.

I - 3 - Phylogénie moléculaire

I - 3 - 1 - Quelques données générales sur la phylogénie

Depuis la seconde moitié du XX^{e} siècle, la classification traditionnelle s'est vue de plus en plus remplacée par la classification phylogénétique, qui est uniquement basée sur le modèle évolutif et la notion d'ascendance commune (ou phylogénie). Les taxons sont

désormais obtenus par la méthode cladistique. Cette nouvelle classification ne valide que des groupes monophylétiques (ceux qui incluent un ancêtre et tous ses descendants) et permet de mieux visualiser les embranchements du vivant constitués par différenciations successives au cours du temps.

La hiérarchie qui fixe de catégories (les rangs taxinomiques : espèce, genre, famille, ordre, classe, phylum) est abandonnée au profit d'un système de taxons emboîtés les uns dans les autres, système exprimé par le biais de cladogrammes. Chaque taxon devient ainsi une ramification de taxons subordonnés entre eux, un clade (Lecointre et Le Guyader, 2001).

La classification traditionnelle en cinq règnes (Animal, Végétal, Protistes, Champignons, bactéries) a été ramenée à 3 clades, les premiers de la classification de l'ensemble du vivant.

- Les Eubactéries sont des organismes unicellulaires à structure procaryote (leur matériel génétique n'est pas enfermé dans un noyau). Ils possèdent une paroi cellulaire constituée de peptidoglycanes.
- Les Archées sont des organismes unicellulaires à structure procaryote. Ils possèdent une paroi cellulaire constituée de lipides spécifiques. D'un point de vue écologique, ce sont souvent, mais pas toujours, des extrémophiles.
- Les Eucaryotes peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires. Leur matériel génétique est enfermé dans un noyau délimité par une membrane. Ils possèdent des mitochondries. La multiplication cellulaire se fait par mitose ; l'ADN est divisé en chromosomes et ils présentent une reproduction de type sexuée (Lecointre et *al*., 1993).

Les premiers travaux de la classification phylogénétique ont d'abord consisté à corriger les taxons de la classification traditionnelle mais en l'état actuel des choses, elle se focalise sur la construction de cladogrammes.

I - 3 - 2 - Position des ciliés dans l’arbre phylogénétique de la vie

Les Ciliés sont considérés comme l'apogée de l'évolution des Eucaryotes unicellulaires (Fig. 2). Ils sont encore l’un des groupes de Protistes hétérotrophes les plus

complexes même si certaines formes sont autotrophes, car ils hébergent des symbiontes photosynthétiques dans leur cytoplasme (exemple : *Mesodinium*, *Stentor polymorphus*).

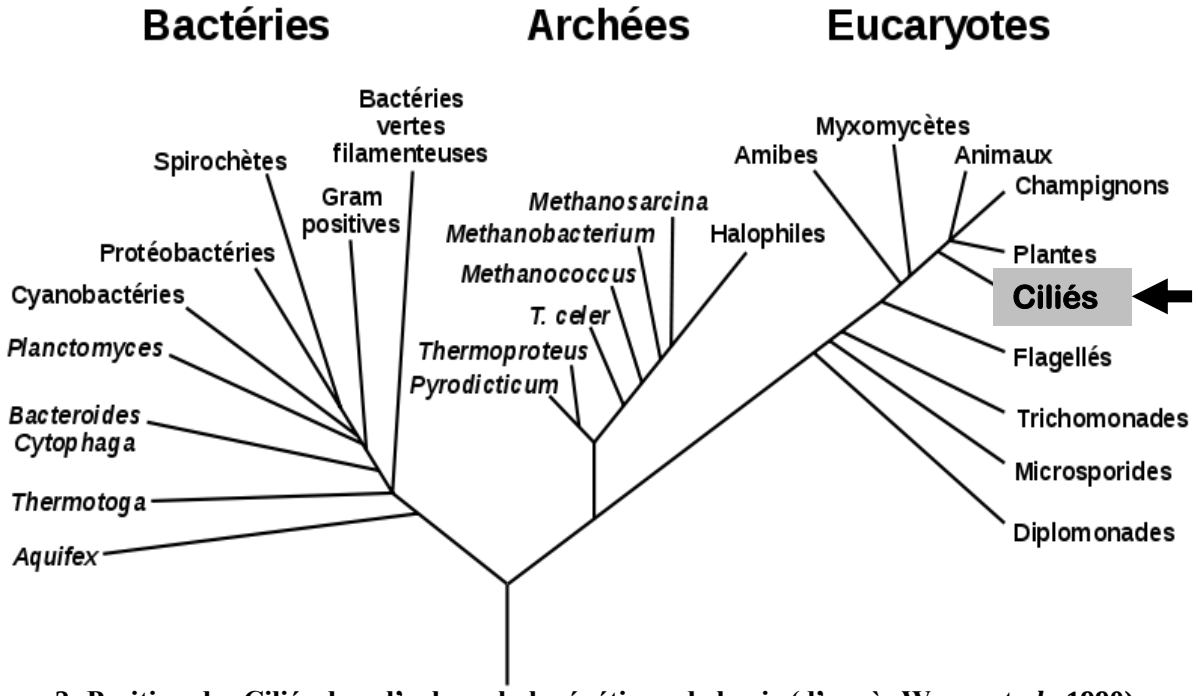

Figure 2: Position des Ciliés dans l'arbre phylogénétique de la vie (d'après Woese et *al*., 1990).

I - 3 - 3 - Quelques principes fondamentaux de la phylogénie

La morphologie a été la première source d'information pour l'établissement de la phylogénie. Si elle reste un outil très puissant pour certains organismes, elle est presque inutilisable chez d'autres comme les micro-organismes. Actuellement les données génétiques accessibles chez tous les êtres vivants sont incontestablement les plus utilisées.

L'universalité du code génétique a conduit à admettre une origine évolutive commune à tous les types cellulaires. La phylogénie moléculaire en se basant sur le génome et non plus seulement sur la morphologie a permis d'accéder aux gènes homologues qui existent même entre organismes très distants. Ces gènes fournissent un ensemble de caractères sur lesquels se fondent les phylogénies moléculaires.

Pour pouvoir comparer entre-eux des organismes et établir leur lien de parenté, on doit disposer de caractères homologues, c'est-à-dire hérités d'un ancêtre commun qui se présentent sous des états différents chez ces différentes espèces. Cela n'est possible que chez des organismes qui ont le même plan d'organisation. Ainsi chez les vertébrés, il n'est pas difficile de reconnaître l'homologie des grandes parties du squelette et de faire des hypothèses sur les modifications survenues dans chacune de ces parties, ce qui permet à la

fois de définir les grands groupes (poissons, oiseaux, amphibiens, mammifères), de suggérer l'ordre dans lequel les modifications se sont réalisées, et de retracer ainsi les ordres d'apparition successive des différents groupes : c'est l'approche cladistique. Quand ces caractères morphologiques n'existent pas, on ne peut qu'identifier des groupes bien différents les uns des autres, au sein desquels les individus sont clairement apparentés, mais entre lesquels on ne sait pas déduire les filiations. Ainsi, il est aisé de distinguer un annélide d'un arthropode ou d'un mollusque ; mais quels sont les deux groupes qui sont les plus proches entre-eux par rapport au troisième? Le problème est plus difficile quand il s'agit de comparer des Protistes entre-eux, et encore plus difficile pour comparer des Bactéries. Les Eucaryotes (animaux, plantes et champignons) semblent donc plus accessibles à la classification que les Procaryotes (Lecointre et *al.*, 1993).

Les génomes des espèces actuelles contiennent des séquences héritées d'un ancêtre commun qui, après spéciation, ont évolué indépendamment les unes des autres. De telles séquences sont dites homologues. Au cours du temps, elles ont subi des mutations qui ont modifié le génome d'un individu. Ces mutations sont dites fixées quand tous les individus d'une même espèce ont acquis ces modifications. Au fil des générations, les substitutions, les insertions, et les délétions se produisent à différents endroits du génome d'un individu, et s'étendent à toute la population par le brassage des gènes assuré par la sexualité.

Si un gène homologue n'a pas trop divergé, on peut reconnaître des similitudes entre les séquences des différentes espèces. L'alignement des séquences (nucléiques ou protéiques) qui permet la mise en évidence de leurs similarités est nécessaire pour trouver des sites homologues. La phylogénie constitue alors le cadre conceptuel permettant d'étudier et comprendre comment ces objets biologiques ont changé au cours du temps. C'est la première étape d'une étude comparative. L'hypothèse de travail est que plus des objets partagent un ancêtre proche, plus leurs séquences se ressemblent. En d'autres termes, plus il faut d'étapes pour passer d'une séquence à une autre, plus leur dernier ancêtre commun est lointain et inversement (Lecointre et *al.*, 2001).

I - 3 - 4 - Conditions du choix et disponibilité d'un marqueur moléculaire

Le choix d'un marqueur moléculaire approprié au groupe taxonomique étudié est un préalable à toute analyse moléculaire de la phylogénie. Les conditions minimales que doivent remplir une molécule pour pouvoir satisfaire les objectifs de la biologie comparative

et de la reconstruction phylogénétique ont été définies (Lecointre, 1993; Lecointre et *al.*, 1993 ; Lecointre et *al.*, 2001) et sont de manière générale:

- L'ubiquité : doit être présente chez tous les organismes étudiés
- L'orthologie : traduit le fait que la similitude observée doit être due à une descendance commune (Fitch, 1970).
- La conservation : doit posséder des régions comparables dont les taux d'évolution ne doivent pas trop différer pour permettre la recherche de sites homologues.

Parmi les molécules disponibles, remplissant les conditions citées ci-dessus, il ya l'ARN ribosomique qui code pour les sous-unités des ribosomes. A ce jour, il a fait l'objet de recherches intensives en phylogénie moléculaire. Les premières études ont porté sur les comparaisons de séquences d'ARN (Hassouna et *al.*, 1984) pour ensuite se consacrer à l'ADN codant pour ces ARN ribosomiques. Les ARN ribosomiques sont codés par une famille de gènes communément appelés ADNr dont les unités de transcription et les régions non transcrites sont présentes dans le génome nucléaire eucaryote en une ou plusieurs centaines de copies (Hillis et Dixon, 1991). Ils sont également présents dans le génome procaryote.

Sur la figure 3 est représentée une unité de transcription et son espace non transcrit pour un eucaryote.

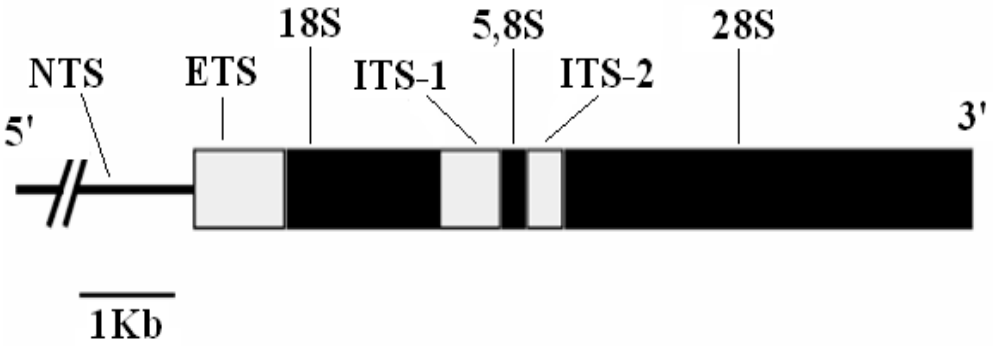

Figure 3: Unité de transcription de l'ADNr des eucaryotes avec son espaceur non transcrit.

NTS: « Non Transcribed Spacer » : espaceur non transcrit ; ETS: « External Transcribed Spacer » : espaceur externe transcrit ; ITS: « Internal transcribed spacer » : espaceur interne transcrit, 18S, 5,8S et 28S correspondent aux gènes codant pour les sous-unités ribosomiques correspondantes. (D'après Hillis et Dixon, 1991).

I - 3 - 5 - Méthodes de construction d'un arbre phylogénétique

Parmi les différentes méthodes disponibles pour inférer des phylogénies, trois principales ont été utilisées. A savoir, le neighbour-joining qui est une méthode de distance,

la parcimonie qui est une méthode cladistique, et le maximum de vraisemblance qui est une une méthode probabiliste.

Les méthodes de distances utilisent une matrice de distances taxon par taxon comme des estimations des distances évolutives le long des branches d'un arbre phylogénétique. La distance évolutive représente la quantité de changements de caractères le long d'une branche particulière. La méthode de neighbour-joining est une méthode de distance ou phénétique basée sur la similitude globale. Plus la ressemblance entre deux taxa est grande, plus la parenté entre eux a des chances d'être proche.

La méthode cladistique de parcimonie utilise une matrice taxa-caractères discrets et recherche l'arbre le plus économique en substitutions. Le ou les arbres sélectionnés le sont en fonction du nombre de changements d'un état de caractère à un autre (pas évolutifs), celui-ci doit être minimal.

La méthode du maximum de vraisemblance se base sur la recherche de la valeur du maximum de vraisemblance des configurations de caractères parmi les séquences étudiées pour un arbre donné et l'on choisit la valeur est la plus grande définies (Lecointre, 1993; Lecointre et *al.*, 1993 ; Lecointre et *al.*, 2001).

I - 3 - 6 - Test de validité des analyses : le bootstrap

Avant toute publication d'arbre on réalise une analyse de sa robustesse. Il y a deux conceptions de la robustesse d'un arbre : celle de utilisée par les biologistes anatomistes et paléontologues d'une part et d'autre part, celle fondée sur un tirage avec remise des caractères utilisée par les statisticiens : **le bootstrap** (Felsenstein, 1985). Par ailleurs, l'indice de Bremer, qui est la conception morphologique de la robustesse est celle où on considère l'arbre le plus parcimonieux obtenu, c'est-à-dire celui qui minimise le nombre de pas évolutifs apparaissant le long de ses branches. Pour un clade donné, on cherche combien de pas évolutifs il faut admettre en plus pour rencontrer parmi les arbres moins parcimonieux un clade qui contredit le clade d'intérêt, c'est-à-dire grossièrement, le nombre de pas évolutifs supplémentaires dans cet arbre moins parcimonieux. Plus il faut admettre de pas et plus l'arbre est solide. Ce nombre de pas est appelé *indice de Bremer*. Sortir un membre d'un clade exigerait beaucoup d'hypothèses de convergence surnuméraires. Autrement dit, le nombre de pas évolutif dans l'arbre moins parcimonieux correspondant à cette hypothèse serait élevé, ce qui renforce d'autant la solidité de l'arbre parcimonieux.

Le *bootstrap*: la conception statisticienne de la robustesse : les biologistes qui produisent des arbres à partir de données moléculaires utilisent des caractères en grand nombre et structuralement pauvres. Il apparaît donc normal qu'ils aient recours à une approche statisticienne. Le bootstrap est une technique d'inférence statistique basée sur une succession de rééchantillonnages (ce qui permet entre autres une très fine analyse de sensibilité).

- Premièrement, on procède à un tirage aléatoire avec remise (un élément tiré est remis en jeu au tirage suivant) des caractères jusqu'à ce que le nombre de caractères tirés soit égal à celui de ceux initialement analysés (Autrement formulé, on tire autant de caractères que l'arbre dont on analyse la robustesse en contient). Il en résulte que lorsque *n* sites ont été tirés parmi *n* sites le jeu artificiel de données est constitué de certains sites en plusieurs exemplaires, tandis que d'autres en sont absents (Darlu et Tassy, 1993).

- Deuxièmement, on construit un arbre à partir de ce jeu artificiel de données. Toutes les méthodes peuvent être utilisées (cladistique, phénétique ou probabilistes).

- Troisièmement, on répète les deux premières étapes, en général 1000 fois pour un arbre de distance et 100 fois pour un arbre de parcimonie. On obtient un grand nombre d'arbres. On regarde le nombre de fois où le regroupement entre les espèces ABC apparaît, le nombre de fois où le regroupement AB apparaît, etc (Felsenstein, 1985).

- Quatrièmement, le résultat est représenté sous la forme d'un arbre consensus dans lequel figurent les regroupements majoritairement apparus. Chaque regroupement possède un pourcentage qui indique la proportion d'arbres issus des tirages qui le représentent. En d'autres termes, ce pourcentage est le nombre de fois où chaque regroupement de l'arbre testé apparaît dans les arbres du *bootstrap* rapporté au nombre de tirages effectués. Toute autre topologie que celle représentée dans l'arbre consensus est apparue avec un pourcentage inférieur. Plutôt que de tracer un arbre consensus, on peut reprendre l'arbre originel et poser sur les noeuds (c'est-à-dire sur les regroupements de taxons étudiés) leurs valeurs de *bootstrap*.

En somme, les quatre étapes principales à franchir pour la construction d'un arbre phylogénétique sont résumées à la figure 4.

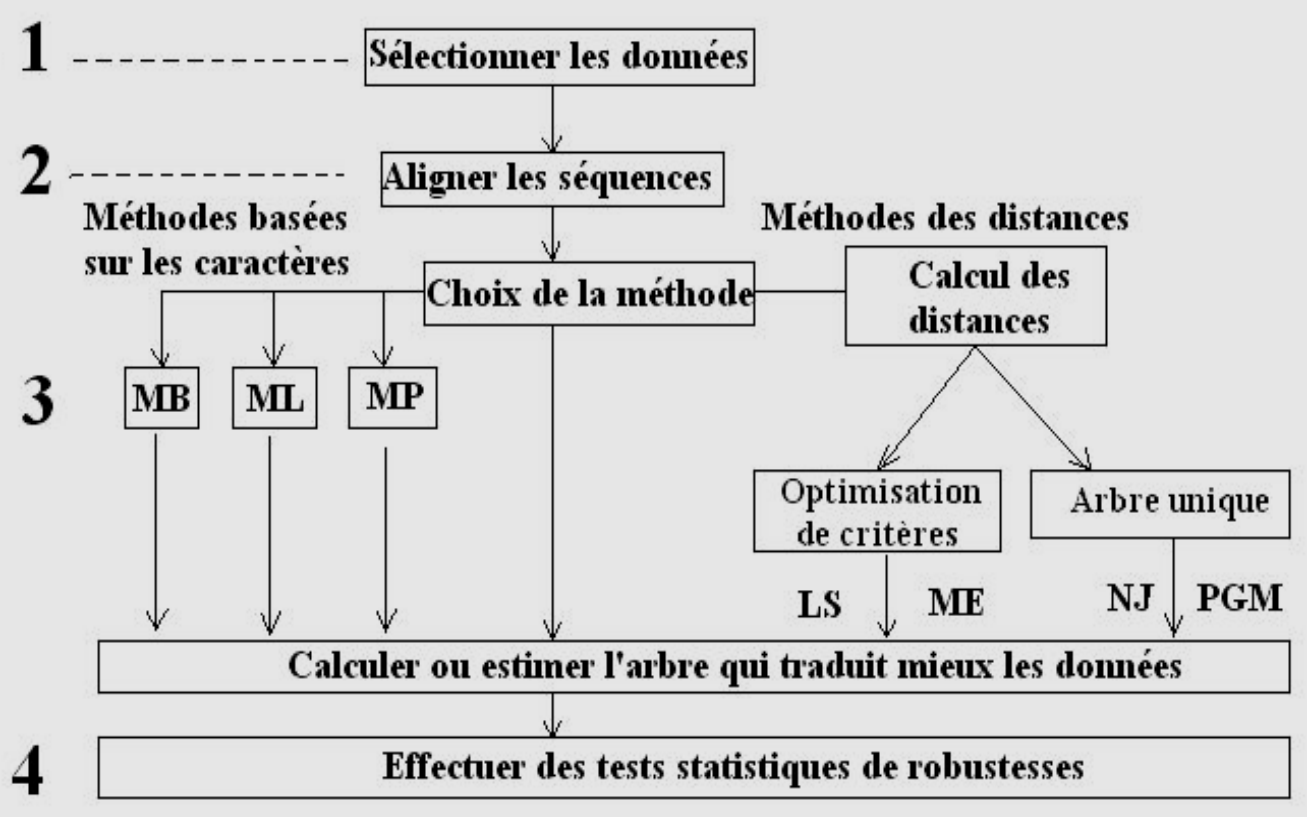

Figure 4: Schéma résumant les grandes étapes d'une analyse phylogénétique (d'après Hillis et *al.*, 1996). MB : Méthode Bayesienne ; ML : « maximum likelihood » = maximum de vraissemblance ; MP : Maximum de Parcimonie ; LS : « Least Square » ; ME : Minimum d'Evolution ; NJ : « Neighbor Joining » ; PGM : « Pair Group Method ».

I - 4 - Symbiose et parasitose

Des bactéries symbiotiques, non envacuolées, sont fréquentes dans le cytoplasme de la plupart de Ciliés du tube digestif des annélides Oligochètes. Dans la sous-classe Astomatia, elles sont constantes dans le cytoplasme de *Mesnillela* Cépède, 1910 et de *Hoplitophrya* Stein, 1859. Elles sont fréquentes chez certaines espèces d'*Anoplophrya* Stein, 1860 et de *Maupasella* Cépède, 1910. Ce sont des cocci ou des bacilles qui seraient spécifiques d'astomes qui en sont pourvues. Elles sont situées dans l'endoplasme et, en particulier, autour des vacuoles. Certaines ont été observées dans le macronoyau chez *Metaradiophrya* Heidenreich, 1935 et *Mesnilella* Cépède, 1910 (de Puytorac, 1994).

CHAPITRE II :
MATERIEL ET METHODES

II - 1 - Situation géographique et localisation des sites prospectés

Les vers qui hébergent les ciliés décrits ou redécrits dans le cadre de ce travail ont été récoltés principalement dans quatre stations de la région du centre du Cameroun (Fig. 5, tableau III), identifiés selon les clés de Sims (1980) et conservés dans la terre humide pendant une semaine au maximum pour éviter la défaunation. La période d'échantillonnage se situe entre 2007 et 2008.

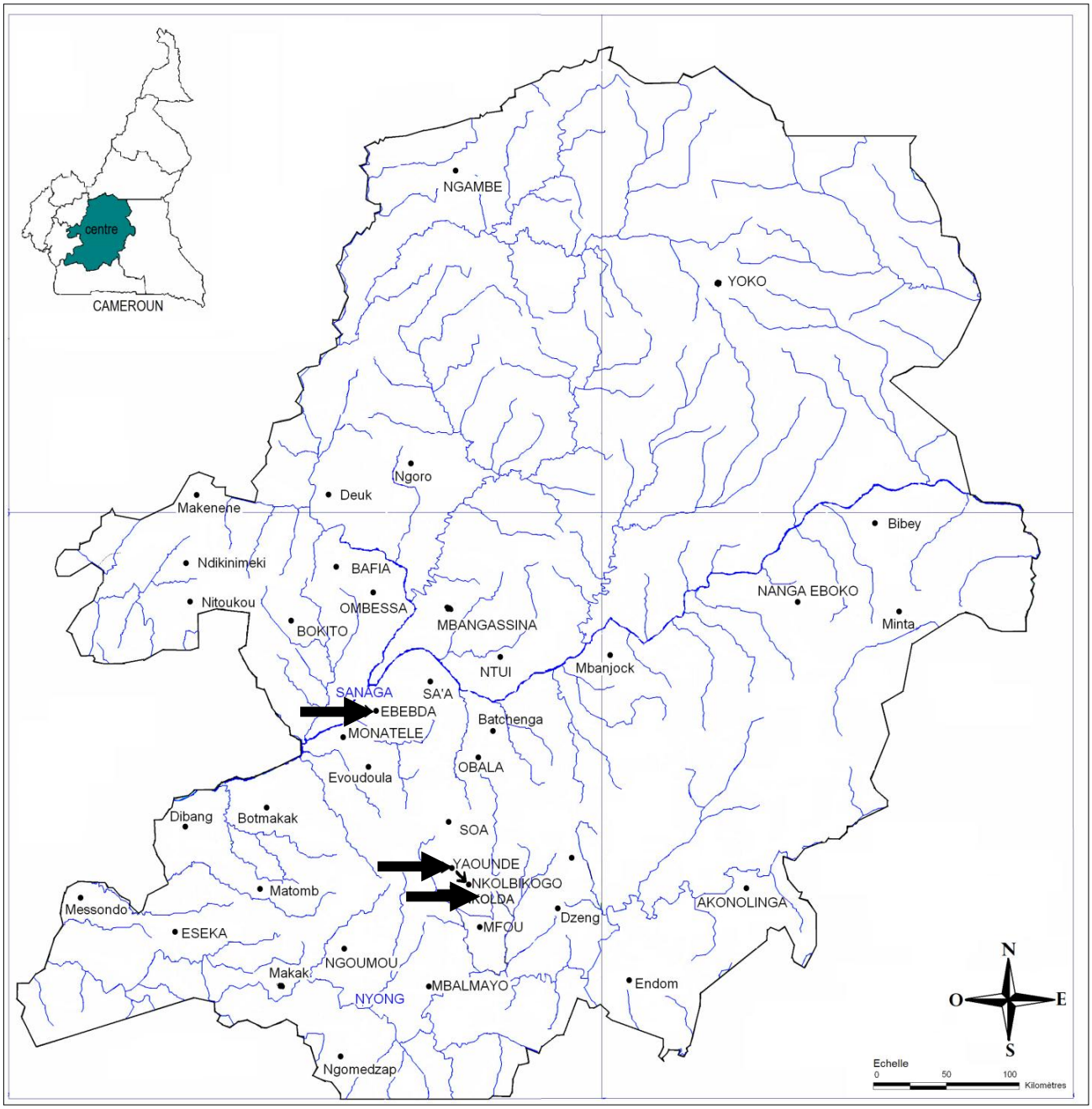

Figure 5: Réseau hydrographique de la région du centre du Cameroun. Les flèches indiquent les stations de récolte. Source : Institut National de Cartographie (modifié, 2011).

Tableau III : Coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage et hôtes des Ciliés étudiés

Localités	Coordonnées géographiques	Oligochètes hôtes
Ebebda (Sanaga)	11°30' - 11°50' E ; 4° - 4°30' N	Glossoscolecidae (*Alma emini* et *Alma nilotica*
Nkolbikogo et Nkolda (Mya, Mfoundi)	11°30' - 11°70' E ; 3°65' - 4° N	Glossoscolecidae (*Alma emini* et *Alma nilotica*)
Ngoa-ékélé	11°04' - 11°30' E ; 3°30'- 4° N	Megascolecidae (*Eupolytoreutus* sp.)
Ngousso-ntem	11°04' - 11°30' E ; 3°30'- 4° N	Lumbricidae (*Lumbricus* sp)

II - 2 - Matériel biologique examiné

Selon la clé d'identification de Sims (1980), les Oligochètes disséqués appartiennent à deux catégories écologiques distinctes :

- d'une part, les vers épigés dont l'habitat est réduit à la partie superficielle et humide du sol. Ils appartiennent à deux familles dont les Megascolecidae et les Lumbricidae (Fig. 6A, B). Les Megascolecidae sont représentés par le genre *Eupolytoreutus* sp. Les spécimens récoltés ont un poids moyen de 1,09 g et mesurent en moyenne 15,25 cm en extension. Ils sont rougeâtres et portent un clittelum antérieur aux segments très peu distincts des segments somatiques (Fig. 6A). Les Lumbricidae récoltés appartiennent au genre *Lumbricu*s sp. Ils ont un poids moyen de 0,86 g et mesurent en moyenne 11,42 cm en extension. De coloration plutôt blanchâtre, ils portent antérieurement un clittelum rosacé et très épaissi, nettement distinct des autres segments du corps (Fig. 6B). Les récoltes de ces vers ont été faites dans différents stations de Yaoundé, dans les quartiers : Ngoa Ekélé et Ngousso-ntem. Ils sont prélevés dans la litère en décapant le sol humide à l'aide d'une tige rigide,

- d'autre part, les vers anéciques qui affectionnent les sites hydromorphes permanents et creusent des galeries profondes dans le sol. Leur présence est extérieurement marquée par la présence des déjections qu'on observe sur les berges sous forme de tortillas. Ce sont essentiellement les Oligochètes Glossoscolecidae, appartenant au genre *Alma*. Deux espèces ont été étudiées : (Fig. 6C, D).

Figure 6 : Hôtes des Ciliés étudiés. A : Megascolecidae du genre *Eupolytoreutus* ; B : Lumbricidae du genre *Lumbricus* ; C: Glossoscolecidae de l'espèce *Alma emini* (fraîchement récoltés) ; D: Glossoscolecidae de l'espèce *Alma nilotica*.

Clit : clitellum ; Gl cal : glande calcifère ; Pros : prostomium ; pyg : pygidium.

- *Alma emini*, a en moyenne 31 cm de long en extension et pèse 8 g en moyenne. Ils creusent des galeries profondes au fond desquelles ils se réfugient à la moindre secousse du sol. Ils sont blanchâtres (Fig. 6C). Les plus developpés atteignent parfois plus du demi-mètre (ce sont des *Alma* de grande taille).
- *Alma nilotica* (Fig. 6D) dont les spécimens mesurent en moyenne 18 cm de long et pèsent 2,38 g. Ils sont localisés plus en surface et prennent une teinte noirâtre mimant la couleur de la vase (ce sont des *Alma* de petite taille).

Les vers Glossoscolecidae sont récoltés en réalisant à l'aide d'une pelle bêche des saignées profondes et rapides dans le sol, à proximité des tortillas, le long des berges du fleuve Sanaga à Ebebda, dans les parties émergées du lit de la rivière dénommée « Mya » à Nkolbikogo (axe Yaoundé - Mfou) et à Nkolda sur l'axe routier Yaoundé - Mbalmayo. Ces Oligochètes montrent cependant des variantes liées au site de prélèvement.

Les vers récoltés sont transportés au laboratoire dans une boîte en polyéthylène avec de la terre humide ou de la vase (Fig. 6C).

II - 3 – Méthodes d'étude

II - 3 – 1- Dissection des vers et prélèvement des Ciliés

Les vers ramenés au laboratoire sont soigneusement lavés à l'eau du robinet. Des fragments du tube digestif sont dilacérés dans une boite de pétri contenant du liquide physiologique de Ringer ou de l'eau minérale de commerce Supermont dont la composition chimique est la suivante : Bicarbonate HCO^-_3 128,0 mg/L, Chlorure Cl^- 2,1mg/L ; Sulfate SO_4^- 1,0 mg/L ; Nitrate NO^-_3 4,1 mg/L ; Calcium Ca^{++} 16,0 mg/L ; Magnésium Mg^{++} 10,2 mg/L ; Potassium K^+ 5,2 mg/L et Sodium Na^+ 12,7 mg/L.

II - 3 – 2- Observation sur le vivant

Un premier examen à la loupe binoculaire Wild M5 permet d'avoir une idée sur la composition de la microfaune, l'aspect morphologique des ciliés, leur mobilité et leur capacité à adhérer ou non au substrat.

Les ciliés sont ensuite triés à l'aide d'une micropipette. Quelques-uns sont observés au microscope sans coloration ou après action des colorants vitaux (Rouge neutre, bleu de

Crésyl) qui permettent de mettre en évidence le nombre et la disposition des vacuoles pulsatiles.

II - 3 – 3- Observations sur les spécimens fixés et colorés.

- Imprégnation au carbonate d'argent selon Fernandez Galiano (1966 et 1994)

Les Ciliés sont triés délicatement à la micropipette sous une loupe binoculaire Wild M5 puis fixés au formol à 10% pendant 20 minutes. Vingt-cinq gouttes de protéose peptone à 5% y sont ajoutées. Après 5 minutes, quatre gouttes de pyridine pure sont ajoutées au mélange. Cette solution prend un aspect blanc laiteux après adjonction de 2 ml de carbonate d'argent ammoniacal. Le tout est porté au bain-marie à 40°C. La solution vire progressivement et prend la coloration ambre (cognac). L'imprégnation est stoppée à l'aide de l'hyposulfite de sodium 10% à froid. Trois rinçages sont effectués à l'eau de robinet. Les ciliés colorés sont prélevés à la micropipette sous une loupe et montés entre lame et lamelle. L'observation est faite au microscope photonique Olympus BH-2. Les dessins sont réalisés au microscope optique Wild M 20 équipé d'un tube à dessin et leurs mensurations obtenues à l'aide d'un micromètre objectif. Les données morphométriques sont obtenues à partir de l'observation de 30 individus de chaque espèce**.** Les photographies sont réalisées soit au microscope optique à lumière directe Olympus BH-2 équipé d'une cellule photographique, soit au microscope optique à fluorescence équipé d'un appareil photo numérique.

<u>Modification complémentaire de la technique</u>

Les Ciliés colorés sont rincés délicatement à l'eau distillée c'est-à-dire 3 fois par aspiration de l'eau dans une salière. Sur une lame préalablement dégraissée, on dépose une goutte contenant les spécimens colorés et l'on aspire entièrement l'eau à la micropipette. L'on procède à l'enrobage des ciliés imprégnés en y ajoutant une microgoutte d'albumine glycérinée fraîchement préparée, puis on sèche rapidement la lame sur la flamme d'un bec Bunsen ou sur une plaque chauffante. Le montage se fait au baume de Canada.

Ce complément technique de la méthode de Fernandez Galiano permet de réaliser des préparations permanentes et la conservation des spécimens.

- Coloration des noyaux au DAPI et observation au microscope optique à fluorescence

Le DAPI ou Di Aminido Phenyl lndol est un colorant utilisé en cytochimie. Il se fixe spécifiquement sur l'ADN. Eclairé en lumière violette (max 372 nm), il émet une fluorescence bleue (max 456 nm).

Le microscope doit être équipé d'un jeu de filtres correspondant aux caractéristiques du fluorochrome (Fig. 7) c'est-à-dire

- un filtre d'excitation permettant la sélection des radiations absorbées par le fluorochrome (environ 380 nm),
- un miroir dichroïque réfléchissant les radiations absorbables vers l'échantillon et ne laissant passer par transmission que les radiations bleues (>400 nm),
- un filtre d'émission ne laissant passer par transmission que les radiations bleues (>400 nm).

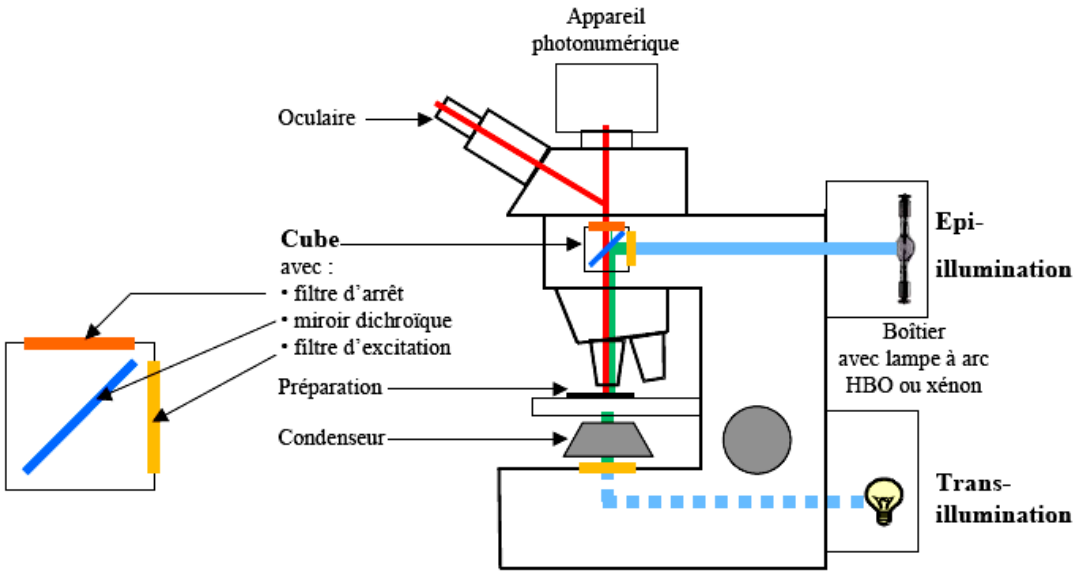

Figure 7: Schéma du principe de fonctionnement d'un microscope à fluorescence (d'après Jean-Claude Garaud et Guy Roussel, 2004).

Les Ciliés vivants sont triés délicatement à la micropipette et mis en salière, ils sont rincés trois fois au PBS (Phosphate Buffered saline), puis fixés au paraformaldéhyde (PAF) 4% ou au glutaraldéhyde 2,5% pendant 15 minutes à température ambiante. Les cellules sont encore rincées 3 fois au PBS ; elles vont être gardées dans du PBS à 4°C avant le marquage au DAPI.

On prépare une solution de DAPI à partir de la solution mère (1mg DAPI/1ml H_2O) en diluant extemporanément au 1/100e dans du PBS et en incubant les lamelles dans 300 HL

de solution (pour des plaques 24 puits) 10-15 minutes, à température ambiante et à l'abri de la lumière. On rince 3 fois au PBS et une fois à l'eau pour éviter une précipitation des cristaux de PBS. On fixe les lamelles sur une lame de verre avec une goutte de milieu de montage Fluoprep et on laisse une nuit à 4°C pour le séchage (Johnson et *al*., 1982). On observe les préparations au microscope à fluorescence avec filtre UV (excitation 358 nm, émission 461 nm).

Le microscope confocal est une évolution du microscope à fluorescence. En effet, un équipement confocal est adapté au statif du microscope à fluorescence. Le contraste et la définition des images sont donc bien meilleurs que pour un microscope à fluorescence classique. Notons que les images de microscopie confocale à balayage laser peuvent en plus être améliorées par déconvolution. Il s'agit d'une méthode de traitement des images par un logiciel adapté.

II - 3 – 4- Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Dans son principe, la surface de l'échantillon examiné est balayée par un faisceau d'électrons générés par la sonde électronique du microscope électronique à balayage (MEB).

Les nouveaux MEB entièrement pilotés par ordinateur permettent une résolution de 3 à 20 nm, sous une tension d'accélération de 200 V à 30 kV, sous pression modulable entre 10 et 400 Pa (extension à 3000 Pa), avec une gamme de grandissement de 5 à 1.000.000 X. Son usage est essentiellement l'examen topographique des échantillons permettant d'obtenir des images et des informations sur la morphologie.

Le protocole consiste à prélever les ciliés à la micropipette, les laver soigneusement dans le liquide physiologique de Ringer ou dans de l'eau minérale (supermont ou volvic). Les Ciliés sont fixés pendant 45 minutes dans du Glutaraldéhyde 2% dans un tampon cacodylate de sodium 0,05 M à pH 7,2. Après rinçage dans le tampon, ils sont post-fixés au tétroxide d'osmium 1% dans le même tampon pendant une heure. Procéder ensuite à la déshydratation dans des bains d'éthanol de degré croissant c'est-à-dire 30°, 50°, 70°, 80°, 95°, absolu et au séchage par passage au point critique. On colle les cellules sur des supports métalliques à l'aide d'une laque d'argent et on recouvre d'or par pulvérisation cathodique. Les observations se font au microscope électronique à balayage ISI DS 130.

Il est à noter que les échantillons peuvent normalement être conservés dans le fixateur si la suite du traitement ne peut être effectuée immédiatement. En effet après

fixation, la suite de la manipulation a été effectuée au laloratoire génome et environnement de l'Université Blaise Pascal de Clermont Ferrand (France).

II - 3 – 5- Etude moléculaire

– Extraction, amplification par PCR et séquençage

Les Ciliés Astomes sont triés à l'aide d'une micropipette, rincés dans du liquide physiologique de Ringer ou de l'eau minérale Supermont et fixées dans de l'éthanol à 70%.

L'ADN est extrait des cellules fixées en suivant la méthode de Chelex modifiée par Strüder-Kypke et Lynn (2003) ou par le kit « DNEasy Tissue » (Qiagen, Mississauga, ON, Canada) suivant le protocole du fabricant. Pour la méthode de Chelex, 70-100 µl de solution de Chelex® 100 à 5% (w/v) (Sigma, Oakville, ON, Canada) et 5 à 10 µl de Proteinase K (50 mg/ml; Madison, WI, USA) sont ajoutés aux cellules. Après centrifugation, 4 µl de surnageant sont utilisés dans les réactions subséquentes de PCR.

L'amplification par PCR du gène SSrRNA et des régions ITS1, 5.8S et ITS2 a été exécutée dans un thermocycler ABI 2720 (Applied Biosystems Inc., Foster City, California, USA). Les amorces utilisées sont : l'amorce A « sens », universelle des eukaryotes : (5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3', Medlin et *al*., 1988) ; l'amorce interne 82F « sens » : (5'-GAAACTGCGAATGGCTC-3') et l'amorce « anti-sens » LSUR : (5'-GTTAGTTTCTTTTCCTCCGC-3', Bourland et Strüder-Kypke 2010). Les produits PCR sont purifiés sur un gel d'agarose utilisant le kit de MinElute (Qiagen, Mississauga, ON, Canada) suivant le protocole du fabricant. Le séquençage dans les deux directions a été fait avec des amorces d'amplification et quatre amorces internes (Elwood et *al*., 1985) dans un « DNA Analyzer 3730 » (Applied Biosystems Inc., Foster City, California, USA), utilisant le Prisme « ABI BigDye Terminator (ver. 3.1) » et un « Cycle Sequencing Ready Reaction kit ».

Toutes les séquences sont introduites dans le « Sequencher. 4.0.5 (Gene Codes Corp.) » et garnies à leurs extrémités puis assemblées pour vérifier les erreurs de séquençage.

Les séquences du gène SSUrRNA (small subunit ribosomal RNA) sont introduits dans un éditeur comparatif de séquences approprié (DCSE Dedicated Comparative Sequence Editor; De Rijk and De Wachter 1993), et automatiquement alignées sur les

séquences de gènes de l'espèce d'astome *Anoplophrya marylandensis* Conklin, 1930, avec une attention particulière aux caractères des structures secondaires de la molécule. L'ensemble des données utilisées pour des analyses phylogénétiques dans la classe des Oligohymenophora est composé de 54 espèces et de 1696 positions.

Les séquences nucléotidiques supplémentaires des espèces de Ciliés de la classe des Oligohymenophora utilisées dans l'analyse sont disponibles sur GenBank/ EMBL databases. Les positions hypervariables ont été exclues des données préparées pour analyse phylogénétique.

II - 3 – 6- Construction d'un arbre phylogénétique

La phylogénie a été construite en utilisant plusieurs méthodes : l'inférence bayesienne, le Neighbor-joining, le maximum de vraisemblance et le maximum de parcimonie.

Le logiciel PHYLIP ver. 3.67 (Felsenstein, 2005) a été utilisé pour construire une matrice de la distance, en utilisant DNADIST pour calculer des distances génétiques avec le modèle « Kimura-2-parameter » (Kimura 1980).

Les arbres de distance ont été construits en utilisant l'algorithme de Neighbor Joining (NJ) (Saitou et Nei 1987).

Comme principal test de validité des analyses, le bootstrap (Felsenstein, 1985) a été choisi.

CHAPITRE III :
RESULTATS ET DISCUSSION

III-1- RESULTATS

III-1-1- Etude morphologique des différentes espèces récoltées.

III-1-1-1- Famille des Anoplophryidae Cépède, 1910.

Caractérisée par des cinéties nombreuses, serrées se raccordant à lavant de la cellule par une longue ligne de suture.

III-1-1-1-1- Genre *Anoplophrya* Stein, 1860.

La ligne antérieure de suture des cinéties dessine un arc biconvexe, plus ou moins décalé sur la face inférieure. Il n'ya pas d'accroisse ment du nombre des cinéties par délinéation sur les faces latérales.

III-1-1-1-1-1- *Anoplophrya marylandensis* Conklin, 1930.

Ce Cilié appartient à l'ordre des Anoplophryida Cépède, 1910, à la Famille des Anoplophryidae Cépède, 1910, la Sous famille des Anoplophryinae Cépède, 1910 em. de Puytorac, 1970 et au Genre *Anoplophrya* Stein, 1860. Selon la description de de Puytorac, 1954, ce cilié infeste fréquemment et abondamment les parties antérieure et moyenne des vers *Helodrilus caliginosus*. Le corps est peu aplati et parfois pointu à son extrémité antérieure. *A. marylandensis* se distingue de la plupart d'*Anoplophrya* par sa petite taille elle mesure 40 µm à 70 µm de long et 24 à 35 µm dans sa plus grande largeur. Elle a 17 à 23 µm d'épaisseur maxima. Il y a 60 stries ciliaires dont 32 dorsales et 28 ventrales (Fig. 8).

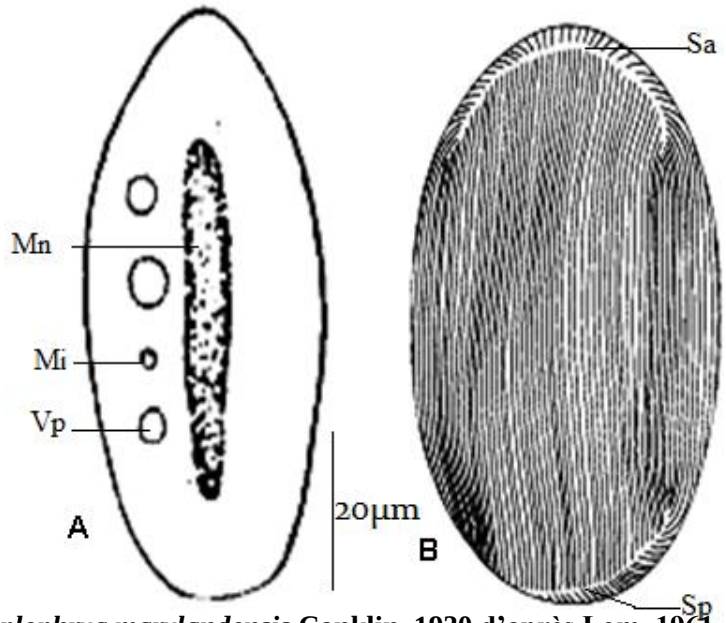

Figure 8 : ***Anoplophrya marylandensis*** **Conklin, 1930 d'après Lom, 1961.**

A : morphologie générale ; **B** : ciliature somatique

Mi : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : Vacuole pulsatile ; **Sp** : ligne de suture postérieure ; **Sa** : ligne de suture antérieure.

III-1-1-1-2- Genre *Njinella* Ngassam, 1983

La topographie ciliaire montre des systèmes sécants qui se prolongent peu sur la face supérieure. La ligne antérieure de suture des cinéties est limitée au côté droit de la cellule.

III-1-1-1-2-1- *Njinella prolifera* Ngassam, 1983

La cellule est ovalaire et légèrement allongée, montrant un aplatissement dorso ventral très net. Le macronoyau, à contours irréguliers, large est allongé dans l'axe antéropostérieure de la cellule. Le micronoyau a la forme d'une lentille biconvexe, toujours situé au niveau équatorial de la cellule (Fig. 9). Il y a 13 à 20 vacuoles contractiles disposées sans ordre apparent autour du macronoyau, dans les 3/4 postérieurs de l'infusoire.

143 à 164 cinéties longitudinales recouvrent uniformément la cellule. Le raccord antérieur des cinéties dorsales et ventrales dessine à droite un système sécant assez banal situé sur la face inférieure dont la topographie ciliaire est par ailleurs compliquée, à gauche par une longue ligne de sécance médio-postérieure (Ngassam, 1983).

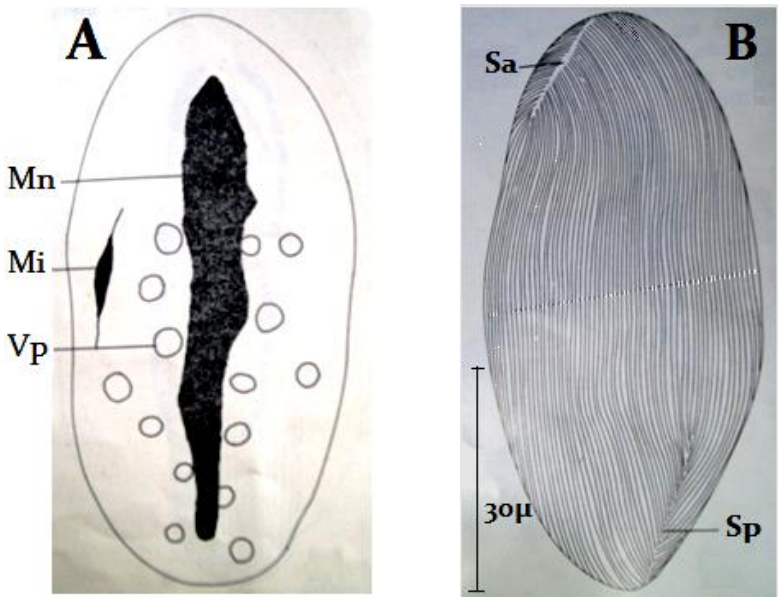

Figure 9 : ***Njinella prolifera*** **(d'après Ngassam, 1983)**

A : morphologie générale ; **B** : ciliature somatique

Mi : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : Vacuole pulsatile ; **Sp** : ligne de suture postérieure ; **Sa** : ligne de suture antérieure.

III-1-1-1-3- Genre *Almophrya* de Puytorac et Dragesco, 1968

Ces Ciliés sont caractérises par une longue ligne antérieure de suture des stries ciliaires se terminant par par deux systèmes sécants et deux zones latérales de de

délinéation. Le macronoyau axial a une forme en H ou en X. Les trois espèces connues dans ce genre sont :

Almophrya bivacuolata de Puytorac et Dragesco, 1968

Almophrya mediovacuolata Ngassam, 1983

*Almophrya laterovacuolata*de Puytorac et Dragesco, 1968

III-1-1-1-3-1- *Almophrya bivacuolata* de Puytorac et Dragesco, 1968

L'appareil nucléaire d'*Almophrya bivacuolata* présente toujours un micronoyau et un macronoyau non seulement en forme de X, mais aussi en forme de « H » munie d'excroissances et de Digitations. Il faut noter l'existence des macronoyaux de forme transitoires entre l' X et l' H (Fig. 10).

Figure 10: Photographies d'*Almophrya bivacuolata* montrant les variations morphologiques du macronoyau (imprégnation au carbonate d'argent ammoniacal pyridiné) X400.

A-forme en H modifié moins dentelé ; **B**- forme en H modifié très dentelé ; **C**- forme intermédiaire entre l' H et le X très dentelé ; **D**- forme en H très dentelé ; **E**- forme intermédiaire entre l'H et le X très dentelé. Deux U opposés soutenus par un pont axial ; **F** et **G** : autres formes intermédiaires.

Mi : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : vacuole pulsatile.

Selon la description originale, de Puytorac et Dragesco, 1968 ne signalent que des *Almophrya bivacuolata* ayant un macronoyau en forme de X.

Nos prospections montrent l'existence de deux formes principales de macronoyau occupant la région axiale de la cellule chez *Almophrya bivacuolata*:

- La forme en X porte des excroissances parfois très marquées (Figs. 10D ; 11A, B). Chez certains spécimens bivacuolés on note des formes intermédiaires entre les macronoyaux en H et en X : deux U unis à leur base par un pont (Fig. 10E), réduction de la barre équatoriale du H (Figs. 10C) ou sa profonde modification par de nombreuses excroissances (Fig. 12B).

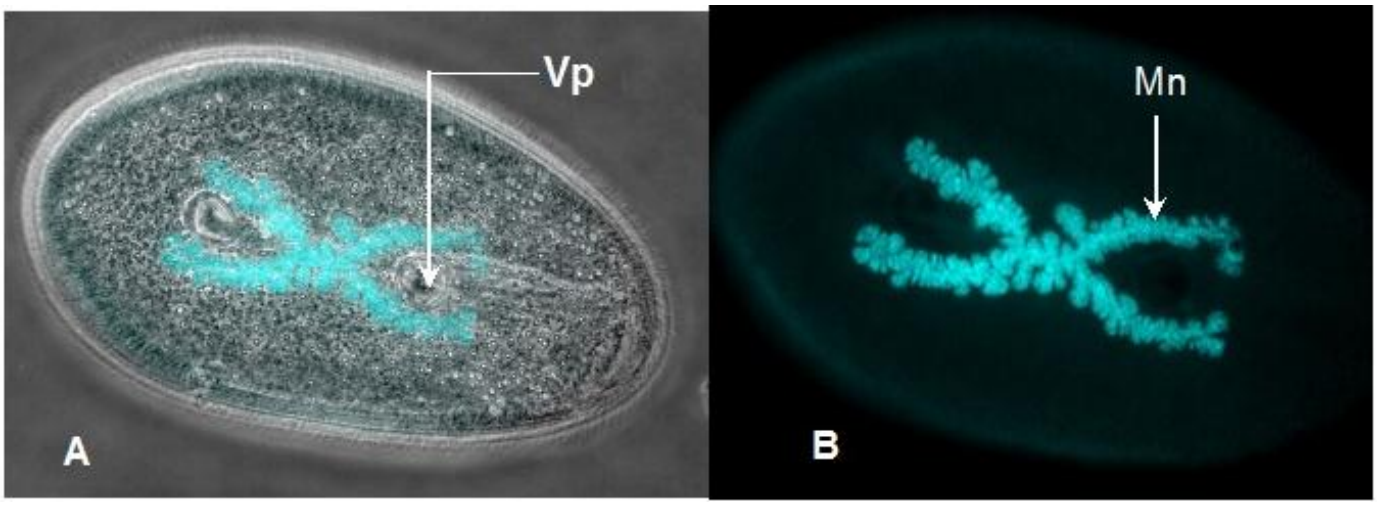

Figure 11: Photographies d'*Almophrya bivacuolata* (à macronoyau en « X ») après coloration au DAPI). (X 200)

A- Contraste de phase montrant les appareils vacuolaire et nucléaire ;

B- Observation au microscope à fond noir montrant les excroissances du macronoyau. L'appareil nucléaire est coloré en bleu.

Vp : vacuole pulsatile **; Mn :** macronoyau

- La forme en H porte sur ses branches de très nombreuses excroissances (Figs. 12A, B). Cette forme est largement distribuée dans les populations de grande taille. Avant la division, ce macronoyau se condense en masse prenant grossièrement l'allure d'un S. Après la division, il reprend progressivement la forme en H très festonnée et irrégulière. Les extrémités des branches latérales tendent à se rejoindre pour emprisonner les vacuoles pulsatiles (Figs. 13A, B).

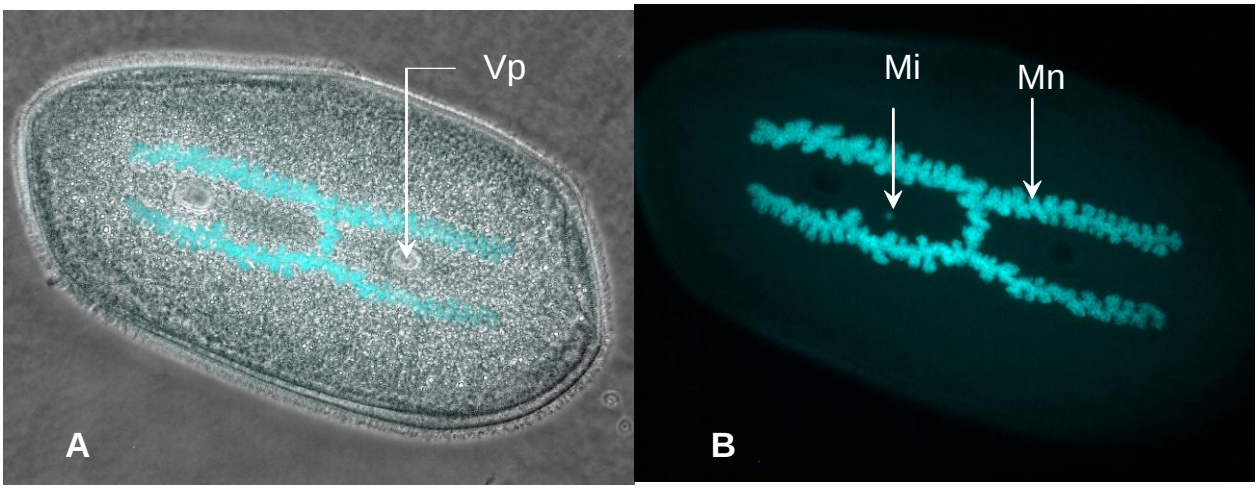

Figure 12 : Photographies d'*Almophrya bivacuolata* (à macronoyau en H) après coloration au DAPI). (X 200).

A- Contraste de phase montrant les appareils vacuolaire et nucléaire.

B- Observation au microscope à fond noir montrant les excroissances du macronoyau. L'appareil nucléaire est coloré en bleu.

Vp : vacuole pulsatile **; Mi :** micronoyau **; Mn :** macronoyau.

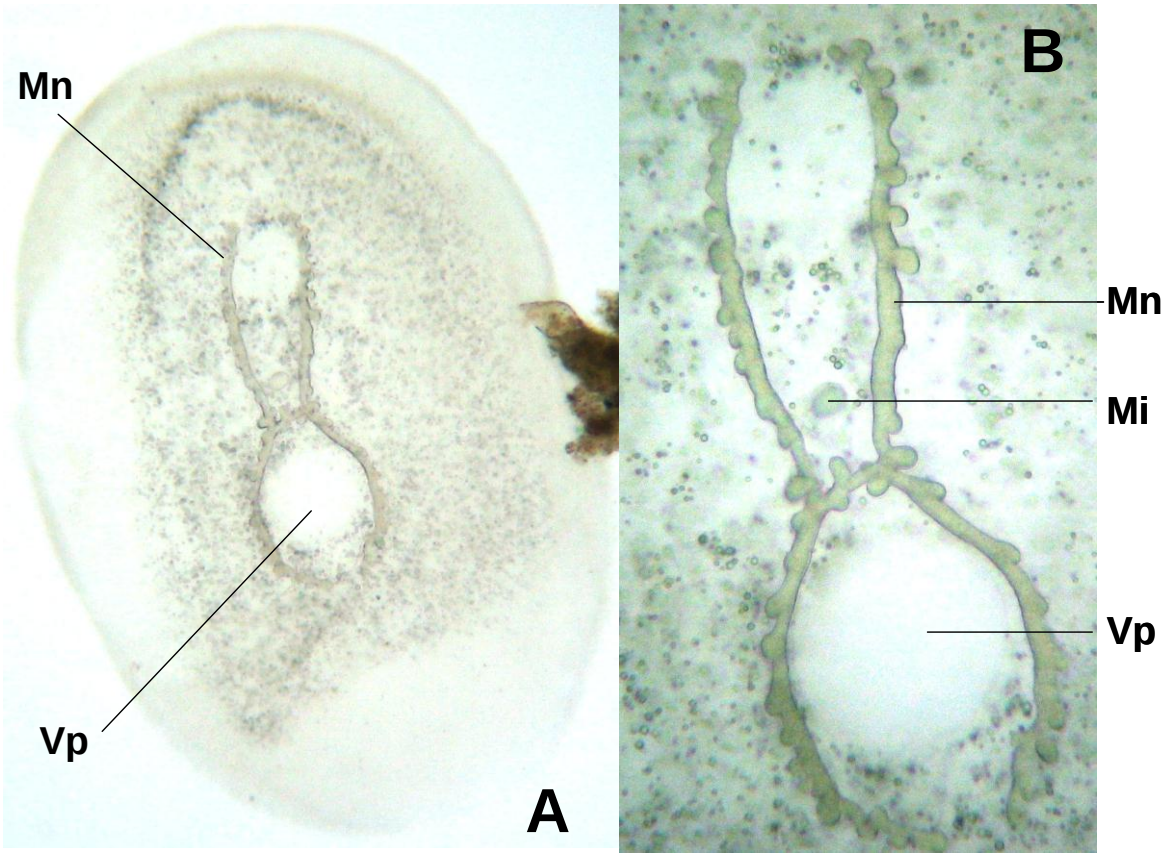

Figure 13: Photographies d'*Almophrya bivacuolata.* Observation vitale en contraste de phase.

A : Morphologie générale (X400) ; **B :** Topographie de l'appareil nucléaire H portant des digitations (X 100). **Vp** : vacuole pulsatile ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau.

III-1-1-1-3-2- *Almophrya mediovacuolata* Ngassam, 1983

Nous avons récolté chez les *Alma* de grande taille de Nkolbokogo ; de Nkolda et d'Ebebda des *Almophrya* présentant une grande amplitude dans les dimensions des spécimens examinés : (245-783) µm de longueur pour (186-380) µm de largeur, à une rangée axiale de 8 à 18 vacuoles contractiles. L'appareil nucléaire, est constitué par un macronoyau en « H » et d'un micronoyau ovoïde d'environ 6 µm de diamètre situé au-dessus de la branche horizontale du H (Fig. 14).

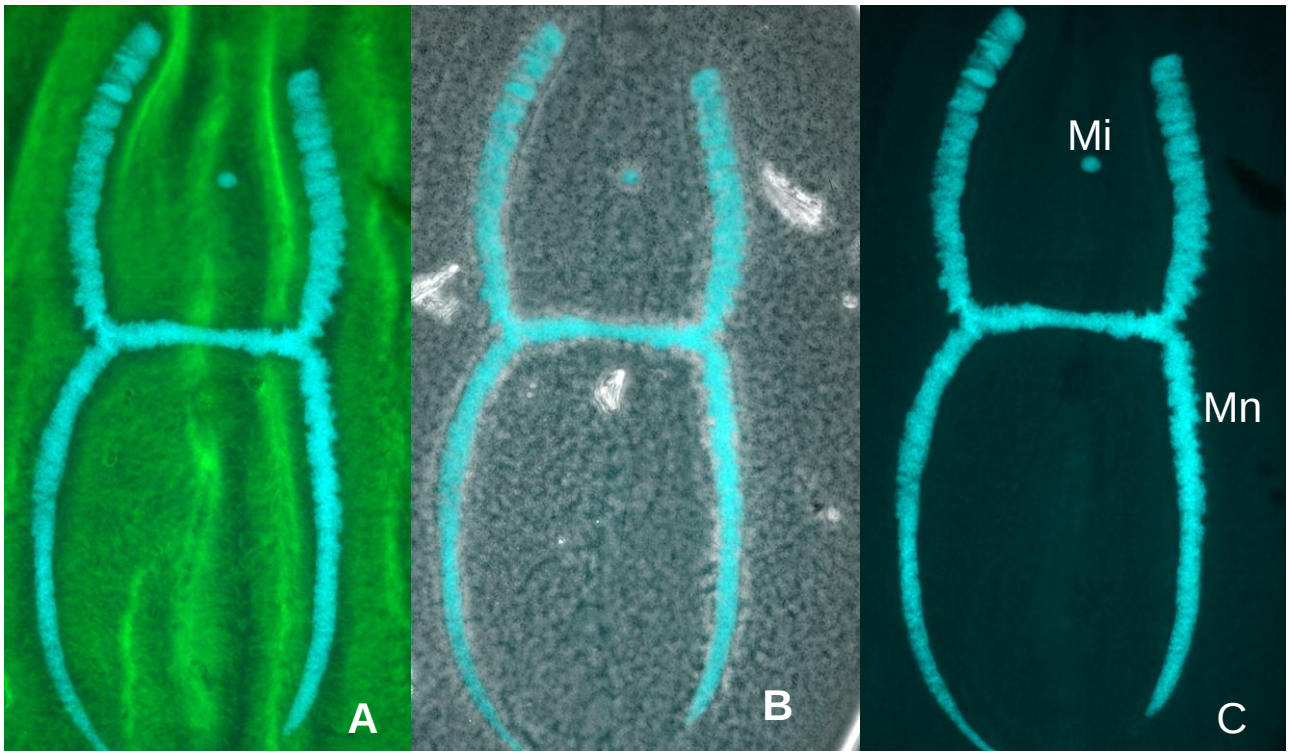

Figure : 14: Photographies d'*Almophrya mediovacuolata* (macronoyau en « H ») après coloration au DAPI). (X1000).

A- Coloration du cytoplasme en vert ;

B- Contraste de phase montrant l'appareil vacuolaire et nucléaire ; **C-** Observation au microscope à fond noir montrant la striation du macronoyau. L'appareil nucléaire est coloré en bleu.

Mi : micronoyau ; **Mn** : macronoyau.

Le traitement des spécimens au DAPI colore l'appareil nucléaire en bleu et montre au niveau du macronoyau, une striation due à l'alternance de bandes et d'interbandes. Ces bandes sont facilement reconnaissables par leurs épaisseurs et leurs espacements différents. Il y a approximativement 138 bandes sombres et presque autant d'interbandes dans le génome d'*Almophrya mediovacuolata*.

Les bandes sombres sont des régions de forte concentration de la chromatine. Elles apparaissent dans le macronoyau interphasique d'*Almophrya mediovacuolata* et évoque les chromosomes polyténiques des glandes salivaires de la larve de drosophile.

L'alternance des bandes et d'interbandes pourrait être une particularité du macronoyau en forme d' H chez *Almophrya mediovacuolata*. En effet, tous les chromosomes adoptent une conformation très condensée au cours de la mitose. Lorsque les chromosomes mitotiques sont colorés de façon particulière, chacun d'entre eux est identifiable sans ambiguïté, grâce à sa structure en bandes ; ces bandes contiennent des millions de paires de nucléotides, et elles reflètent une hétérogénéité grossière de la structure chromosomique qui n'est pas comprise (Bruce et *al*., 1991).

III-1-1-1-3-3- *Almophrya nkoldaensis* n s.p.

Un autre Glossoscolecidae du genre *Alma* de très petite taille, récolté à Nkolbikogo et Nkolda a permis la description d'un autre type d'*Almophrya* ayant au moins 8 vacuoles à disposition axiale (Fig. 15A), mais dont la silhouette, allongée est différente de celle d*'A. mediovacuolata*, ovoïde et présentant un appareil nucléaire à topographie différente. En effet, cette population d'*Almophrya* présente un appareil nucléaire avec deux micronoyaux postérieurs et un macronoyau sans excroissances et sans striations apparentes.

Deux formes principales de macronoyau ont été observées chez cette espèce :

- La forme en X (Fig. 15B)
- La forme en X modifiée en deux U, opposés soutenus à leur base par une barre rectiligne (Fig. 16).

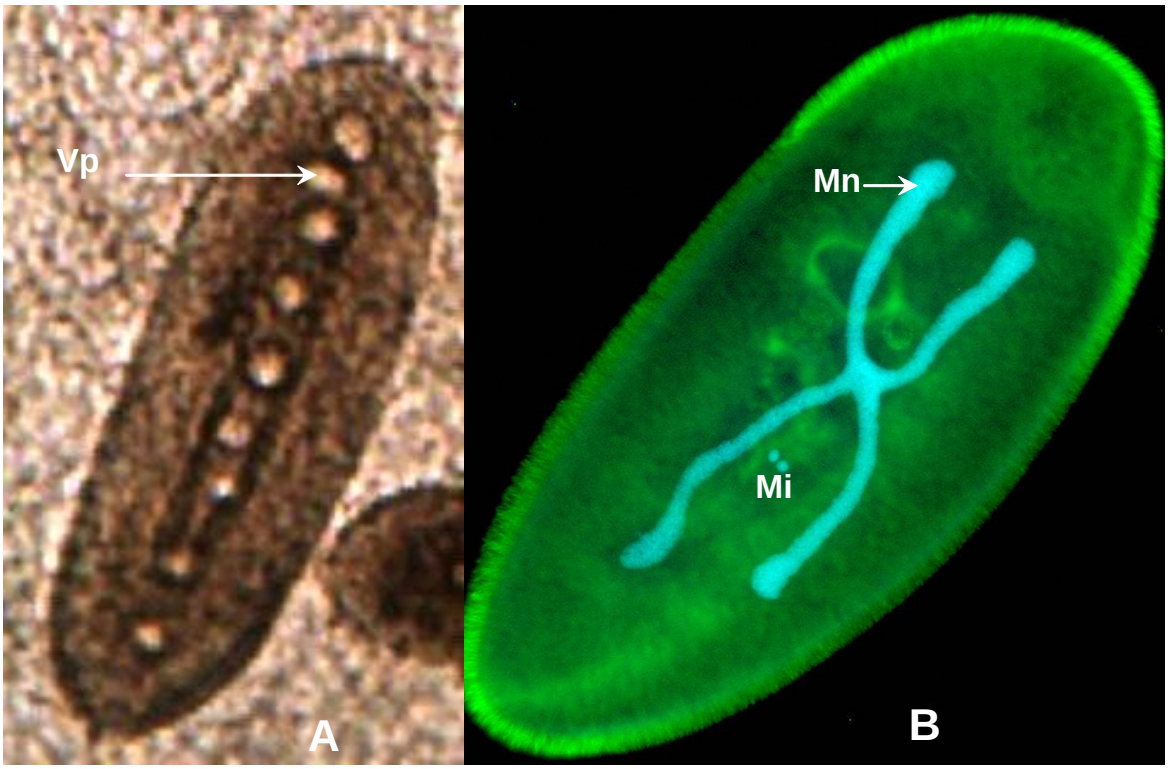

Figure 15: Photographie *Almophrya nkoldaensis* n. sp. (X 200).
A- Morphologie générale (observation vitale à contraste de phase) montrant l'appareil vacuolaire.

B- Coloration au DAPI montrant l'appareil nucléaire (macronoyau en X). L'appareil nucléaire est coloré en bleu. **Vp** : vacuole pulsatile ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau.

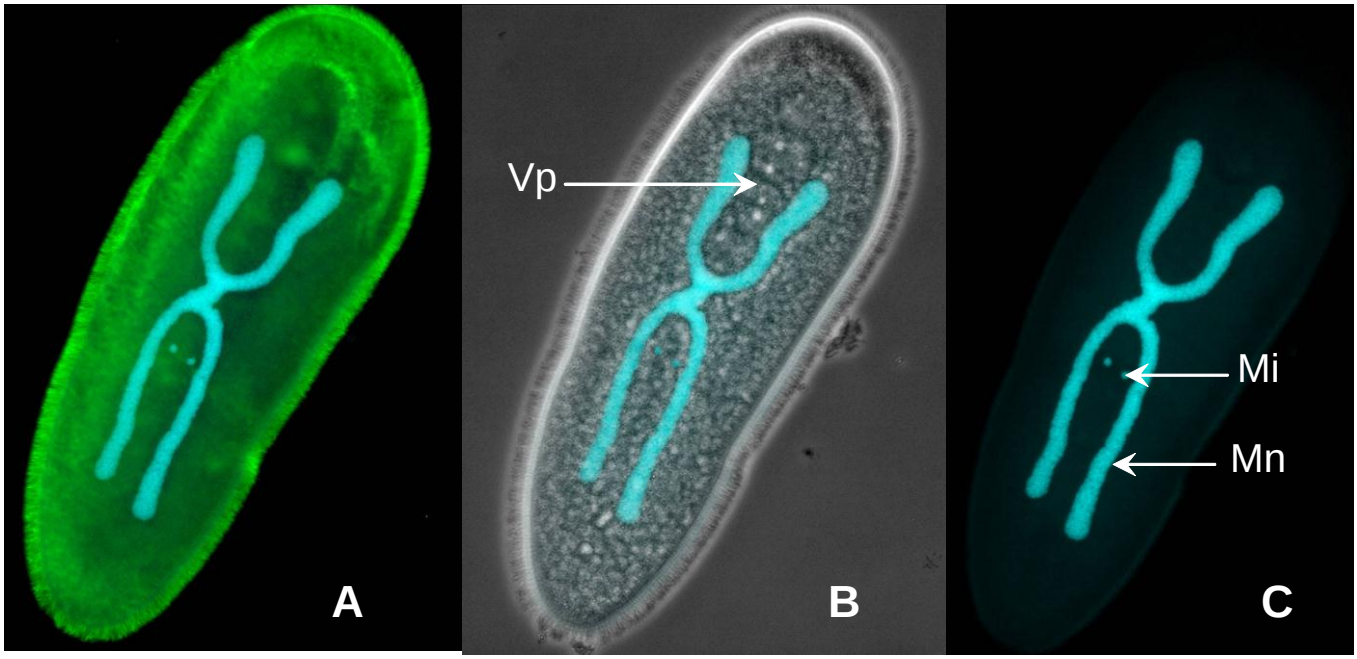

Figure 16: Photographies d'*Almophrya nkoldensis* (à macronoyau en X modifié) après coloration au DAPI. (X 200).

A- Coloration du cytoplasme en vert ; B- Contraste de phase montrant l'appareil vacuolaire et nucléaire.

B- Observation au microscope à fond noir montrant l'appareil nucléaire.

Vp : vacuole pulsatile ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau.

III-1-1-2- Famille des Clausilocolidae de Puytorac in corliss, 1979.

Le corps est géneralement allongé, plus ou moins aplati, densément cilié est muni d'un appareil adhésif antérieur plus ou moins bien délimité. L'appareil pulsatile est formé de plusieurs vacuoles.

III-1-1-2-1- Genre *Paraclausilocola* nov. gen.

Ce cilié appartient à l'ordre des Haptophryida Cépède, 1923 (1910) et à la famille des Clausilocolidae de Puytorac in Corliss, 1979.

Diagnose du genre : Taille (140-335 µm) ; forme, allongée, cylindroïde, légèrement concave sur le tiers antérieur; ciliature somatique, homogène, dense, avec une ligne de suture antérieure arquée; présentes des différentiations thigmotactique sur les terminaisons antérieures des cinéties de la face supérieure; pas d'appareil squelettiques ; vacuoles contractiles disposées en deux rangées de part et d'autre du macronoyau ; récoltés dans des annélides Oligochètes. **Espèce type** : *Paraclausilocola constricta* n. sp.

Etymologie: puisque ces ciliés sont apparemment similaires aux espèces dans le genre *Clausilocola*, le préfixe para (à côté) donne cette information. Genre féminin.

Espèces assignées : *Paraclausilocola constricta* n. sp., *Paraclausilocola elongata* n. sp.

III-1-1-2-1-1- *Paraclausilocola constricta* n. sp.

Matériel type. L'holotype (Fig. 17) comme spécimen imprégné à l'argent sur une lame déposée dans la collection à l'institution Smithsonian (CANADA), avec le numéro d'accession : USNM 1150668.

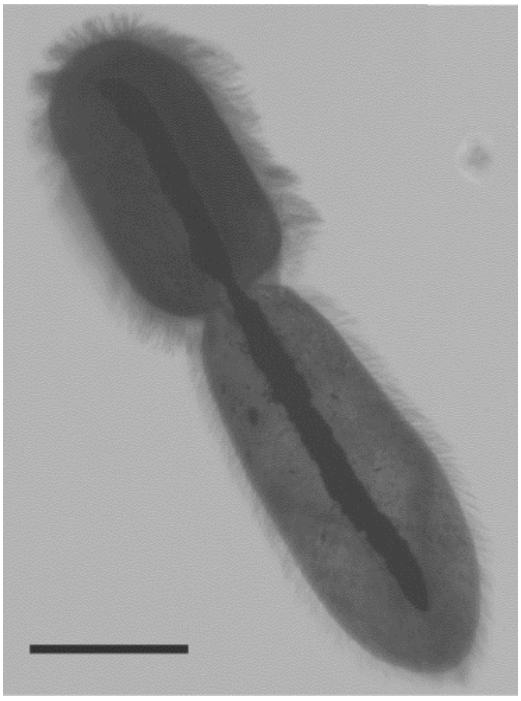

Figure 17: *Paraclausilocola constricta* n. sp. (Jeune tomite) : imprégnation au cabonate d'argent ammoniacal pyridiné. La barre d'échelle vaut 40 µm.

Hôte type : Espèces non identifiées d'*Eupolytoreutus*, Oligochète Megascolecidae, récoltés dans les zones humides de Yaoundé.

Habitat type : Dans le tiers antérieur de l'intestin des Oligochètes.

Localité type : Yaoundé, Cameroun (11° 30' ; E ; 4° N).

Étymologie : constricta fait référence à la constriction cytoplasmique antérieure et a été choisi comme nom spécifique (adjectif latin ; rétréci).

Séquence de gène : La séquence de gène SSU rRNA a le numéro d'accession HQ446275 dans le GenBank.

Ecologie : *Paraclausilocola constricta* n. sp. a été trouvé dans des vers de Megascolecidae du genre *Eupolytoreutus* récoltés dans deux sites de Yaoundé (Cameroun) : 1) Ngousso-ntem, avec une fréquence de 66% (19 ciliés /30 vers examinés) avec une abondance moyenne de 56 ciliés (de 35-65) par ver ; 2) Ngoa-ékélé, où il y avait une fréquence de 63% (19 ciliés /30 vers examinés) avec une abondance moyenne de 47 ciliés (de 30-60) par ver.

Description morphologique : La cellule a une allure cylindroïde et présente une constriction cytoplasmique profonde vers son tiers antérieur, donnant l'impression d'une phase de division (Fig. 18). L'observation de quelques individus en division montre que le plan de scission de la cellule est plutôt situé au tiers postérieur.

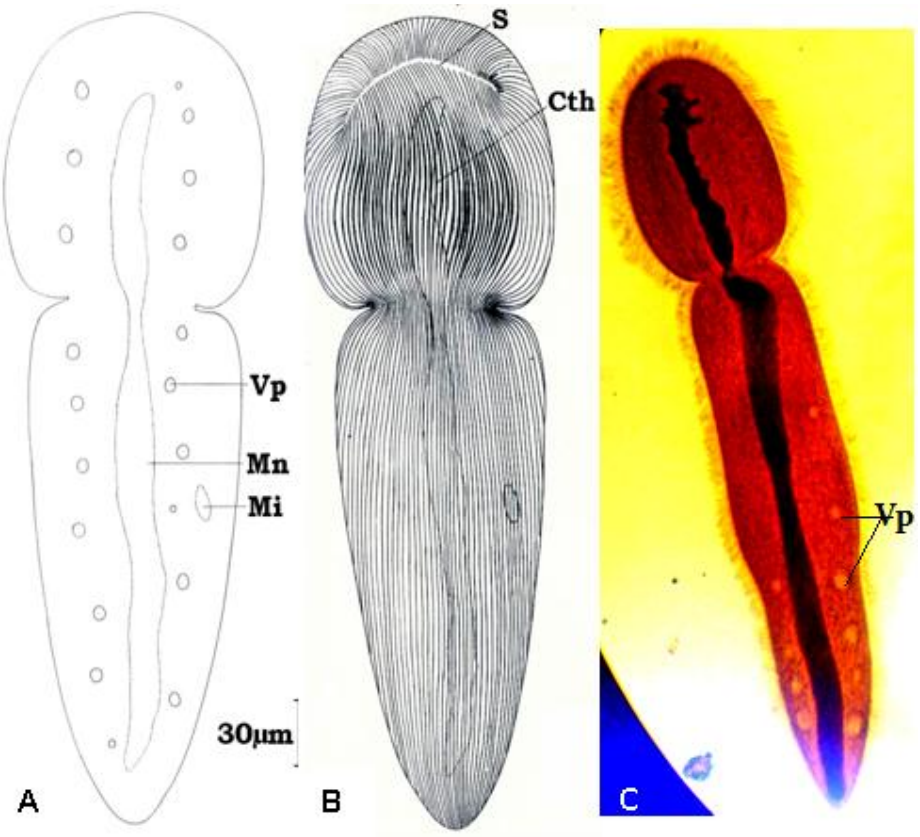

Figure 18 : ***Paraclausilocola constricta* n. sp.**

A : morphologie générale ;

B : ciliature somatique ;

C : photographie après coloration au carbonate d'argent ammoniacal pyridiné (X40).

Cth : champ thigmotactique ;

Mi : micronoyau ;

Mn : macronoyau ;

S : ligne de suture ;

Vp : Vacuole pulsatile.

Les individus en interphase mesurent : 140 à 310 µm de long sur 65 à 125 µm de large (tableau IV). Ceux en division peuvent atteindre jusqu'à 340 µm de longueur. La partie antérieure, plus large, se distingue nettement du reste du corps, qui s'effile progressivement jusqu'à la partie postérieure où il se termine de manière plus ou moins pointue

Tableau IV: Caractérisation morphométrique du cilié astome *Paraclausilocola constricta* nov. gen., n. sp. récolté et imprégné au carbonate d'argent selon la méthode de Fernandez-Galiano, 1994. (Les mesures sont données en µm).

	moyenne	Écart-type	Minimum	Maximum	N
Longueur de la cellule	236.3	60.2	140	310	30
Largeur de la cellule	92.5	20.5	65	125	30
Longueur du macronoyau	175.5	41.4	115	230	30
Largeur du macronoyau	10.8	2.9	5	15	30
Diamètre du macronoyau	4.1	0.9	3	6	30
Nombre de cinéties de la face supérieure	61	4.7	51	70	40
Nombre de cinéties de la face inférieure	59.3	5.5	50	70	40

Ce cilié a une face supérieure convexe et une face inférieure légèrement aplatie. Le macronoyau est axial et rubané et s'étend d'un pôle à l'autre de la cellule. 12 à 20 petites vacuoles sont disposées en une rangée longitudinale de chaque côté du macronoyau (Fig. 18A et C).

Un micronoyau lenticulaire (3 à 6 µm de diamètre) est situé dans la zone sous équatoriale de la cellule et est légèrement excentré de l'axe antéropostérieur de la cellule.

Cent à 140 cinéties bipolaires également reparties sur les deux faces, revêtent la cellule. 35 à 40 des cinéties de la face inférieure s'épaississent antérieurement dans la partie axiale de la cellule. Le raccord antérieur des cinéties des deux faces dessine une ligne de suture en arc dissymétrique légèrement déportée sur la face inférieure du cilié.

Au pôle postérieur, s'observent rarement deux systèmes sécants discrets (Fig. 18B). Il n'y a pas de zone de délinéation des cinéties sur les faces latérales. Les bactéries

endozoïques ont rarement été observées après coloration dans le cytoplasme. Aucun appareil squelettique n'a été observé.

Diagnose: Taille, 140-310 µm de long et 65-125 µm de large ; forme, légèrement concave sur un tiers antérieur avec une constriction antérieure remarquable séparant le tiers antérieur ; ciliature somatique, avec des nombres approximativement égaux des cinéties sur les deux faces (51-70 cinéties sur la face supérieur et 50-70 cinéties sur la face inférieure) ; 12-20 vacuoles contractiles disposées en deux rangées de chaque côté du macronoyau ; macronoyau allongé presque autant que cellule, 115-230 µm de long et 5-15 µm de large ; micronoyau lenticulaire de 3-6 µm de diamètre sur le côté gauche du macronucléus ; dans les annélides oligochètes.

III-1-1-2-1-2- *Paraclausilocola elongata* n. sp.

Matériel type. L'holotype (Fig. 19) comme spécimen imprégné à l'argent sur une lame déposée dans la collection à l'institution Smithsonian (CANADA), avec pour numéro d'accession USNM 1150669.

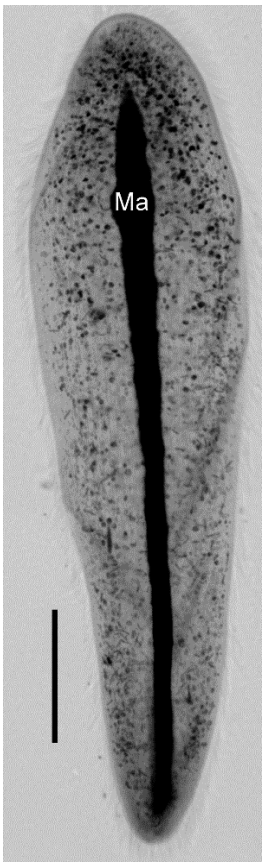

Figure 19: *Paraclausilocola elongata* n. sp., imprégnation au cabonate d'argent ammoniacal pyridiné

(**Ma** : Macronoyau ; Barre d'échelle : 30 µm).

Hôte type : Espèce non identifiée d'*Eupolytoreutus*, Oligochètes Megascolecidae, récoltés dans les zones humides de Yaoundé.

Habitat type : Dans le tiers antérieur de l'intestin des Oligochètes.

Localité type : Yaoundé, Cameroun (11° 30' ; E ; 4° N).

Étymologie. Puisque ces ciliés sont cylindroïdes simplement allongé, le nom spécifique *elongata* (l'adjectif latin ; allongé, prolongé) a été choisi.

Séquence de gène : La séquence de gène SSU rRNA a le numéro d'accession HQ446274 dans le GenBank.

Ecologie : *Paraclausilocola elongata* n. sp. a été trouvé dans des vers Megascolecidae du genre *Eupolytoreutus*sp récoltés dans deux sites de Yaoundé (Cameroun) : 1) Ngousso-ntem, avec une fréquence de 80% (24 ciliés /30 vers examinés) avec une abondance moyenne de 69 ciliés (de 40-85) par ver ; 2) Ngoa-ékélé, où il y avait une fréquence de 63% avec une abondance moyenne de 43 ciliés (de 25-65) par ver.

Description morphologique: Le corps a une forme générale cylindroïde, de 215 à 335 µm de long sur 80 à 165 µm de large pour les individus en interphase ; Les individus en division peuvent atteindre 360 µm de longueur (Fig. 20A, tableau V). La partie antérieure, plus large, présente une face supérieure convexe et une face inférieure légèrement aplatie.

Tableau V : Caractérisation morphométrique du cilié astome *Paraclausilocola elongata* n. sp. Récolté et imprégné au carbonate d'argent selon la méthode de Fernandez-Galiano, 1994. (Les mesures sont données en µm).

	moyenne	Écart-type	Minimum	Maximum	N
Longueur de la cellule	280.1	37.1	215	335	30
Largeur de la cellule	124.9	22.8	80	165	30
Longueur du macronoyau	217.7	29.1	160	285	30
Largeur du macronoyau	17.3	2.7	12	22	30
Diamètre du macronoyau	6.3	2.1	4	10	30
Nombre de cinéties de la face supérieure	65.9	5.4	58	77	40
Nombre de cinéties de la face inférieure	46.4	3.7	41	53	40
Nombre de vacuole contractiles	24.4	4.8	15	31	40

Le macronoyau, axial et rubané, s'allonge d'un pôle à l'autre de la cellule (Fig. 20). Il est flanqué par un micronoyau lenticulaire situé dans la zone sous-équatoriale de la cellule. La division est tantôt équatoriale, tantôt sous-équatoriale en fonction de la position du micronoyau (variable). 15 à 31 vacuoles pulsatiles sont disposées en deux rangées longitudinales, chacune située de part et d'autre du macronoyau. La cellule est douée d'une grande mobilité.

L'étude de l'infraciliature révèle que 100 à 150 cinéties recouvrent la cellule de manière non homogène. En effet, les cinéties de la face supérieure sont plus serrées (58 à 77) que celles de la face inférieure (41 à 53) qui sont antérieurement plus épaisses dans la partie axiale de la cellule. Les cinéties de la face convexe (dorsale) se raccordent avec celles de la face opposée, selon une ligne de suture en forme d'arc déporté du côté de la face inférieure. Cette ligne de suture se prolonge latéralement par deux systèmes sécants. Au pôle postérieur, l'affrontement des cinéties des deux faces définit deux systèmes sécants dont celui de droite est nettement plus développé. Les segments antérieurs d'une vingtaine de cinéties dorsales gauches s'épaississent, donnant à l'ensemble l'allure d'une zone thigmotactique. Il n'y a pas prolifération des cinéties par délinéation sur les faces latérales (Fig. 20B). Aucun appareil squelettique n'a pu être observé.

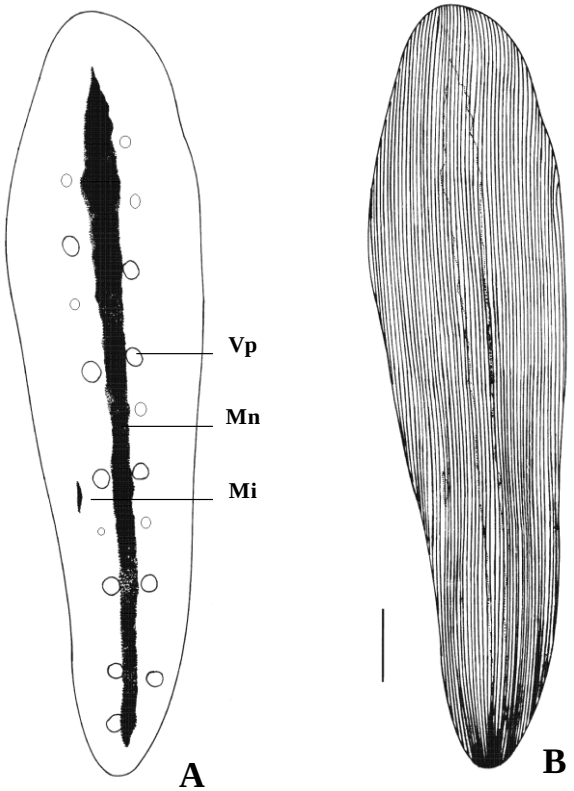

Figure 20: ***Paraclausilocola elongata* n. sp.**
A : Morphologie générale ;
B : Ciliature somatique.
Mi : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : Vacuole ;
La barre d'échelle vaut 20µm.

Diagnose : Taille, 215-335 µm de long et 80-165 µm de large ; ciliature somatique, avec presque 60% de cinéties sur la face supérieure (58-77 cinéties sur la face supérieur et 41-53

cinéties sur la face inférieure) ; 15-31 vacuoles contractiles disposées en deux rangées de chaque côté du macronoyau ; macronoyau allongé presque autant que la cellule, 160-285 µm de long et 12-22 de large ; micronoyau lenticulaire de 4-10µm µm de diamètre sur le côté gauche du macronucleus ; dans les annélides oligochètes.

III-1-1-3- Famille des Radiophryidae de Puytorac, 1972.

Caractérisée par un corps aplati dont toute la face inférieure porte des fibres squelettiques longeant la plus grande partie du trajet des cinéties.

III-1-1-3-1- Genre *Paracoelophrya* de Puytorac, 1969.

Le corps porte à sa partie antérieure un crochet peu proéminent, placé sur une sorte d'élément en V dont les branches forment un angle presque plat sur laquelle fait insertion, unilatéralement des fibres squelettiques courtes.

III-1-1-3-1-1- *Paracoelophrya falcifera* n. sp.

Ce cilié appartient à l'ordre des Hoplitophryida Chessin, 1930 em., de Puytorac, 1972, à la famille des Radiophryidae de Puytorac, 1972, et à la sous-famille des Metaracoelophryinae de Puytorac, 1972. Il est cylindroïde et arrondi à ses deux extrémités. Il mesure 115-203 X 96-160 µm. Il présente une légère constriction équatoriale (Fig. 21A, B et C).

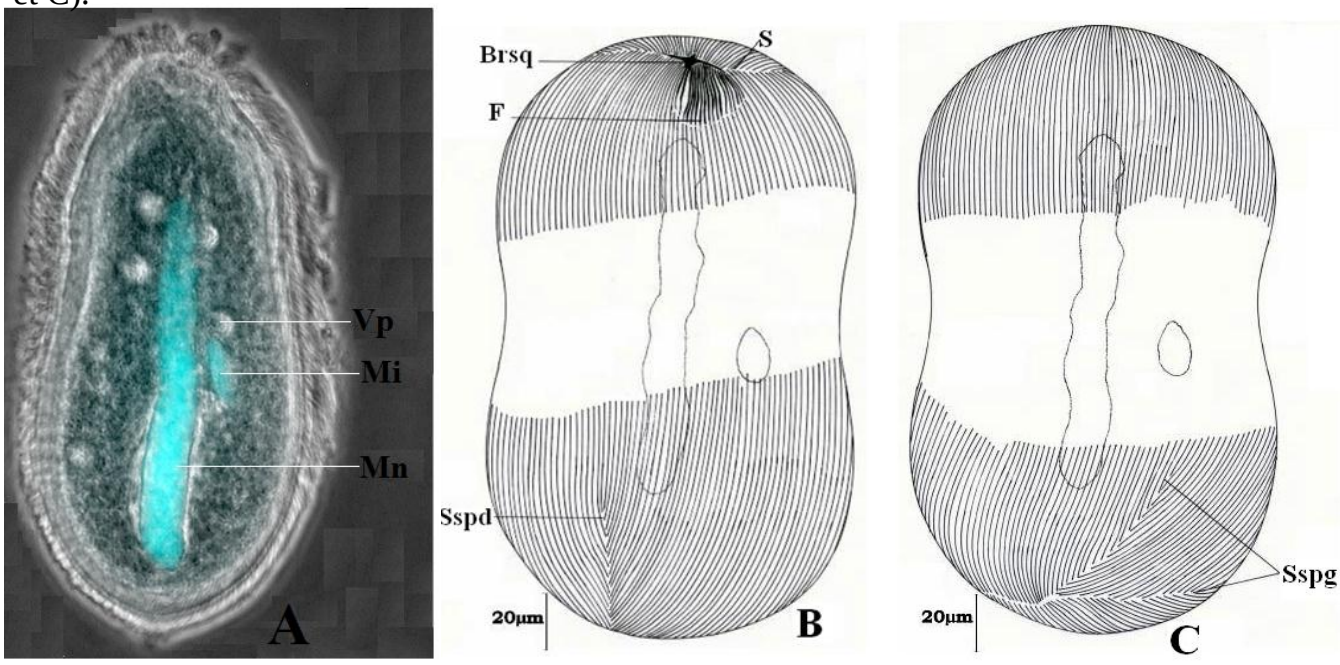

Figure 21 : *Paracoelophrya falcifera* n. sp.

A : coloration au DAPI (X 200); **B** : ciliature somatique (face inférieure) **C** : ciliature somatique (face supérieure). **Brsq** : branche squelettique ; **F** : fibres squelettiques ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **S** : ligne de suture ; **Sspd** : système sécant postérieur droit ; **Vp** : vacuole pulsatile ; **Sspg** : système sécant postérieur gauche.

Très transparent, le cytoplasme présente deux rangées de 4 vacuoles contractiles chacune, situées de part et d'autre du macronoyau.

Un micronoyau globuleux (1,5 à 4 µm de diamètre) flanque un macronoyau axial et rubané. Ce macronoyau est fréquemment très éloigné des extrémités de la cellule et mesure en moyenne 159,5 µm de longueur sur 5,2 µm de largeur.

On dénombre 50 à 98 cinéties sur la face inférieure, et 51 à 79 cinéties sur la face supérieure. Au pôle antérieur, on trouve une zone de suture des cinéties en forme d'accolade se prolongeant latéralement par deux systèmes sécants (Fig. 21B). Le raccord des stries ciliaires au pôle postérieur dessine une ligne de suture se prolongeant en fourche par deux systèmes sécants de chaque côté. Du côté droit, l'un des systèmes sécants remonte considérablement sur la face inférieure. Du côté gauche, la fourche formée par le prolongement des deux systèmes sécants s'observe nettement (Fig. 21C).

Au pôle antérieur et toujours légèrement déporté sur la face inférieure, on observe un appareil squelettique formé par un élément en V dont les branches inégales forment un angle presque plat. Il a une architecture dissymétrique, car uniquement sur la branche gauche, s'insère une quinzaine de fibres squelettiques situées dans le prolongement des cinéties. Le sommet de l'élément en V porte une pointe légèrement recourbée (Fig. 21B).

Diagnose : Vit dans l'intestin antérieur d'*Alma nilotica* ; cellule cylindroïde, arrondie à ses deux extrémités : 115 - 190 X 110 - 203 µm. Deux rangées de 8 à 16 vacuoles contractiles ; 50 - 98 cinéties sur la face supérieure, 51 - 79 cinéties sur la face. Présente une légère torsion de sa moitié antérieure

Localisation géographique : l'hôte est récolté sur les berges de la rivière Mya (affluent de la Mefou) à Nkolda, à environ 16 Km au S-SW de Yaoundé. (Caractéristiques écologiques du sol : pH : 4,1 ; Humidité : 35,36% ; Matière organique : 12,6%).

III-1-1-3-2- Genre *Metaracoelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1968

La cellule est plus ou moins ovoïde et porte une ciliature dense. Le cytosquelette est constitué par une branche squelettique en « V » sur laquelle s'appuient des fibres dont les trois à cinq premières, axiales sont plus robustes.

III-1-1-3-2-1- *Metaracoelophrya almae* n. sp.

C'est une cellule ovoïde (Fig. 22 A) ou sphéroïde de petite taille (Fig. 22 B), arrondie à ses deux pôles. Pendant l'intercinèse, elle mesure 95-125 x 70-102 µm.

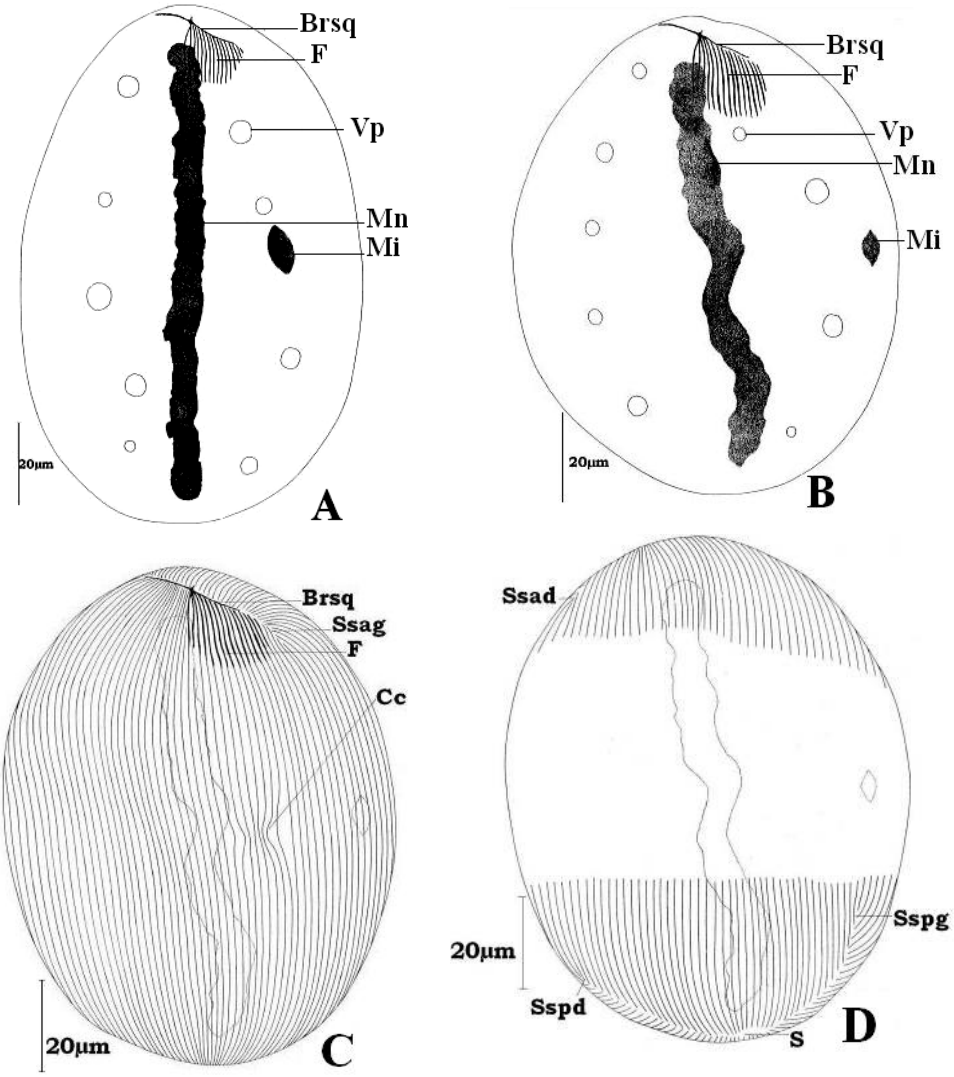

Figure 22: *Metaracoelophrya almae* n. sp.

A : Morphologie générale (forme ovoïde) ; B : Morphologie générale (forme sphéroïde) ; C : Ciliature de la face inférieure ; D : Ciliature de la face supérieure.

Brsq : branche squelettique ; **F** : fibres squelettiques ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **S** : ligne de suture ; **Sspd** : système sécant postérieur droit ; **Sspg** : système sécant postérieur gauche ; **Vp** : vacuole pulsatile ; **Ssad**: système sécant antérieur droit ; **Ssag**: système sécant antérieur gauche.

Elle présente un macronoyau axial et rubané et un micronoyau lenticulaire et médian de 3,0 µm de diamètre. L'appareil excréteur est formé par 2 rangées de 8 à 16 vacuoles disposées de part et d'autre du macronoyau. Deux formes se distinguent : la forme ovoïde (114,8 µm de long sur 108,1 µm de large) et la forme sphéroïde (111,4 µm de long sur 86 µm de large).

Le revêtement ciliaire est constitué par une quarantaine de cinéties bipolaires recouvrant uniformément chaque face (Fig. 22 C, D). Elles déterminent au pôle postérieur, une aire glabre très discrète, prolongée par deux systèmes sécants l'un à droite et l'autre à gauche. Au pôle antérieur, on observe une ligne de suture recourbée en arc dissymétrique. Cette zone de raccord se prolonge en deux systèmes sécants, l'un à droite et l'autre à gauche. L'appareil squelettique est formé par une branche squelettique arquée.

Cette branche est toujours plus longue du côté du micronoyau et porte de ce côté une dizaine de fibres squelettiques formées par simple épaississement des cinéties. Le cytosquelette est légèrement déporté du côté de la face inférieure (Fig. 22A, B).

Diagnose : Commensal du tube digestif d'*Alma emini*. Cellule tantôt ovoïde tantôt sphéroïde : 95 - 125 X 70 - 102 µm. Deux rangées de 8 à 16 vacuoles pulsatiles. 39 - 55 cinéties sur la face supérieure ; 38 - 49 cinéties sur la face inférieure. 11 - 16 fibres squelettiques. Colonise toutes les régions antérieure et moyenne de 86,66 % d'*Alma* de petite taille récoltés à Nkolbikobo avec une abondance de 62 ciliés par ver.

Localisation géographique : l'hôte est récolté sur les berges de la rivière Mia (affluent de la Mefou) à Nkolda, à environ 16 Km au S-SW de Yaoundé. (Caractéristiques écologiques du sol : pH : 4,1 ; Humidité : 35,36% ; Matière organique : 12,6%).

III-1-1-3-2-2- *Metaracoelophrya ebebdae* n. sp.

De forme ovoïde, la cellule mesure en moyenne 199 µm de long sur 159,5 µm de large pendant l'interphase (Fig. 23).

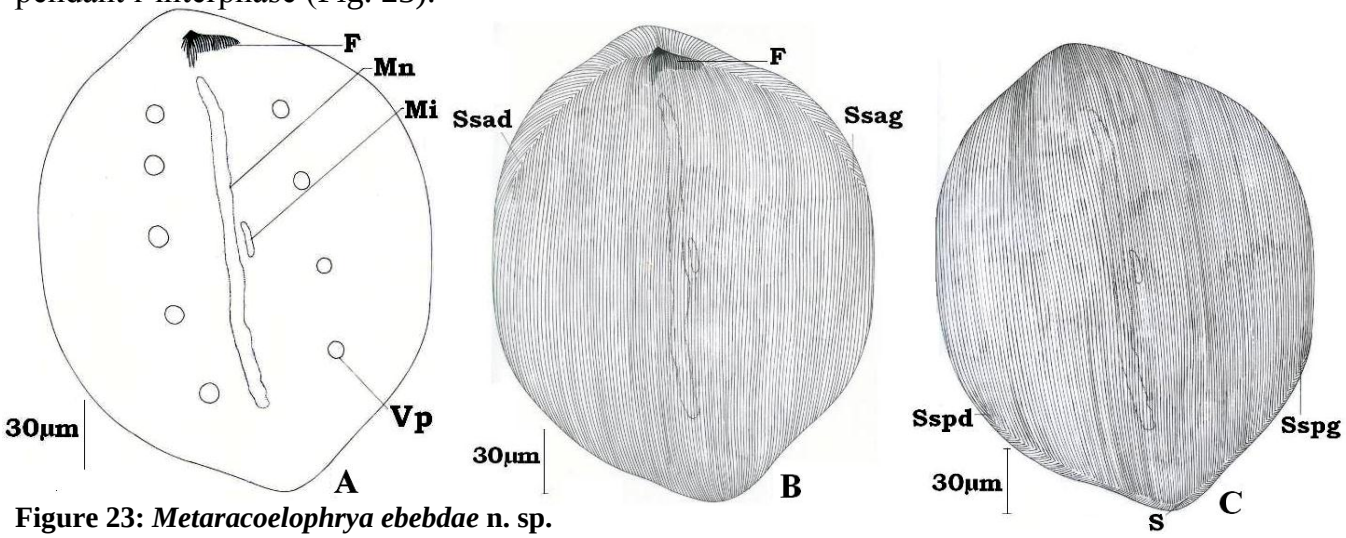

Figure 23: ***Metaracoelophrya ebebdae*** **n. sp.**

A : Morphologie générale ; **B** : Ciliature de la face inférieure ; **C** : Ciliature de la face supérieure

Brsq : branche squelettique ; **F** : fibres squelettiques ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **S** : ligne de suture ; **Sspd** : système sécant postérieur droit ; **Sspg** : système sécant postérieur gauche ; **Vp** : vacuole pulsatile ; **Ssad**: système sécant antérieur droit ; **Ssag**: système sécant antérieur gauche.

Elle a un macronoyau filiforme, axial et légèrement éloigné des pôles. Ce macronoyau porte, presque plaqué contre lui, dans la partie médiane, un micronoyau de faible diamètre (2,3 µm). 7 à 16 vacuoles contractiles se disposent en deux rangées de 3 à 8 vacuoles chacune de part et d'autre du macronoyau.

Les cinéties sont très serrées, longitudinales et régulièrement espacées. On en compte 173 à 243 au total. Les raccords antérieur et postérieur des cinéties des deux faces se prolongent longuement en deux systèmes sécants chacun (Fig. 23 B, C).

Son appareil squelettique, axialement situé au pôle antérieur de la cellule, est constitué par un élément en V dont l'une des branches est pratiquement inexistante (Fig. 23A, B). Il porte, uniquement du côté gauche, 15 à 25 fibres squelettiques situées dans le prolongement des cinéties. Les 4 à 5 fibres situées dans l'axe sont plus longues. Cette longueur diminue progressivement jusqu'à l'extrémité effilée de la branche squelettique.

Diagnose : Vit dans l'intestin d'*Alma nilotica*. Cellule ovoïde : 145 - 225 X 125 -190 µm. Deux rangées de 7 à 16 vacuoles pulsatiles. 89 -123 cinéties sur la face supérieure. 87 - 122 cinéties sur la face inférieure. 15 - 22 fibres squelettiques. Fréquent et abondant chez leur hote, (ils sont retrouvés dans 96,66 % de vers, avec une abondance de 283 ciliés par ver).

Localisation géographique: l'hôte est récolté sur les berges du fleuve Sanaga à Ebebda, à 60 Km au nord de Yaoundé. (Caractéristiques du sol : pH : 4,9 ; Humidité : 33,6% ; Matière organique : 2,7%).

III-1-1-3-2-3 *Metaracoelophrya intermedia* de Puytorac et Dragesco, 1969

Appartenant au genre *Metaracoelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1969, il a une forme ovoïde et présente un pôle postérieur très arrondi. Son pôle antérieur est légèrement allongé. Elle mesure en moyenne 287,2 µm de long sur 280,7 µm de large. On observe une légère convexité de la face dorsale. Le cytoplasme présente une trentaine de vacuoles particulièrement réfringentes et disposées sans ordre évident autour du macronoyau, présentant des digitations plus ou moins marquées dans sa moitié antérieure. Très allongé et axial, ce macronoyau a une longueur moyenne de 227,83 µm pour une largeur de 17,07 µm. Le micronoyau, très petit (3,87 µm de diamètre), est difficilement décelable et excentré par rapport au macronoyau situé dans la région équatoriale de la cellule (Fig. 24A et B). Le plan de division, équatorial scinde également la cellule en deux tomites de taille comparable.

La ciliature est très dense et les stries ciliaires sont très serrées. La face légèrement convexe porte 268 cinéties méridiennes et longitudinales. La face inférieure en porte 257.

Leur raccord antérieur s'effectue suivant une longue ligne de suture dont les extrémités latérales se prolongent en 2 systèmes sécants très développés dont celle de gauche atteint la région équatoriale de la cellule. Au pôle postérieur, les cinéties de la face inférieure se raccordent avec celles de la face opposée, selon deux systèmes sécants développés. On note un décalage entre les cinéties axant ces deux systèmes sécants avec les systèmes sécants antérieurs correspondant, toujours sur la face inférieure, on peut remarquer que dans la zone axiale, une trentaine de cinéties n'atteignent pas la ligne de suture antérieure, déterminant une aire triangulaire occupée par le cytosquelette (Fig. 24C).

Le cytosquelette est constitué par une hampe ayant la forme d'un V dissymétrique situé dans le plan sagittal de la cellule. Cette hampe coiffe l'apex de la cellule. La branche la plus longue porte une quarantaine de fibres squelettiques, les 4 à 5 premières étant plus robustes et repliées en arceaux s'appuyant à la base de la partie coudée de cette hampe (Fig. 24B).

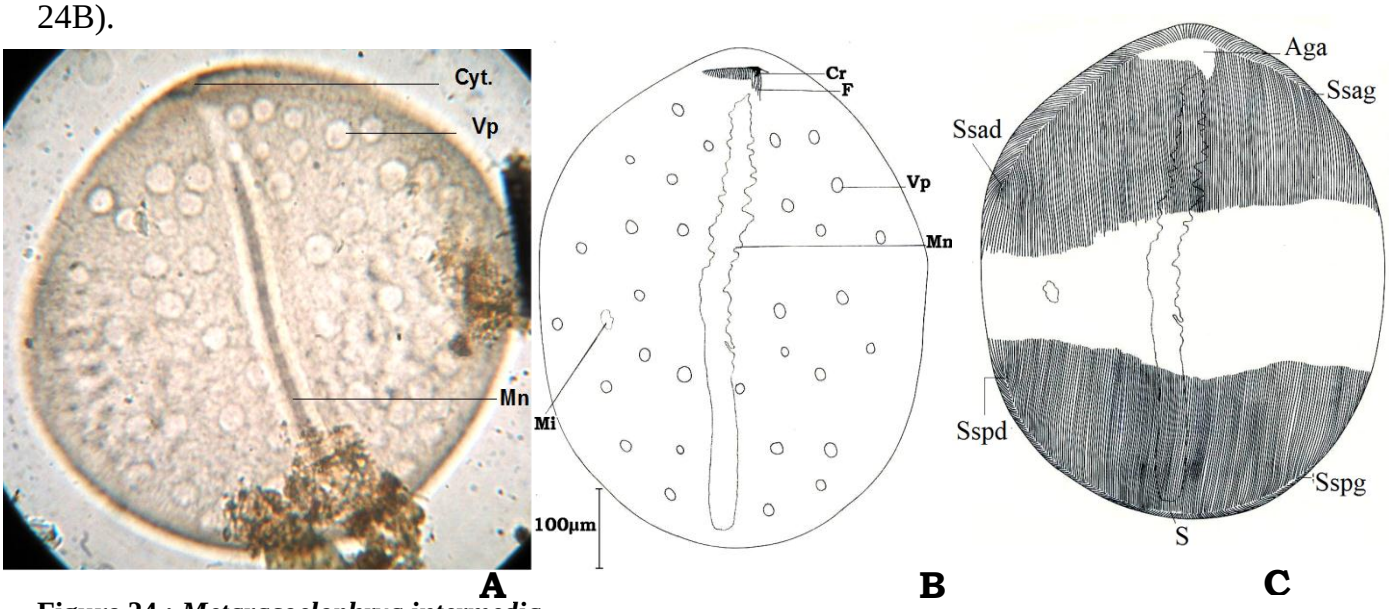

Figure 24 : ***Metaracoelophrya intermedia***

A- Morphologie générale (observation vitale en contraste de phase. X200) ; **B** : morphologie générale ; **C** : Ciliature somatique

Aga : aire glabre antérieure **; Cyt** : Cytosquelette ; **Cr** : crochet ; **F** : fibres squelettiques ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **S** : ligne de suture ; **Sspd** : système sécant postérieur droit ; **Sspg** : système sécant postérieur gauche ; **Vp** : vacuole pulsatile ; **Ssad**: système sécant antérieur droit ; **Ssag**: système sécant antérieur gauche.

III-1-1-3-3- Genre *Coelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1969.

Cellule plus ou moins ovoïde. La ciliature très dense présente plusieurs systèmes séquents. L'appareil squelettique est formé par un cytosquelette constitué d'une branche

squelettique en V très aplatie portant unilatéralement des fibres squelettiques repliées en une gouttière qui se prolonge du pôle antérieur au pôle postérieur.

III-1-1-3-3-1- *Coelophrya coronata* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008

Ce Cilié appartient au genre *Coelophrya* caractérisé par un corps ovalaire pourvu sur sa face inférieure d'un élément en V aplati et dissymétrique portant des fibres dont certaines s'épaississent sur une partie de leur trajet pour former l'armature en arceaux d'une gouttière non ciliée (de Puytorac et Dragesco, 1969).

La cellule, de forme régulière et peu allongée, est légèrement ovoïde (Fig. 25 A). En dehors des périodes de division, elle mesure en moyenne 190 µm de long sur 160 µm de large. Très aplatie, elle présente un cytoplasme transparent dans lequel on trouve 13 à 24 vacuoles pulsatiles de taille variable et réparties sans ordre évident autour d'un macronoyau central et très allongé qui n'atteint pas les pôles de la cellule. Le macronoyau est excentré par rapport au plan de symétrie bilatérale de la cellule et mesure en moyenne 127,7 x 12,6 µm. Il est flanqué d'un micronoyau lenticulaire et médian de 4,37 µm de diamètre.

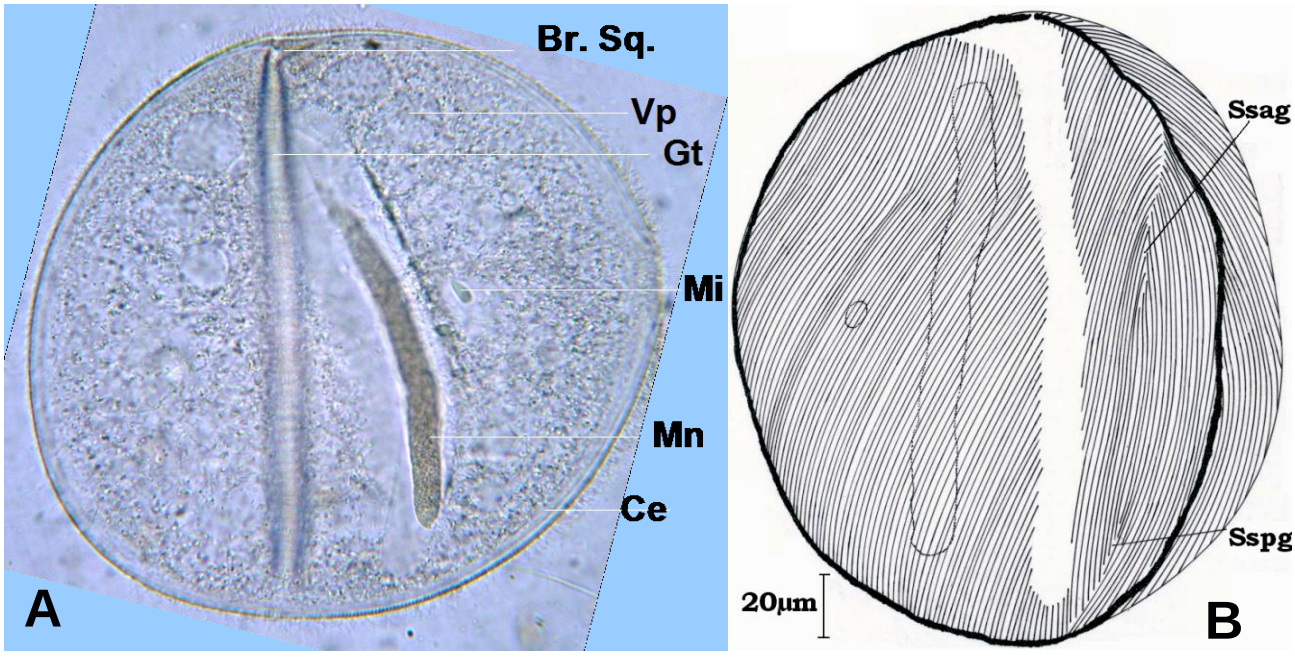

Figure 25: *Coelophrya coronata* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008

A : observation vitale en contraste de phase (X200) ; **B** : ciliature somatique

Brsq : branche squelettique ; **F** : fibres squelettiques ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **S** : ligne de suture ; **Sspd** : système sécant postérieur droit ; **Vp** : vacuole pulsatile.

Après imprégnation argentique, on observe chez ce Cilié une couronne ecto-endoplasmique grêle, marquant une séparation nette entre les deux faces (Figs. 25A et B).

Le revêtement ciliaire de la face supérieure est régulier et présente 137 stries ciliaires légèrement spiralées.

Au pôle antéro-inférieur, le raccord avec les 135 cinéties de la face inférieure dessine une ligne de suture en forme d'accolade qui se prolonge en deux systèmes sécants latéraux dont un système antérieur droit, particulièrement long, qui se termine dans la zone équatoriale de la cellule. Au pôle postérieur, la ligne de suture rejoint du côté droit la couronne ecto-endoplasmique, et se prolonge du côté droit par un court système sécant déporté sur la face inférieure. La 4^{e} strie, à droite de la strie axiale du système sécant postérieur, aboutit au centre du système sécant antérieur (Fig. 25B); en d'autres termes, les systèmes sécants postérieur et antérieur sont décalés de 4 cinéties.

Le cytosquelette est l'un des éléments les plus remarquables de cette espèce. Sur le vivant, sa forte réfringence le rend nettement visible. Il comprend chez *C. coronata* l'élément en V, classique des Radiophryinae, dont les branches, très aplaties, sont de longueur inégale (Fig. 26). Celle de gauche, la plus longue, porte 20 à 26 fibres squelettiques qui s'étendent en s'amenuisant jusqu'à son extrémité. Du côté droit, des fibres analogues (53 en moyenne), localement épaissies, se replient en arceaux, formant une gouttière axiale de 151 µm de longueur, partant presque perpendiculairement par rapport à la branche gauche de l'élément en V apical. Cette gouttière forme une sorte de canal longitudinal légèrement élargi aux deux extrémités.

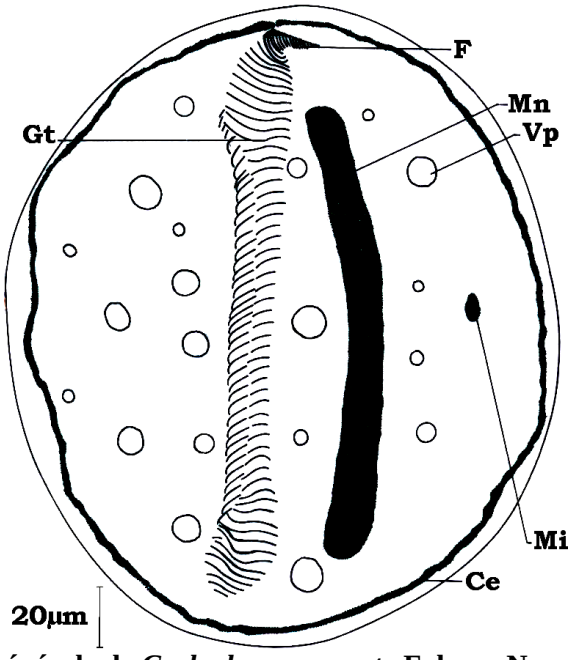

Figure 26: Morphologie générale de *Coelophrya coronata* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008

Ce : couronne ectoplasmique ; **F** : fibres squelettiques ; **Gt** : gouttière ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : vacuole pulsatile.

Diagnose : Cellule sphéroïde mesurant 165 - 215 sur 130 - 200 µm. 13 - 24 vacuoles pulsatiles dispersées sans ordre dans tout le cytoplasme. 137 - 160 cinéties sur la face supérieure. 135 - 160 cinéties sur la face inférieure. Gouttière rectiligne de 140 à 165 µm de longueur, portant 16 à 26 fibres squelettiques. Présence d'une couronne ecto-endoplasmique.

Localisation : Cilié commensal du tube digestif d'*Alma nilotica* vivant dans le sol des berges du fleuve Mefou à Nkolda, à environ 20 km au S-SW de Yaoundé. Caractéristiques écologiques du sol : pH : 4,1 ; Humidité : 35,4% ; Matière organique : 12,6%. La fréquence d'infestation est de 86,7 % pour une abondance moyenne de 89 individus par Ver.

Dépôt des types : Une préparation microscopique contenant une dizaine d'individus, a été déposée au Muséum d'Histoire Naturelle de Toulouse et conservée sous le numéro MHNT. ZOO.2009.1.1.

III-1-1-3-3-2- *Coelophrya ovales* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008

La cellule, ovoïde et très peu allongée (Fig. 27A), mesure en moyenne 163 µm de long sur 153,7 µm de large. Un nombre réduit de vacuoles (6 à 12) sont disposées sur deux rangées parallèles de 3 à 6 vacuoles chacune, situées de part et d'autre d'un macronoyau légèrement excentré par rapport à l'axe de symétrie bilatérale de la cellule. Les extrémités du macronoyau n'atteignent pas la proximité des pôles de la cellule.

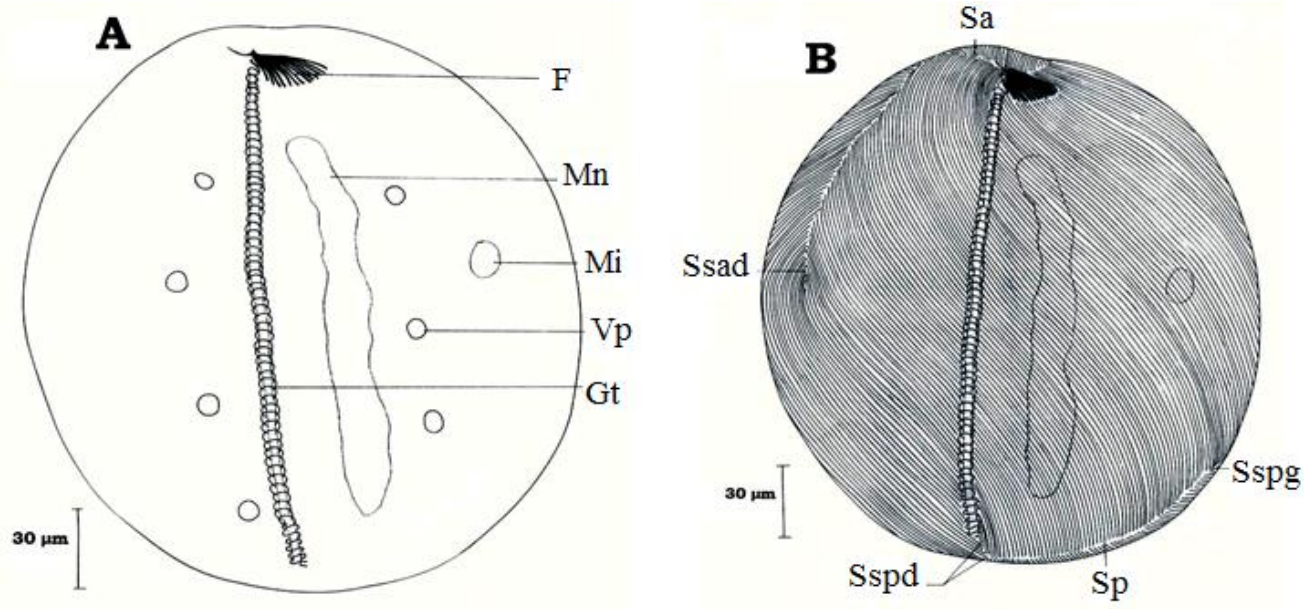

Figure 27: *Coelophrya ovales* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008

A : morphologie générale ; **B :** ciliature somatique et disposition du cytosquelette.

F : fibres squelettiques ; **Gt** : gouttière ; **Sa** et **Sp** : lignes de suture antérieure et postérieure ; **Sspd** : système sécant postérieur droit ; **Sspg**: système sécant postérieur gauche ; **Ssad**: système sécant antérieur droit.

Le micronoyau globuleux (5,8 µm de diamètre en moyenne) est relativement éloigné du macronoyau qui mesure en moyenne 131,4 µm de long sur 11,3 µm de diamètre. Une gouttière rectiligne et étroite traverse longitudinalement toute la face inférieure de la cellule. Les cinéties sont serrées (129 à 158 cinéties par face) et de forme sigmoïde sur la face inférieure (Fig. 27B).

Les cinéties des deux faces s'affrontent antérieurement suivant une ligne de suture en accolade qui se prolonge longuement du côté droit par un système sécant bien développé. Au pôle postérieur, la ligne de suture est courte et se prolonge à chaque extrémité par deux systèmes sécants ayant l'allure d'une fourche.

Le cytosquelette est constitué par un élément en V aux branches très aplaties, portant du côté gauche 12 fibres squelettiques situées dans le prolongement des cinéties. La branche droite de l'élément se prolonge par une gouttière longitudinale régulière de faible diamètre et formée par 71 fibres squelettiques repliées en arceaux (Fig. 27).

Diagnose : Cellule sphéroïde mesurant en moyenne 163 x 152,7 µm. Deux rangées de 6 à 12 vacuoles pulsatiles. Au minimum 129 à 133 cinéties régulières par face (maximum 154 à 158). Gouttière rectiligne et étroite sur la face inférieure. 15 à 22 fibres squelettiques.

Localisation : Espèce commensale du tube digestif d'Oligochètes *Alma nilotica* récoltés sur les berges du fleuve Sanaga à Ebebda, à 60 km au nord de Yaoundé. Caractéristiques écologiques du sol : pH : 4,9; Humidité : 33,6% ; Matière organique : 2,7%. La fréquence d'infestation n'est que de 40 % et l'abondance moyenne est de 43 Ciliés par Ver.

Dépôt des types : Une préparation microscopique contenant une dizaine d'individus, a été déposée au Muséum d'Histoire Naturelle de Toulouse et conservée sous le numéro MHNT. ZOO.2009.1.2.

III-1-1-3-3-3- *Coelophrya ebebdensis* Fokam et *al*., 2008

Sur le vivant, cet infusoire est caractérisé par la présence, sur sa face inférieure, d'une gouttière longitudinale courbe et relativement courte, et en continuité avec le faisceau antérieur de fibres squelettiques. La cellule est ovoïde et présente une extrémité antérieure arrondie, plus large que l'extrémité postérieure légèrement en pointe (Fig. 28). Pendant l'interphase, elle mesure 80 à 160 µm de long sur 57 à 107 µm de large. L'appareil nucléaire se compose d'un macronoyau axial, rubané de 88,5 µm de long sur 8,6 µm de large en moyenne, et d'un micronoyau globuleux de 4,3 µm de diamètre, localisé dans le plan

équatorial de la cellule. Les vacuoles contractiles sont disposées en deux rangées longitudinales de 2 à 5 éléments chacune, situées de part et d'autre du macronucléus.

On compte 47 à 51 cinéties méridiennes sur chacune des deux faces de la cellule. On note une légère courbure sigmoïde des cinéties de la face inférieure. La ligne de suture antérieure dessine un S dont l'extrémité, du côté gauche de la face ventrale, se prolonge jusqu'au niveau équatorial de la cellule en un système sécant développé. Au pôle postérieur, la ligne de suture, arquée, se prolonge et remonte considérablement sur les bords latéraux de la cellule. Chaque extrémité de cette ligne de suture forme deux systèmes sécants (Fig. 28B).

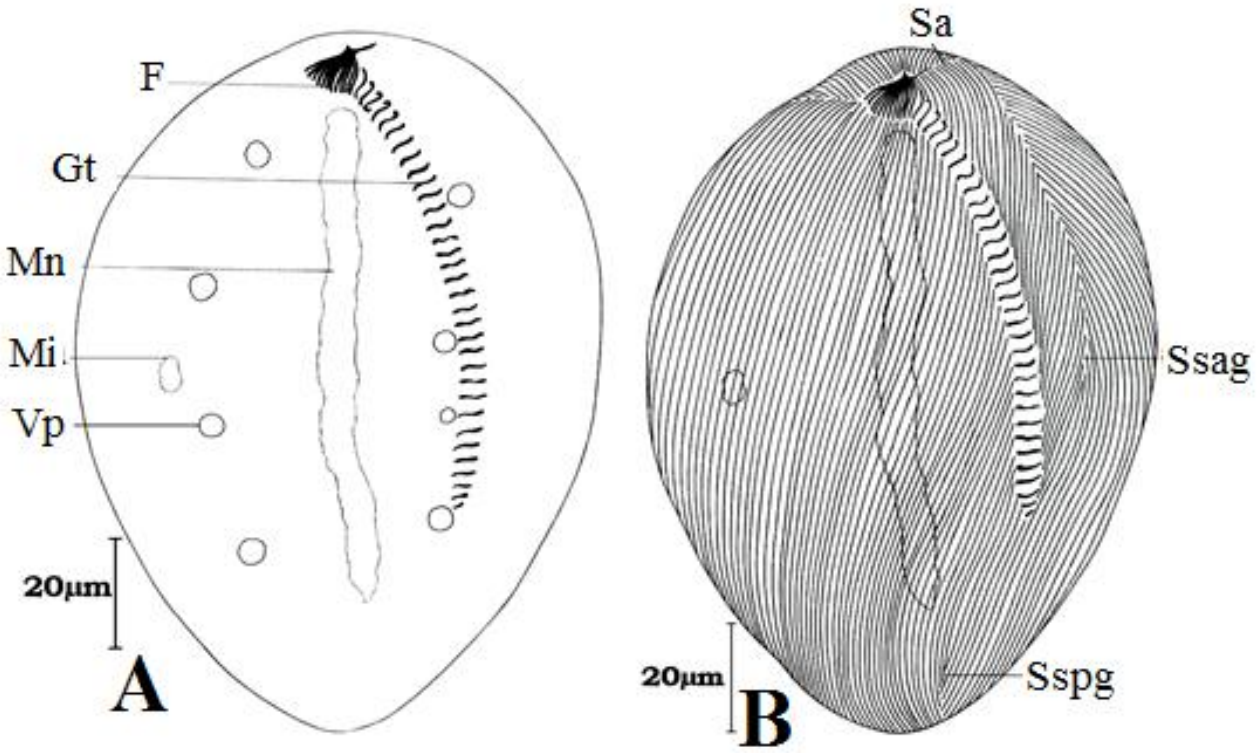

Figure 28: ***Coelophrya ebebdensis*** **Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008**

A : morphologie générale ; **B** : ciliature somatique et disposition du cytosquelette.

F : fibres squelettiques ; **Gt** : gouttière ; **Sa** : ligne de suture antérieure; **Sspg**: système sécant postérieur gauche ; **Ssag**: système sécant antérieur gauche.

L'appareil squelettique est constitué par un élément en V portant antérieurement, du côté droit, 11 à 16 fibres squelettiques et, du côté gauche, 26 à 35 fibres repliées en arceaux et formant une gouttière longitudinale plus courte que le macronoyau, dépassant très peu le plan équatorial de la cellule (Fig. 28A).

Diagnose : Cellule nettement ovoïde, plus étroite à son extrémité postérieure atteignant 80 à 160 µm de long et 57 à 107 µm de largeur. Deux rangées de 4 à 11 vacuoles pulsatiles; 41 – 54 cinéties sur la face supérieure, 47 à 63 sur la face inférieure. 11 - 16 fibres squelettiques. Gouttière rectiligne formée par 26 à 35 fibres.

Localisation : Commensal du tube digestif d'Oligochètes *Alma nilotica* récoltés le 8 décembre 2006, sur les berges du fleuve Sanaga à Ebebda, à environ 60 km au nord de Yaoundé. Caractéristiques écologiques du sol : pH : 4,9 ; Humidité : 33,6% ; Matière organique : 2,66%. La fréquence d'infestation est de 100%, avec une abondance élevée, en moyenne 223 Ciliés par Ver.

Dépôt des types : Une préparation microscopique contenant une douzaine d'individus, a été déposée au Muséum d'Histoire Naturelle de Toulouse et conservée sous le numéro MHNT. ZOO.2009.1.3.

Le tableau suivant présente des espèces connues dans les genres *Paracoelophrya* et *Metaracoelophrya*, l'origine des hôtes de leur première description et les traits saillant de leur morphologie.

Tableau VI: Présentation synoptique des caractéristiques des ciliés des genres *Paracoelophrya et Metaracoelophrya.*

	P. intermedia	*P. almae*	*P. falcifera* n.sp.	*M. almae* n.sp	*M. ebebdae* n.sp
Taille en µm	100 x 60	80 x 51	115-203 x 96-160 Constriction équatoriale	95-125 x 70-102	109 x 159 en moyenne
Vacuoles	2 rangées	1 rangée	2 rangées	2 rangées	2 rangées
Cytosquelette	Petit crochet + 15 fibres courtes	cytosqueletteà péine marqué	Petit cytosquelette + 18 fibres	En forme de « V » dissymétrique + 10 fibres	En forme de « V » très dissymétrique 24 fibres
Cinéties	120-123	82-85	130-148	78-82	173-248
Systèmes sécants	2 systèmes sécants antérieurs longs 4 systèmes sécants postérieurs	2 systèmes sécants antérieurs courts 4 systèmes sécants postérieurs	2 systèmes sécants antérieurs longs 4 systèmes sécants postérieurs	2 systèmes sécants courts antérieurs 2 systèmes sécants postérieurs	2 systèmes sécants longs antérieurs 2 systèmes sécants postérieurs
Origine	*Alma emini* Gabon	*Alma* sp. Gabon	*Alma nilotica* Cameroun	*Alma emini* Cameroun	*Alma emini* Cameroun

III-1-1-3-4- Genre *Dicoelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1969

Le corps aplati, arrondie en avant, est tronqué ou fourchu fourchu à la partie postérieure. Le cytosquelette est constitué par une hampe courte portant des fibres squelettiques. D'autres s'épaississent localement pour les arceaux d'une gouttière en fer à cheval dont les branches descendent le long des parties latérales.

III-1-1-3-4-1- *Dicoelophrya almae* de Puytorac et Dragesco, 1969

Ce Cilié a une colonise la partie distale de l'intestin moyen d'*Alma emini* récolté à Ebebda, Nkolbikogo et Nkolda, la fréquence est de 100 % (presque tous les vers analysés en sont porteurs). Avec une abondance de 72 ciliés par ver à Ebebda. La fréquence de ce Cilié et son abondance ont des valeurs comparables pour les stations de Nkolbikobo et Nkolda c'est à dire respectivement 86,66 % et 147 ciliés par ver.

Il a une forme générale en cloche, arrondie au pôle antérieur et présentant un pôle postérieur fourchu (Fig. 29A, C, D).

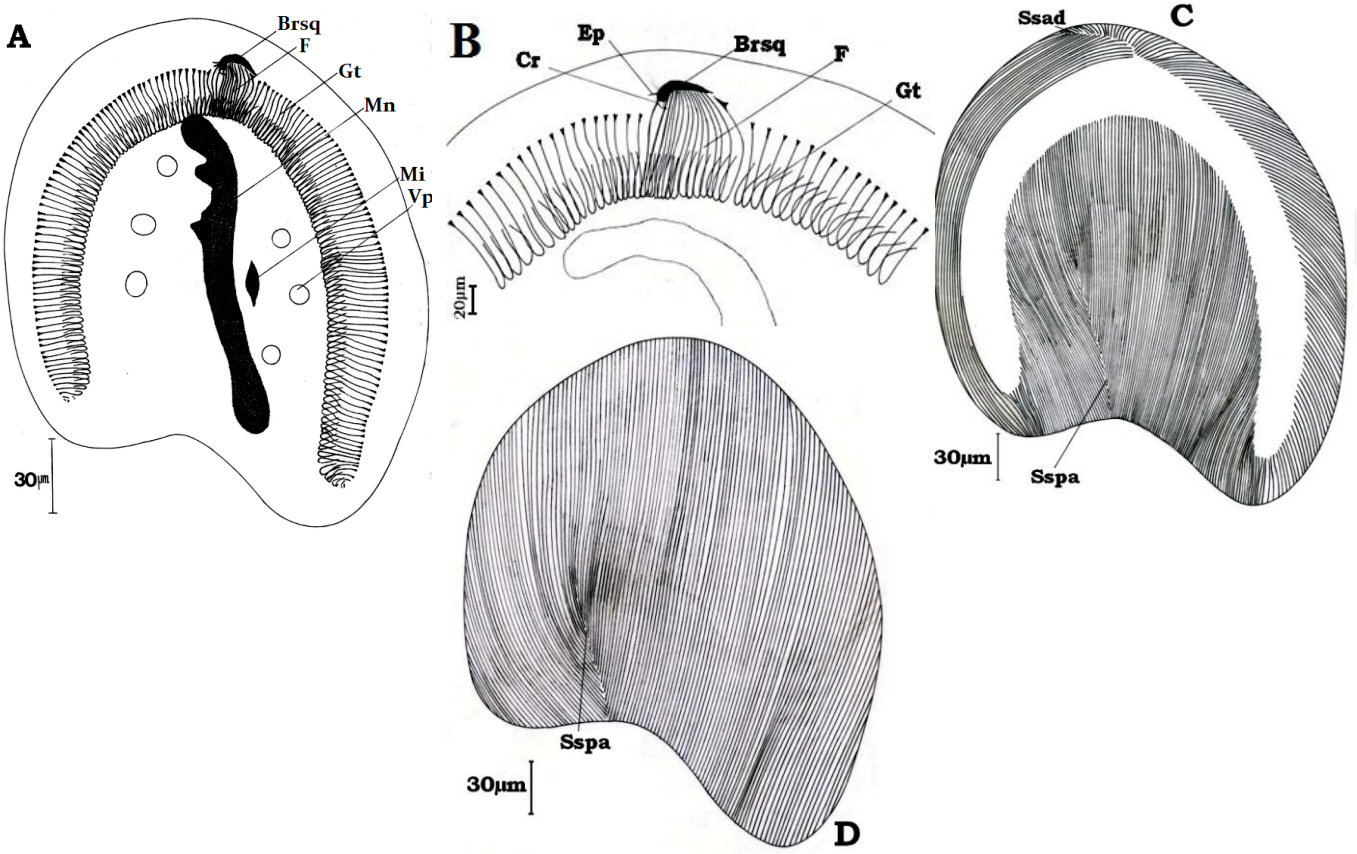

Figure 29: *Dicoelophrya almae* de Puytorac et Dragesco, 1969

A : Morphologie générale ; **B** : détail du pôle antérieur ; **C** : Ciliature de la face inférieure ; **D** : Ciliature de la face supérieure. **Brsq** : branche squelettique ; **Cr** : crochet ; **Ep :** épine ; **F** : fibres squelettiques ; **Gt** : gouttière ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : vacuole pulsatile.

Le macronoyau est légèrement oblique et excentré. La moitié antérieure porte des digitations plus ou moins marquées (Fig. 29A, 30A). Il est flanqué dans sa zone équatoriale par un micronoyau lenticulaire de 4 µm de diamètre.

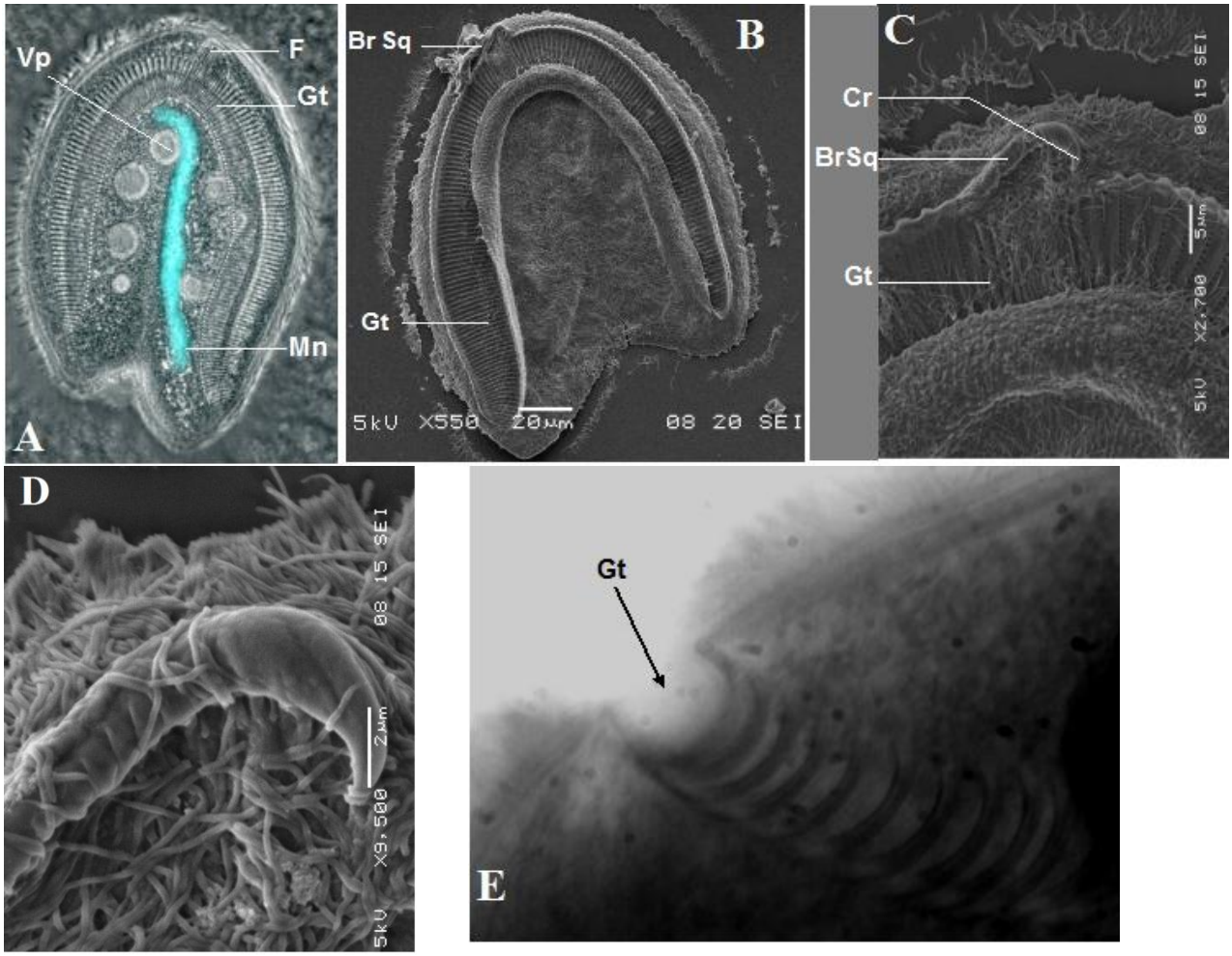

Figure 30: Photographies de *Dicoelophrya almae* de Puytorac et Dragesco, 1969

A : morphologie générale. Image prise en microscopie à fluorescence après coloration de l'appareil nucléaire au DAPI (bleu) ; **B** : topographie générale de la gouttière ; **C** : détail du pôle antérieure ; **D** : mise en évidence de la branche squelettique (crochet). Images prises en microscopie électronique à balayage ; **E** : détail du pôle postérieur gauche montrant une topographie de la gouttière (observation vitale en contraste de phase) X1000. **Cr** : crochet ; **Ep :** épine ; **F** : fibres squelettiques ; **Gt** : gouttière ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : vacuole pulsatile.

Sur la face inférieure, en moyenne 160 cinéties sont légèrement radiaires et s'affrontent dans la région axiale en un système sécant postérieur. Les cinéties du côté gauche et celles du côté droit s'affrontent au pôle antérieur en un court système sécant très caractéristique (Fig. 29C). Sur la face supérieure, les cinéties recouvrent la cellule de manière homogène et s'affrontent postérieurement en un système sécant excentré du côté gauche (Fig. 29D).

L'appareil squelettique est constitué de 160 fibres squelettiques dont les arceaux sont recourbés de manière non symétrique à leurs extrémités, formant ainsi 2 lèvres recouvrant les bords d'une dépression qui constitue la gouttière (Fig. 30E). Le diamètre de cette gouttière diminue progressivement vers son extrémité postérieure (Fig. 29A, 30A, B).

La gouttière en fer à cheval est surmontée dans sa partie axiale d'une hampe sur laquelle s'appuient une quinzaine de fibres squelettiques, dont les 4 premières du côté droit sont particulièrement robustes (Fig. 29B ; 30C). Cette hampe en faucille est courte et plus effilée du côté gauche. Elle se replie légèrement à son extrémité droite en un crochet puissant (Fig. 29B, Fig. 30E, 30C, D).

III-1-1-3-4-2- *Dicoelophrya nkoldaensis* n. sp.

C'est un cilié arrondi au pôle antérieur et tronqué au pôle postérieur (Fig. 31A). La face supérieure est nettement convexe. La face inférieure est légèrement aplatie et porte une gouttière adhésive repliée en forme de fer à cheval, marquée par une dépression. Une vingtaine de vacuoles s'éparpillent dans le cytoplasme et sans ordre précis de part et d'autre du macronoyau. Ce dernier est axial et légèrement éloigné des pôles (108 µm de long pour un diamètre de 13,6 µm). Le macronoyau porte des digitations plus ou moins marquées ; il est flanqué d'un micronoyau globuleux ou lenticulaire de 4 µm de diamètre et situé dans la zone équatoriale de la cellule (Fig. 31A). La cellule est douée d'une grande mobilité et d'une grande faculté d'adhérence au substrat.

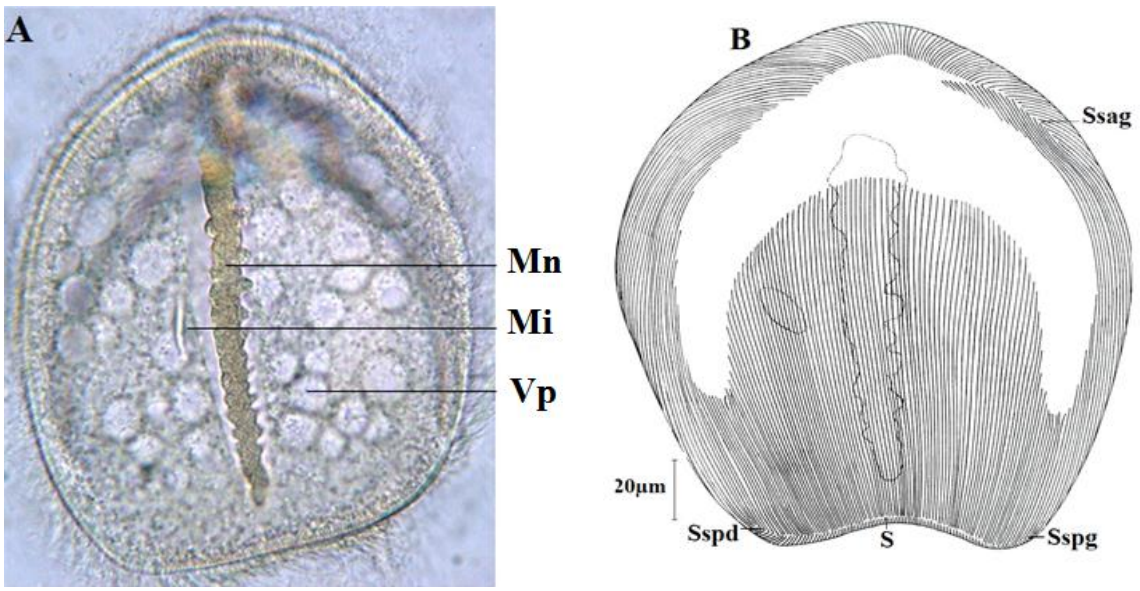

Figure 31: *Dicoelophrya nkoldaensis* n. sp.

A : Morphologie générale (observation vitale en contraste de phase) x400 ; **B** : Ciliature somatique.

Mi : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Ssag** : système sécant antérieur gauche ; **Sspd** : système sécant postérieur droit ; **Sspg** : système sécant postérieur gauche ; **Vp** : vacuole pulsatile.

La ligne de suture antérieure est déportée sur la face inférieure et se prolonge du côté gauche par un long système sécant, du côté droit, cette ligne de suture se confond avec l'emplacement de la gouttière dont elle limite le bord antérieur. Entre les branches de la gouttière on compte environ 75 cinéties limitant au pôle postérieur une ligne de suture qui se prolonge en deux systèmes sécants courts.

Au pôle antérieur, ces cinéties terminent leur course dans le prolongement des fibres squelettiques dont ils sont l'émanation (Fig. 31B). Le reste de la cellule est recouvert de manière homogène par près de 122 cinéties.

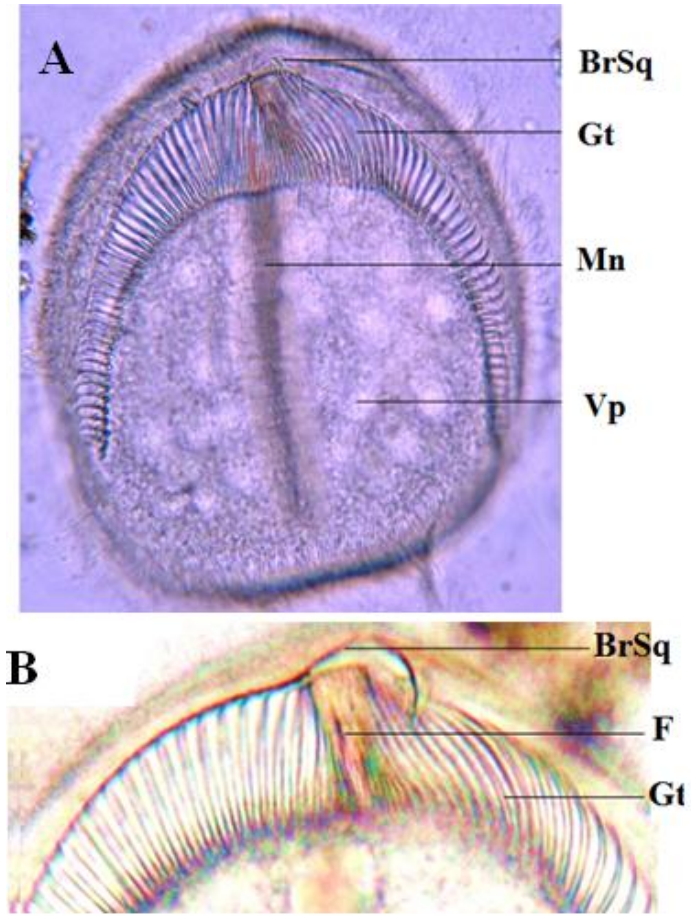

Figure 32: cytosquelette de *Dicoelophrya nkoldaensis* (observation vitale en contraste de phase)
A : disposition de la gouttière. X 400 ; **B** : détail de la branche squelettique x1000.
Brsq : branche squelettique ; **F** : fibres squelettiques ; **Gt** : gouttière ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : vacuole pulsatile.

Le cytosquelette est constitué par une branche squelettique robuste (élément en V classique des Metaracoelophryinae). Elle est repliée en son extrémité gauche en 2 crochets dont l'un moins développé, se prolonge dans la ligne de suture antérieure gauche. Sur cette hampe s'appuie une quinzaine de fibres squelettiques qui se prolongent dans une dépression de la face inférieure de la cellule. C'est cette concavité qui s'étend latéralement en 2

« rigoles » formées de fibres squelettiques repliées en arceaux constituant une gouttière dissymétrique en forme de cloche dont la branche droite est légèrement plus longue (Fig. 32A ; 32B). On compte au total 71 fibres squelettiques dans cette gouttière.

Diagnose : Vit dans l'intestin d'*Alma emini*. Cellule ovoïde : 132 - 220 X 90 - 210 µm. une vingtaine de vacuoles pulsatiles dispersées dans le cytoplasme et sans ordre apparent. 108 - 136 cinéties sur la face supérieure. 67 - 74 cinéties sur la face inférieure. 67 - 74 fibres squelettiques (tableau V). Spécifique des vers de petite taille de Nkolda. (Fréquence : 96,66 % ; abondance : 132 ciliés par ver)

Localisation géographique: l'hôte est récolté sur les berges de la rivière Mia (affluent de la Mefou) à Nkolda, à environ 16 Km au S-SW de Yaoundé. (Caractéristiques du sol : pH : 4,1 ; Humidité : 35,36% ; Matière organique : 12,6%).

III-1-1-3-4-3- *Dicoelophrya mediovacuolata* n. sp.

Ce cilié n'a pu être récolté que chez les *Alma* de petite taille d'Ebebda. Il est de très petite taille (60 µm de long sur 50 µm de large) comparé aux autres espèces du même genre. La cellule a un pôle antérieur arrondi et pôle postérieur tronqué. Le macronoyau excentré a la forme d'une massue arquée, flanqué équatorialement par un micronoyau globuleux, qui lui est presque accolé. L'appareil vacuolaire est constitué par une rangée axiale et longitudinale de 4 à 8 vacuoles pulsatiles (Fig. 33).

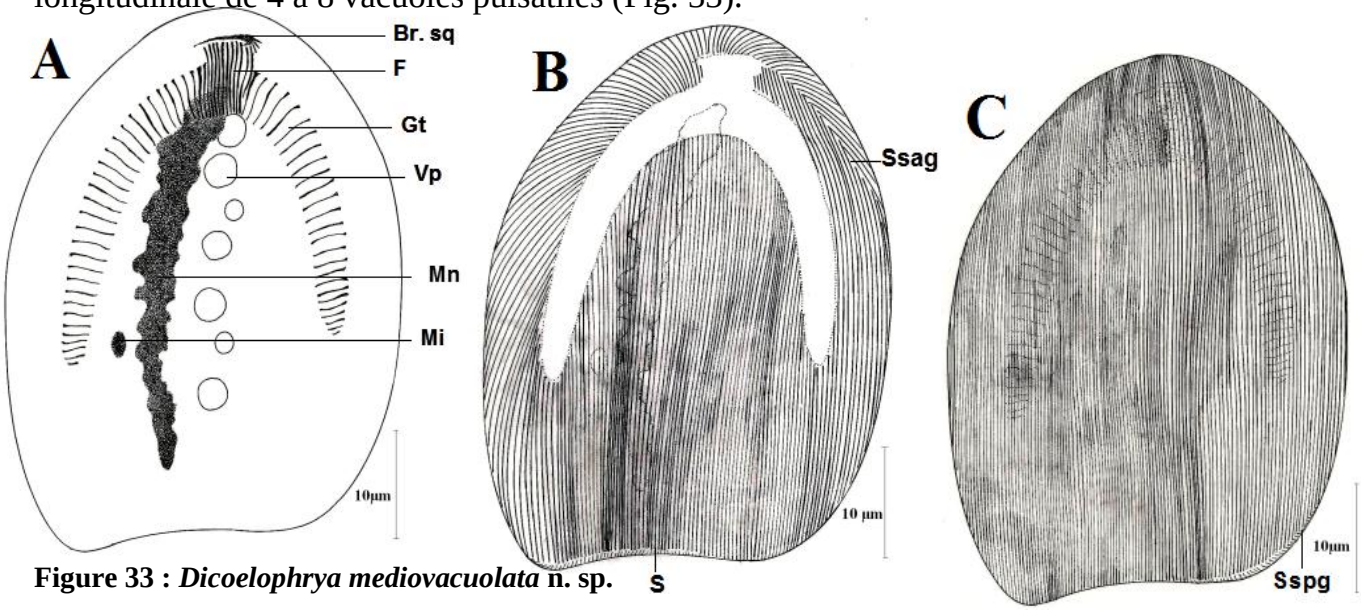

Figure 33 : ***Dicoelophrya mediovacuolata*** **n. sp.**

A : Morphologie générale ; **B** : Ciliature de la face inférieure ; **C** : Ciliature de la face supérieure.

Brsq : branche squelettique ; **Cr** : crochet ; **Ep :** épine ; **F** : fibres squelettiques ; **Gt** : gouttière ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Ssag** : système sécant antérieur gauche ; **Sspg** : système sécant postérieur gauche ; **Vp** : vacuole pulsatile.

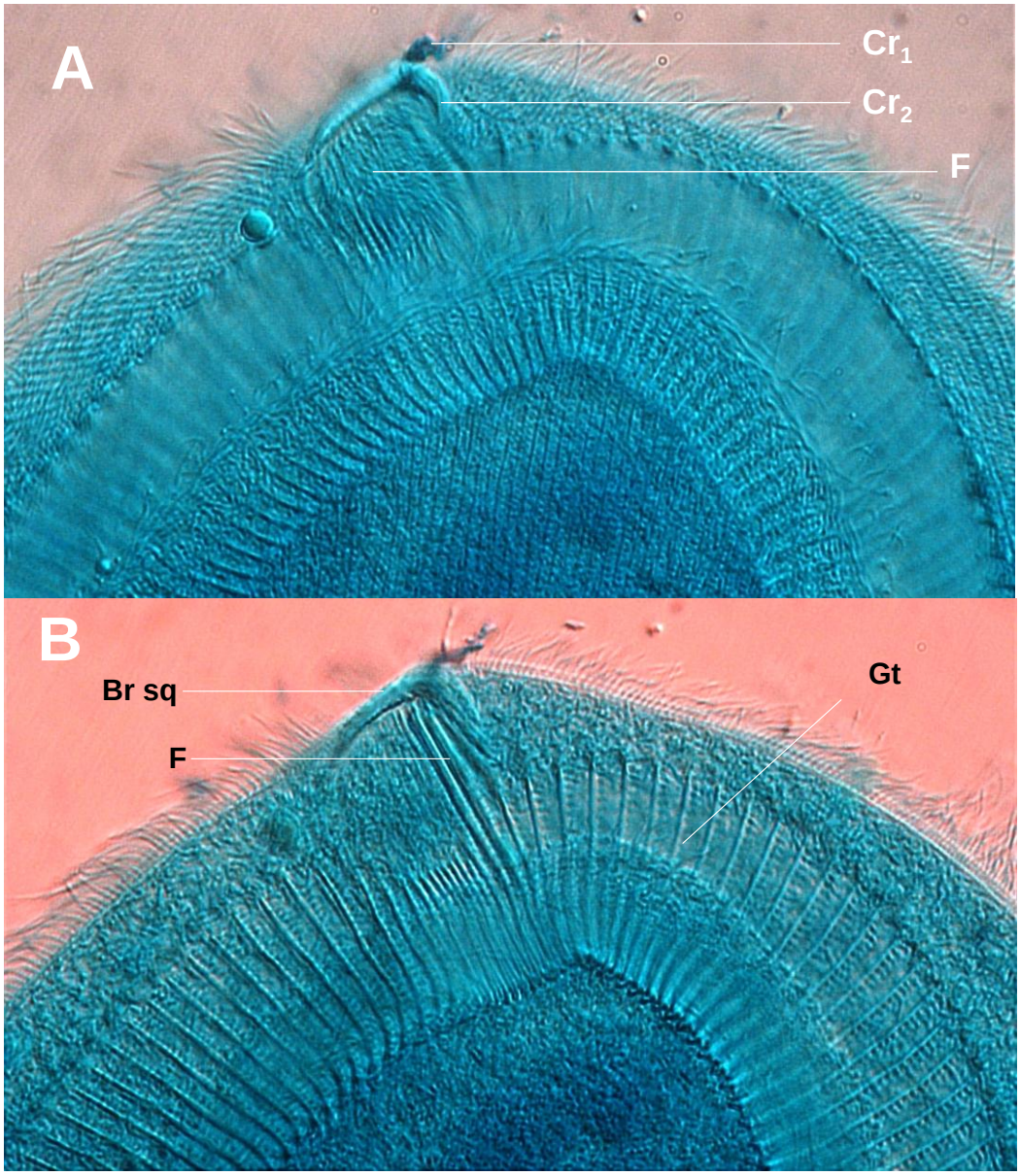

Figure 34: *Dicoelophrya mediovacuolata* (images obtenues par déconvolution) X1000
A : Détail de la Branche squelettique (Brsq), avec les deux crochets : Cr_1, Cr_2 ; F : Fibre.
B : Détail des fibres squelettiques de la gouttière. Gt : gouttière.

Diagnose : Commensal du tube digestif d'*Alma nilotica*. 132 - 220 X 90 - 210 µm. une vingtaine de vacuoles pulsatiles dispersées dans le cytoplasme et sans ordre apparent. 72 - 103 cinéties sur la face supérieure. 53 - 79 cinéties sur la face inférieure. 53 - 79 fibres squelettiques.

On note une forte fréquence d'infestation (93,33% des vers étudiés en sont porteurs), mais une faible abondance (en moyenne sept spécimens par ver).

Localisation géographique: l'hôte est récolté sur les berges du fleuve Sanaga à Ebebda, à 60 Km au nord de Yaoundé. (Caractéristiques du sol : pH : 4,9 ; Humidité : 33,6% ; Matière organique : 2,7%).

Le tableau suivant présente des espèces connues dans les genres *Dicoelophrya*, l'origine des hôtes de leur première description et les traits saillant de leur morphologie.

Tableau VII: Présentation synoptique des caractéristiques des ciliés du genre *Dicoelophrya.*

	D. calliste	*D. almae*	*D. nkoldaensis* n. sp	*D. mediovacuolata* n. sp
Taille en µm	85-120 x 45-60	120-180 x 90-100	132-220 x 90-210	37-59 x 30-50
Vacuoles	2 rangées	2 rangées	disséminées	1 rangée axiale
Cytosquelette	Hampe 10 µm + 12 fibres	Hampe 10µm + 12 fibres	Hampe + 13 fibres	Hampe + 11- 15 fibres
Cinéties	170-180	280 en moyenne	200 en moyenne	168 en moyenne
Gouttière	Gouttière dissymétrique, 20-22 arceaux	Gouttière dissymétrique, 142-160 arceaux	Gouttière presque symétrique, 71 arceaux	Gouttière dissymétrique, 64 arceaux
Origine	*Alma emini* Gabon	*Alma* sp Gabon et Cameroun	*Alma sp* Cameroun	*Alma sp* Cameroun

- Evolution du cytosquelette dans la famille des Radiophryidae

Les quatre genres connus chez les Metaracoelophryinae, sont tous endocommensaux des Oligochètes Glossoscolecidae, forment un ensemble homogène dans lequel de Puytorac (1972), notait une régression de l'ensemble du cytosquelette chez les *Paracoelophrya*.

La figure 29 permet en effet, une observation du squelette de quelques genres de Radiophryidae de Puytorac, 1972. *Radiophrya* Rossolimo, 1926, *Metaradiophrya* Hedenreich, 1935, *Cheissinophrya* de Puytorac, 1969, *Dicoelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1969, *Coelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1969, *Paracoelophrya* de Puytorac, 1969, dont nous rappelons les caractères suivants : dans tous les genres, la cellule est pourvue à la partie antérieure de ce que de Puytorac a nommé un élément en V, d'où partent, sur la face inférieure, des fibres squelettiques ecto-endoplasmiques longeant les cinéties.

Chez ***Radiophrya*** (Fig. 35A), les deux branches de l'élément en V sont symétriques et les fibres s'étendent sur la plus grande partie de la face inférieure.

Chez ***Metaradiophrya*** (Fig. 35B), la branche droite du V est une hampe robuste terminée par un crochet massif qui donne insertion à une série de fibres. La branche gauche résulte de la juxtaposition des extrémités antérieures des fibres puissantes dans la région médiane de la cellule et diminuent de diamètre vers la gauche. L'ensemble des fibres s'étend sur une grande partie de la face inférieure.

Chez ***Cheissinophrya*** (Fig. 35C), on retrouve la hampe droite très puissante avec un crochet marqué. Depuis la base de ce dernier et sur la gauche, un filin de petit diamètre, à peu près symétrique de la hampe, est suivi vers la gauche de fibres dont le diamètre va en diminuant. La partie gauche de l'élément en V réduite ne porte que de courtes fibres.

Chez ***Dicoelophrya*** (Fig. 35D), la hampe courte, pourvue d'un crochet porte une série de fibres médianes. Sur les côtés droit et gauche, les fibres s'épaississent localement en un arceau et leur succession forme une gouttière. Les gouttières droite et gauche se réunissent en un ensemble en fer à cheval.

Chez ***Metaracoelophrya*** (Fig. 35E), la partie droite de l'élément en V est peu marquée mais il y a un crochet massif. Sur la droite de l'élément en V sont insérées des fibres en rideaux de plus en plus courts vers la droite et correspondant à l'ensemble d'une aire thigmotactique. A la base du crochet et vers la gauche (où la partie gauche de l'élément en V est une ligne fine) s'insèrent quelques fibres puissantes tordues à mi-parcours en forme d'arceaux, l'ensemble amorçant une gouttière obliquement dirigée vers la partie postérieure de la cellule, mais très loin de l'atteindre.

Chez ***Coelophrya*** (Fig. 35F), le cytosquelette est unilatéral et forme une gouttière renforcée par des fibres robustes repliées en arcaux. Cette gouttière s'étend jusqu'à la partie postérieure où elle tend à devenir un canal quasi clos, puis une simple dépression.

Chez ***Paracoelophrya*** (Fig. 35G), l'élément en V est très aplati avec une simple pointe à la jonction d'une partie droite aux fibres non détectables et d'une partie gauche porteuse de quelques courtes fibres de plus en plus fines vers l'extrémité gauche.

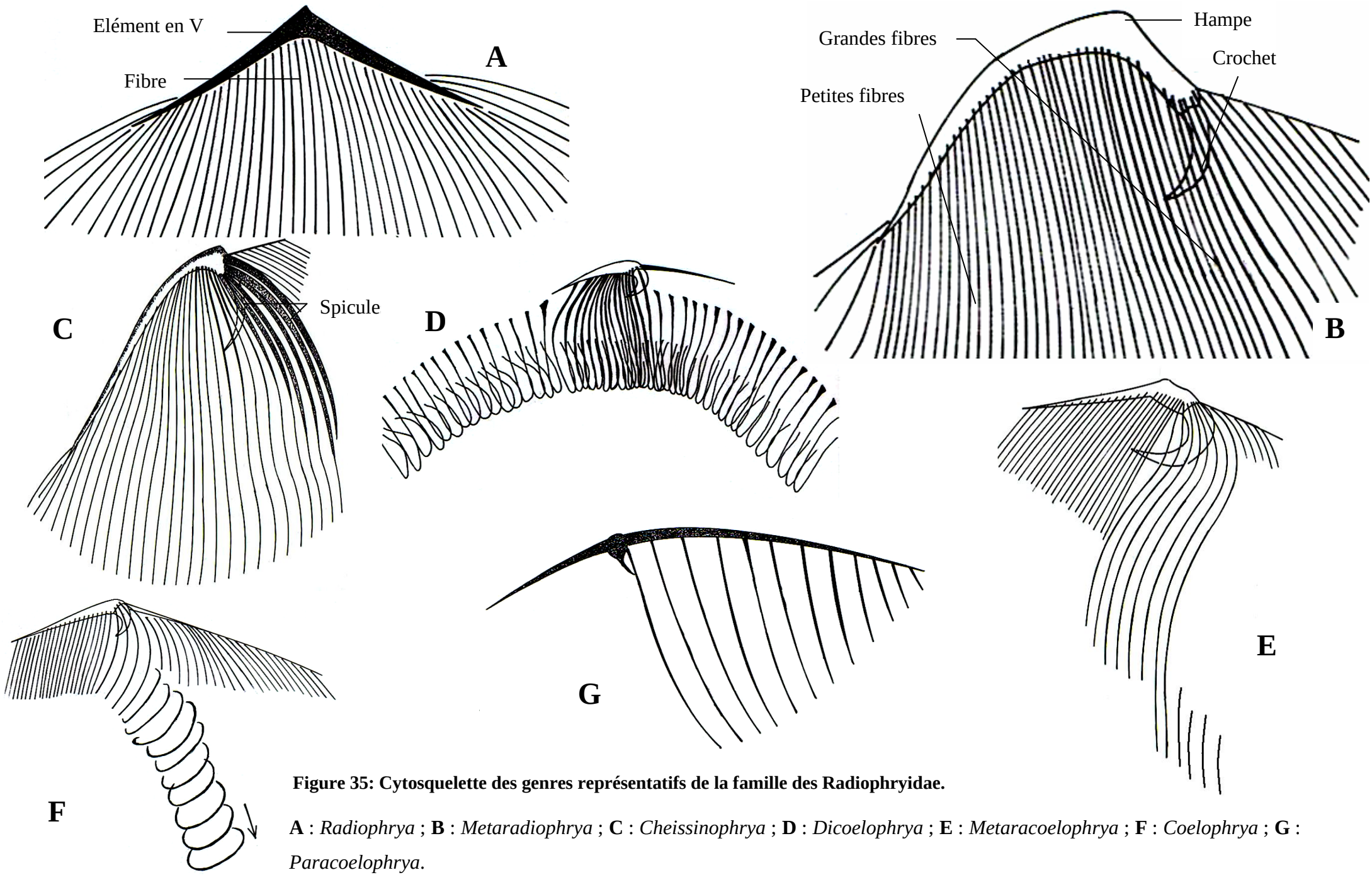

Figure 35: Cytosquelette des genres représentatifs de la famille des Radiophryidae.

A : *Radiophrya* ; **B** : *Metaradiophrya* ; **C** : *Cheissinophrya* ; **D** : *Dicoelophrya* ; **E** : *Metaracoelophrya* ; **F** : *Coelophrya* ; **G** : *Paracoelophrya*.

III-1-1-3-5- Genre *Eudrilophrya* Puytorac, 1970

Le corps est très aplati et sensiblement d'égale diamètre d'un bout à l'autre, porte antérieurement et uniquement sur la face inférieure les fibres squelettiques dérivant de l'épaississement des cinéties. Ces fibres n'aboutissent pas antérieurement sur une pièce squelettique en V.

III-1-1-3-5-1- *Eudrilophrya complanata* de Puytorac, 1970

Ce Cilié qui colonise sur toute sa longueur l'intestin d'*Eupolytoreutus* sp. (Megascolecidae), appartient à la sous-famille des Eudrilophryinae de Puytorac, 1971. La cellule est arrondie dans sa partie antérieure et tronquée au pôle postérieur. Très aplatie et transparente, elle présente des côtés latéraux grossièrement parallèles. En période d'interphase, elle mesure 155 à 245 µm de long sur 125 à 202 µm de large. Elle contient de volumineux nucléoles et est flanqué d'un micronoyau médian, ayant la forme d'une lentille biconvexe et mesurant 4 à 6 µm de diamètre. Les vacuoles contractiles sont très nombreuses (17 à 44) et disposées sans ordre apparent de part et d'autre du macronoyau (Fig. 36A).

Les cinéties sont très serrées, longitudinales sur la plus grande partie de leur trajet et n'atteignent pas le pôle antérieur occupé par des fibres squelettiques. On compte 130 à 222 cinéties sur la face inférieure et 176 à 315 sur la face supérieure (Fig. 36B).

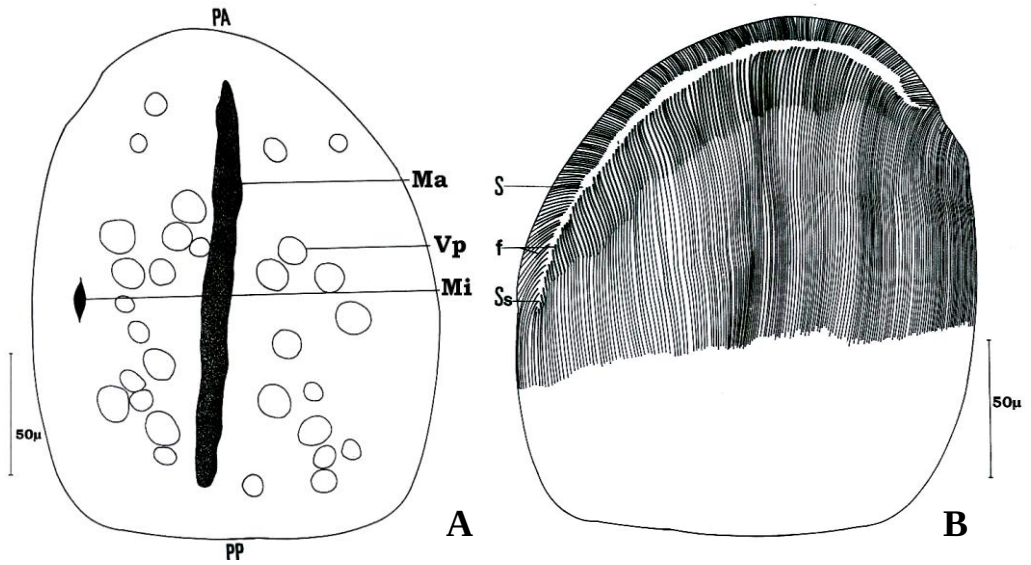

Figure 36 : ***Eudrilophrya complanata***

A : Morphologie générale ; **B :** Ciliature somatique

Mi : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Ss** : système sécant. **S** : ligne de suture ; **Vp** : vacuole pulsatile ; **f** : fibres ; **PP** : pole postérieure ; **PA** : pole antérieur.

A la partie antérieure de la cellule se trouve une zone de suture qui est reportée sur la face inférieure et qui monte un peu plus du côté droit. On distingue quatre systèmes sécants : deux antérieurs et deux postérieurs. Les fibres squelettiques sont localisées au pôle

antérieur sur les deux faces de cilié. Ces fibres situées dans le prolongement des cinéties dont elles épousent la forme semblent être des productions cinétosomiennes cinétodesmales. Leur nombre est par conséquent équivalent à celui des cinéties.

Sur la face inférieure, ces fibres dont l'épaisseur diminue progressivement de la gauche vers la droite de la cellule forment une ligne de suture antérieure qui descend plus longuement sur le côté gauche du cilié. Ces fibres convergent depuis la paroi latérale gauche vers la paroi latérale droite où elles présentent un changement de direction prononcé (Fig. 36B).

Le premier indice de mise en route du processus morphogénétique de bipartition est le développement des fibres squelettiques dans la région équatoriale de la cellule. Elles sont beaucoup plus marquées sur la face inférieure que sur la face supérieure. Ces fibres squelettiques, qui semblent être des productions cinétosomiennes cinétodesmales, prennent position dans la région médiane sous le futur plan de division et s'étendent ensuite progressivement vers les régions latérales pour constituer l'appareil squelettique de l'opisthe formé uniquement par un épaississement des cinéties de la face inférieure.

La condensation du micronoyau commence avec l'apparition de ces fibres dans la région médiane de la cellule. Elle se poursuit au fur et à mesure de leur progression vers les régions latérales de la cellule (Fig. 37A).

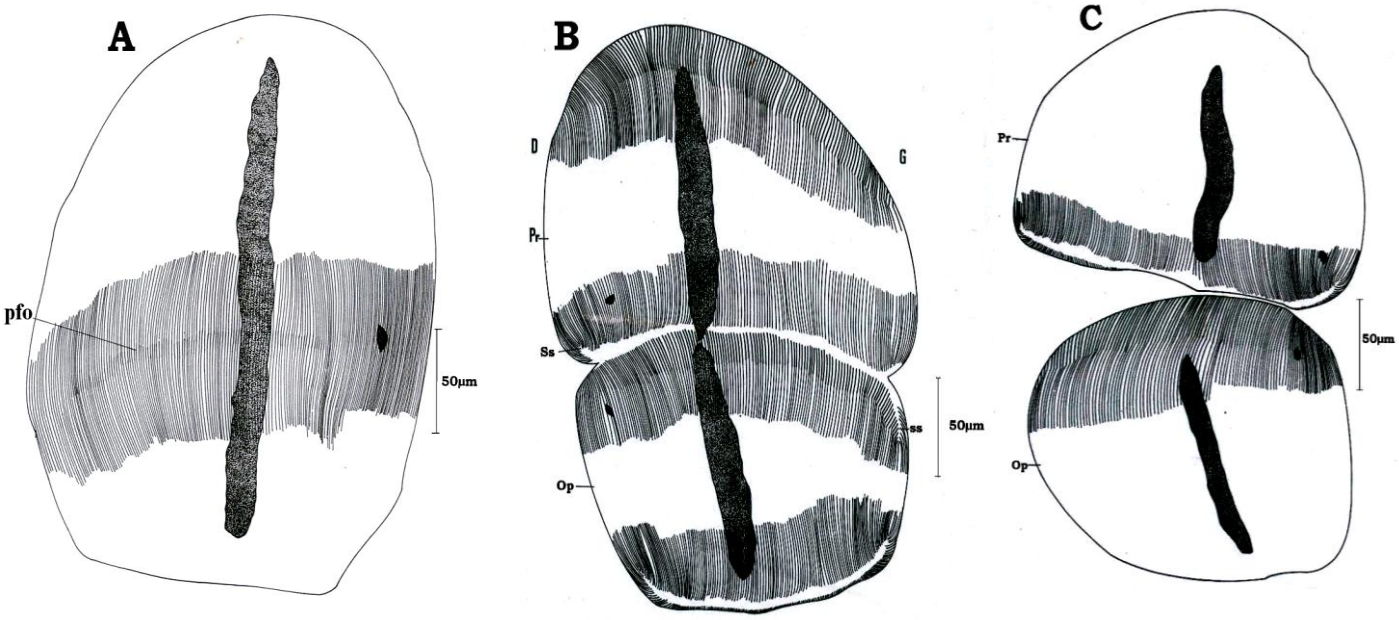

Figure 37: Morphogenèse de bipartition chez *Eudrilophrya complanata*

A : Allongement de la cellule, condensation du micronoyau et formation de la pellicule squelettogène ; **B** : Constriction équatoriale du cytoplasme et division du micronoyau ; **C** : Division de la cellule.

Pr : Proter ; **Op** : Opisthe ; **Pfo** : Pimordium des fibres squelettiques de l'opisthe ; **Ss** : Système sécant ; **G** : Gauche ; **D** : Droite.

Quand le micronoyau achève sa division, alors commence la formation d'un sillon de constriction du cytoplasme dans la région équatoriale (Fig. 37B). Très vite, ce sillon s'accentue pendant que le macronoyau s'étire de plus en plus et entame sa division. En même temps, les systèmes sécants : antérieur gauche de l'opisthe et postérieur droit du proter se forment avant que la progression du sillon de division n'aboutisse à la séparation de deux cellules filles. Le macronoyau se divise à son tour et un mouvement de translation morphogène met en place progressivement les micronoyaux néoformés (Fig. 37C).

La description ci-dessus retrace le mécanisme classique de la fission binaire transversale connue chez la plupart des Ciliés.

III-1-1-3-6- Genre *Metaradiophrya* Heidenreich, 1935.

Le corps présente une face inférieure munie de fibres squelettiques puissantes et d'une hampe robuste.

III-1-1-3-6- *Metaradiophrya simplex* n. sp.

La cellule est aplatie sur sa face ventrale et présente une légère convexité sur la face dorsale. Ses côtés latéraux sont à peu près parallèles. Elle mesure 115-223 X 52-150 µm. Le macronoyau est axial et rubané et mesure en moyenne 133,6 µm de long pour 18 µm de large. Le micronoyau, sphérique ou lenticulaire de 5,33 µm de diamètre, est situé dans la zone équatoriale de la cellule. Les vacuoles contractiles dont le nombre varie de 8 à 23, se répartissent en deux rangées de part et d'autre du macronoyau (Fig. 38A).

Les cinéties méridiennes et longitudinales sont très serrées sur la face supérieure. Sur la face inférieure, ces cinéties sont antérieurement renforcées par des fibres squelettiques situées dans l'ordonnancement des cinéties dont elles épousent la forme. On compte 57 à 102 cinéties sur la face supérieure de la cellule et 46 à 70 cinéties sur la face inférieure. La ligne de suture antérieure porte une branche squelettique simple, dépourvue d'épines. Cette hampe s'interrompt brusquement du côté droit de la cellule, mais se prolonge considérablement du côté gauche (Fig. 38B). Au pôle postérieur se trouve une zone de raccordement des cinéties se déportant le plus souvent sur la face supérieure et montant un peu plus de chaque côté. Plus généralement, la topographie ciliaire présente 4 systèmes sécants : deux antérieurs (droit et gauche) et deux autres postérieurs (droit et gauche).

Les fibres squelettiques sont localisées au pôle antérieur et se retrouvent sur une seule face (Inférieure). Ces fibres sont situées dans le prolongement des cinéties. Leur nombre est par conséquent équivalent à celui des cinéties de la face inférieure. Formées par

épaississement des cinéties, ces fibres squelettiques semblent être des productions cinétosomiennes cinétodesmales (Fig. 38B).

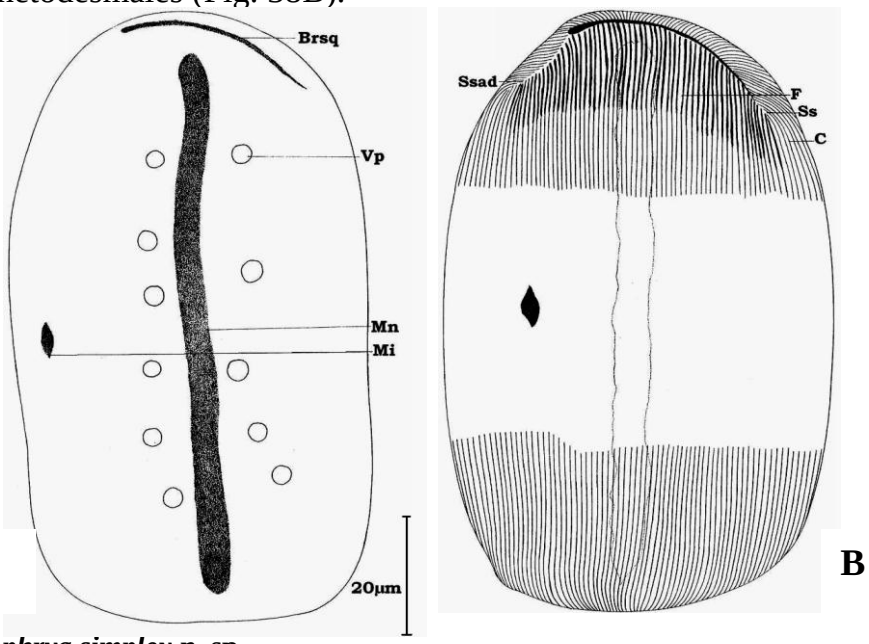

Figure 38 : ***Metaradiophrya simplex*** **n. sp.**

A : Morphologie générale ; **B** : Ciliature somatique

Brsq : branche squelettique ; **C** : cinéties ; **F**: fibres ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Ss** : système sécant. **Vp** : vacuole pulsatile.

Diagnose : Vit dans le tractus digestif d'*Eupolytoreutus* sp. ; Cellule aplatie dorsoventalement, avec des bords latéraux grossièrement parallèles. 115 - 223 X 52 - 150 µm. Deux rangées de 8 à 23 vacuoles. 44 - 70 cinéties sur chaque face. Branche squelettique 44 à 70 µm de long. Fréquence d'infestation de 60 % et une abondance de 141 ciliés par ver.

Le plan de division est légèrement sous équatorial. L'allongement de la cellule marque le premier signe de mise en route des processus de la morphogenèse de bipartition. (La cellule peut atteindre 190,17 µm de longueur). L'épaississement et le plissement des cinéties de la face inférieure dans la zone équatoriale sont suivis de la condensation du micronoyau. Progressivement, le plissement des cinéties s'accentue et gagne toute la zone phragmoplastique (Fig. 39A). Cette modification est plus marquée dans la région proche du micronoyau. Les cinéties se rompent suivant une ligne caractéristique séparant le proter de l'opisthe. On note alors le début de l'étranglement du cytoplasme de la cellule. L'épaississement des cinéties au pôle antérieur de l'opisthe s'accentue, militant ainsi à la formation et la mise en place des fibres squelettiques (Fig. 39B). Le micronoyau se divise et amorce sa migration alors que le macronoyau n'est que légèrement affecté par son amincissement médian (Figs. 39A, B).

L'étranglement du cytoplasme se poursuit et l'on peut déjà remarquer le début de la formation des systèmes sécants droit et gauche, postérieur chez le proter et antérieur chez l'opisthe. La formation et la mise en place de la branche squelettique de l'opisthe s'opère progressivement par épaississement de la partie antérieure des cinéties de la face inférieure avant la séparation des deux tomites (Fig. 39D).

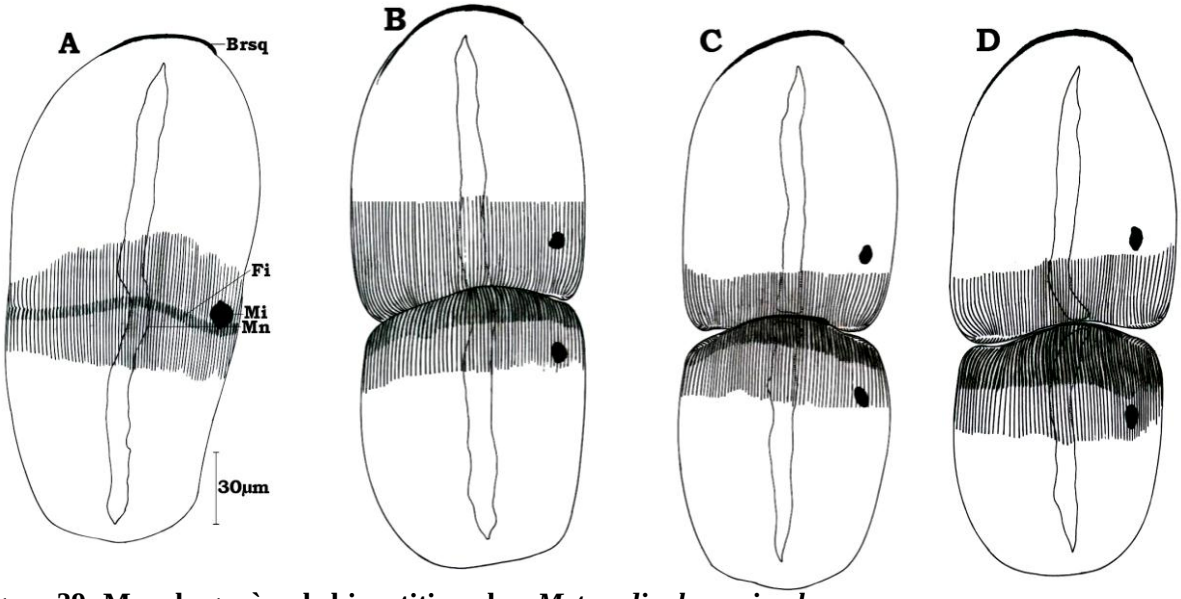

Figure 39: Morphogenèse de bipartition chez *Metaradiophrya simplex*

A : condensation du micronoyau et formation de la pellicule squelettogène ; **B** : division du micronoyau ; **C** : Translation morphogène des micronoyaux ; **D** : division de la cellule.

Fi : fibres ; **Mn** : macronoyau ; **Mi** : micronoyau.

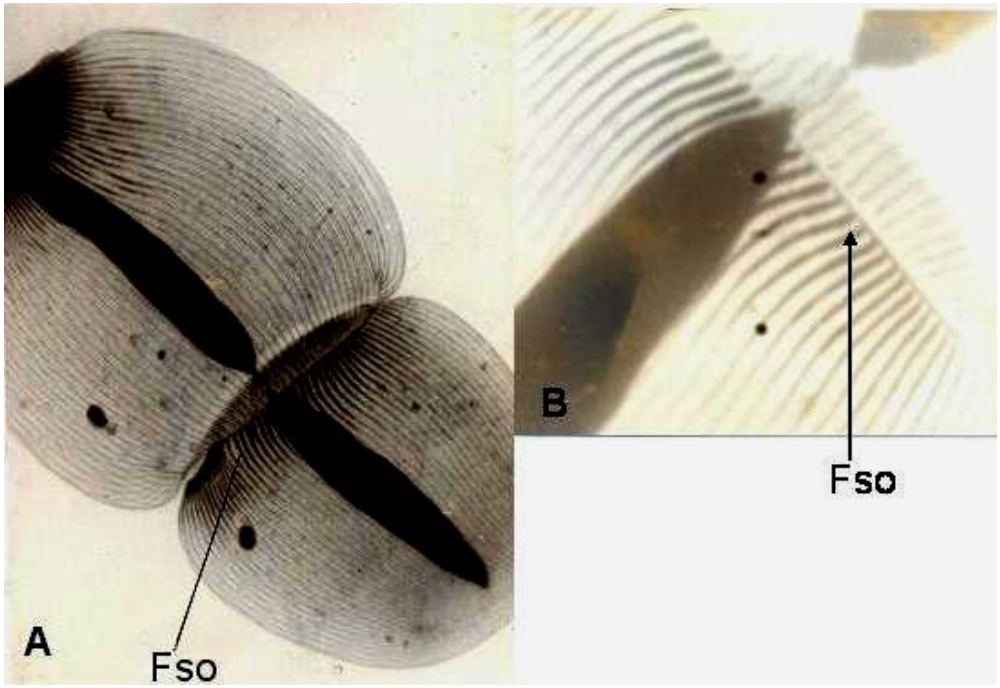

Figure 40: Photographie de quelques étapes de la morphogenèse de bipartition chez *Metaradiophrya simplex* (Imprégnation au carbonate d'argent ammoniacal).

A : stade de division X 40 ; **B**: zone fragmoplastique montrant la genèse des fibres squelettiques de l'opisthe (Fso) X100.

La conjugaison : Elle débute par l'accolement de deux partenaires par leur zone équatoriale proche des micronucléi (Fig. 41A, 41B). Les deux conjugués, toujours accolés et de même taille ou légèrement inégaux, sont placés parallèlement l'un à l'autre. Il y aurait une série de deux divisions prézygotiques du micronoyau dont l'une est réductionnelle, aboutissant à la formation de 4 micronoyaux.

La figure 41 C montre 5 micronoyaux dont l'un plus gros paraît être un syncaryon. Ceci tient du fait qu'après les deux premières divisions, il y aurait eu disparition du micronoyau d'origine. Un micronoyau par division donnerait deux pronucléi (un stationnaire et l'autre migrateur) et l'échange ayant eu lieu, le syncaryon aurait été formé. Le processus étant suffisamment rare, les ex-conjuguants n'ont pas été repérés par des variations du nombre du micronoyau. C'est le premier exemple d'une vraie conjugaison chez les astomes et sans modification du macronoyau. Il y a donc recombinaison des matériels génétiques de chaque partenaire, puis chacun reprend son aspect et sa vie solitaire.

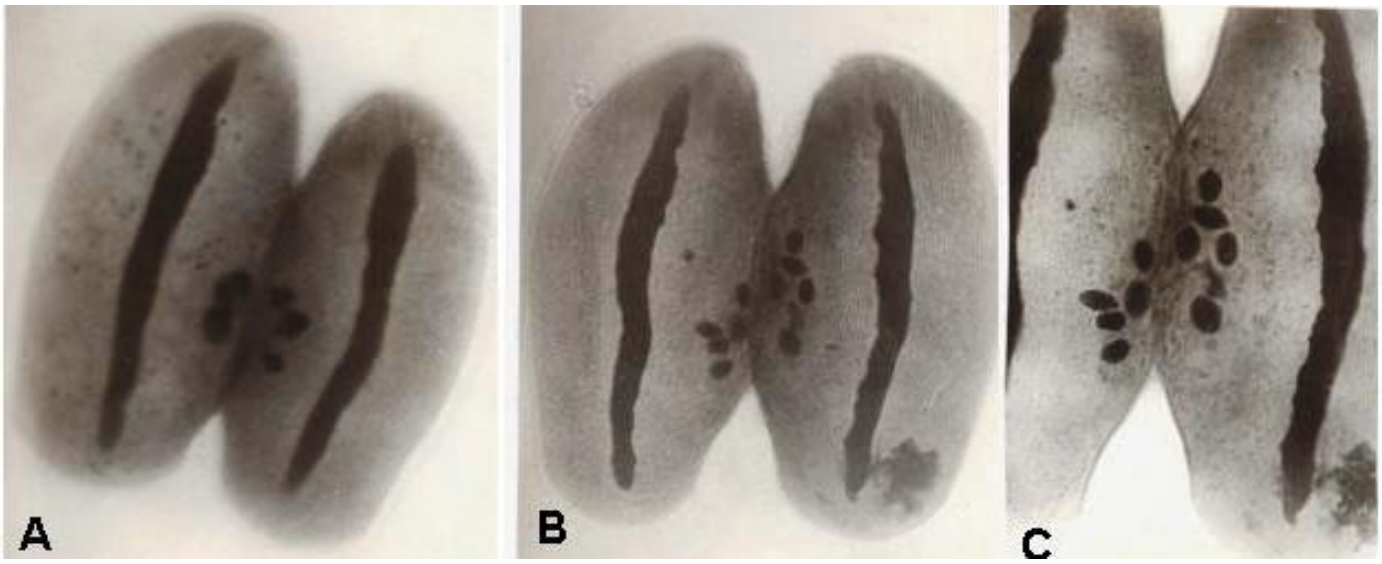

Figure 41: Photographies de quelques stades de la conjugaison chez *Metaradiophrya simplex* (Imprégnation au carbonate d'argent ammoniacal) X 40.

A : couple de conjugués soudés, avec début de divisions du micronoyau. **B** : stade à 4 micronoyaux. **C** : Détail de la zone de soudure et d'échange de micronoyaux.

III-1-1-3-7- Genre *Bruchneriella* Heidenreich, 1935.

Cellule de taille plutôt grande, avec quelques vacuoles en une rangée longitudinale. Le cytosquelette est formé par une épine dont la base est creusée en une cavité bordée par des fibres squelettiques.

III-1-1-3-7-1- *Bruchneriella eupolytoreuti* n. sp.

Ce cilié appartient au genre *Buchneriella* Heidenreich, 1935 de la famille des Maupasellidae Cépède, 1910. Il vit dans la partie antérieure du tube digestif d'un ver Megascolecidae du genre *Eupolytoreutus* récolté dans les sols humides de la région de Yaoundé, où il cohabite avec de nombreuses espèces d'astomes dont *Eudrilophrya complanata*. 50 % des vers étudiés en sont porteurs avec une abondance moyenne de 44 ciliés par ver.

La cellule cylindroïde et arrondie aux deux extrémités présente une légère convexité sur la face dorsale. En interphase, elle mesure 98 à 170 µm de long pour 45 à 68 µm de large. Le macronoyau, rubané, mesure en moyenne 14 µm de large. Il est très allongé (114 µm) et s'étend d'un pôle à l'autre dans la région axiale de la cellule. Il est flanqué d'un micronoyau lenticulaire de 4 µm de diamètre (Fig. 42).Pendant l'interphase, le micronoyau se situe au niveau du tiers postérieur de la cellule dans la majorité des cas. Toutefois, dans une faible proportion de la population, le micronoyau est équatorial, déterminant ainsi, lors de la morphogenèse, un plan de division médian. Une rangée de 2 à 9 vacuoles contractiles longe le macronoyau (Fig. 42C).

Une quarantaine de cinéties méridiennes recouvre uniformément la cellule sur ses deux faces. Leurs extrémités antérieures délimitent une aire dénudée circulaire occupée par le cytosquelette. Dans la région postérieure, les stries ciliaires convergent et déterminent une aire glabre discrète (Fig. 42D).

L'extrémité antérieure porte un appareil squelettique qui occupe toute la région apicale mais, est légèrement déporté du côté de la face inférieure. Il est en effet constitué par l'agencement de deux éléments (Figs. 42A, B):

- Une épine mobile d'une longueur moyenne de 3,7 µm, et qui s'élargit vers la base en formant une dilatation qui s'articule dans une cavité déterminée par un alignement de cinétosomes denses.
- Une membrane ectoplasmique très fine et dépourvue de toute ciliature recouvre la pointe de l'épine et sécrète une boule d'amarrage réfringente qui augmenterait la solidité de l'ancrage.

Les fibres squelettiques varient de 9 à 14. Elles apparaissent très nettement du fait de leur forte réfringence. Ces fibres, disposées en éventail plus ou moins serré, s'insèrent sur les cinétosomes à la base de l'épine.

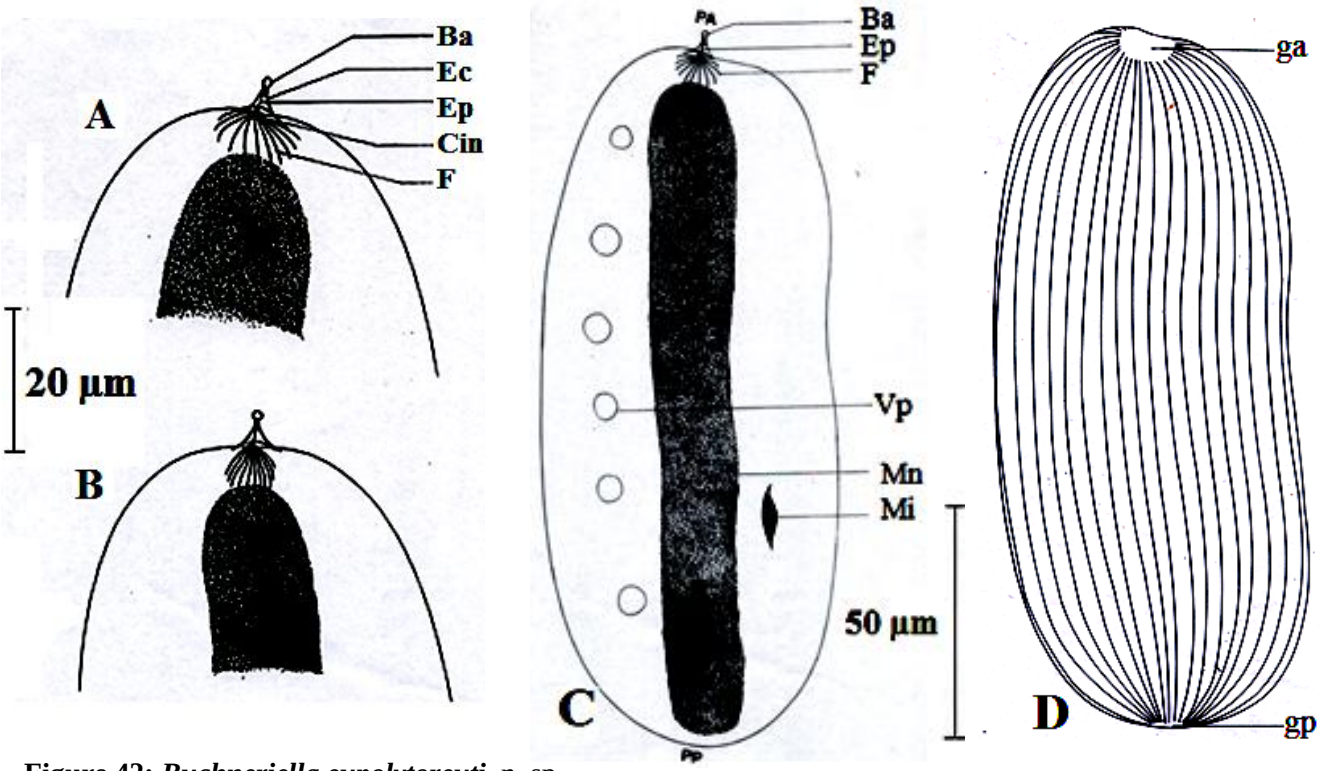

Figure 42: ***Buchneriella eupolytoreuti*** n. sp.

A et **B** : Détail de l'extrémité antéro inférieur montrant respectivement les formes éparses et serrées des fibres squelettiques ; **C** : Morphologie générale ; **D** : Topograhie ciliaire ;

Ba : boule d'amarrage ; **Cr** : crochet ; **Cin** : cinétie ; **Ep :** épine ; **Ec** : ectoplasme ; **F** : fibres squelettiques ; **ga** : aire glabre antérieure ; **gp** : aire glabre postérieure ; **Mi** : micronoyau ; **Mn** : macronoyau ; **Vp** : vacuole pulsatile.

Le premier indice de la mise en route de la morphogenèse de bipartition chez *Buchneriella eupolytoreuti* est l'augmentation considérable de la taille de la cellule qui atteint 176 µm pendant la division (Figs. 43A, B, C et D).

Dans la région postérieure proche du micronoyau, s'observent des fibrilles courtes et denses, correspondant à des alignements de cinétosomes nouveaux qui s'équipent déjà de fibres annexes. Ces fibrilles dont l'ordonnance est calquée sur celles des cinéties, s'alignent suivant le futur plan de scission du tomonte. Elles sont plus marquées sur la face supérieure que sur la face inférieure où elles se réduisent à un alignement de points denses.

Le micronoyau initialement lenticulaire se condense et prend l'allure d'une boule d'environ 6 µm de diamètre (Fig. 43B). L'apparition de la pellicule squelettogène survient et c'est à ce moment que l'apparition des premières fibres (3 à 4) et d'une pointe acérée marque le début de la formation du cytosquelette du futur opisthe. Cette ébauche du cytosquelette semble tirer son origine des cinétosomes. La rupture des cinéties est suivie de l'étirement du micronoyau (Fig. 43C). Le macronoyau débute sa constriction.

Très vite, le nombre de fibres squelettiques augmente pour atteindre 9 puis 14. Pendant ce temps, on observe une accentuation de la constriction cytoplasmique. Le micronoyau poursuit son étirement et se divise. Par la suite, l'étranglement du cytoplasme aboutit à la scission de la cellule. Bien vite, le cytosquelette achève son édification et le macronoyau sa division (Fig. 43D).

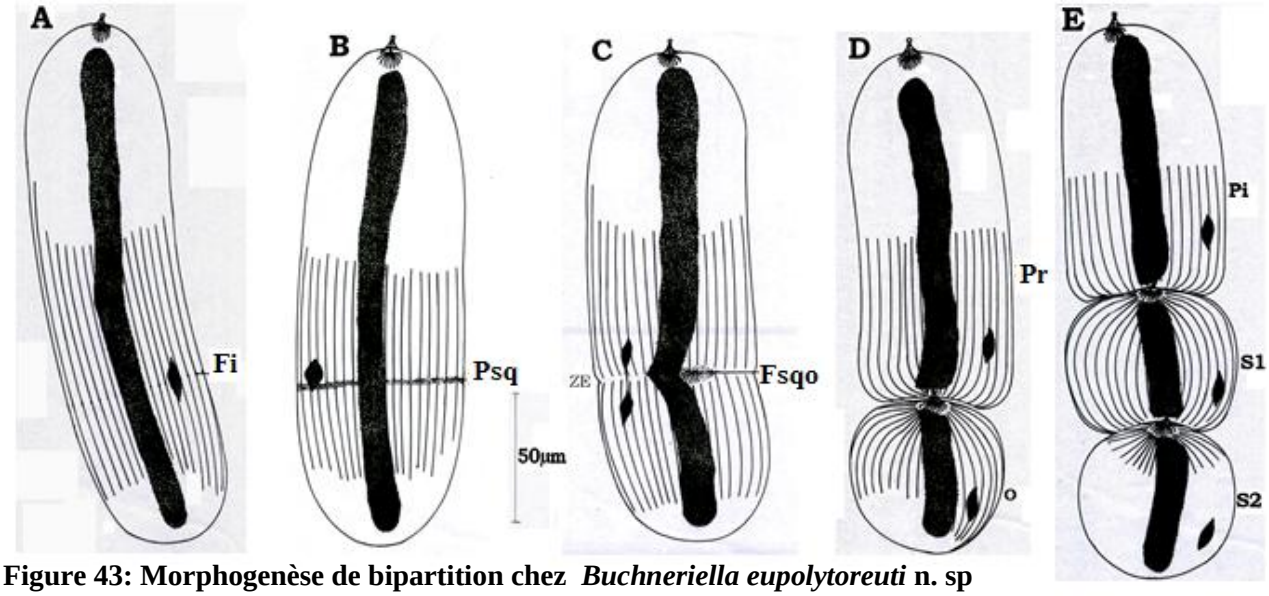

Figure 43: Morphogenèse de bipartition chez *Buchneriella eupolytoreuti* n. sp
A : Allongement de la cellule, Fi : fibrilles ; **B** : condensation du micronoyau et formation de la pellicule squelettogène (Psq) ; **C** : étirement et division du micronoyau ; **D** : division de la cellule ;
E : bourgeonnement caténulaire (Palintomie).
Fi : fibrilles ; **Fsqo** : fibres squelettiques de l'opisthe ; **Pi** : primite **Psq** : pellicule squelettogène ; **Pr** : proter ; **O** : opisthe ; **S1**et **S2** : Satellites.

L'ensemble des organites des deux tomites se réorganise progressivement. Le micronoyau migre et se positionne dans la zone sous équatoriale des deux tomites. L'opisthe qui n'est plus relié au proter que par la zone du cytosquelette se sépare de ce dernier (Fig. 43B). L'individu postérieur, de forme ovoïde, mesure environ 48 x 45 µm.

Très rarement, la division sub-équatoriale aboutit à la formation de deux cellules identiques.

Palintomie : Chez *Buchneriella eupolytoreuti* n.sp, le plan de scission peut être soit équatorial, donnant deux tomites semblables, soit localisé dans la partie postérieure du cilié aboutissant à la formation d'un satellite qui persiste jusqu'à un nouvel étranglement cellulaire, créant un agrégat de trois individus accolés. Ce cas typique a été décrit chez *Acanthophrya inermis* (de Puytorac, 1954).

Dans la chaîne de 2 individus, le proter s'allonge considérablement et initie une deuxième division dont le processus est identique à la première (Figs. 44 A, B, C). Elle

aboutit à la formation d'une chaîne de trois individus accolés (Figs. 43E ; 44D, E). L'ensemble pouvant atteindre 220 µm de long. Dans une chaîne, le primite a une taille d'environ 105 µm x 46 µm. Les deux satellites postérieurs, d'un ovoïde légèrement inégale, mesurent en moyenne 55 µm x 46 µm. des chaînes de plus de 3 individus n'ont pas été observées. Le primite et les deux satellites postérieurs possèdent un appareil squelettique bien différencié.

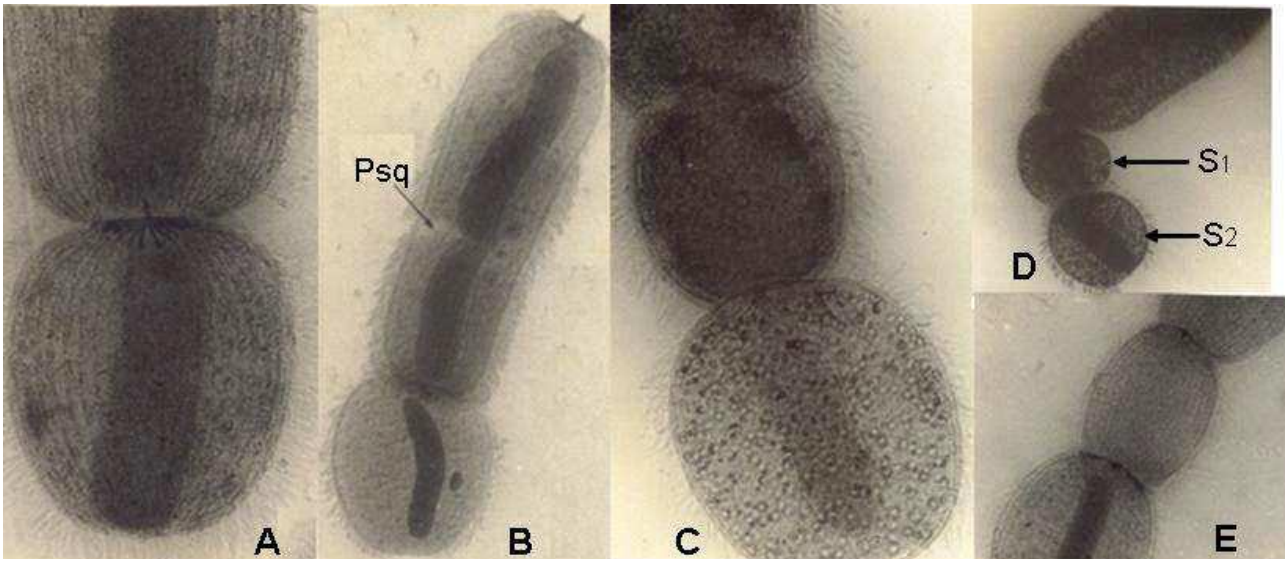

Figure 44: Photographies de quelques étapes de la morphogenèse de bipartition chez *Buchneriella eupolytoreuti* n.sp. (Imprégnation au carbonate d'argent ammoniacal) X 400.
A- Division binaire simple : proter antérieur et opisthe postérieur ; **B**- Allongement du proter et initiation de la deuxième division : apparition de la pellicule squelettogène (psq), division du micronoyau et du macronoyau ; **C**- constriction du cytoplasme, mise en place de l'appareil squelettique ; **D** et **E** chaîne de trois individus. $\mathbf{S_1}$; $\mathbf{S_2}$: satellites.

III-1-2- Phylogénie moléculaire de la sous-classe Astomatia

Les 10 espèces de Ciliés examinés dans le cadre de l'étude moléculaire appartiennent à sept genres dont un nouveau, regroupés dans trois familles représentatives des trois ordres de la sous-classe des Astomatia (tableau VIII). Cette classification morphologique met en relief deux grands traits de caractères. Le premier trait suppose que l'astomie est survenue secondairement au cours de l'évolution par réduction de l'appareil buccal des certains Thigmotriches (Corliss, 1979 b, de Puytorac, Grolière et Grain, 1979 a). Si les Thigmotriches sont connus comme d'authentiques Oligohymenophora, alors les Astomes le seraient aussi.

- Le second trait vient de la caractérisation du cortex et des cinétides somatiques de ces Ciliés qui démontrent leur appartenance aux Oligohymenophora (Grain et de Puytorac, 1974). Néanmoins, il y a toujours une certaine prudence due au fait que l'astomie aurait pu

survenir plusieurs fois par convergence et que les Astomes dans leur ensemble peuvent être paraphylétiques. Par exemple, chez le Tetrahymenidae endosymbiotique *Curimostoma* (Kozloff, 1954), il y a une absence totale de bouche par convergence. Il y a aussi une mutation génétique qui élimine des éléments de l'appareil buccal de Tetrahymena, évitant la formation des vacuoles digestives, cependant il est encore capable de grandir sous des conditions de culture appropriées. Ainsi, nous notons que les analyses morphologiques posent les bases d'études phylogénétiques mais ne répondent pas toujours de manière efficace aux questions sur les relations de parenté entre les taxons.

Tableau VIII : Répartition des espèces de Ciliés ayant fait l'objet d'une analyse moléculaire

Familles	Genres	Espèces
1- Radiophryidae	*Metaracoelophrya*	*Metaracoelophrya almae*
		Metaracoelophrya ebebdae
		Metatacoelophrya intermedia
	Eudrilophrya	*E. complanata*
	Metaradiophrya	*Metaradiophrya simplex*
2- Anoplophryidae	*Njinella*	*N. prolifera*
	Almophrya	*A. bivacuolata*
	Anoplophrya	***A. marylandensis***
3- Clausilocolidae	*Paraclausilocola** nov. gen.	*P. constrictum**
		*P. elongatum**

*un nouveau genre proposé de Clausilocolidae, représenté par deux nouvelles espèces
En gras la seule espèce d'astome ayant fait l'objet d'une analyse moléculaire préalable.

Le tableau IX donne un aperçu général des caractéristiques des sites de récolte des hôtes des ciliés étudiés dans le cadre de la phylogénie moléculaire, de même que les numéros d'accession à la banque des gènes (GenBank) aux caractéristiques génétiques des espèces.

Tableau IX: Espèces d'Astomes collectées pour l'extraction du DNA et l'amplification des RNA de la petite sous unité ribosomale

Espèces d'Astomes	Localités	Latitude; longitude	Hôte (Oligochaete)	N° d'Accession à la banque des gènes
Almophrya bivacuolata	Ebebda (Sanaga river)	11°30'–11°50' E ; 4°–4°30' N	Glossoscolecidae (*Alma emini* et *Alma nilotica*)	HQ446281
	Nkolbikogo et Nkolda	11°30'–11°70' E ; 3°65'–4° N		
Eudrilophrya complanata	Ngoa-ékélé	11°04'–11°30' E ; 3°30'–4° N	Megascolecidae (*Eupolytoreutus* sp.)	HQ446280
Metaracoelophrya almae	Nkolbikogo et Nkolda	11°30'–11°70' E ; 3°65'–4° N	Glossoscolecidae (*Alma emini* et *Alma nilotica*)	HQ446277
Metaracoelophrya ebebdae	Ebebda (Sanaga river)	11°30'–11°50' E ; 4°–4°30' N	Glossoscolecidae (*Alma nilotica*)	HQ446282
Metaracoelophrya intermedia	Ebebda (Sanaga river)	11°30'–11°50' E ; 4°–4°30' N	Glossoscolecidae (*Alma emini* et *Alma nilotica*)	HQ446278
	Nkolbikogo et Nkolda	11°30'–11°70' E ; 3°65'–4° N		
Metaradiophrya simplex n. sp	Ngoa-Ekélé	11°04'–11°30' E ; 3°30'–4° N	Megascolecidae (*Eupolytoreutus* sp.)	HQ446279
Njinella prolifera	Ngousso-ntem et Ngoa-Ekélé	11°04'–11°30' E ; 3°30'–4° N	Megascolecidae (*Eupolytoreutus* sp.)	HQ446276
Paraclausilocola constricta nov. gen., n. sp.	Ngousso-ntem et Ngoa-Ekélé	11°04'–11°30' E ; 3°30'–4° N	Megascolecidae (*Eupolytoreutus* sp.)	HQ446275
Paraclausilocola elongata n. sp.	Ngousso-ntem et Ngoa-Ekélé	11°04'–11°30' E ; 3°30'–4° N	Megascolecidae (*Eupolytoreutus* sp.)	HQ446274

Nous avons entrepris de séquencer les gènes SSrRNA de 9 espèces d'Astomes (Tableaux VIII, IX), en complément de celle d'une espèce préalablement étudiée dans le but de d'établir la position phylogénétique cette sous-classe au sein de la classe des Oligohymenophora.

Les Ciliés Astomes ont longtemps été considérés comme un groupe monophylétique, ayant des Hymenostomes (ou Scuticociliés) comme ancêtres, tels les Ptychostomatidae, qui ont développé un appareil antérieur de fixation et ont réduit leur appareil buccal (Lynn 2008). Cette hypothèse prévoit leur placement dans la classe Oligohymenophorea et suggère leur l'affinité aux Scuticociliés. Les séquences de gènes des ARN de la petite sous-unité ribosomale (SSrRNA) d'*Anoplophrya marylandensis* (famille Anoplophryidae) ont soutenu l'attribution de la sous-classe Astomatia à la classe des Oligohymenophorea (Affa'a et *al*., 2004). Cependant, la séquence nucléotidique de gènes ARNr d'une seule espèce, *A. marylandensis*, est insuffisante pour soutenir avec confiance cette attribution. Nous avons obtenu des séquences de gènes des ARN de la petite sous-unité ribosomale (SSrRNA) de neuf espèces additionnelles distribuées dans six genres et trois familles représentatives des trois ordres de la sous-classe des Astomatia.

Notons qu'il existe actuellement deux systèmes parallèles de classification des Astomes (tableau X).

Tableau X: Deux classifications parallèles des familles dans la Sous-classe des Astomatia, avec en gras les familles dans lesquelles des genres ont été échantillonnés pour l'étude de la diversité génétique.

Proposé par de Puytorac (1994)	Proposé par Lynn (2008)
Ordre Hoplitophryida	Ordre Astomatida
Famille Hoplitophryidae avec 5 sous-familles	Famille Hoplitophryidae
Famille Radiophryidae avec 7 sous-familles	**Famille Radiophryidae**
Famille Contophryidae	Famille Contophryidae
Famille Maupasellidae avec 2 sous-familles	Famille Maupasellidae
Famille Intoshellinidae	Famille Intoshellinidae
Ordre Anoplophryida	
Famille Anoplophryidae avec 2 sous-familles	**Famille Anoplophryidae**
Famille Buetschliidae	Famille Buetschliidae
Ordre Haptophryida	
Famille Clausilocolidae	**Famille Clausilocolidae**
Famille Haptophryidae avec 3 sous-familles	Famille Haptophryidae

Celle de de Puytorac (1994) regroupe les 9 familles de la sous-classe des Astomatia dans trois ordres et établi également un certain nombre de sous familles dans ces 5 familles. Lynn (2008) quant à lui, plus conservateur, maintient l'ordre des Astomatida. Le tableau X montre la distribution des espèces échantillonnées pour l'analyse moléculaire dans ces deux schémas de classification.

III-1-2-1- Analyse phylogénétique

La topologie générale des arbres phylogénétiques obtenus à partir des différentes techniques (l'inférence bayesienne BI ; le «neighbor-joining» NJ et le Maximum de parsimonie MP) est pratiquement similaire.

La classe des Oligohymenophora avec des clades (sous classes) Hymenostomatia, Peritrichia, Apostomatia, Astomatia, présente des valeurs support aux nœuds maximales pour les 3 types analyses. Le clade des Scuticociliata présente une valeur support au nœud de 1,0 pour la probabilité postérieure de l'inférence bayesienne, 99% et 84% comme valeurs respectives du boostrap pour le NJ et le MP. Ces résultats traduisent le caractère monophylétique de ces sous classes.

La sous-classe des Astomatia, regroupant les dix espèces d'Astomes étudiés forme un clade fortement soutenu par des valeurs au nœud, du bootstrap (100% NJ ; 100% MP) et dont la valeur de probabilité pour l'analyse bayesienne est maximale (1,0). Au regard de la topographie de l'arbre phylogénétique obtenu (Fig. 45, 46), la classe des Astomatia est soeur de la classe des Scuticociliata. Le regroupement comme clades frère de ces deux classes n'est fortement soutenu que par la valeur du bootstrap (72% NJ). Ainsi, l'hypothèse selon laquelle les Astomes dérivent des Scuticociliés (ancêtre) n'est pas réfutée par cette étude, mais nécessite confirmation par l'analyse des séquences de gènes pour d'autres représentants de ce groupe comme les Ptychostomatidae.

Les 10 espèces d'Astomes étudiés sont réparties dans deux clades :

- l'un avec des valeurs support au nœud maximales pour les 3 types d'analyse regroupe les espèces : *Eudrilophrya complanata*, *Metaradiophrya simplex*, *Paraclausilocola elongata*, *Paraclausilocola constricta* et *Njinella prolifera* ;
- l'autre avec des valeurs support au nœud respectives 1,0 (BI) ; 99% (NJ) et 59% (MP), regroupe les espèces : *Anoplophrya marylandensis*, *Almophya bivacuolata*,

Metaracoelophrya ebebdae, *Metaracoelophrya intermedia* et *Metraracoelophrya almae* (Fig. 45).

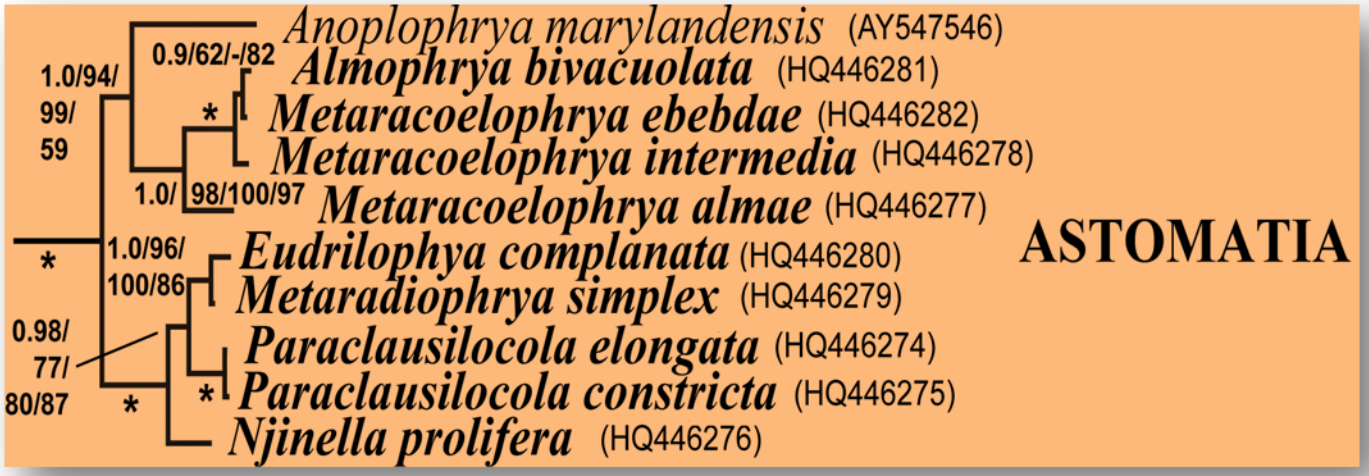

Figure 45: Arbre phylogénétique de la sous-classe des Astomatia, inférant les séquences de gènes ARN de la petite sous unité ribosomale, selon les méthodes d'inférence bayesienne ; maximum de parcimonie et neihgbor joining.

(Les premiers nombres sur les branches expriment la probabilité postérieure de l'inférence bayésienne, les valeurs du bootstrap pour le neihgbor joining, suivi par les valeurs du bootstrap pour le maximum de parcimonie. Les valeurs des supports au nœud marquées d'astérisques sont maximales pour les quatre méthodes).

Ces regroupements cladistiques ne correspondent pas aux attributions ordinales de de Puytorac (1994) ni à celle des assignations génériques aux familles traditionnelles selon de Puytorac (1994) et Lynn (2008).

En effets des genres assignés au même ordre, comme proposé par de Puytorac (1994), ont été trouvés dans les deux clades : les genres *Eudrilophrya* et *Metaradiophrya* des Hoplitophryidae ; et les genres *Anoplophrya* et *Njinella* des Anoplophryidae, (Fig. 45). Ainsi, nous constatons que les ordres et les familles sont paraphylétiques. Nous notons que le genre *Paraclausilocola* semble monophylétique lorsque la morphologie est employée pour assigner les espèces aux genres (Fig. 45). Par contre le genre *Anoplophrya* est dispersé dans les deux branches de l'arbre (*Anoplophrya* et *Njinella*) et ne constituent pas un groupe monophylétique.

III-1-3-2- Position de la sous-classe Astomatia dans l'arbre phylogénétique des Oligohymenophora

Au regard de l'arbre phylogénétique de la Classe des Oligohymenophora (Fig. 46), l'assignation de la sous-classe Astomatia à la classe des Oligohymenophora confirme les

hypothèses de classifications formulées par les auteurs, de Puytorac (1954 et 1994), Affa'a et *al*, (2004) et Lynn (2008). En effet, les séquences de gène de ces 10 espèces d'Astomes, les groupent dans un clade frère aux Scuticociliés comme prévu par les dispositifs morphologiques.

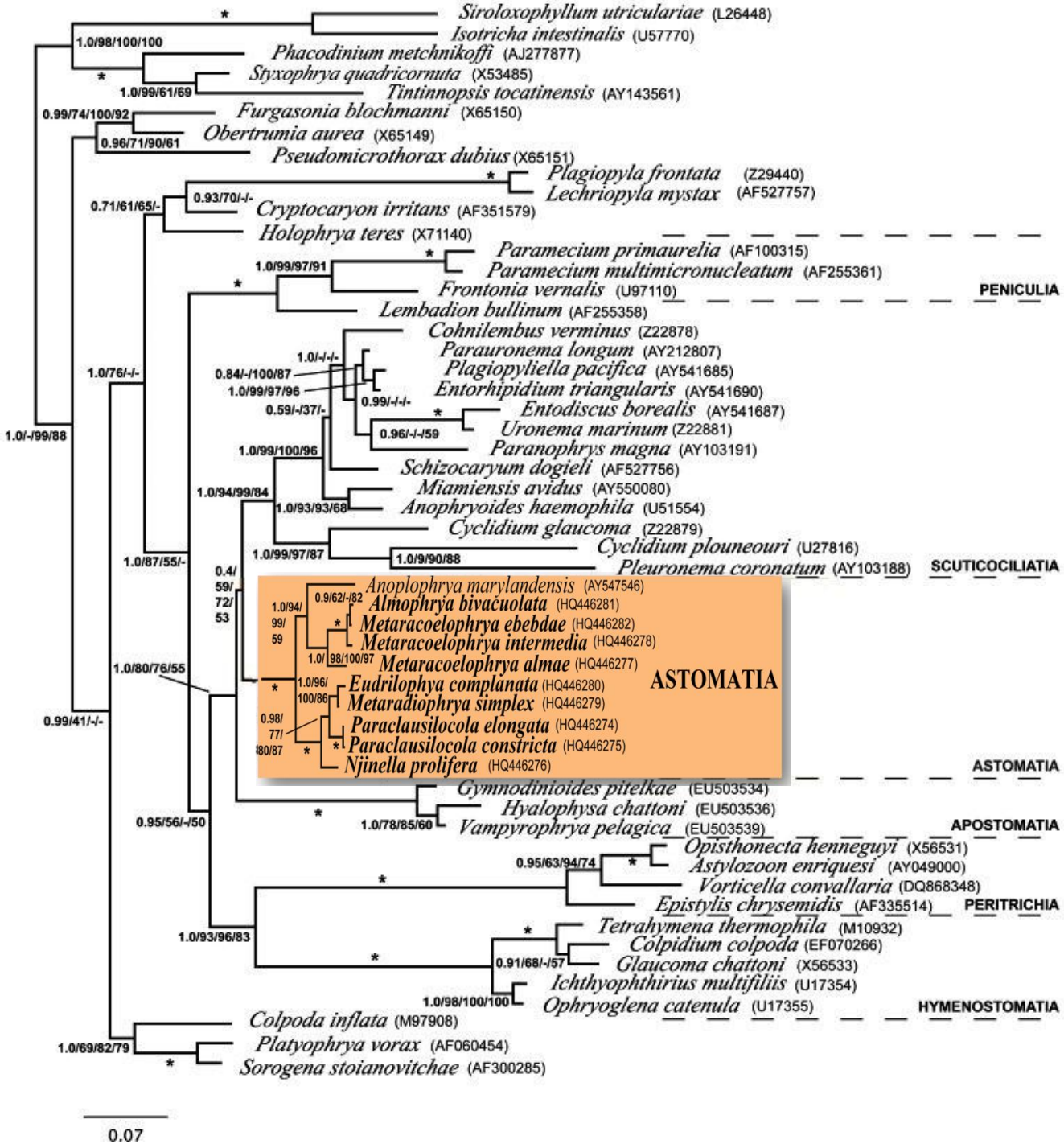

Figure 46: Position de la sous classe Astomatia dans l'arbre phylogénétique inféré des séquences de gènes ARN de la petite sous unité ribosomale, selon les méthodes d'inférence bayesienne ; maximum de parcimonie et neihgbor joining.

(Les premiers nombres sur les branches expriment la probabilité postérieure de l'inférence bayesienne ; les valeurs du bootstrap pour le neihgbor joining, suivie par les valeurs du bootstrap pour le maximum de parcimonie. Les valeurs des supports au nœud marqué d'astérisques sont maximales).

III-2- DISCUSSION

III-2-1 Affinités des espèces décrites avec d'autres taxons

Genre *Almophrya* de Puytorac et Dragesco, 1968

Dans ce genre, les travaux de Dupy Blanc et Ngassam (1983, 1986) sur l'étude biométrique des cellules et l'analyse cytophotométrique des teneurs en ADN nucléaire permettent de caractériser 3 populations distinctes chez les *Almophrya* à deux vacuoles, et 4 populations chez les *Almophrya* à plusieurs vacuoles axiales. La question est de savoir si ces populations appartiennent respectivement à 7 espèces différentes du même genre. Dans une tentative de réponse, une étude sur les variations macroscopiques du macronoyau des espèces *Almophrya bivacuolata* et *Almophrya mediovacuolata* a permis de constater de nombreuses différenciations de la forme du macronoyau, témoignant d'une forte diversité intrapopulationnelle au sein d'une même espèce.

Malgré l'existence d'un nouveau type de forme de macronoyau en H décrite chez les *Almophrya* à deux vacuoles, de nombreux caractères restent constants dans cette population : la morphologie générale typiquement « anoplophryenne », l'appareil vacuolaire avec deux vacuoles contractiles à disposition invariable. Nous pensons qu'il est judicieux de maintenir pour cette population de cellules à macronoyau en H, la dénomination *Almophrya bivacuolata*. Cependant, les différentes variantes des formes de macronoyau s'expliqueraient par les modifications profondes subies par cet appareil et les effets d'une réorganisation post mitotique.

Nous avons décrit une forme nouvelle d'*Almophrya* proche d'*A. mediovacuolata* du fait de la disposition axiale des vacuoles, mais dont les spécificités (forme Hoplitophryenne, topographie de l'appareil nucléaire) l'en éloigne. Nous en avons fait une espèce nouvelle dénommée *Almophrya nkoldensis*, du nom de la localité où son hôte a été récolté pour la première fois. Ce Cilié cohabite avec les *Almophrya bivacuolata* de petite taille et n'a été trouvé que chez des petits Glossoscolecidae du genre *Alma* récoltés à Nkolda et à Nkolbikobo. Les prospections réalisées sur les petits Alma des berges de la Sanaga (Ebebda) n'ont pas révélé la présence de ce Cilié.

***Paracoelophrya falcifera* n. sp.**

L'appareil squelettique de l'espèce étudiée est typique du genre *Paracoelophrya*. Elle se rapproche de *P. almae* de Puytorac, 1969, par l'absence de système G et de cinétie A observée chez *P. intermedia* de Puytorac, 1969. Elle s'en éloigne par la constriction médiane de la cellule, par un plus grand nombre de cinéties, ce qui nous paraît justifier la création d'une nouvelle espèce.

***Metaracoelophrya almae* n. sp.**

De par sa silhouette (ovoïde ou sphérique) et l'architecture de son armature squelettique fait d'un petit crochet un peu proéminent, placé sur une sorte d'élément en V dont les branches forment un angle presque plat, portant unilatéralement une dizaine de fibres squelettiques, cette espèce appartient typiquement au genre *Metaracoelophrya* de Puytorac, 1969. Elle se différencie nettement des espèces *M. intermedia*, par l'existence de deux systèmes sécants postérieurs au lieu de quatre. La taille et le nombre de cinéties sont plus réduits que chez cette dernière espèce. L'espèce est tenue pour nouvelle et nous la nommons *Metaracoelophrya almae*, du fait, non seulement de sa forme variable, mais aussi de sa spécificité aux *Alma* de petite taille récoltés à Nkolda et à Nkolbikogo.

***Metaracoelophrya ebebdae* n. sp.**

Elle diffère des autres espèces connues dans le genre *Metaracoelophrya* par une taille plus réduite et le nombre de cinéties nettement plus grand. Son appatissement dorsoventral et sa spécificité aux *Alma* de petite taille d'Ebebda, justifie la création d'une espèce nouvelle.

***Metaracoelophrya intermedia* de Puytorac et Dragesco, 1968**

Par sa morphologie générale, l'espèce étudiée est conforme à la description originale de l'espèce *Metaracoelophrya intermedia*. On note cependant un nombre plus élevé de cinéties (en relation avec une augmentation de la taille) et des arceaux du pôle antérieur moins développés. Ces particularités ne nous semblent pas suffisantes pour justifier la création d'une nouvelle espèce. Nous conservons pour cette cellule la désignation *Metaracoelophrya intermedia* de Puytorac et Dragesco, 1968.

***Coelophrya coronata* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008**

Par ses caractères généraux (corps ovalaire régulier pourvu sur la face inférieure d'un élément en V aplati et dissymétrique, portant des fibres dont certaines s'épaississent sur une partie de leur trajet pour former l'armature en arceaux d'une longue gouttière), l'espèce possède bien les caractères du genre *Coelophrya* déjà signalés chez l'espèce type *Coelophrya roquei* de Puytorac et Dragesco, 1969. Cependant, en dépit de fortes similitudes (topographie ciliaire et appareil squelettique), l'espèce nouvelle s'en distingue par un appareil vacuolaire constitué d'une vingtaine d'éléments de taille variable, disposés sans ordre évident dans tout le cytoplasme, alors que *Coelophrya roquei*, présente deux rangées longitudinales de 3 à 5 vacuoles alignées. De plus, la présence constante d'une couronne ecto-endoplasmique séparant les deux faces de la cellule, serait une particularité suffisante à elle seule pour justifier la création d'une espèce nouvelle que nous avons nommée *Coelophrya coronata*, du fait de la présence de cette couronne.

***Coelophrya ovales* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008**

Par les caractères de sa morphologie générale (ciliature, appareil squelettique, forme et taille), cette espèce est semblable à *C. coronata* avec laquelle elle pourrait être confondue à première vue. Toutefois elle en diffère par l'absence de couronne ecto-endoplasmique caractéristique de cette dernière espèce; en outre elle ne se rencontre que dans les Vers récoltés à Ebebda. L'appareil excréteur constitué de deux rangées de 6 à 12 vacuoles, rapproche l'espèce étudiée de *Coelophrya roquei* de Puytorac & Dragesco, 1972. Elle s'en éloigne cependant par sa forme plutôt sphérique et sa gouttière longitudinale, traversant pratiquement la cellule d'un bout à l'autre. L'espèce nouvelle est nommée *C. ovales* en raison de sa forme arrondie régulière.

***Coelophrya ebebdensis* Fokam, Ngassam, Boutin et Zébazé, 2008**

L'architecture du cytosquelette et la silhouette générale de cet infusoire évoquent *C. roquei* de Puytorac et Dragesco, 1972. Il s'en distingue cependant par la longueur de sa gouttière très réduite qui ne dépasse que peu le plan médian de la cellule sans atteindre la région postérieure. Sa topographie ciliaire rappelle dans les grandes lignes celle de l'espèce précédente, *C. ovales.* Les différences essentielles concernant la morphologie générale de ce Cilié, plus précisément la réduction de la taille de la cellule et de la gouttière ont justifié la

création de l'espèce *Coelophrya ebebdensis*, du nom de la localité type où le Cilié a été récolté.

***Dicoelophrya almae* de Puytorac et Dragesco, 1969**

L'organisation du cytosquelette est caractéristique des ciliés du genre *Dicoelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1969. La morphologie générale rappelle celle *Dicoelophrya almae* de Puytorac et Dragesco, 1969 ; bien que le Cilié ici décrit montre quelques particularités : la taille est plus grande chez nos spécimens (130 - 215µm x 96 - 190 µm) contre (120 - 180 µm x 90 - 100 µm), et la présence sur chaque face d'un système sécant postérieur, proche de l'axe de symétrie bilatérale de la cellule. Par sa morphologie générale il peut être confondu à première vue à *Dicoelophrya mediovacuolata* n. sp. : le pôle antérieur est arrondi, l'appareil nucléaire excentré et la gouttière en forme de fer à cheval. Il s'en démarque cependant, par sa gouttière plus longue et la forme en fourche de son pôle postérieur. En dépit de ces légères variations observées, nous pensons qu'il est judicieux de maintenir pour ce Cilié, sa dénomination originale : *Dicoelophrya almae* de Puytorac et Dragesco, 1969.

***Dicoelophrya nkoldaensis* n. sp**

Ce cilié diffère de *D. Calliste* décrit par de Puytorac non seulement par sa taille plus grande (132-220 X 90-210 µm alors qu'elle est de 85 -120 X 45-60 µm pour les spécimens de la première description), mais aussi par le système vacuolaire (vacuoles disséminées au lieu de 2 rangées) et par un plus grand nombre d'arceaux squelettiques. Nous pensons qu'il s'agit d'une nouvelle espèce que nous nous proposons de nommer : *Dicoelophrya nkoldensis* spécifique des A*lma nilotica* récoltés à Nkolda.

***Dicoelophrya mediovacuolata* n. sp.**

Il est bâti sur le même plan d'organisation que *D. calliste.* Son pôle antérieur est arrondi et son pôle postérieur tronqué. Les fibres squelettiques forment une gouttière en fer à cheval. La topographie ciliaire est analogue à celle de cette dernière espèce. Il n'en diffère que par sa taille beaucoup plus réduite (47,3 X 40,37 µm) contre (168,2 X 132,7 µm) ; par l'organisation de l'appareil excréteur, constitué contrairement aux autres espèces, d'une seule rangée de 2 à 9 vacuoles pulsatiles alignées dans la partie axiale de la cellule et par la disposition de l'appareil nucléaire, plutôt excentrée. Cette organisation de l'appareil nucléaire rapproche cette dernière espèce de *D. almae*, avec laquelle elle pourrait être

confondue si ce n'était sa taille très réduite, l'organisation de son appareil vacuolaire (une rangée axiale au lieu de deux) et sa branche squelettique à deux crochets.

C'est en raison de ces différences que nous avons jugé nécessaire de créer pour ce cilié, une nouvelle espèce que nous dénommons : *Dicoelophrya mediovacuolata*.

Par ailleurs, notons que cette espèce n'a été retrouvée que chez *Alma nilotica* récolté à Ebebda. De plus, la connaissance précise de la topographie de l'armature squelettique dans les genres *Paracoelophrya*, *Metaracoelophrya*, *Coelophrya* et *Dicoelophrya* témoigne d'une part, de l'homogénéité de la sous-famille des Metaracoelophryinae et soulignent la possibilité d'une relation phylétique entre ces genres d'autre part.

***Buchneriella eupolytoreutus* n. sp.**

Par les caractères généraux (forme, taille, hôte, palintomie) *Buchneriella eupolytoreuti* décrite ci-dessus appartient incontestablement aux ciliés regroupés sous le genre *Bucheriella* défini par de Puytorac (1968).

L'espèce se raproche de *Buchneriella criodrili* Heidenreich, 1935 par son allure générale et son cytosquelette, mais s'en distingue par une taille relativement réduite et des cinéties non spiralées.

Sur le plan de l'armature squelettique, l'existence, chez *Buchneriella eupolytoreuti* d'une boule d'amarrage réfringente, est l'homologue des ventouses des ciliés Hysterocinetidae.

Le nouveau genre *Paraclausilocola* nov. gen.

***Paraclausilocola constricta* n. sp.**

De faciès typiquement hoplitophryen, ce cilié se rapproche des Anoplophryidae par l'absence d'appareil squelettique bien différencié. Il s'en éloigne cependant par son allure générale plutôt cylindroïde.

Par sa morphologie générale (corps cylindroïde, avec une partie antérieure déprimée), cet infusoire se rapproche des Ciliés du Genre *Haptophryopsis* de Puytorac, 1970; mais s'en distingue par sa ciliature moins dense et la constriction cytoplasmique antérieure plus marquée.

Par l'absence de prolifération des cinéties par délinéation sur les faces latérales et un pôle antérieur séparé du reste du corps par une constriction cytoplasmique profonde, portant inférieurement des cinéties très épaissies, ce cilié ne peut pas être classé dans le genre

Clausilicola Lom, 1959. Nous le proposons pour représenter l'espèce type du nouveau genre *Paraclausilocola* et nous le nommons *P. constricta*, du fait de sa constriction cytoplasmique antérieure.

***Paraclausilocola elongata* n. sp.**

L'absence de tout appareil squelettique et l'épaississement antérieur gauche des cinéties de la face dorsale rapprochent cette espèce des astomes du genre *Anoplophrya* Stein, 1860. Cependant, elle en diffère nettement par son allure générale (partie antérieure du corps plus élargie que la postérieure plutôt effilée). La morphologie générale de l'espèce étudiée la rapproche de *Clausilocola apostropha* Lom, 1959 ; même si l'absence d'une aire dénudée antérieure, de prolifération des cinéties par délinéation sur les faces latérales et la disposition de l'appareil nucléaire l'en éloignent.

Tous les caractères de notre cilié rappellent le genre *Paraclausilocola*, la seule différence étant l'absence de constriction cytoplasmique antérieure présentée par l'espèce précédente. Cette particularité de la forme nous semble avoir une valeur spécifique. C'est pourquoi nous avons jugé nécessaire de créer une autre espèce dans le même genre. Nous la nommons : *Paraclausilocola elongata*.

- **Révision systématique et essai phylogénétique chez les Metaracoelophryinae**

Les genres *Paracoelophrya*, *Metaracoelophrya* et *Dicoelophrya* s'enrichissent respectivement d'une, de deux et de deux espèces nouvelles, traduisant la diversité de la sous-famille des Metaracoelophryinae.

Les quatre genres connus de Metaracoelophryinae, tous commensaux des Glossoscolecidae, forment un ensemble homogène dans lequel de Puytorac, 1972, notait une régression de l'ensemble du cytosquelette chez les *Paracoelophrya*. Cette tendance est confirmée par l'analyse comparative du cytosquelette de quelques genres représentatifs des autres sous-familles de Radiophryidae de Puytorac, 1972 : *Radiophrya* Rossolimo, 1926, *Metaradiophrya* Hedenreich, 1935, *Cheissinophrya* de Puytorac, 1969, *Dicoelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1969, *Coelophrya* de Puytorac et Dragesco, 1969, *Paracoelophrya* de Puytorac, 1969. Dans tous ces genres, la cellule est pourvue à la partie antérieure de ce que de Puytorac a nommé un élément en V, d'où partent, sur la face inférieure, des fibres squelettiques ecto-endoplasmiques longeant les cinéties. Cette caractéristique est retrouvée chez tous les ciliés regroupés dans l'ordre des Hoplitophryida. Selon de Puytorac, tous les Hoplitophryida forment un groupe homogène avec deux

tendances évolutives du cytosquelette en V : soit une simplification et une réduction pouvant aboutir à la disparition, soit une complication et un développement du système.

La conception de l'évolution du cytosquelette dans le sens d'une complication progressive montre que dans la sous-famille des Metaracoelophryinae, le genre *Paracoelophrya* serait primitif et dériverait d'un ancêtre représenté par le genre *Radiophrya* que nous considérerons comme un « outgroup ». Le caractère plésiomorphe renvoie à l'architecture du cytosquelette réduite à une hampe munie d'un crochet sur laquelle s'appuient des fibres squelettiques robustes décalquées sur l'ordonnancement des cinéties de la face inférieure (Fig. 47).

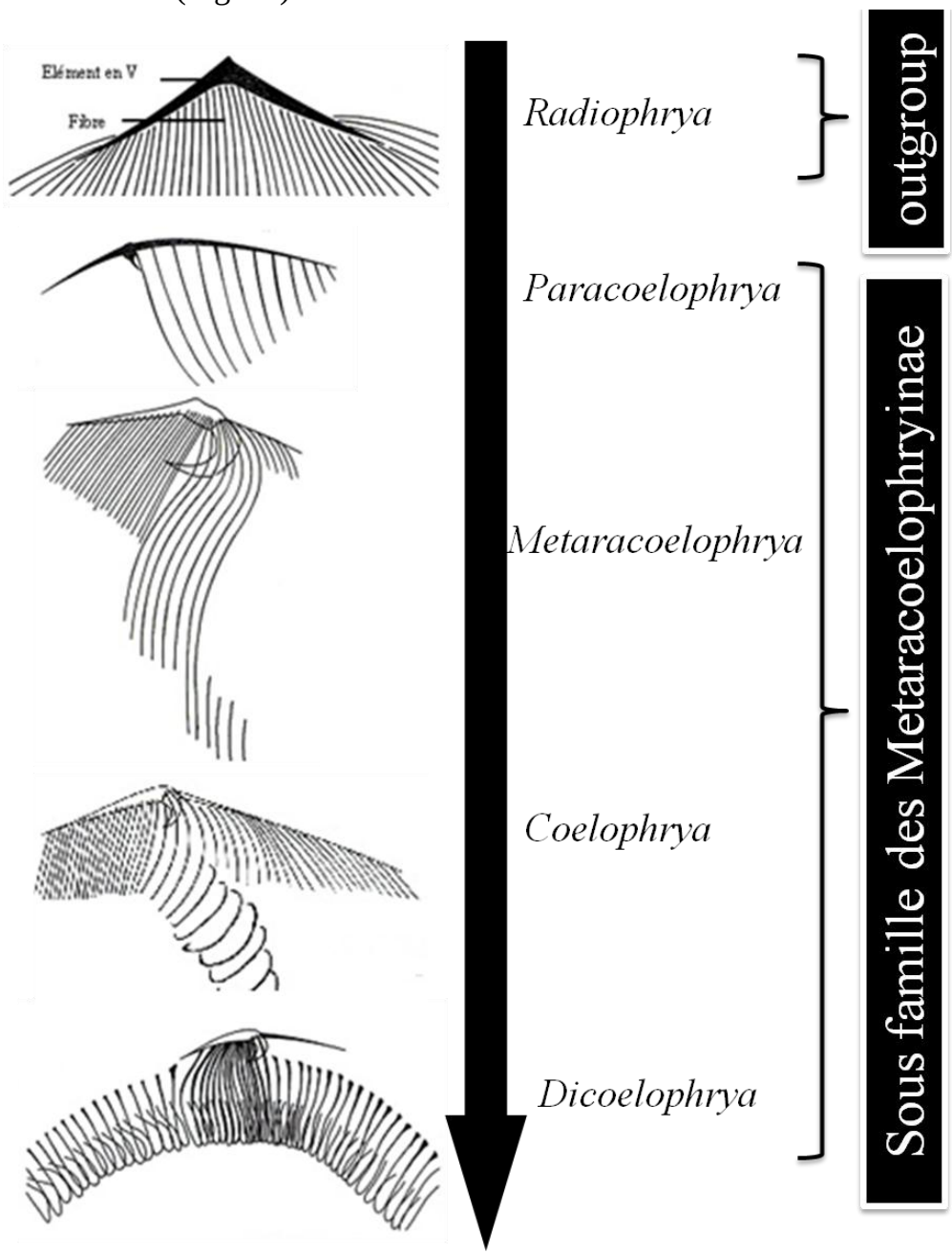

Figure 47 : Evolution du cytosquelette dans la sous famille des Metaracoelophryinae.

L'adaptation à la fixation aux tissus de l'hôte semble s'être développée au cours du temps, permettant aux formes libres dans la lumière intestinale (Anoplophryida), l'acquisition d'un dispositif antérieur de fixation. Les Anoplophryida seraient des formes ancestrales qui ont développé un cytosquelette. La possession d'un cytosquelette est le caractère apomorphe qui se retrouve partagé (synapomorphie) chez les Hoplitophryida. Nous constatons que lorsque l'on utilise la morphologie pour étudier la phylogénie, les Hoplitophryida forment un groupe monophylétique dérivant des Anoplophryida.

La question de l'intérêt du développement d'un appareil antérieur de fixation soulève des interrogations sur le statut endocommensal de ces Ciliés. En effet, la fixation aux tissus du tube digestif du ver n'entraînerait-elle pas la spoliation chez ce dernier de ses éléments nutritifs ? Si la réponse à cette question est affirmative, alors les Ciliés Astomes du tube digestif des oligochètes possédant un appareil antérieur de fixation à savoir, les Hoplitophryida et les Haptophryida seraient contrairement à l'idée admise, mésoparasites. Ceci vient ainsi élargir les bases de discussion sur le type de relation interspécifique liant ces Ciliés et leurs hôtes.

- **Morphogenèse de bipartition**

L'intérêt porté à la morphogenèse de bipartition chez les ciliés s'était jusqu'ici focalisé pour l'essentiel sur la stomatogenèse.Toutefois, l'étude et la compréhension de ce processus permettant l'analyse des différentes modalités de la reproduction dans ce grand groupe d'infusoires dépourvus de bouche s'imposent. De plus, l'observation détaillée de tous les mouvements de translation morphogène qui gouvernent la genèse, les différents remaniements et la mise en place des organelles cellulaires permettent de justifier la disposition finale des structures. La morphogenèse de bipartition constitue donc un supplément indéniable à l'étude morphologique. Ainsi, elle met en évidence chez *Eudrilophrya complanata* comme chez la plupart des Ciliés Astomes une multiplication par scission binaire classique : coupure de la cellule mère en deux cellules filles pratiquement identiques. De plus, elle met en évidence l'origine cinétosomienne cinétodesmale des fibres squelettiques.

Chez *Buchneriella eupolytoreuti*, la genèse et la mise en place de l'appareil squelettique de l'opisthe sont mises en évidence d'une part, et d'autre part la palintomie jusqu'alors observée seulement chez *Kozloffia catenula* de Puytorac, 1968 (Ngassam, 1997)

dans les Oligochètes Glossoscolecidae du genre *Alma* recoltés respectivement au Gabon et au sud Cameroun.

Cette palintomie radiaire et distale à segments inégaux paraît ne pas être un mode de division particulier mais, seulement l'expression d'un même processus fondamental qu'une espèce donnée d'Astome peut manifester dans certaines conditions qu'il resterait à préciser ; où la nutrition, la perméabilité et la croissance de la cellule semblent devoir jouer un rôle. Cette palintomie est connue chez d'autres espèces d'Astomes dans les genres *Radiophrya, Hoplitophrya* et *Acanthophrya* de Puytorac, 1954.

La conjugaison ou parasexualité est un phénomène inhabituel dans les conditions naturelles chez les espèces commensales. Des cas d'induction à la gonadotrophine ont été observés chez les Nyctothères endocommensaux des batraciens du genre *Bufo* (Affa'a, 1987 et 1988). Toutefois, des couples de conjuguants ont été observés chez *Metaradiophrya simplex* à des stades très avancés de 2, 3 et 5 micronoyaux. Ces observations suffisamment rares pendant toute l'année nous semblent être des apports tout à fait nouveaux à notre connaissance.

Des anomalies portant sur la forme, la structure et le nombre des micronuclei, témoignant d'importants remaniements nucléaires ont rarement été signalés chez les Astomes. Ces perturbations sont interprétées comme la conséquence d'une conjugaison préalable. En fait, des couples d'infusoires soudés comme dans une conjugaison n'ont été que rarement décrits avec certitude chez les Astomes endocommensaux d'Annélides. La formation des conjoints est donc certainement un phénomène exceptionnel dans cette sous-classe. Ce processus a été signalé chez les espèces de *Mesnilella*, *Maupasella* et *Buchneriella* (de Puytorac, 1954). Néanmoins, les couples trouvés sont toujours peu nombreux voire même rares.

Par ailleurs, il y a certainement des formes de résistance (kystes) chez les Ciliés Astomes, notamment chez *Anoplophrya lumbrici* et *A. commune*. Dans tous les cas, le Cilié a tendance à prendre une forme sphérique ou subsphérique et à sécréter un liquide visqueux qui l'enveloppe (de Puytorac, 1954). Les Astomes paraissent être des ciliés à évolution directe et à cycle monoxène. Vu la fréquence et l'intensité d'infestation des Vers, il faut pourtant que le procédé de dissémination probablement kystique, soit assez facile.

- **Variations morphologiques de l'appareil nucléaire dans le genre *Almophrya***

Dans l'espèce *Almoprya bivacuolata*, la prudence à créer des espèces nouvelles, comme le suggérait déjà de Puytorac en 1968 reste de mise au regard des variations morphologiques observées au niveau du macronoyau. Cependant ici, les caractéristiques stables demeurent la présence de deux vacuoles volumineuses situées entre les branches du macronoyau et la morphologie générale.

Les formes en H et les formes transitoires entre le H et le X du macronoyau, mises en évidence chez *Almophrya bivacuolata*, infirment l'hypothèse de de Puytorac et Dragesco (1968) selon laquelle le macronoyau d'*Almophrya bivacuolata* prend toujours l'aspect d'un X.

Les travaux de Ngassam et Grain ; 1983, sur la teneur en ADN du macronoyau, permettent de définir trois populations distinctes d'*A. bivacuolata* suivant la forme de leur macronoyau et la taille des cellules : les cellules ayant un macronoyau en X et de grande taille représentent la population Xg ; les populations Hp et Hm regroupent les cellules ayant un macronoyau en H et respectivement de petite taille et de taille moyenne. Ces auteurs signalent la présence de deux micronoyaux dans les populations Xg, ce qui n'est pas en accord avec nos observations car nos *A. bivacuolata* à macronoyau en X sont unimicronuclées et présentent une grande amplitude dans les variations de dimensions. Ces observations viennent compliquer d'avantage ce que l'on sait déjà sur ce genre assez confus des *Almophrya*.

Les populations d'*Almophrya mediovacuolata* ont une forme ovoïde typiquement Anoplophryenne présentant un macronoyau en forme d' H et un micronoyau globuleux situé entre les branches antérieures de H. Le macronoyau dans ce travail, présente de nombreuses variantes : digitations peu ou pas prononcées. La striation marquée du macronoyau par l'alternance des bandes sombres et des bandes claires est mise en évidence après traitement au DAPI. Il est probable que l'alternance des bandes et d'interbandes soit une particularité du macronoyau en forme d' H chez *Almophrya mediovacuolata.* En effet, tous les chromosomes adoptent une conformation très condensée au cours de la mitose. Lorsque les chromosomes mitotiques sont colorés de façon particulière, chacun d'entre eux est identifiable sans ambiguïté, grâce à sa structure en bandes ; ces bandes contiennent des millions de paires de nucléotides et elles reflètent une hétérogénéité grossière de la structure chromosomique qui n'est pas comprise (Bruce et *al.*, 1991).

Au terme de ces observations, nous pouvons dire que le genre *Almophrya* s'enrichit d'une espèce nouvelle *Almophrya nkoldaensis* n. sp., dont la détermination est basée sur la morphologie générale (cellule allongée et cylindroïde), la topographie de son appareil nucléaire (macronoyau en X parfois très modifié, sans excroissances ni digitations, deux micronoyaux situés entre les branches postérieures du macronoyau), la disposition de son appareil excréteur (vacuoles volumineuses et axiales). Cette disposition de l'appareil vacuolaire est retrouvée chez *Almophrya mediovacuolata* et n'est plus un critère spécifique.

Pour *Almophrya mediovacuolata*, les caractéristiques qui restent spécifiques sont l'allure générale ovalaire, la disposition axiale de l'appareil vacuolaire et la forme en H du macronoyau.

Almophrya laterovacuolata, a été récolté uniquement chez les Glossoscolecidae d'Ebebda. Nos spécimens présentent des vacuoles dispersées sans ordre apparent dans toute la région axiale de la cellule, contrairement à la description originale de de Puytorac (1968). Cependant, les autres caractères, morphologie générale de type Anoplophryen et un macronoyau en H), sont constants.

A. nkoldaensis n. sp. pourrait être confondu à première vue à *Almophrya mediovacuolata* en raison de la disposition similaire de leurs appareils excréteurs, cest-à-dire une rangée de vacuoles axiales. Il s'en distingue, cependant, par sa morphologie générale (cellule allongée, concavité de la face inférieure), la topographie de son appareil nucléaire (macronoyau en X parfois très modifié, sans excroissances ni digitations, deux micronoyaux situés entre les branches postérieures du macronoyau), la disposition de son appareil excréteur (vacuoles volumineuses et axiales). Ces caractères particuliers justifient la création de cette nouvelle espèce que nous avons rencontrée uniquement chez les petits Glossoscolecidae de Nkolda et de Nkolbikogo.

Ces nombreuses différenciations de l'appareil nucléaire ne nous semblent pas être des critères d'identification spécifique. Nous pensons que chaque topographie du macronoyau serait le résultat d'une réorganisation postmitotique traduisant les degrés de transformation de ce appareil nucléaire.

Par ailleurs, nous pensons que seule la comparaison des séquences de gènes des différents regroupements populationnelles permettra de clarifier la systématique au sein de ce groupe assez complexe.

III-2-2- Phylogénie moléculaire

De nombreuses analyses moléculaires ont porté sur les relations phylogénétiques entre les grands groupes naturels. A cet égard l'analyse par les méthodes d'inférence bayesienne, le maximum de parcimonie et le neihgbor joining, des séquences de gènes SSrRNA obtenues pour les 9 espèces d'Astomes distribuées dans sept genres et trois familles, en complément de celle de l'espèce préalablement étudiée : *Anoplophrya marylandensis* Conklin, 1930 (Affa'a et *al.*, 2004) a permis de construire l'arbre phylogénétique des Astomes.

L'objectif principal de cette étude était de tester la monophylie de la sous-classe des Astomatia et de vérifier l'hypothèse de l'ancêtre Scuticocilié des Astomes. Nous avons à cet effet analysé les séquences de gènes de 10 espèces d'astomes représentatives de trois des neuf familles d'astomes, et distribuées dans les trois ordres proposés par de Puytorac (1994). Nos résultats de séquençage des gènes SSU rRNA de ces espèces confirment clairement la monophylie de la sous-classe Astomatia, indépendamment de la méthode analytique utilisée. L'arbre phylogénétique obtenu place les Astomes au sein des Oligohymenophora et les présente comme un groupe monophylétique rattaché aux Scuticociliés tels les Ptychostomatidae qui ont développé un appareil antérieur de fixation (ventouse) et ont réduit leur appareil buccal (Lynn 2008). Cette théorie de l'ancêtre Scuticocilié confirme les prédictions de Affa'a, 2004 et celle de de Puytorac et *al.*, 1979a.

Deux clades fortement soutenus par les valeurs au nœud de la probabilité antérieure de l'inférence bayesienne et des bootstrap se dessinent. Le premier clade regroupe les espèces : *Almophrya bivacuolata*, *Metaracoelophrya almae*, *Metaracoelophrya intermedia*, *Metaracoelophrya ebebdae* et *Anoplophrya marylandensis.* Le second clade regroupe les espèces : *Eudrilophrya complanata*, *Metaradiophrya simplex*, *Paraclauclausilocola elongata, Paraclauclausilocola constricta* et *Njinella prolifera.*

Au regard de ce découpage, il semble y avoir peu de corrélation entre la taxonomie basée sur la morphologie et celle basée sur la génétique dans le groupe des Astomes. Les espèces sont clairement divisées en deux clades, plutôt que trois comme prévue par la classification ordinale de de Puytorac (1994) et celle de Jankowski (2007), qui répartit les représentants de ces trois familles dans les trois ordres : Hoplitophryida, Anoplophryida, et Haptophryida. De plus, même les genres assignés aux mêmes familles sont placés dans les clades séparés ; *Almophrya* et *Anoplophrya* assignés à la famille des Anoplophryidae ne

sont pas génétiquement des taxa frères mais sont dans un clade différent de l'autre anoplophryidae : *Njinella*.

Le genre *Metaracoelophrya* de la famille des Radiophryidae est génétiquement un taxon frère d'*Almophrya*, tandis qu'*Eudrilophrya* genre de cette même famille, est rangé dans l'autre clade principal.

Les deux espèces nouvelles du nouveau genre *Paraclausilocola* que nous avons assignées à la famille des Clausilocolidae constituent un groupe monophylétique avec les genres *Eudrilophrya* et *Radiophrya* avec lequel il partage le même clade.

Cette distribution des genres remet en question la pertinence des caractéristiques des dispositifs morphologiques employés pour justifier les assignations ordinales, les attributions aux familles et la définition des genres chez les Astomes. En effet, cette analyse phylogénétique laisse paraitre une convergence significative des structures morphologiques au sein des genres d'Astomes. En fait, un prélèvement génétique beaucoup plus grand de la diversité morphologique des astomes sera nécessaire pour nous permettre de démêler les tendances évolutives dans ce clade peu commun des ciliés.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Ce travail avait pour objectif d'analyser la diversité biologique de la mésofaune infusorienne du tractus digestif des Oligochètes Megascolecidae et Glossoscolecidae terricoles de la région de Yaoundé et ses environs.

Il aboutit à l'analyse morphologique et phylogénétique des infusoires Astomes.

La révision systématique de la famille des Radiophryidae de Puytorac, 1972, est menée avec la description de cinq espèces nouvelles de la sous-famille des Metaracoelophryinae de Puytorac, 1972 : *Paracoelophrya falcifera* n. sp, *Metaracoelophrya almae* n. sp., *Metraracoelophrya ebebdae* n. sp., *Dicoelphrya nkoldaensis* n. sp. et *Dicoelophrya mediovacuolata* n. sp.

La morphogenèse de bipartition qui met en évidence une diversité de modes de division dans la sous-classe des Astomatia. Chez *Eudrilophrya complanata*, *Buchneriella eupolytoreuti* n. sp. et *Metaradiophrya simplex* n. sp., l'origine cinétosomienne et cinétodesmale des fibres squelettiques est révélée. La palintomie radiaire et distale est observée chez *Buchneriella eupolytoreuti*, et le phénomène de conjugaison est observé dans les conditions naturelles chez *Metaradiophrya simplex*.

L'analyse des variations de l'appareil nucléaire et de la morphologie dans le genre *Almophrya* aboutit à la description d'une espèce nouvelle : *Almophrya nkoldaensis*.

De plus, le nouveau genre *Paraclausilocola* n. gen. avec deux représentants décrits chez un *Eupolytoreutus* indéterminé lors de l'échantillonnage pour l'étude moléculaire, traduisent bien toute la biodiversité encore inexplorée dans la sous-classe des ciliés Astomes. En somme, la sous-classe des Astomatia s'enrichit de 12 espèces nouvelles et d'un nouveau genre.

Sur le plan méthodologique, nous avons mis au point un complément à la technique de coloration de Fernandez Galiano, basé sur l'enrobage des spécimens imprégnés à l'albumine glycériné. Ce protocole simple et rapide permet de réaliser des préparations définitives et la conservation des lames.

Les données moléculaires obtenues à partir de l'analyse des séquences des ARN de la petite sous-unité ribosomale de dix espèces de ciliés Astomes ont abouti à la construction d'un arbre phylogénétique, précisant la position de la sous-classe des Astomatia au sein de la classe des Oligohymenophora. Il en ressort que :

- les séquences de gènes des ARN de la petite sous-unité ribosomale des dix espèces d'Astomes étudiées les regroupent en un clade frère des Scuticociliés, tel que préconisé par l'analyse des dispositifs morphologiques. L'appartenance des Astomes à la classe des Oligohymenophora, déjà proposée par de Puytorac en 1954, semble s'imposer ;
- les *Almophrya* seraient proches des *Metaracoelophya*, ce qui signifierait que ce genre est une forme sans cytosquelette, perdu ou à l'origine des Metaracoelophryinae ;
- le fait que les Clausilicolidae soient proches des Eudrilophryidae pourrait signifier que les Haptophorida sont effectivement hétérogène ;
- le fait que les genres *Anoplophrya* et *Almophrya* soient dispersés dans l'arbre confirme les propositions de de Puytorac sur l'hétérogénéité de ce qu'il a appelé le faciès anoplophryen ;
- les attributions ordinales de de Puytorac (1994) d'une part et les regroupements en familles tant de de Puytorac (1994) que de Lynn (2008) d'autre part ne semblent pas totalement en accord avec les données moléculaires. Ceci montre que les Astomes ne peuvent apparemment pas être subdivisés à ces niveaux taxonomiques sur la base des données morphologiques.

PERSPECTIVES

Il nous paraît impérieux d'obtenir les séquences de gènes des Ciliés Astomes du tube digestif de divers Oligochètes d'autres niches écologiques du pays, afin de déterminer la diversité génétique des populations en rapport avec les variations des caractéristiques des aires de répartition de leurs hôtes. Les résultats obtenus permettraient de mettre à la disposition de la communauté scientifique une base de données importante à la réalisation du bar code de vie.

Nous comptons échantillonner les Ciliés Ptychostomatidae, afin d'obtenir les séquences de leurs gènes, le but étant de vérifier si les Astomes sont effectivement un taxon frère du groupe de Scuticociliés.

Nous pensons qu'un prélèvement beaucoup plus large des genres d'Astomes permettra de peaufiner l'arbre phylogénétique des espèces de cette sous-classe ainsi que sa position précise au sein de la classe des Oligohymenophora.

- Sachant que la morphologie a un déterminisme génétique, les analyses cladistiques et phénétiques dans cette sous-classe, permettrons de déterminer rétrospectivement quels dispositifs morphologiques pourraient être de bons indicateurs des rapports phylogénétiques.

BIBLIOGRAPHIE

Affa'a, F. M. (1986b). Induction par gonadotrophine de l'enkystement et de la conjugaison chez les ciliés parasites de crapauds du Cameroun. *Ann. Des Sc. Nat. Zool., Paris. 13*(8), 1- 4.

Affa'a, F. M., Hickey, D. A., Strüder−Kypke, M., & Lynn, D. H. (2004). Phylogenetic Position of Species in the Genera *Anoplophrya, Plagiotoma,* and *Nyctotheroides* (Phylum Ciliophora), endosymbiotic ciliates of annelids and anurans. *Journal of Eukaryotic Microbiology, 51,* 301–306.

Allan, R., & Greenwood, T. (1999). Biobiversity and Classification. The new tree of life. Advanced Biology 1. student ressource and activity P. 243

Allen, S. L., & Li, C. I. (1974). Nucleotide sequence divergence among DNA fractions of different syngens of *Tetrahymena pyriformis. Biochemical Genetics, 12,* 213–233.

Allen, S. L., & Weremiuk, S. L. (1971). Intersyngenic variations in the esterases and acid phosphatases of *Tetrahymena pyriformis. Biochemical Genetics, 5,* 229–133.

Allen, S. L., Byrne, B. C., & Cronkite, D. L. (1971). Intersyngenic variations in the esterases of bacterized *Paramecium aurelia. Biochemical Genetics, 5,* 135–150.

Allen, S. L., Gibbson, I. (1971). Intersyngenic varaiations in the esterases of axenic stocks of *Paramecium aurelia*. *Biochem. Genet*. 5: 161-181.

Allen, S. L., Nerad, T. A., & Rushford, C. L. (1983a). Comparison of the esterases and acid phosphatases in *Paramecium multimicronucleatum* , syngens 1-5,

Allen, S. L., Rushford, C. L., Nerad, T. A., & Lau, E. T. (1983b). Intraspecies variability in the esterases and acid phosphatases of *Paramecium jenningsi* and *Paramecium multimicronucleatum* : Assignment of unidentified paramecia; Comparison with the *P. Aurelia* complex. *Journal of Protozoology, 30,* 155–163.

Ammermann, D., Schlegel, M., & Hellmer, K. H. (1989). North American and Eurasian strains of *Stylonychia lemnae* (Ciliophora, Hypotrichida) have a high genetic identity, but differ in the nuclear apparatus and in their mating behavior. *European Journal of Protistology, 25,* 67–74.

Aufderheide, K. J., Daggett, P. M., & Nerad, T. A. (1983). *Paramecium sonneborni* n. sp., a new member of the *Paramecium aurelia* species−complex. *Journal of Protozoology , 30* , 128–131.

Baroin, A., Perasso, R., Qu, L. H., Brugerolle, G., Bachellerie, J. P., & Adoutte, A. (1988). Partial phylogeny of the unicellular eukaryotes based on rapid sequencing of a portion of 28S ribosomal RNA. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America, 85,* 3474–3478.

Berger, H., & Foissner, W. (1987). Morphology and biometry of some soil hypotrichs (Protozoa: Ciliophora). *Zoologische Jahrbücher Systematik , 224 ,* 193–239.

Berger, H., & Foissner, W. (1989a). Morphology and biometry of some soil hypotrichs (Protozoa, Ciliophora) from Europe and Japan. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology), 55,* 19–46.

Berger, H., & Foissner, W. (1989b). Morphology and morphogenesis of *Parakahliella haideri* nov. spec. (Ciliophora, Hypotrichida). *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology), 55,* 22–17.

Berger, J. (1965). The infraciliary morphology of *Euplotes truffraui* n. sp., a commensal in strongylocentrotid echinoids, with comments on echinophilous populations of *Euplotes balteatus* (Dujardin) (Ciliata: Hypotrichida), *Protistologica, l* (l), 17–31.

Berger, J. (1978). Quantification of Ciliophoran species descriptions: An appeal to reason. *Transactions of the American Microscopical Society, 97,* 121–126.

Bernas, T., Grégori, G., Asem, E. K. & Robinson, J. P. (2006) Integrating cytomics and proteomics, Mol Cell Proteomics. 5, 2-13.

Borden, D., Whitt, G. S., & Nanney, D. L. (1973a). Isozymic heterogeneity in *Tetrahymena* strains. *Science , 181 ,* 279–280.

Borden, D., Whitt, G. S., & Nanney, D. L. (1973b). Electrophoretic characterization of classical *Tetrahymena pyriformis* strains. *Journal of Protozoology, 20,* 693–700.

Bourland, W.A., Strüder-Kypke, M.C., 2010. *Agolohymena aspidocauda* nov. gen., nov. spec., a histophagous freshwater tetrahymenid ciliate in the family Deltopylidae (Ciliophora, Hymenostomatia), from Idaho (northwest U.S.A.): Morphology, ontogenesis and molecular phylogeny. *Eur. J. Protistol. 46,* 221–242.

Bruce A., Dennis B., Julian L., Martin R., Keith R. & James D. W. (1991). Biologie moléculaire de la cellule. *Medecine-science Flammarion* 2e edition. pp 483-521.

Brugerolle, G. (2006). Description of a new freshwater Heterotrophic Flagellate Sulcomonas lacustris affiliated to the the collodictyonids. *Acta Protozool*. 45:175-182.

Brugerolle, G. et Radek R. (2006). Symbiotic Protozoa Termites. *Soil Biology* Intestinal Microorganisms of Soil Invertebrates. H. König, A. Varma (Eds.). 6 : 244-269.

Brugerolle, G., Bordereau C. (2004). The flagellates of the termite *Hodotermopsissjoestedti* with special reference to *Hoplonympha*, *Holomastigotes* and *Trichomonoide trypanoides* n. comb. *Europ J protostol* 40: 163-174.

Brunk, C. F., Kahn, R. W., & Sadler, L. A. (1990). Phylogenetic relationships among *Tetrahymena* species determined using the polymerase chain reaction. *Journal of Molecular Evolution , 30 ,* 290–297.

Bütschli, O. (1887–1889). Protozoa. Abt. III. Infusoria und System der Radiolaria. In H. G. Bronn (Ed.), *Klassen und Ordnung des Thiers−Reichs* (Vol. 1, pp. 1098–2035). Leipzig: C. F. Winter.

Chatton, E., & Lwoff, A. (1930). Imprégnation, par diffusion argentique, de l'infraciliature des ciliés marins et d'eau douce, après fixation cytologique et sans dessiccation. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie et de ses Filiales, 104,* 834–836.

Chatton, E., & Lwoff, A. (1935b). La constitution primitive de la strie ciliaire des infusoires. La desmodexie. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologieet de ses Filiales,228,* 1068–1072.

Chen, Z. G., & Song, W. B. (2002). Phylogenetic positions of *Aspidisca steini* and *Euplotes vannus* within the order Euplotida (Hypotrichia: Ciliophora) inferred from complete small subunit ribosomal RNA gene sequences. *Acta Protozoologica, 41,* 1–9.

Chen, Z. G., Song, W. B., & Warren, A. (2000). Studies on six *Euplotes* spp. (Ciliophora: Hypotrichida) using RAPD fingerprinting, including a comparison with morphometric analyses. *Acta Protozoologica, 39,* 209–216.

Chisholm, S. W., Olson, R. J., Zettler, E. R., Goericke, R., Waterbury, J. B. & Welschmeyer, N. A. (1988). A novel free living prochlorophyte abundant in the oceanic euphotic zone, *Nature*. *334*, 340-343.

Conklin, C. (1930). *Anoplophrya marylandensis* n. sp. A ciliate from the intestine of earthworms of the family Lumbricidae. *Acta Protistologica*, *2*, 176-179.

Corliss, J. O. (1956). On the evolution and systematics of ciliated protozoa. *Systematic Zoology*, *5*, 68–91; *5*, 121–140.

Corliss, J. O. (1961). *The ciliated protozoa: Characterization, classification, and guide to the litterature* (310 pp.). London/New York: Pergamon Press.

Corliss, J. O. (1974a). The changing world of Ciliate systematics: Historical analysis of past efforts and a newly proposed phylogenetic scheme of classification for the Protistan phylum Ciliophora. *Systematic Zoology, 23,* 91–138.

Corliss, J. O. (1976). On lumpers and splitters of higher taxa in ciliate systematics. *Transactions of the American Microscopical Society, 95,* 430–442.

Corliss, J. O. (1979 a). The impact of electron microscopy on ciliate systematics. Amer Zool 19: 91-138.

Corliss, J. O. (1979 b). *The ciliated protozoa: Characterization, classification, and guide to the literature* (2nd ed., 455 pp.). London/New York: Pergamon Press.

Corliss, J. O. (1994). An interim utilitarian ("user-friendly") hierarchical classification and characterization of the Protists. *Acta Protozool. 33*: 1-51.

Corliss, J. O., & Snyder, R. A. (1986). A preliminary description of several new ciliates from the Antarctica, including *Cohnilembus grassei* n. sp. *Protistologica, 22,* 39–46.

Courties, C., Vaquer, A., Trousselier, M., Lautier, J., Chrétiennot-Dinet, M. J., Neveux, J., Machado, C. & Claustre, H. (1994). Smallest eukaryotic organism, Nature. 370, 255.

Curds, C. R. (1975a). A guide to the species of the genus *Euplotes* (Hypotrichida, Ciliatea). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology, 28,* 1-101.

Curds, C. R. (1985). The species problem in ciliates – a taxonomist's view. *Atti della Societa Toscana di Scienza Naturali, Memorie Serie B , 92* , 29–41.

Darlu, P., & Tassy, P. (1993). La reconstruction phylogénétique, Concepts et méthodes. Masson: Paris Milan Barcelone.

De Rijk P, De Wachter R (1993). DCSE, an interactive tool for sequence alignment and secondary structure research. CABIOS 9: 735- 740.

Dini, F., & Gianni, A. (1985). Breeding systems in the *Euplotes vannus-crassus-minuta* groups. *Atti della Societa Toscana di Scienza Naturali, Memorie Serie B, 92,* 75–93.

Dupy Blanc J. & Ngassam P. (1983). Observation sur les teneurs en ADN nucléaire de populations de ciliés Astomes du genre *Almophrya* parasitant le même hôte. *Protistologica, 19,* 385-392.

Dupy Blanc J. & Ngassam P. (1986). Biometric study and determination of the nuclear DNA contents in populations of Astome ciliates of the type *Almophrya mediovacuolata* Ngassam, 1983. *Arch. Protistenkd, 132,* 23-33.

Elliott, A. M., & Nanney, D. L. (1952). Conjugation in *Tetrahymena. Science*, *226*, 33–34.

Elwood, H. J., Olsen, G. J., & Sogin, M. L. (1985). The small−subunit ribosomal RNA gene sequences from the hypotrichous ciliates *Oxytricha nova* and *Stylonychia pustulata. Molecular Biology and Evolution, 2,* 399–410.

Fauré-Fremiet, E. (1950a). Morphologie comparée et systématique des ciliés. *Bulletin société de Zoologique de France, 75,* 109–122.

Felsenstein J. (2004). PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.62. Seattle, Washington, Distributed by the author, Department of Genetics, University of Washington

Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution,* 39**,** 783-791.

Fenchel, T. (1987). *Ecology of protozoa* (pp. 197). Berlin: Springer

Fernandez-Galiano D. (1966). Une nouvelle méthode pour la mise en évidence de l'infraciliature des ciliés. *Protistology, 2,* 35-38.

Finlay, B. J., Esteban, G. F., & Fenchel, T. (1998). Protozoan diversity: converging estimated of global of free-living Ciliates species. *Protist,149,* 29-37

Fitch, W. M. 1970. Toward defining the tree of maximum parsimony. *In* G. F. Estabrook (Ed.), *Proceedings of the eighth International conference on numerical taxonomy*. Freeman: San Francisco, 160-178.

Fleury, A., Delgado, P., Iftode, F., & Adoutte, A. (1992). A molecular phylogeny of ciliates: What does it tell us about the evolution of the cytoskeleton and of developmental strategies? Devel. *Genetics* , *13* , 247–254.

Foissner, W. (1987). Soil protozoa: Fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators, and guide to the literature. *Progress in Protistology, 2* , 69–212.

Fokam Z., Ngassam P., Boutin Cl., Zébazé Togouet S.H. Trois espèces nouvelles de *Coelophrya*, Ciliés Astomes endocommensaux d'*Alma nilotica* (Oligochète terricole) du Cameroun. *Bull. Soc. Hist. Nat., Toulouse, 144,* 2008, 27-33.

Fokam, Z. (2005). *Biodiversité des Ciliés Astomes endocommensaux d'Annélides Oligochètes terricoles de la région de Yaoundé*. Thèse de Doctorat 3e cycle, Université de Yaoundé, Cameroun. 207 p

Gasol, J.M., Zweifel, U.L., Peters, F., Fuhrman, J.A., Hagström, A. 1999. Significance of size and nucleic acid content heterogeneity as measured by flow cytometry in natural planktonic bacteria. Appl. Environ. *Microbiol. 65*, 4475-4483.

Gates, M. A. (1978a). An essay on the principles of Ciliate systematics. *Transactions of the American Microscopical Society,97,* 221–235.

Gelei, J. von, & Horváth, P. (1931). Eine nasse Silber−bzw. Goldmethode für die Herstellung der reizleitenden Elemente bei den Cillaten. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Mikroskopie und für MikroskopischeTecknik , 48 ,* 9–29.

Génermont, J., Machelon, V., & Demar, C. (1985). The *vannus* group of genus *Euplotes* . Sibling species and related forms; evolutionary significance and taxonomical implications. *Atti della Societa Toscana di Scienza Naturali, Memorie Serie B, 92,* 53–65.

Grain, J. (1969). Le cinétosome et ses dérivés chez les Ciliés. *Année Biologie, 8,* 53–97.

Grain, J., & de Puytorac, P. (1974). Particularités ultrastructurales des cinétosomes et de leurs annexes fibrillaires chez certains ciliés astomes Hoplitophryidae. *Journal de Microscopie (Paris),19,* 231–246.

Grain, J., Peck, R. K., Didier, P., & Rodrigues de Santa Rosa, M. (1976). Importance de la microscopie électronique dans les études de systématique chez les unicellulaires; un exemple: les ciliés du genre *Cyclogramma. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris , 282 ,* 735–738.

Greenwood, S. J., Schlegel, M., Sogin, M. L., & Lynn, D. H. (1991b). Phylogenetic relationships of *Blepharisma americanum* and *Colpoda inflata* with the phylum Ciliophora inferred from the complete small subunit rRNA gene sequences. *Journal of Protozoology, 38,* 1–6.

Greenwood, S. J., Sogin, M. L., & Lynn, D. H. (1991a). Phylogenetic relationships within the class Oligohymenophorea, phylum Ciliophora, inferred from the complete small subunit rRNA gene sequences of *Colpidium campylum , Glaucoma chattoni* , and *Opisthonecta henneguyi. Journal of Molecular Evolution, 33,* 163–174.

Gruchy, D. G., (1955). The breeding system and distribution of *Tetrahymena pyriformis*. *Journal of Protozoology* , *2* , 178–185.

Haeckel, E. 1866. Generelle morphologie der organismen. Georg Reimer: Berlin.

Hassouna, N., Michot, B., & Bachellerie, J.-P. 1984.The complete nucleotide sequence of mouse 28S rRNA gene. Implications for the process of size increase of the large subunit rRNA in higher eukaryotes. *Nucleic AcidsResearch*, *12***,** 3563-3583.

Hausmann, K., & Peck, R. K. (1978). Microtubules and microfilaments as major components of a phagocytic apparatus: The cytopharyngeal basket of the ciliate *Pseudomicrothorax dubius*. *Differentiation*, *22*, 157–167.

Hennig, W. 1966. Phylogenetic systematics. University of Illinois Press: Urbana Chicag London.

Hillis, D. M., & Dixon, M. T. (1991). Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Quarterly Review of Biology*, *66*, 422-453.

Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K. (1996). Molecular Systematics 2 ed. Sinauer

Jankowski, A. W. (1967). A new system of ciliate Protozoa (Ciliophora). *Akademii Nauk SSSR, Trudy Zoologicheskogo Instituta*, *43*, 3–54. (in Russian)

Jankowski, A. W. (1975). A conspectus of the new system of subphylum Ciliophora Doflein, 1901 [Abstract]. In U. S. Balashov (Ed.), *Account of scientific sessions on results of scientific work, Year 1974: Abstracts of reports* (pp. 26–27). Leningrad: Akademii Nauk SSSR, Zoologicheskogo Instituta. (in Russian)

Jankowski, A. W. (1980). Conspectus of a new system of the phylum Ciliophora. *Trudy ZoologicheskogoInstituta Leningrad*, *94*, 103–121. (in Russian)

Jankowski, A. W. (2007). [Phylum Ciliophora Doflein, 1901.] *In*: Alimov, A. F. (Ed.), *Protista*. *Part 2, Handbook on Zoology* (pp. 415–993). St. Petersburg: *Russian Academy of Sciences, Zoological Institute*. (in Russian with English summary).

Johnson G. D., Davidson R. S. , McNamee K. C. , Russell G. , Goodwin D., HolBorow E. J. (1982). Fading of immunofluorescence during microscopy: a study of the phenomenon and its remedy. *Journal of Immunological Methods*, 55 (2), 231-242

Kahl, A. (1930–1935). Urtiere oder Protozoa. I: Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria), eine Bearbeitung der freilebenden und ectocommensalen Infusorien der Erde, unter Ausschluss der marinen Tintinnidae. In F. Dahl (Ed.), *Die Tierwelt Deutschlands* (Pt. 18 (year 1930), 21 (1931), 25 (1932), 30 (1935), pp. 1–886). Jena: G. Fischer.

Katz, L. A. (2001). Evolution of nuclear dualism in ciliates: A reanalysis in light of recent molecular data. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , *5* , 587–1592.

Katz, L. A., Bornstein, J. G., Lasek−Nesselquist, E., & Muse, S. V. (2004). Dramatic diversity of ciliate histone H4 genes revealed by comparisons of patterns of substitutions and paralog divergences among eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution, 21,* 555–562.

Katz, L. A., Lasek−Nesselquist, E., & Snoeyenbos−West, O. L. O. (2003). Structure of the micronuclear (−tubulin gene in the phyllopharyngean ciliate *Chilodonella uncinata* : Implications for the evolution of chromosomal processing. *Gene*, *315*, 15–19.

Katz, L. A., McManus, G. B., Snoeyenbos−West, O. L. O., Griffin, A., Pirog, K., Costas, B. 2005). Reframing the 'Everything is everywhere' debate: Evidence for high gene flow and diversity in ciliate morphospecies. *Aquatic Microbial Ecology*, *41,* 55–65.

Katz, L. A., Snoeyenbos−West, O., & Doerder, F. P. (2006). Patterns of protein evolution in *Tetrahymena thermophila:* Implications for estimates of effective population size. *Molecular Biology and Evolution*, *23,* 608–614.

Kimura M (1980). A simple method of estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol*, 16: 221-120

Klein, B. M. (1926). Ergebnisse mit einer Silbermethode bel Ciliaten. *Archiv für Protistenkunde*, *56*, 243–279.

Komala, Z., & Przybos, E. (1990). Studies on the distribution of species of the *Paramecium aurelia* species complex in the Western Sudetes of Poland. *Folia Biologica (Krakow), 38*, 35–42.

Krishnan S., Barnabas S., Barnabas J. (1990). Interrelationships among major protistan groups based on a parsimony network of 5S rRNA sequences. *BioSystems*, *24*, 135-144.

Kumazaki T, Hori H, Osawa S. (1983). Phylogeny of protozoa deduced from 5S rRNA sequences. *J. Mol. Evol. 19*, 422-419.

Kusch, J., & Heckmann, K. (1996). Population structure of *Euplotes* ciliates revealed by RAPD fingerprinting. *Ecoscience, 3*, 378–384.

Lebaron, P. Servais, P. Baudoux, A.C., Bourrain, M., Courties, C., Parthuisot, N. (2002). Variations of bacterial-specific activity with cell size and nucleic acid content assessed by flow cytometry. *Aquat. Microb. Ecol. 28*, 131-140.

Lebaron, P., Servais, P., Agogué, H., Courties, C., Joux, F. 2001. Does the high nucleic acid content of individual bacterial cells allow us to discriminate between active cells and inactive cells in aquatic systems? *Appl. Environ. Microbiol. 67*, 1775-1782.

Lecointre G. & Le Guyader H. (2001). La classification phylogénétique du vivant. Ed. Belin

Lecointre, G. (1993). *Etude de l'impact de l'échantillonnage des espèces et de la longueur des séquences sur la robustesse des phylogénies moléculaires. Implications sur la phylogénie des Téléostéens*. Université de Paris VII.

Lecointre, G., Philippe, H., Lê, H. L. V., Le Guyader, H. (1993). Species sampling has a major impact on phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution, 2***,** 205-224.

Leeuwenhock, A. van. (1674). More observations from Mr. Leeuwenhook, in a letter of 7 September 1674, sent to the publisher. *Philosophical Transactions of the Royal Society, 9,* 178–182.

Lipscomb, D. L., & Riordan, G. P. (1990). The ultrastructure of *Chaenea teres* and an analysis of the phylogeny of the haptorid ciliates. *Journal of Protozoology*, *37*, 287–300.

Lom, J. (1961). Some remarks on the morphology and taxonomy of astomatous ciliates from earthworms. *Acta Soc. Zool. Bohemoslov*., *25*: 167-180.

Luporini, P., & Dini, F. (1977). The breeding system and the genetic relationship between autogamous and non−autogamous sympatric populations of *Euplotes crassus* (Dujardin) (Ciliata Hypotrichida). *Monitore Zoologico Italiano Nuova Serie* , *22*, 229–154.

Lynn, D. H. & Small, E. B. (2002). Phylum Ciliophora Doflein, 1901. *In*: Lee, J. J., Leedale, G. F. & Bradbury, P. C., eds., *An Illustrated Guide to the Protozoa*, 2nd ed., Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas. Vol. 1 (year 2000), pp. 371--656.

Lynn, D. H. (1976a). Comparative ultrastructure and systematics of the Colpodida: Structural conservatism hypothesis and a description of *Colpoda steinii* Maupas, 1883. *Journal of Protozoology*, *23*, 302–314.

Lynn, D. H. (1979a). Changes in the classification of several major taxa of Ciliophora on the basis of a numerical phenetic analysis. *Journal of Protozoology , 26 ,* 359–366.

Lynn, D. H. (1979b). Fine structural specializations and evolution of carnivory in *Bresslaua* (Ciliophora: Colpodida). *Transactions of the American Microscopical Society*, *98*, 353–368.

Lynn, D. H. (1981). The organization and evolution of microtubular organelles in ciliated protozoa. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, *56*, 243–292.

Lynn, D. H. (1991). The implications of recent descriptions of kinetid structure to the systematics of the ciliated Protists. *Protoplasma, 164,* 123–142.

Lynn, D. H. (2004). Morphology or molecules: How do we identify the major lineages of ciliates (Phylum Ciliophora)? *European Journal of Protistology, 39* (Year 2003), 356–364.

Lynn, D. H. (2008). *The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature*. 3rd Ed. Springer, Dordrecht.

Lynn, D. H., & Berger, J. (1972). Morphology, systematics, and demic variation of *Plagiopyliella pacifica* Poljansky, 1951 (Ciliatea: Philasterina), an entocommensal of strongylocentrotid echinoids. *Transactions of the American Microscopical Society , 91 ,* 310–336.

Lynn, D. H., & Berger, J. (1973). The Thyrophylacidae, a family of carnivorous philasterine ciliates entocommensal in strongylocentrotid echinoids. *Transactions of the American Microscopical Society , 92 ,* 533–557.

Lynn, D. H., & Small, E. B. (1989). Phylum Cilophora. In : Margulis L, Corliss J. O., Mekonian M. and Chapman D. J. (eds) *Handbook of protoctista*, pp. 498-523. Boston: Jone and Bartlett Publishers.

Lynn, D. H., & Small, E. B. (1997). A revised classification of the phylum Ciliophora Doflein, 1901. *Revistade la Sociedad Mexicana de Historia Natural,47,* 65–78.

Lynn, D. H., & Small, E. B. (2002). Phylum Ciliophora, Doflein, 1901. In J. J. Lee, G. F. Leedale, & P. C. Bradbury (Eds.), *An illustrated guide to the protozoa* (Vol. 1 (2000), pp. 371–656). Kansas, USA: Society of Protozoologists, Lawrence.

Lynn, D. H., & Sogin, M. L. (1988). Assessment of phylogenetic relationships among ciliated protests using partial ribosomal RNA sequences derived from reverse transcripts. *BioSystems,21*, 249–254.

Lynn, D. H., & Strüder−Kypke, M. (2002). Phylogenetic position of*Licnophora*, *Lechriopyla*, and *Schizocaryum*, three unusual ciliates (Phylum Ciliophora) endosymbiotic in echinoderms (Phylum Echinodermata). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *49*, 460–468.

Lynn, D. H., & Strüder−Kypke, M. (2005). Phylogenetic relationships among species in the genera *Entodiscus*, *Plagiopyliella*, *Thyrophylax*, and *Entorhipidium*, scuticociliate endosymbionts of echinoids. *Journal of Parasitology*, *9*, 2290–2299.

Lynn, D. H., & Strüder−Kypke, M. (2005). Phylogenetic relationships among species in the genera *Entodiscus*, *Plagiopyliella*, *Thyrophylax*, and *Entorhipidium*, scuticociliate endosymbionts of echinoids. *Journal of Parasitology*, *91*, 2290–2299.

Lynn, D. H., & Strüder−Kypke, M. (2006). Species of *Tetrahymena* identical by small subunit rRNA gene sequences are discriminated by mitochondrial cytochrome c oxidase 1 sequences. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53, 385–387.

Lynn, D. H., Wright, A.-D. G., Schlegel, M. & Foissner, W. 1999. Phylogenetic relationships of orders within the class Colpodea (Phylum Ciliophora) inferred from small subunit rRNA gene sequences. *J. Mol. Evol*., ***48***, 605-614.

Machelon, V., & Demar, C. (1984). Electrophoretic variations among the genus *Euplotes* (Ciliata: Hypotrichida): Comparative data for the sibling species complex *Euplotes vannus* and survey of infrageneric variability. *Journal of Protozoology*, *31*, 74–82.

Marie, D., Brussaard, C. P. D., Thyrhaug, R., Bratbak, G. & Vaulot, D. (1999). Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry, *Applied and Environmental Microbiology*. *65*, 45-52.

Marie, D., Partensky, F., Jacquet, S., Vaulot, D. (1997). Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. *Appl. Environ. Microbiol*. *63*, 186-193.

Mayr, E. (1942). The Biological Species Concept. Biology 8th ed. 2759 p

Medlin LK, Elwood HJ, Stickel S, Sogin M. L. (1988). The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. Gene 71: 491-499

Morin N., Baatout S. (2008). La Cytométrie en Flux appliquée à la Microbiologie. Cours de Cytométrie. 284 p.

Mullis KB (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. Sci Amer: 56-65.

Nanney D. L., Meyer E. B., Simon E. M., Preparata, R. M. (1989a). Comparison of ribosomal and isozymic phylogenies tetrahymenine Ciliates. *Journal of Molecular Evolution 36,* 1-8.

Nanney D. L., Preparata, R. M., Preparata, F.P., Meyer E. B., Simon E. M., (1989b). shifting ditypic sites analysis: heuristic for extending the phylogenetic range of nucleotide sequences in Sankoff analyses. *Journal of Molecular Evolution, 28,* 451-459.

Nanney, D. L. (1984). The molecular diversity and evolutionary antiquity of the *Tetrahymena pyriformis* species complex. Proc VI Int Congress Protozool, Progress in Protozoology, part II, pp. 243-266.

Nanney, D. L. (1985). The tangled tempos underlying Tetrahymena taxonomy. *Atti Soc Tosc Sci Nat, Mem* Ser B, *92*: 1-13.

Nanney, D. L., & McCoy, J. W. (1976). Characterization of the species of the *Tetrahymena pyriformis* complex. *Transactions of the American Microscopical Society* , *95* , 664–682.

Nanney, D. L., Cooper, L. E., Simon, E. M., & Whitt, G. S. (1980a). Isozymic characterization of three mating groups of the *Tetrahymena pyriformis* complex. *Journal of Protozoology* , *27* , 451–459.

Nanney, D. L., Nyberg, D., Chen, S. S., & Meyer, E. B. (1980a). Cytogeometric constraints in *Tetrahymena* evolution: Contractile vacuole pore positions in nineteen species of the *Tetrahymena pyriformis* complex. *American Naturalist, 225,* 705–717.

Nanney, D. L., Park, C., Preparata, R., & Simon, E. M. (1998). Comparison of the sequence differences in the variable 23S domain among sets of cryptic species of ciliated protozoa. *Journal of Eukaryotic Microbiology, 45,* 91–100.

Ngassam P. (1980). *Contribution à l'étude des ciliés Astomes et des ciliés Hétérotriches endocommensaux d'oligochètes terricoles de la région de Yaoundé*. Mémoirede Master's degree. Université de Yaoundé, Cameroun, 83p.

Ngassam P. (1983). Trois espèces nouvelles de ciliés Astomes des genres : *Almophrya* de Puytorac et Dragesco, 1968, *Maupasella* Cépède, 1910, *Njinella* nov. genre, endocommensaux d'Annélides oligochètes de la région de Yaoundé. *Potistologica*. *19* (1) : 131-135.

Ngassam P., Fokam Z., Gangoué P. J. & Motchebe N. G. M. (1998). Complément à la connaissance de deux ciliés Astomes endocommensaux d'Oligochètes terricoles de la region de Yaoundé. *Cameroun Journal Biologique Et Biochimique Science 8 (1):* 17-30.

Ngassam P., Grain J., & Njiné T. (1997). Amorphological and ultrastrustural study of *Kozloffia catenula* de Puytorac, 1968 (Ciliophora, Hysterocinetidae). *European Journal of Protistology*. *33*, 220-226.

Ngassam P., Puytorac De P. & Grain J. (1994). On *Paraptychostomum alma* n. g. n. sp., a commensal ciliate from the digestive tract of Oligochaetes of the Cameroons, in a new subclass Hysterocinetia. *Journal Europe Microbiologie. 41 (1):* 155-162.

Noller, H. F. 1984.Structure of ribosomal DNA. *The Annual Review of Biochemistry*, **53,** 229-162.

Pierce, R. W., & Turner, J. T. (1992). Ecology of planktonic Ciliates in marine food webs. *Reviews in Aquatic Science, 6,* 139–181.

Pitelka, D. R. (1969). Fibrillar systems in protozoa. In T. T. Chen (Ed.), *Research in protozoology* (Vol. 3, pp. 279–388). London/New York: Pergamon Press.

Pitelka, D. R. 1963. Electron microscopic structure of Protozoa. Pergamon Press, London and New York.

Pomeroy L.R. (1974). The ocean's food web, a changing paradigm. *BioScience* 24: 499–504.

Preparata, R. M., Meyer, E. B., Preparata, F. P., Simon, E. M., Vossbrinck, C. R., & Nanney, D. L. (1989). Ciliate evolution: The ribosomal phylogenies of the tetrahymenine ciliates. *Journal of Molecular Evolution , 28 ,* 427–441.

Przybos, E. (1993). Species of the *Paramecium Aurelia* complex in Spain. *Microbiologia SEM , 9 ,* 223–227.

Przybos, E. (1995). Intraspecies differentiation of *Paramecium triaurelia* . I. Strains from Spain. *Folia Biologica , 43 ,* 5–7.

Puytorac, P. de. (1954). Contribution à l'étude cytologique et taxonomique des infusoires astomes. *Annales des Sciences Naturelles−Zoologie et Biologie Animale (Série 22),16,* 85–270.

Puytorac, P. de. (1994). Sous-classe des Astomatia Schewiakoff, 1896. *In* de Puytorac, P., ed., *Traité de Zoologie, Infusoires Ciliés*. Vol. 2. Masson, Paris. pp. 751-787.

Puytorac, P. de. (1994a). Phylum Ciliophora Doflein, 1901. In P. de Puytorac (Ed.), *Traité de zoologie, infusoiresciliés* (Vol. 2, pp. 1–15). Paris: Masson.

Puytorac, P. de. (1994g). Sous−classe des Astomatia Schewiakoff, 1896. In P. de Puytorac (Ed.), *Traité de zoologie, infusoires ciliés* (Vol. 2, pp. 751–787). Paris: Masson.

Puytorac, P. de., & Dragesco, J. (1969a). Quatre espèces nouvelles de ciliés astomes chez les *Alma emini* (Mchlsn) (ver Criodrilinae) du Gabon. *Annales de la Station Biologique de Besse−en−Chandesse,3* (year 1968), 259–266.

Puytorac, P. de., & Dragesco, J. (1969b). Description de six genres nouveaux de ciliés astomes Hoplitophryidae endoparasites de vers Glossoscolecidae au Gabon. *Biologia Gabonica , 5 ,* 5–27.

Puytorac, P. de., & Grain, J. (1976). Ultrastructure du cortex buccal et évolution chez les ciliés. *Protistologica, 12 ,* 49–67.

Puytorac, P. de., Batisse, A., Bohatier, J., Corliss, J.O., Deroux, G., Didier, P., et *al.* (1974b). Proposition d'une classification du phylum Ciliophora Doflein, 1901 (réunion de systématique, Clermont−Ferrand). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences,278,* 2799–2802.

Puytorac, P. de., Batisse, A., Deroux, G., Fleury, A., Grain, J., Laval−Peuto, M., & Tuffrau, M. (1993). Proposition d'une nouvelle classification du phylum des protozoaires Ciliophora Doflein, 1901. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Life Sciences,316,* 716–720.

Puytorac, P. de., Grain, J., & Legendre, P. (1994). An attempt at reconstructing a phylogenetic tree of the Ciliophora using parsimony methods. *European Journal of Protistology,30,* 1–17.

Puytorac, P. de., Grain, J., & Mignot, J. P. (1987). *Précis de Protistologie* Paris: Boubée. 581 p.

Puytorac, P. de., Grain, J., Legendre, P., & Devaux, J. (1984). Essai d'application de l'analyse phénétique à la classification du phylum des Ciliophora. *Journal of Protozoology, 31 ,* 496–507.

Puytorac, P. de., Grolière, C. A., & Grain, J. (1979a). Nouveaux arguments (*Hysterophrya* gen. Nov., *Raabellocineta* gen. Nov.) En faveur de liaisons phylétiques possibles entre ciliés Astomatida et Scuticociliatida. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris , 289 ,* 857–859.

Raikov, I. B. (1996). Nuclei of ciliates. In K. Hausmann & P. C. Bradbury (Eds.), *Ciliates. Cells as organsisms* (pp. 221–242). Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.

Rassoulzadegan F. (1993). Protozoa patterns in the Azam-Ammerman's bacteria-phytoplankton mutualism. In: Guerrero R, Pedros-Alio C (eds) Trends in microbial ecology. Spanish Society for Microbiology, Barcelona, p. 435-439.

Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol., 4,* 406-425.

Schlegel, M., Elwood HJ, Sogin ML. (1991). Molecular evolution in hypotrichous Ciliates: sequences of the small subunit ribosomal RNA genes from onychodromus quadricornutus and oxytricha granulifera (oxytrichidae, Hypotrichida, Ciliophora). *J Mol Evol* 32: 64-69.

Schlegel, M., Kramer, M., & Hahn, K. (1988). Taxonomy and phylogenetic relationship of eight species of the genus *Euplotes* (Hypotrichida, Ciliophora) as revealed by enzyme electrophoresis. *European Journal of Protistology , 24* , 22–29.

Simon, E. M., Meyer, E. B., & Preparata, R. M. (1985). New wild *Tetrahymena* from Southeast Asia, China, and North America, including *T. Malaccensis* , *T. Asiatica* , *T. Nanneyi* , *T. Caudata* , and *T. Silvana* n. Spp. *Journal of Protozoology , 32* , 183–189.

Simpson, G. G. (1961). *Principles of animal taxonomy* (p. 247). New York: Columbia University Press.

Sims R. W. (1980). A classification and the distribution of earthworms, suborder Lumbricina (Haplotaxida: Oligochaeta).

Small, E. B., & Lynn, D. H. (1981). A new macrosystem for the Phylum Ciliophora Doflein, 1901. *BioSystems, 14* , 387–401.

Small, E. B., & Lynn, D. H. (1985). Phylum Ciliophora, Doflein, 1901. In J. J. Lee, S. H. Hutner, & E. C. Bovee (Eds.), *An illustrated guide to the protozoa.* (pp. 393–575). Kansas, USA: *Society of Protozoologists,* Lawrence.

Sogin, M. L., & Elwood, H. J. (1986). Primary structure of the *Paramecium tetraurelia* small−subunit rrna coding region: Phylogenetic relationships within the Ciliophora. *Journal of Molecular Evolution , 23* , 53–60.

Sogin, M. L., Ingold, A., Karlok, M., Nielsen, H., & Engberg, J. (1986a). Phylogenetic evidence for the acquisition of ribosomal RNA introns subsequent to the divergences of some of the major *Tetrahymena* groups. *EMBO Journal*, *5*, 3625–3630.

Sonneborn, T. M. (1937). Sex, sex inheritance and sex determination in *Paramecium aurelia. Proceedings of the National Academy of Sciences,23,* 378–385.

Sonneborn, T. M. (1938). Mating types in *Paramecium aurelia:* Diverse conditions for mating in different stocks; occurrence, number and interrelations of the types. *Proceedings of the American Philosophical Society, 9 , 411–434.*

Sonneborn, T. M. (1939). *Paramecium aurelia* mating types and groups; lethal interactions; determination and inheritance. Amer Nat 73: 390-413.

Sonneborn, T. M. (1957). Breeding systems, reproductive methods, and species problems in Protozoa. In E. Mayr (Ed.), *The species problem* (pp. 155–324). Washington, DC: AAAS Publication.

Sonneborn, T. M. (1975). The *Paramecium aurelia* complex of fourteen sibling species. *Transactions of the American Microscopical Society, 94*, 155–178.

Steinbrück, G., Schegel, M. (1983). Characterization of two sibling species of the genus Stylonychia (Ciliata, Hypotricha): *S. mytilus* Ehrenberg, 1838 and *S. lemnae* n. sp. II. Biochemical characterization. *J Protozool* , 30, 294-300.

Stoeck, T., & Schmidt, H. J. (1998). Fast and accurate identification of European species of the *Paramecium aurelia* complex by RAPD−fingerprints. *Microbial Ecology*, *35*, 322–317.

Strüder-Kypke MC, Lynn DH (2003). Sequence analyses of the small subunit rRNA gene confirm the paraphyly of oligotrich ciliates sensu lato and support the monophyly of the subclasses Oligotrichia and Choreotrichia (Ciliophora, Spirotrichea). *J. Zool.* (Lond) *260,* 87-97.

Strüder−Kypke, M. C., Wright, A. D. G., Foissner, W., Chatzinotas, A., & Lynn, D. H. (2006). Molecular phylogeny of litostome ciliates (Ciliophora, Litostomatea) with emphasis on free−living haptorian genera. *Protist*, *157*, 261–278.

Tait, A. (1970). Enzyme variation between syngens in *Paramecium aurelia. Biochemical Genetics*, *4,* 461–470.

Valbonesi, A., Ortenzi, C., & Luporini, P. (1985). Electrophoretic comparison between *Euplotes vannus* and *E. Crassus* strains. *Atti della Societa Toscana di Scienza Naturali, Memorie Serie B, 92,* 67–74.

Van Bell, C. T. (1985). The 5S and 5.8S ribosomal RNA sequences of *Tetrahymena thermophila* and *T. Pyriformis. Journal of Protozoology, 32,* 640–644.

Walker W. F., (1985). 5S and 5,5S ribosomal RNA sequences and protist phylogeny. BioSystems *18*, 269-278.

Williams, G. W. (1942). Observations on several species of *Metaradiophrya* (Protozoa, Ciliophora). *J. Morph., 70*, 545-589.

Wirnsberger, E., Foissner, W., & Adam, H. (1986). Biometric and morphogenetic comparison of the sibling species *Stylonychia mytilus* and *S. Lemnae*, including a phylogenetic system for the oxytrichids (Ciliophora, Hypotrichida). *Archiv für Protistenkunde*, *132*, 167–185.

Yi, Z. Song, W. Clamp, J. C. Chen, Z. Gao, S. Zhang, Q. (2008). "Reconsideration of systematic relationships within the order Euplotida (Protista, Ciliophora) using new sequences of the gene coding for small-subunit rRNA and testing the use of combined data sets to construct phylogenies of the Diophrys-complex". Mol. Phylogenet. Evol. 50 (3): 599–607.

Zufall, R. A., McGrath, C. L., Muse, S. V., & Katz, L. A. (2006). Genome architecture drives protein evolution in ciliates. *Molecular Biology and Evolution, 23*, 1681–1687.

ANNEXES

Annexe 1 : systèmes de classification du phylum des Ciliophora

A : Classification du Phylum des Ciliophora selon de Puytorac (1994)

Phylum CILIOPHORA Doflein, 1901

Sous-phylum TUBULICORTICATA de Puytorac et *al.*, 1993

Super Classe POSTCILIODESMATOPHORA Gerassimova & Seravin, 1976

Classe KARYORELICTEA Corliss, 1974

Sous classe Trachelocercia Jankowski, 1980

Ordre Trachelocercida Kent, 1881

Sous classe Loxodia Jankowski, 1980

Ordre Loxodida Jankowski in Small & Lynn, 1985

Sous classe Protocruziidia Jankowski in Small & Lynn, 1985

Ordre Protocruziida Jankowski in Small & Lynn, 1985

Sous classe Protoheterotrichia Nouzarède, 1977

Ordre Protoheterotrichida Nouzarède, 1977

Classe HETEROTRICHEA Stein, 1859

Sous classe Heterotrichia Stein, 1859

Ordre Heterotrichida Stein, 1859

Ordre Coliphorida Jankowski, 1967

Ordre Armophorida Jankowksi, 1964

Ordre Phacodiniida Small & Lynn, 1985

Ordre Odontostomatida Sawaya, 1940

Ordre Licnophorida Corliss, 1957

Sous classe Clevelandellidia de Puytorac & Grain, 1976

Ordre Clevelandellida de Puytorac & Grain, 1976

Super Classe SPIROTRICHA Bütschli, 1889

Classe HYPOTRICHEA Stein, 1859

Sous classe Euplotia Tuffrau & Fleury in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Kiitrichida Nozawa, 1941

Ordre Euplotida Small & Lynn, 1985

Ordre Uronychiida Tuffrau & Fleury in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Gastrocirrhida Tuffrau & Fleury in de Puytorac et *al.*, 1993

Sous classe Oxytrichia Tuffrau & Fleury in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Urostylida Jankowski, 1979

Ordre Discocephalida Wicklow, 1982

Ordre Oxytrichida Jankowski, 1979

Classe OLIGOTRICHEA Bütschli, 1887

Sous classe Oligotrichia Bütschli, 1887

Ordre Oligotrichida Bütschli, 1887

Sous classe Strobilia Laval-Peuto, Grain & Deroux in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Choreotrichida Small & Lynn, 1985

Ordre Tintinnida Kofoid & Campbell, 1929

SuperClasse TRANSVERSALA de Puytorac et *al.*, 1993

Classe COLPODEA Small & Lynn, 1981

Sous classe Colpodia Foissner, 1985

Ordre Colpodida de Puytorac et *al.*, 1974

Ordre Grossglockneriida Foissner, 1985

Ordre Bursariomorphida Fernández-Galiano, 1978

Ordre Cyrtolophosidida Foissner, 1978

Ordre Sorogenida Foissner, 1985

Ordre Bryophryida de Puytorac et *al.*, 1979

Sous classe Bryometopia Foissner, 1985

Ordre Bryometopida Foissner, 1985

Classe PLAGIOPYLEA Small & Lynn, 1985

Ordre Plagiopylida Small & Lynn, 1985

Sous-phylum <u>FILICORTICATA</u> de Puytorac et *al.*, 1993

Classe LITOSTOMATEA Small & Lynn, 1981

Ordre Haptorida Corliss, 1974

Ordre Spathidiida Foissner & Foissner, 1988

Ordre Helicoprorodontida Grain in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Pleurostomatida Schewiakoff, 1896

Ordre Mesodiniida Grain in de Puytorac et *al.*, 1993

Classe VESTIBULIFEREA de Puytorac et *al.*, 1974

Ordre Trichostomatida Bütschli, 1889

Ordre Entodiniomorphida Reichenow in Doflein & Reichenow, 1929

Ordre Blepharocorythida Wolska, 1971

Sous-phylum <u>EPIPLASMATA</u> de Puytorac et *al.*, 1993

SuperClasse CILIOSTOMATOPHORA de Puytorac et *al.*, 1993

Classe PHYLLOPHARYNGEA de Puytorac et *al.*, 1974

Sous classe Cyrtophoria Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Ordre Chilodonellida Deroux in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Chlamydodontida Deroux in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Dysteriida Deroux in de Puytorac et *al.*, 1993

Sous classe Chonotrichia Wallengren, 1895

Ordre Chilodochonida Batisse in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Exogemmida Jankowski, 1972

Ordre Cryptogemmida Jankowski, 1975

Sous classe Rhynchodia Chatton & Lwoff, 1939

Ordre Hypocomatida Deroux, 1976

Ordre Rhynchodida Chatton & Lwoff, 1939

Sous classe Suctoria Claparède & Lachmann, 1858

Ordre Podophryida Jankowski, 1973

Ordre Exotropida Batisse in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Entotropida Batisse in de Puytorac et *al.*, 1993

SuperClasse MEMBRANELLOPHORA Jankowski, 1975

Classe NASSOPHOREA Small & Lynn, 1981

Sous classe Prostomatia Schewiakoff, 1896

Ordre Prostomatida Schewiakoff, 1896

Ordre Prorodontida Corliss, 1974

Sous classe Nassulia Jankowski, 1967

Ordre Nassulopsida Deroux in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Synhymeniida Deroux, 1978

Ordre Nassulida Jankowski, 1967

Ordre Paranassulida Deroux in de Puytorac et *al.*, 1993

Ordre Parahymenostomatida Grain et*al.*, 1976

Ordre Microthoracida Jankowski, 1967

Classe OLIGOHYMENOPHOREA de Puytorac et *al.*, 1974

Sous classe Peniculia Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Ordre Peniculida Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Ordre Urocentrida de Puytorac et *al.*, 1987

Sous classe Scuticociliatia Small, 1967

Ordre Philasterida Small, 1967

Ordre Pleuronematida Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Sous classe Peritrichia Stein, 1859

Ordre Sessilida Kahl, 1933

Ordre Mobilida Kahl, 1933

Sous classe Hysterocinetia Diesing, 1866

Ordre Hysterocinetida Diesing, 1866

Sous classe Astomatia Schewiakoff, 1896

Ordre Hoplitophryida Cheissin, 1930

Ordre Anoplophryida Cépède, 1910

Sous classe Hymenostomatia Delage & Hérouard, 1896

Ordre Tetrahymenida Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Ordre Ophryoglenida Canella, 1964

Sous classe Apostomatia Chatton & Lwoff, 1928

Ordre Apostomatida Chatton & Lwoff, 1928

Ordre Astomatophorida Jankowski, 1966

Ordre Pilisuctorida Jankowski, 1966

B : Classification du Phylum des Ciliophora selon Lynn (1994 ; 2008)

Phylum des CILIOPHORA Doflein, 1901

Sous-phylum <u>POSTCILIODESMATOPHORA</u> Gerassimova & Seravin, 1976

Classe KARYORELICTEA Corliss, 1974

Ordre Protostomatida Small & Lynn, 1985

Ordre Loxodida Jankowski in Small & Lynn, 1985

Ordre Protoheterotrichida Nouzarède, 1977

Classe HETEROTRICHEA Stein, 1859

Ordre Heterotrichida Stein, 1859

Sous-phylum <u>INTRAMACRONUCLEATA</u> Lynn, 1996

Classe SPIROTRICHEA Bütschli, 1889

Sous classe Protocruziidia de Puytorac et *al.*, 1987

Ordre Protocruziida Jankowski in Small & Lynn, 1985

Sous classe Phacodiniidia Small & Lynn, 1985

Ordre Phacodiniida Small & Lynn, 1985

Sous classe Hypotrichia Stein, 1859

Ordre Kiitrichida Nozawa, 1941

Ordre Euplotida Small & Lynn, 1985

Sous-ordre Discocephalina Wicklow, 1982

Sous-ordre Euplotina Small & Lynn, 1985

Sous classe Oligotrichia Bütschli, 1887

Ordre Strombidiida Petz & Foissner, 1992

Sous classe Choreotrichia Small & Lynn, 1985

Ordre Tintinnida Kofoid & Campbell, 1929

Ordre Choreotrichida Small & Lynn, 1985

Sous-ordre Strombidinopsina Small & Lynn, 1985

Sous-ordre Strobilidiina Small & Lynn, 1985

Sous-ordre Leegaardiellina Laval-Peuto, Grain & Deroux, 1994

Sous classe Stichotrichia Small & Lynn, 1985

Ordre Plagiotomida Albaret, 1974

Ordre Stichotrichida Fauré-Fremiet, 1961

Ordre Urostylida Jankowski, 1979

Ordre Sporadotrichida Fauré-Fremiet, 1961

Sous classe Licnophoria Corliss, 1957

Ordre Licnophorida Corliss, 1957

Classe ARMOPHOREA Jankowski, 1964 **

Ordre Armophorida Jankowksi, 1964

Ordre Clevelandellida de Puytorac & Grain, 1976

Ordre Odontostomatida Sawaya, 1940

Classe LITOSTOMATEA Small & Lynn, 1981

Sous classe Haptoria Corliss, 1974

Ordre Haptorida Corliss, 1974

Ordre Pleurostomatida Schewiakoff, 1896

Ordre Cyclotrichida Jankowski, 1980

Sous classe Trichostomatia Bütschli, 1889

Ordre Vestibuliferida de Puytorac et *al.*, 1974

Ordre Entodiniomorphida Reichenow in Doflein & Reichenow, 1929

Sous-ordre Archistomatina de Puytorac et *al.*, 1974

Sous-ordre Blepharocorythina Wolska, 1971

Sous-ordre Entodiniomorphina Reichenow in Doflein & Reichenow, 1929

Classe PHYLLOPHARYNGEA de Puytorac et *al.*, 1974

Sous classe Phyllopharyngia de Puytorac et *al.*, 1974

Ordre Chlamydodontida Deroux, 1976

Ordre Dysteriida Deroux, 1976

Sous classe Rhynchodia Chatton & Lwoff, 1939

Ordre Rhynchodida Chatton & Lwoff, 1939

Sous-ordre Rhynchodina Chatton & Lwoff, 1939

Sous-ordre Ancistrocomina Chatton & Lwoff, 1939

Ordre Hypocomatida Deroux, 1976

Sous classe Chonotrichia Wallengren, 1895

Ordre Exogemmida Jankowski, 1972

Ordre Cryptogemmida Jankowski, 1975

Sous classe Suctoria Claparède & Lachmann, 1858

Ordre Exogenida Collin, 1912

Ordre Endogenida Collin, 1912

Ordre Evaginogenida Jankowski in Corliss, 1979

Classe NASSOPHOREA Small & Lynn, 1981

Ordre Synhymeniida de Puytorac et *al.*, 1974

Ordre Nassulida Jankowski, 1967

Ordre Microthoracida Jankowski, 1967

Classe COLPODEA Small & Lynn, 1981

Ordre Bryometopida Foissner, 1985

Ordre Bryophryida de Puytorac et *al.*, 1979

Ordre Bursariomorphida Fernández-Galiano, 1978

Ordre Colpodida de Puytorac et *al.*, 1974

Ordre Cyrtolophosidida Foissner, 1978

Ordre Sorogenida Foissner, 1985

Classe PROSTOMATEA Schewiakoff, 1896

Ordre Prostomatida Schewiakoff, 1896

Ordre Prorodontida Corliss, 1974

Classe PLAGIOPYLEA Small & Lynn, 1985

Ordre Plagiopylida Small & Lynn, 1985

Classe OLIGOHYMENOPHOREA de Puytorac et *al.*, 1974

Sous classe Peniculia Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Ordre Peniculida Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Sous-ordre Frontoniina Small & Lynn, 1985

Sous-ordre Parameciina Jankowski in Small & Lynn, 1985

Sous classe Scuticociliatia Small, 1967

Ordre Philasterida Small, 1967

Ordre Pleuronematida Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Sous classe Hymenostomatia Delage & Hérouard, 1896

Ordre Hymenostomatida Delage & Hérouard, 1896

Sous-ordre Tetrahymenina Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Sous-ordre Ophryoglenina Canella, 1964

Sous classe Apostomatia Chatton & Lwoff, 1928

Ordre Apostomatida Chatton & Lwoff, 1928

Ordre Astomatophorida Jankowski, 1966

Ordre Pilisuctorida Jankowski, 1966

Sous classe Peritrichia Stein, 1859

Ordre Sessilida Kahl, 1933

Ordre Mobilida Kahl, 1933

Sous classe Astomatia Schewiakoff, 1896

Ordre Astomatida Schewiakoff, 1896

Annexe 2 :

Alignement des séquences de gènes, matrice pour l'analyse phylogénétique de la sous-classe des Astomatia Schewiakoff, 1896

Abréviations :

Ab : *Almophrya bivacuolata* ; Me : *Metaracoelophrya intermedia* ; Ma : *Metaracoelophrya almae* ; Me : *Metracoelophrya ebebdae* ; Am : *Anoplophrya marylandensis* ; Np : *Njinella prolifera* ; Ec : *Eudrilophrya complanata* ; Ms : *Metraradiophrya simplex* ; Pe : *Paraclausilocola elongatum* ; Pc : *Paraclausilocola constrictum*.

```
      10        20        30        40        50        60        70        80        90       100
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
----------------------------------------------------------------------------------UGAAACUGCGGAUGGCUCAUU    1 Ab
-------------------------------------------------------------------------------------------UCAUU    2 Mi
-----------------------------------------------------------------------------------AAUGGCUCAUU    3 Ma
AACCUGGUUGAUCCUGCCAGUAGUCAUAUGCUUGUCUCAAAGAUUAAGCCAUGCAUGUCUAAGUAUAAAUAGUAUACAGUGAAACUGCGAAUGGCUCAUU    4 Me
-AUCUGGUUGAUUUUGCCAGUAGUCAUAUGCUUGUCUCAAAGAUUAAGCCAUGCAUGUCUAGGUAUAAAUAGUAUACAGUGAAACUGCGAAUGGCUCAUU    5 Am
---------------GCCAGUAGUCAUAUGCUUGUCUCAAAGAUUAAGCCAUGCAUGUCUAAGUAUAAAUAGUAUACAGUGAAACUGCGAAUGGCUCAUU    6 Np
---------------GCCAGUAGUCAUAUGCUUGUCUCAAAGAUUAAGCCAUGCAUGUCUAAGUAUAAAUAGUAUACAGUGAAACUGCGAAUGGCUCAUU    7 Ec
---------GAUCCUGCCAGUAGUCAUAUGCUUGUCUCAAAGAUUAAGCCAUGCAUGUCUAAGUAUAAAUAGUAUACAGUGAAACUGCGAAUGGCUCAUU    8 Ms
---------------CCAGUAGUCAUAUGCUUGUCUCAAAGAUUAAGCCAUGCAUGUCUAAGUAUAAAUAGUAUACAGUGAAACUGCGAAUGGCUCAUU    9 Pe
-----------UCCUGCCAGUAGUCAUAUGCUUGUCUCAAAGAUUAAGCCAUGCAUGUCUAAGUAUAAAUAGUAUACAGUGAAACUGCGAAUGGCUCAUU   10 Pe
-----------UCCUGCCAGUAGUCAUAUGCUUGUCUCAAAGAUUAAGCCAUGCAUGUCUAAGUAUAAAUAGUAUACAGUGAAACUGCGAAUGGCUCAUU   22 Pc

220       120       130       140       150       160       170       180       190       200
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAUUGA-AAGCUAUAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUGU-UAACCUAACU-UACGAAGGGUUG    1 Ab
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAUUGA-ACGCUAUAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUG-CUAACCCAACU-CACGAAGGGUGG    2 Mi
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAUUGA-AAGCUAUAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUG-CAAACCCAACU-CACGAAGGGUUG    3 Ma
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAUUGA-AAGCUAUAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUGU-UAACCUAACU-UACGAAGGGUUG    4 Me
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAUUGA-AA-CCACAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCCUAAAAACUGGGCU-CACGCUCAGUUG    5 Am
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAUUGC-AAGCUACAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUGUCAAACCCGACUUCUGGGAGGGUUG    6 Np
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAU-GAACUUCUACAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUGUCAAACCUGACUUCUGGAAGGGUUG    7 Ec
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAU-GAACUUCUACAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUAUCAAACCCGACUUCUGGAAGGGUUG    8 Ms
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAU-GA-CUUCUACAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUAUCAAACCUGACUUCUGGAAGGGUUG    9 Pe
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAU-GA-CUUCUACAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUAUCAAACCUGACUUCUGGAAGGGUUG   10 Pe
AUAACAGUUAUAGUUUAUUUGAUAAU-GA-CUUCUACAUGGAUAACCGUGGUAAUUCUAGAGCUAAUACAUGCUAUCAAACCUGACUUCUGGAAAGGUUG   22 Pc

      210       220       230       240       250       260       270       280       290       300
```

```
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
UAUUUAUUAGAUAUCAAACCAAUACUCU-UCACGGAGUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCGAAACUUCGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  1 Ab
UAUUUAUUAGAUAUCAAACCAAUACUCC-UCACGGAGUGUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCGAAACUUCGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  2 Mi
UAUUUAUUAGAUAUCAAACCAGUAUUCU-UCACUGAAUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCGAAGUUUCGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  3 Ma
UAUUUAUUAGAUAUCAAACCAAUACUCU-UCACGGAGUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCGAAACUUCGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  4 Me
UAUUUAUUAGAUAUCAAACCAAUAUUCCUUCG-GGUCUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUUAACGAAUCUCGUAUUUACGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  5 Am
UAUUUAUUAGAUAUCAAACCAAUAUUCCUUCG-GGUCUAUUGUGGUGAGUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCGGGAUUCCGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  6 Np
UAUUUAUUAGAUAUCAAACCAAUAUUCCUUCG-GGUCUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCGGAAUUCCGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  7 Ec
UAUUUAUUAGAUAUCAAACCAAUAUUCCUUCG-GGUCUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCGGAAUUCCGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  8 Ms
UAUUUAUUAGAUAUCAAGCCAAUAUUCCUUCG-GGUCUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCAGAAUUCUGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC  9 Pe
UAUUUAUUAGAUAUCAAGCCAAUAUUCCUUCG-GGUCUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCAGAAUUCUGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC 10 Pe
UAUUUAUUAGAUAUCAAGCCAAUAUUCCUUCG-GGUCUAUUGUGGUGAAUCAUAGUAACUGAUCGAAUCUCAGAAUUCUGAGAUAAAUCAUUCAAGUUUC 22 Pc

      310       320       330       340       350       360       370       380       390       400
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCGGUCACGGGUAACGGAGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  1 Ab
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCGGUCACGGGUAACGGAGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  2 Mi
UGCCCUAUCAGCUUUCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCGGUCACGGGUAACGGAGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  3 Ma
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCGGUCACGGGUAACGGAGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  4 Me
UGCCCUAUCAGCUUUCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCAAUCACGGGUAACGGAGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  5 Am
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCAGUCACGGGUAACGGGGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  6 Np
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCAGUCACGGGUAACGGGGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  7 Ec
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCAGUCACGGGUAACGGGGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  8 Ms
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCAGUCACGGGUAACGGGGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC  9 Pe
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCAGUCACGGGUAACGGGGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC 10 Pe
UGCCCUAUCAGCUUCCGAUGGUAGUGUAUUGGACUACCAUGGCAGUCACGGGUAACGGGGAAUUAGGGUUCGAUUCCGGAGAGGGAGCCUGAGAAACGGC 22 Pc

      410       420       430       440       450       460       470       480       490       500
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAACCUGGGGGCUAUUAGCCUUACGGG  1 Ab
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAACCUGGGGGCUAUUAGCCUUACGGG  2 Mi
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGAUUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAACCUGGGUGCUAUCUGCAUUACGGG  3 Ma
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAACCUGGGGGCUAUUAGCCUUACGGG  4 Me
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGAUUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAACCUGGGGGCUAUUAGCCUUACGGG  5 Am
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAAGCCGGGGGCUUUGUGCCUUACGGU  6 Np
UACCACAUCUAAGGAUGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAAACUGGGGGCUAUACGCCUUACGGU  7 Ec
UACCACAUCUAAGGAUGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAAACUGGGGGCUAUAUGCCUUACGGU  8 Ms
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAAACUGGGGACUCAAUGUCUUACGGU  9 Pe
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAAACUGGGGACUCAAUGUCUUACGGU 10 Pe
UACCACAUCUAAGGAAGGCAGCAGGCGCGUAAAUUACCCAAUCCUGACUCAGGGAGGUAGUGACAAGAAAUAACAAACUGGGGACUCAAUGUCUUACGGU 22 Pc

      510       520       530       540       550       560       570       580       590       600
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
AUUGCAAUGAGAACAAUCCAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA  1 Ab
AUUGCAAUGAGAACAAUCCAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA  2 Mi
AUUGCAAUGAGAACAAUCUAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA  3 Ma
```

```
AUUGCAAUGAGAACAAUCCAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA   4 Me
AUUGCAAUGAGAACAAUCCAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA   5 Am
AUUGCAAUGAGAACAAUUUAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA   6 Np
AUUGCAAUGAGAACAAUUUAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA   7 Ec
AUUGCAAUGAGAACAAUUUAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA   8 Ms
AUUGCAAUGAGAACAAUUUAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA   9 Pe
AUUGCAAUGAGAACAAUUUAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA  10 Pe
AUUGCAAUGAGAACAAUUUAAAACUCUUAGCGAGGAACAAUUGGAGGGCAAGUCUGGUGCCAGCAGCCGCGGUAAUUCCAGCUCCAAUAGCGUAUAUUAA  22 Pc

      610       620       630       640       650       660       670       680       690       700
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGAAUGUU-CUUUUCGUUGGCCUCGGUC-AUGUCUAGGACAUUCAUCCGUCUGCAAACUAUACUA   1 Ab
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGAAUGUU-CUUUUCGUUGGCCUCGGUC-AUGUCUAGGACGUUCAUCCGUCUGCAAACUAUACUA   2 Mi
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGGCAGUU-CUUAUCUUUGGCUUCGGUCGAA-AUAAGGGCAGUCAUCCGUCUGCAAACUAUAUUA   3 Ma
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGAAUGUU-CUUUUCGUUGGCCUCGGUC-AUGUCUAGGACAUUCAUCCGUCUGCAAACUAUACUA   4 Me
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGUCUGUUUCUAGUCU-UGGCCUCGGUCG-AGCUAGGGGCAGUCAUCCGUCUGCAAACCAUGCUA   5 Am
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGGCUGUUUGCGA-CGC-GGCUUCGGCCG-UGCCGCAGACAGUCAUCCGUCUGCGAACCACGCUA   6 Np
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGGCUGCCUUUG-UUG-UGGCUUCGGCCGCAGCC-AAGACAGUCAUCCGUCUGCGAACCAUGCUA   7 Ec
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGGCUGUUUUUG-UUG-UGGCUUCGGCCG-CGGCUAAGACAGUCAUCCGUCUGCGAACCAUGCUA   8 Ms
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGGCUGCCUUUG-UCG-UGGCCUCGGCCG-CGAUCGAGACAGUCAUCCGUCUGCGAACCAUACUA   9 Pe
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGGCUGCCUUUG-UCG-UGGCCUCGGCCG-CGAUCGAGACAGUCAUCCGUCUGCGAACCAUACUA  10 Pe
AGUUGUUGCAGUUAAAAAGCUCGUAGUUGAAUUUCUGGCUGCCUUUG-UCG-UGGCCUUGGCCG-CGCCCGAGACAGUCAUCCGUCUGCGAACCAUACUA  22 Pc

      710       720       730       740       750       760       770       780       790       800
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
GUCCUUUAUUGGUCGGUAUGGGGAGUAGGCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUUUCA-GGCAGGCAAUUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   1 Ab
GUCCUUUAUUGGUCGGUAUGGGGAGUAGGCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUUUCA-GGCAGGCAAUUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   2 Mi
GUCCUUUACUGGUCGGUAUAGGGAGUAGUCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUUUCA-GGCAGGCAUUUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   3 Ma
GUCCUUUAUUGGUCGGUAUGGGGAGUAGGCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUUUCA-GGCAGGCAAUUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   4 Me
GUCCUUCAUUGGUCGGUAUGGGGAGUAGGCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUUUCA-GGCAGGCUUUUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   5 Am
GGCCUUCACUGGUCGGCGUGGGGAGCAGGCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUU-CAAGGCAGGCUAUUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   6 Np
GGCCUUUAUUGGUCGGUAUGGGGAGCAGGCAUUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUU-CAAGGCAGGCUAUUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   7 Ec
GGUCUUUAUUGGUCGGUAUGGGGAGCAGGCAUUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUU-CAAGGCAGGCUAUUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   8 Ms
GGCCUUCACUGGUCGGUAUGGGGAGCAGGCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUU-CAAGGCAGGCU-UUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG   9 Pe
GGCCUUCACUGGUCGGUAUGGGGAGCAGGCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUU-CAAGGCAGGCU-UUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG  10 Pe
GGCCUUCACUGGUCGGUAUGGGGAGCAGGCACUUUACUUUGAAAAAAUUAGAGUGUU-CAAGGCAGGCU-UUGCCCGAAUACAUUAGCAUGGAAUAAUGG  22 Pc

      810       820       830       840       850       860       870       880       890       900
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
AAUAGGACUC-GUCCAUUUUA-UUGGUUAUUGGAUUGA-GUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   1 Ab
AAUAGGACUC-GUUCAUUUUA-UUGGUUAUUGGAUUGA-GUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   2 Mi
AAUAGGACUCUGUCCAUUUUACUUGGUUAUUGGAUUGA-GUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGGGCAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   3 Ma
AAUAGGACUC-GUCCAUUUUA-UUGGUUAUUGGAUUGA-GUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   4 Me
AAUAGGACUUAGUCCAUUUUUGUUGGUUAUUGGAUUGA-GUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   5 Am
AAUAGGACUUAGUCCAUUUU-GUUGGUUAUUGGAUU-AGGUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   6 Np
AAUAGGACUUAGUCCAUUUU-GUUGGUUAUUGGAUU-AGGUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   7 Ec
```

```
AAUAGGACUUAGUCCAUUUU-GUUGGUUAUUGGAUU-AGGUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   8 Ms
AAUAGGACUUAGUCCAUUUU-GUUGGUUAUUGGAUU-AGGUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU   9 Pe
AAUAGGACUUAGUCCAUUUU-GUUGGUUAUUGGAUU-AGGUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU  10 Pe
AAUAGGACUUAGUCCAUUUU-GUUGGUUAUUGGAUU-AGGUAAUGAUUAAUAGGGACAGUUGGGGG-CAUUAGUAUUUAAUUGUCAGAGGUGAAAUUCUU  22 Pc

      910       920       930       940       950       960       970       980       990      1000
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   1 Ab
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   2 Mi
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   3 Ma
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   4 Me
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGGAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   5 Am
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   6 Np
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   7 Ec
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   8 Ms
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU   9 Pe
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU  10 Pe
GGAUUUAUUAAAGACUAACUUAUGCGAAAGCAUUUGCCAAGGAUGUUUUCAUUAAUCAAGAACGAAAGUUAGGGGAUCAAAGACGAUCAGAUACCGUCCU  22 Pc

     1010      1020      1030      1040      1050      1060      1070      1080      1090      2200
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUGCAAUAUGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA   1 Ab
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUGCAAUAUGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA   2 Mi
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGUCGGGU-AUUUAUGCUCGAUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA   3 Ma
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUGCAAUAUGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA   4 Me
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGU-AUUUAAGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAUUCAAGGUCUUGGGGUUCUGGGGGAAGUA   5 Am
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUGUCUUAAGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA   6 Np
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUUCAUUAAGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA   7 Ec
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUACAUUAAGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA   8 Ms
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUGCAUUAAGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA   9 Pe
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUGCAUUAAGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA  10 Pe
AGUCUUAACUAUAAACUAUACCGACUCGGGAUCGGCCGGGUGCAUUAAGCUCGGUCGGCACCGUAUGAGAAAUCAAAGUCUUUGGGUUCUGGGGGGAGUA  22 Pc

2210      2220      2230      2240      2250      2260      2270      2280      2290      1200
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   1 Ab
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   2 Mi
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   3 Ma
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   4 Me
UGUUCGCAAGGUUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   5 Am
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   6 Np
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   7 Ec
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   8 Ms
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA   9 Pe
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA  10 Pe
UGGUCGCAAGGCUGAAACUUAAAGGAAUUGACGGAAGGGCACCACCAGGAGUGGAGCCUGCGGCUUAAUUUGACUCAACACGGGAAAACUUACCAGGUCA  22 Pc
```

```
    1210      1220      1230      1240      1250      1260      1270      1280      1290      1300
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
AAACAUGGGUGAGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   1 Ab
AAACAUGGGUGAGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   2 Mi
AAACAUGGGUGAGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   3 Ma
AAACAUGGGUGAGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   4 Me
AAACAUGGGUGAGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   5 Am
AAACAUGGGUAGGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   6 Np
AAACAUGGGUGGGAUUGACAGAUAGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   7 Ec
AAACAUGGGUGGGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   8 Ms
AAACAUGGGUGGGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC   9 Pe
AAACAUGGGUGGGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC  10 Pe
AAACAUGGGUGGGAUUGACAGAUUGAGAGCUCUUUCUUGAUUCUAUGGGUGGUGGUGCAUGGCCGUUCUUAGUUGGUGGAGUGAUUUGUCUGGUUAAUUC  22 Pc

    1310      1320      1330      1340      1350      1360      1370      1380      1390      1400
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAAUUAGUCGCGUGAACCAUAUUCACGCGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCGGAAACGCAUGGAAGUUUGAG   1 Ab
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAAUUAGUCGCGUGAACCAUAUUCACGCGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCGGAAACGCAUGGAAGUUUGAG   2 Mi
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAAUUAGUCGCGUGAACCAUAUUCAUGUGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCGGAAACGCAUGGAAGUUUGAG   3 Ma
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAAUUAGUCGCGUGAACCAUAUUCACGCGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCGGAAACGCAUGGAAGUUUGAG   4 Me
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAACUAGUCAUUUGAACUUUAUUCGAAUGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCUGCGGAAGCGCAUGGAAGUUUGAG   5 Am
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAACUAGUCAUCGGAAUUCCAUUCUGAUGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCUGAAACGCAUGGAAGUUUGAG   6 Np
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAACUAGUCAUCGGAACUCCAUUCUGAUGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCUGAAACGCAUGGAAGUUUGAG   7 Ec
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAACUAGUCAUCGGAACUCCAUUCUGAUGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCUGAAACGCAUGGAAGUUUGAG   8 Ms
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAACUAGUCGUCAGAACUCCAUUCUGACGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCUGAAACGCAUGGAAGUUUGAG   9 Pe
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAACUAGUCGUCAGAACUCCAUUCUGACGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCUGAAACGCAUGGAAGUUUGAG  10 Pe
CGUUAACGAACGAGACCUUAACCUGCUAACUAGUCGUCAGAACUCCAUUCUGACGUACUUCUUAGAGGGACUAUGCGGCUGAAACGCAUGGAAGUUUGAG  22 Pc

    1410      1420      1430      1440      1450      1460      1470      1480      1490      1500
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGACGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGCAUUAUCCUGACCCGGAAGGG-CAC-GGUA   1 Ab
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGACGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGCAUUAUCCUGACCCGGAAGGG-CAC-GGUA   2 Mi
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGACGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGUAUUAUCCUGACCCGGAAGGG-CUC-GGUA   3 Ma
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGACGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGCAUUAUCCUGACCCGGAAGGG-CAC-GGUA   4 Me
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGACGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGCAUUUUCCUGACCCGGAAGGG-UUC-GGUA   5 Am
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGAUGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGUAUUAUCCUGGCCCGGAAGGGAGUCGGGUA   6 Np
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGAUGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGUAUUAUCCUGGCCCGGAAGGGAGUCGGGUA   7 Ec
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGAUGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGUAUUAUCCUGGCCCGGAAGGGAGUCGGGUA   8 Ms
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGAUGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGUUUUAUCCUGGCCCGGAAGGGAGUCGGGUA   9 Pe
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGAUGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGUUUUAUCCUGGCCCGGAAGGGAGUCGGGUA  10 Pe
GCAAUAACAGGUCUGUGAUGCCCCUAGAUGUCCUGGGCCGCACGCGCGCUACAAUGACACGCUCAGCAAGUUUUAUCCUGGCCCGGAAGGGAGUCGGGUA  22 Pc

    1510      1520      1530      1540      1550      1560      1570      1580      1590      1600
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
AUCUUCAUAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGCAAUUAUGGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUUAGCUUGUACUGAUUAC   1 Ab
```

```
AUCUUCAUAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGCAAUUAUGGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUUAGCUUGUACUGAUUAC   2 Mi
AUCUUCAUAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGCAAUUAUGGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUUAGCUUGUACUGAUUAC   3 Ma
AUCUUCAUAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGCAAUUAUGGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUUAGCUUGUACUGAUUAC   4 Me
AUCUUCACAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGCAAUUAUGGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUUAGCUUGUACUGAUUAC   5 Am
AUCUUCACAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGUAAUUAUAGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUUAGCUUGUACUGAUUAC   6 Np
AUCUUUACAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGUAAUUAUAGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUCAGCUUGUACUGAUUAC   7 Ec
AUCUUUACAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGUAAUUAUAGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUCAGCUUGUACUGAUUAC   8 Ms
AUCUUCAUAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGUAAUUAUAGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUCAGCUUGUACUGAUUAC   9 Pe
AUCUUCAUAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGUAAUUAUAGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUCAGCUUGUACUGAUUAC  10 Pe
AUCUUCAUAAUACGUGUCGUGUUAGGGAUAGAUCUUUGUAAUUAUAGAUCUUGAACGAGGAAUUCCUAGUAAGUGCAAGUCAUCAGCUUGUACUGAUUAC  22 Pc

     1610      1620      1630      1640      1650      1660      1670      1680      1690      1700
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGAUCAGGUGAACAUUCCGGACUGC-UCUAGUCCUCGAGAC-UAGAGUAGGAA    1 Ab
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGAUCAGGUGAACAUUCCGGACUGC-UUUAGUCCUCGAGAC-UAGAGUAGGAA    2 Mi
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGAUCAGGUGAACAUUCCGGACUGC-U---GCCCUU-AG--GUUAUGCAGAAA    3 Ma
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGAUCAGGUGAACAUUCCGGACUGC-UCUAGUCCUCGAGAC-UAGAGUAGGAA    4 Me
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGGUCAGGUGAACAUUCCGGACUGCAGUU--UCC-C-A-A--UU--GUAGAAA    5 Am
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGACAAGGUGAACAUUCCGGACCGCAGC--GACCUCGUGUCGUU--GUGGAAA    6 Np
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGACAAGGUGAACAUUCCGGACCGC-GCUAAUC-UCCUG--GUUACGUGGAAA    7 Ec
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGACAAGGUGAACAUUCCGGACCGC-GCUAGCCCUUGAG--GUUACGUGGAAA    8 Ms
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGAUAAGGUGAACAUUCCGGACCGC-GCUAACCCUCGUG--GUUACGUAGAAA    9 Pe
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGAUAAGGUGAACAUUCCGGACCGC-GCUAACCCUCGUG--GUUACGUAGAAA   10 Pe
GUCCCUGCCCUUUGUACACACCGCCCGUCGCUCCUACCGAUUUCGAGUGAUAAGGUGAACAUUCCGGACCGC-GCUAACCCUCGUG--GUUACGUAGAAA   22 Pc

     1710      1720      1730      1740      1750      1760      1770
....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|.
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAAAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA    1 Ab
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAAAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA    2 Mi
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAAAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA    3 Ma
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAAAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA    4 Me
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAAAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCAGAUGGAUCA    5 Am
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAGAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA    6 Np
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAGAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA    7 Ec
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAGAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA    8 Ms
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAGAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA    9 Pe
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAGAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA   10 Pe
GUUAAGUAAACCUUAUCACUUAGAGGAAGGAGAAGUCGUAACAAGGUUUCCGUAGGUGAACCUGCGGAAGGAUCA   22 Pc
```

LISTE DES ARTICLES TIRES DE LA THESE

1- <u>Fokam Z.</u>, Ngassam P., Boutin Cl., Zébazé Togouet S.H. Trois espèces nouvelles de *Coelophrya*, Ciliés Astomes endocommensaux d'*Alma nilotica* (Oligochète terricole) du Cameroun. *Bull. Soc. Hist. Nat., Toulouse,* 144, 2008, 27-33.

2- <u>Fokam, Z.</u>, Ngassam P., Strüder-Kypke M. C., Lynn D. H. Genetic diversity and phylogenetic position of the subclass Astomatia (Ciliophora) based on a sampling of six genera from West African oligochaetes (Glossoscolecidae, Megascolecidae), including description of the new genus *Paraclausilocola* n. gen. Eur. J. Protistol. (2011), doi: 10.1016 / j.ejop. 2011.02.002.