

PHYLOGÉNIE DES MONOGÈNES BASÉE SUR UNE ANALYSE DE PARCIMONIE DES CARACTÈRES DE L'ULTRASTRUCTURE DE LA SPERMIOGÉNÈSE ET DES SPERMATOZOÏDES INCLUANT LES RÉSULTATS RÉCENTS.

J-L. JUSTINE

Laboratoire de Biologie parasitaire, Protistologie, Helminthologie,
URA 114 CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle, 61 rue Buffon,
75231 Paris Cedex 05, France.

RÉSUMÉ

Les caractères de la spermiogenèse et du spermatozoïde ont été utilisés pour une analyse de parcimonie des Monogènes avec le programme PAUP. Les données utilisées comprennent la matrice proposée dans une analyse précédente (JUSTINE, 1991, *Int. J. Parasitol.* 21: 821-838) et les données récemment publiées. Une matrice comprenant 27 taxons et 22 caractères est proposée, mais comme certains de ces taxons sont redondants ou mal définis (le spermatozoïde est connu mais la spermiogenèse n'est pas décrite), l'analyse de parcimonie n'a porté que sur 15 taxons (dont les Digenea considérés comme outgroup et les Polyopisthocotylea considérés comme un seul taxon). Un arbre de consensus a été calculé et a une longueur de 32 pas et un indice de confiance de 0,750. Les Polyopisthocotylea et les Monopisthocotylea sont chacun définis sur la base de synapomorphies, mais il n'existe pas de synapomorphie pour les Monogenea. A l'intérieur des Monopisthocotylea, plusieurs groupes sont définis. Un groupe comprend les Loimoidae et Monocotylidae, et apparaît comme groupe frère de tous les autres Monopisthocotylea. Une polytomie existe chez les autres Monopisthocotylea; les relations entre les Acanthocotylidae, Capsalidae et Gyrocotylidae ne sont pas résolues. Le groupe des Monoaxonematidea (monogènes à spermatozoïde uniflagellé) apparaît monophylétique. A l'intérieur de ce groupe, *Calceostoma*, *Cleithrarticus* et *Pseudodactylogyrus* semblent unis en un monophylum.

Mots-clés: Monogenea, Plathelminthes, Polyopisthocotylea, Monopisthocotylea, ultrastructure, spermiogenèse, spermatozoïde, phylogénie, cladistique, analyse de parcimonie.

PHYLOGENY OF THE MONOGENEA BASED UPON A PARSIMONY ANALYSIS OF CHARACTERS OF SPERMIOGENESIS AND SPERMATOZOON ULTRASTRUCTURE INCLUDING RECENT RESULTS

ABSTRACT

Characters of spermiogenesis and spermatozoa were used for a parsimony analysis of the Monogenea using the software PAUP. Data include a matrix previously published (JUSTINE, 1991, *Int. J. Parasitol.* 21: 821-838) and data recently published. A matrix including 27 taxa is proposed, but since some of these taxa are redundant or ill-defined (the spermatozoon is known but spermiogenesis was not described), the parsimony analysis was performed on only 15 taxa. The data set includes the Digenea considered as an outgroup and the Polyopisthocotylea considered as a single taxon. The strict consensus tree computed after this analysis has a length of 32 steps and a consistency index of 0,750. The Polyopisthocotylea and the Monopisthocotylea are each defined on the basis of synapomorphies for the spermatozoon, but there is no sperm synapomorphy for the entire Monogenea. A group which contains the Loimoidae and Monocotylidae appears as a sister group for all other Monopisthocotyleans. A polytomy exists in the other Monopisthocotyleans ; phylogenetic relationships between the Acanthocotylidae,

Capsalidae and Gyrocotylidae are not resolved. The Monoaxonematidea (monopisthocotylean monogeneans with uniflagellate spermatozoa) appear monophyletic. Within this group, *Calceostoma*, *Cleithrarticus* and *Pseudodactylogyrus* appear to constitute a monophyletic group.

Key-words: Monogenea, Platyhelminthes, Polyopisthocotylea, Monopisthocotylea, ultrastructure, spermiogenesis, spermatozoa, phylogeny, cladistics, parsimony analysis.

INTRODUCTION

Les caractères ultrastructuraux des spermatozoïdes et de la spermiogénèse constituent un complément aux caractères issus d'autres méthodes d'études, qui peuvent aller de l'analyse morphologique traditionnelle jusqu'aux techniques de la biologie moléculaire. L'analyse cladistique de ces caractères a donné lieu à des résultats significatifs chez plusieurs groupes (Poissons: MATTEI, 1992; Crustacés: voir par exemple STORCH & JAMIESON, 1992).

Chez les Plathelminthes, de telles études sont importantes, pour deux raisons: le manque relatif de caractères interprétables, et la grande variété des morphologies spermatiques chez ce groupe. Les études ultrastructurales ont été très nombreuses (voir par exemple TYLER *et al* (1986) pour les Turbellariés ou JUSTINE (1993) pour les Monogènes). L'ultrastructure des spermatozoïdes pour la compréhension de la phylogénie a été utilisée très précocement, en particulier par HENDELBERG (1970). L'utilisation des méthodes de la systématique phylogénétique est due à EHLERS (1985), BROOKS (1989), ROHDE (1990) et JUSTINE (1991a, b, c).

Chez les Monogènes en particulier, les caractères du spermatozoïde ont été utilisés par JUSTINE, LAMBERT & MATTEI (1985) qui ont défini quatre types de spermatozoïdes en fonction du nombre d'axonèmes et de la présence des microtubules corticaux. JUSTINE (1991b) a redéfini ces caractères selon les méthodes de la cladistique et proposé un cladogramme construit à partir d'un arbre de consensus obtenu par une analyse de parcimonie basée sur 18 caractères du spermatozoïde et de la spermiogénèse. Ces résultats ont été comparés avec des analyses phylétiques des Monogènes basées sur d'autres caractères, ou basées seulement partiellement sur les spermatozoïdes (LAMBERT, 1980; LEBEDEV, 1988; MALMBERG, 1990).

Le présent article a pour objet de remettre à jour cette analyse en y incluant les résultats récemment obtenus par l'auteur ou publiés dans la littérature.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel.

L'origine des données est indiquée dans le Tableau I. Pour *Tetraonchoïdes*, quelques données additionnelles non publiées sont ajoutées aux résultats publiés par JUSTINE, MATTEI & EUZET (1991). Dans un souci de brièveté, les références bibliographiques ne sont pas rappelées dans le texte, puisqu'elles figurent dans le Tableau I.

Polarité des caractères.

Les caractères ont été polarisés en utilisant le critère de l'outgroup (WATROUS & WHEELER, 1981). L'outgroup utilisé est le digène *Haematoloechus*; la plupart des digènes pourraient être utilisés, mais ce genre a été particulièrement étudié (cf. JUSTINE & MATTEI, 1982a). La liste des caractères est donnée dans le Tableau II.

Programme d'analyse de parcimonie.

Le logiciel PAUP 3.0s (SWOFFORD, 1991) a été utilisé sur un Macintosh Plus Apple.

Simplification de la matrice.

La matrice des 27 taxons, donnée dans le Tableau III, comprend des taxons redondants (c'est-à-dire ayant les mêmes caractères) et des taxons mal définis (c'est-à-dire

ayant de nombreux points d'interrogation dans leur matrice). Les tentatives d'analyse par PAUP de ces matrices complètes n'aboutissent pas par manque de mémoire vive (sur un MacIntosh avec 1 mégaoctets). Il est donc nécessaire de simplifier la matrice. La matrice simplifiée (Tableau IV) comprend 15 taxons, après élimination de 12 taxons redondants ou mal définis.

Tableau I : Liste des taxons de monogènes chez lesquels l'ultrastructure du spermatozoïde est connue, et origine des données. L'astérisque (*) indique des données sur la spermiogénèse.

Table I : List of the monogenean taxa in which spermatozoon ultrastructure is known, and origin of the data. Asterisk (*) indicates data on spermiogenesis.

Taxons Taxa	Origine des données / Origin of data
<i>Acanthocotyle lobianchi</i>	Malmberg & Afzelius, 1990; Tappenden & Kearn, 1990*; Justine <i>et al.</i> , 1993 *
<i>Amphibdella paronaperugiae</i>	Justine & Mattei, 1988 *; Justine, 1991b *
<i>Amphibdelloides vallei</i>	Justine & Mattei, 1983c*
<i>Amphibdelloides</i> sp. 1	Justine & Mattei, 1983c*
<i>Amphibdelloides</i> sp. 2	Justine & Mattei, 1983c*
<i>Anoplodiscus cirrusspiralis</i>	Watson & Rohde, 1992*
<i>Atriasiter (Atriasiter)</i> sp.	Justine, 1992*
<i>Atriasiter (Atrispinum) sargui</i>	Justine, 1985*; Justine, 1991b *
<i>Axine</i> sp.	Justine & Mattei, 1985b; Justine, 1991b *
<i>Caballerocotyla</i> sp.	Justine, 1985; Justine & Mattei, 1987*
<i>Calceostoma herculanea</i>	Justine & Mattei, 1986b*
<i>Calicotyle kroyeri</i>	Tappenden & Kearn, 1991a
<i>Cemocotyle</i> sp.	Justine & Mattei, 1985c; * Justine, 1991b *
<i>Choricotyle pagelli</i>	Ktari, 1971; Tuzet & Ktari, 1971b
<i>Cichlidogyrus halli</i>	El-Naggar, Khidr & Kearn, 1990
<i>Cleithrarticus beninensis</i>	Justine & Mattei, 1982b*; Justine, 1991b*
<i>Cleithrarticus</i> sp.	Justine & Mattei, 1982b*; Justine, 1991b*
<i>Diclidophora merlangi</i>	MacDonald & Caley, 1975; Halton & Hardcastle, 1976, 1977
<i>Diclidophora</i> sp.	Ktari, 1971; Tuzet & Ktari, 1971b
<i>Dionchus remorae</i>	Justine, Lambert & Mattei, 1985; Justine & Mattei, 1986a, 1987*
<i>Diplectanum banyulensis</i>	Justine, 1985, 1991b*
<i>Diplectanum aequans</i>	Oliver * <i>in</i> Justine, 1991b
<i>Diplectanum</i> sp.	Justine & Mattei, 1984b*; Justine & Mattei, 1982b
<i>Diplozoon gracile</i>	Justine, Le Brun & Mattei, 1985a, b
<i>Encotyllabe</i> sp.	Justine, 1991b; Justine, Mattei & Euzet, 1991
<i>Entobdella hippoglossi</i>	Tappenden & Kearn, 1991b
<i>Entobdella soleae</i>	Tappenden & Kearn, 1991b *
<i>Erpocotyle catenulata</i>	Ktari, 1971; Tuzet & Ktari, 1971b
<i>Euzetrema knoepffleri</i>	Fournier, 1980 *
<i>Furnestinia echeneis</i>	Justine, Lambert & Mattei, 1985; Justine, 1985 *; Justine, 1991b *
<i>Gastrocotyle</i> sp.	Schmahl & Obiekezie, 1991 *
<i>Gotocotyla acanthura</i>	Justine & Mattei, 1985a; * Justine, 1991b *
<i>Gotocotyla secunda</i>	Rohde, 1980
<i>Gyrodactylus eucaliae</i>	Kritsky, 1976*
<i>Heterocotyle</i> sp.	Justine & Mattei, 1983b
<i>Heteraxine</i> cf. <i>mexicana</i>	Justine & Mattei, 1985c; * Justine, 1991b *
<i>Heteraxinoides</i> sp.	Justine & Mattei, 1985c; * Justine, 1991b *
<i>Hexostoma</i> sp.	Justine & Mattei, 1984a
<i>Isancistrum</i> sp.	Malmberg & Lilliemark <i>in</i> Justine <i>et al.</i> , 1993

<i>Kuhnia</i> sp.	Justine & Mattei, 1985b
<i>Lamellodiscus elegans</i>	Justine, Lambert & Mattei, 1985; Justine, 1985 *; Justine, 1991b*
<i>Lamellodiscus ergensi</i>	Justine, Lambert & Mattei, 1985; Justine, 1985 *; Justine, 1991b*
<i>Lamellodiscus ignoratus</i>	Justine, Lambert & Mattei, 1985; Justine, 1985 *; Justine, 1991b*
<i>Loimosina wilsoni</i>	Justine & Mattei, 1985d*
<i>Macrogyroductylus polypteri</i>	Schmahl & Elwasila, 1992*
<i>Megalocotyle grandiloba</i>	Justine & Mattei, 1983a*; Justine, 1983*
<i>Megalocotyle hexacantha</i>	Justine, Lambert & Mattei, 1985; Justine & Mattei, 1987 *; Justine, 1991b
<i>Microcotyle chrysophrii</i>	Justine & Mattei, 1985b; Justine, 1985 *; Justine, 1991b *
<i>Microcotyle erythrini</i>	Ktari, 1971; Tuzet & Ktari, 1971b
<i>Microcotyle mormyri</i>	Ktari, 1971; Tuzet & Ktari, 1971a*, b
<i>Microcotyle sebastis</i>	Yousif & Crane, 1979
<i>Microcotyle</i> sp.	Justine & Mattei, 1985b; Justine, 1985 *; Justine, 1991b *
<i>Myxinidocotyle californica</i>	Malmberg & Afzelius, 1990; Justine <i>et al.</i> , 1993 *
<i>Plectanocotyle gurnardi</i>	Ktari, 1971; Tuzet & Ktari, 1971b
<i>Polystoma integerrimum</i>	Bekkouche, Fournier & Peyrière, 1974
<i>Polystomoides asiaticus</i>	Rohde, 1971, 1975
<i>Polystomoides bourgati</i>	Justine, 1985
<i>Polystomoides malayi</i>	Rohde, 1971, 1975
<i>Protomicrocotyle ivoriensis</i>	Schmahl & Obiekezie, 1991 *
<i>Pseudodactylogyrus anguillae</i>	Le Brun, Lambert & Justine, 1986 *; Justine, 1991b*; Mehlhorn, 1988
<i>Pseudodactylogyrus bini</i>	Schmahl & Elwasila, 1992*
<i>Pseudomazocraes</i> sp.	Justine & Mattei, 1985b
<i>Pterinotrema</i> sp.	Justine, 1985 *; Justine, 1991b *
<i>Pyragraphorus pyragraphorus</i>	Justine & Mattei, 1985b ;* Justine, 1991b *
<i>Tetraonchoides</i> sp.	Justine, Mattei & Euzet, 1991; present article *
<i>Tetraonchus monenteron</i>	Justine, 1985 *; Justine, 1991b*
<i>Trochopus pini</i>	Ktari, 1971; Tuzet & Ktari, 1971b
<i>Sphyranura</i> sp.	Oliver & Euzet * <i>in</i> Justine, 1991b

Tableau II : Liste des caractères analysés. Tous les caractères sont binaires non ordonnés, sauf le caractère 5 qui est non ordonné et multi-état. Les caractères 1-18 ont été décrits par Justine (1991b); les références pour les caractères 19-22 sont indiquées. Les caractères 3, 4, 5, 7, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 21 et 22 concernent la spermiogenèse; les autres concernent le spermatozoïde mûr.

Table II : List of characters analysed. All characters are binary unordered characters, except character 5, a multistate unordered character. Characters 1-18 were described by Justine (1991b); references for characters 19-22 are indicated. Characters 3, 4, 5, 7, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 21 and 22 concern spermiogenesis; the others concern the mature spermatozoon.

#	Caractère Character	États du caractère Character states
1	Microtubules latéraux dans la région principale du spermatozoïde (Fig. 1-4) Lateral microtubules in the spermatozoon's principal region	0: absents; 1: présents 0: absent; 1: present
2	Microtubules dorsoventraux (région principale du spermatozoïde) (Fig. 1-4) Dorsoventral microtubules in the spermatozoon's principal region	0: présents; 1: absents 0: present; 1: absent
3	Corps intercentriolaire Intercentriolar body	0: présent; 1: absent 0: present; 1: absent

4	Racines striées Striated roots	0: présentes; 1: absentes 0: present; 1: absent
5	Nombre d'axonèmes pendant la spermiogenèse Number of axonemes during spermiogenesis	0: 2 axonèmes; 1: 1 axonème + 1 ax. altéré 2: 1 ax. + 1 ax. qui disparaît 0: 2 axonemes; 1: 1 axoneme + 1 altered ax. 2: 1 ax. + 1 disappearing ax. 3: 1 axoneme from beginning
6	Région distale contenant seulement le noyau dans le spermatozoïde mûr (Fig. 13, 17) Distal region containing only the nucleus in mature spermatozoon	0: absente; 1: présente 0: absent; 1: present
7	Expansion cytoplasmique médiane et flagelles Cytoplasmic middle process and flagella	0: séparés, puis fusionnés 1: fusionnés depuis le début 0: separate, then fused 1: fused from the start
8	Ornementation extramembranaire (Fig. 11-12) External ornamentation of the cell membrane	0: présente; 1: absente 0: present; 1: absent
9	Nombre de centrioles dans le spermatozoïde (Fig. 20) Number of centrioles in the spermatozoon	0: 2 centrioles; 1: 1 centriole
10	Annexe centriolaire (Fig. 18-19) Centriole adjunct	0: absente; 1: présente 0: absent; 1: present
11	Structure de l'axonème dans le spermatozoïde mûr (Fig. 21) Axoneme structure in mature spermatozoon	0: circulaire; 1: non circulaire 0: circular; 1: non circular
12	Microtubules b de l'axonème pendant la spermiogenèse Axonemal b microtubules during spermiogenesis	0: complets; 1: incomplets 0: complete; 1: incomplete
13	Crête laterale sur le spermatozoïde mûr Lateral crest on mature spermatozoon	0: absente; 1: présente 0: absent; 1: present
14	Microtubules externes associés à la spermatide External microtubules associated with the spermatid	0: absents; 1: présents 0: absent; 1: present
15	Région antérieure du noyau Anterior region of the nucleus	0: non spiralée; 1: spiralée 0: not coiled; 1: coiled
16	Mitochondrie géante en forme de perle (Fig. 8-9) A bead-like giant mitochondrion	0: absente; 1: présente 0: absent; 1: present
17	Microtubules dans la zone de différenciation de la spermatide Microtubules in the spermatid's zone of differentiation	0: présents; 1: absents 0: present; 1: absent
18	Ontogénie des microtubules dans la zone de différenciation Ontogeny of microtubules in the zone of differentiation	0: persistant; 1: disparaissant 0: persisting; 1: disappearing
19	Centriole constitué de singulets divergents (autapomorphie de <i>Myxinidocotyle</i> ; voir Justine <i>et al.</i> , 1993) Centriole made up of diverging singlets (autapomorphy for <i>Myxinidocotyle</i> ; see Justine <i>et al.</i> , 1993)	0: absent; 1: présent 0: absent; 1: present
20	Moyeu central de l'axonème (autapomorphie de <i>Anoplodiscus</i> ; voir Watson & Rohde, 1992) Axoneme central core (autapomorphy for <i>Anoplodiscus</i> ; see Watson & Rohde, 1992)	0: 9+"1" normal; 1: creux 0: normal 9+"1"; 1: hollow
21	Éléments externes associés à la zone de différenciation (autapomorphie de <i>Calicotyle</i> ; voir Tappenden & Kearn, 1991a) External elements associated with the zone of differentiation (autapomorphy for <i>Calicotyle</i> ; see Tappenden & Kearn, 1991a)	0: absents; 1: présents 0: absent; 1: present
22	Un microtubule périphérique unique pendant la spermiogenèse (Fig. 10) (Capsalidae, Dionchidae et Acanthocotylidae; voir Justine <i>et al.</i> , 1993) One single peripheral microtubule during spermiogenesis (Capsalidae, Dionchidae and Acanthocotylidae; see Justine <i>et al.</i> , 1993)	0: absent; 1: présent 0: absent; 1: present

Tableau III : Matrice des données des 27 taxons étudiés.

Les taxons sont rangés en ordre alphabétique.

Table III : Data matrix of the 27 taxa studied.

Taxa are listed in alphabetical order.

	111111111222	
	1234567890123456789012	commentaires / comments
Acanthocotyle	01110011000000001?0001	
Amphibdella	01113011111000101?0000	Amphibdellatidae type
Amphibdelloides	01113011111000101?0000	= Amphibdella
Anoplodiscus	01113011100000001?0100	
Caballerocotyla	0111001100000000101000	1= Megalocotyle
Calceostoma	01113111101111001?0000	
Calicotyle	0111010000000000000010	
Cichlidogyrus	01??3?????0?00????0000	données absentes / lacking data
Cleithrarthicus	01113010100100001?0000	
Digenea	0000000000000000000000	outgroup
Dionchus	0111001100000001010001	= Megalocotyle
Diplectanum	01113111110000001?0000	Diplectanidae type
Encotyllabe	0111001100000001010001	= Megalocotyle
Euzetrema	01??00??0?0?000???0000	données absentes / lacking data
Furnestinia	01113111110000001?0000	= Diplectanum
Gyrodactylus	01??00??0?0?000???0000	données absentes / lacking data
Heterocotyle	0111210000000000000000	
Lamellodiscus	01??31???10?000???0000	données absentes / lacking data
Loimosina	0111110000000000000000	
Macrogyrodactylus	01110011000000001?0000	
Megalocotyle	0111001100000001010001	Capsalidae/Dionchidae type
Myxinidocotyle	01110011000000001?1001	
Polyopisthocotylea	1000000000000000000000	
Pseudodactylogyrus	01113010110100001?0000	
Tetraonchoides	01??30?11?0?0000??000?	données absentes / lacking data
Tetraonchus	01??3?????0?00????000?	données absentes / lacking data
Trochopus	01??00??0?0?000???000?	données absentes / lacking data

Tableau IV : Matrice des données après élimination de 12 taxons redondants ou mal définis

Table IV: Data matrix after deletion of 12 redundant or ill-defined taxa

	111111111222	
	1234567890123456789012	commentaires / comments
Acanthocotyle	01110011000000001?0001	
Amphibdella	01113011111000101?0000	Amphibdellatidae type
Anoplodiscus	01113011100000001?0100	
Calceostoma	01113111101111001?0000	
Calicotyle	0111010000000000000010	
Cleithrarthicus	01113010100100001?0000	
Digenea	0000000000000000000000	outgroup
Diplectanum	01113111110000001?0000	Diplectanidae type
Heterocotyle	0111210000000000000000	
Loimosina	0111110000000000000000	
Macrogyrodactylus	01110011000000001?0000	
Megalocotyle	0111001100000001010001	Capsalidae/Dionchidae type
Myxinidocotyle	01110011000000001?1001	
Polyopisthocotylea	1000000000000000000000	
Pseudodactylogyrus	01113010110100001?0000	

Les options suivantes de PAUP ont été utilisées (les mots placés entre crochets sont des commentaires, ignorés par le programme):

BEGIN ASSUMPTIONS;

OPTIONS DEFTYPE=unord PolyTcount=MINSTEPS ;

TYPESET * CURRENT = unord: 1-22;

WTSET * CURRENT = 1: 1-22;

END;

BEGIN PAUP;

OUTGROUP Digenea; [place le taxon Digenea comme outgroup]

DELETE Gyrodactylus Trochopus [redondants / Euzetrema]

Caballerocotyla Encotyllabe Dionchus [redondants / Megalocotyle]

Furnestinia [redondants / Diplectanum]

Lamellodiscus [proche de Diplectanum]Amphibdelloides [redondants / Amphibdella]

Cichlidogyrus [redondants / Tetraonchus]

Euzetrema Tetraonchus Tetraonchoides [données insuffisantes];

[12 taxons sont supprimés]

EXCLUDE 3 4 5 7 12 14 16 17 18 19 21 22; [cette ligne a été utilisée seulement dans une analyse pour comparer l'intérêt des caractères de la spermiogenèse aux caractères du spermatozoïde]

SET MAXTREES=200; [réserve la mémoire pour 200 arbres]

SET TORDER=RIGHT; [définit la forme de l'arbre]

SHOWMATRIX; [montre la matrice après la suppression des taxons]

BANDB; [effectue une analyse de parcimonie par branch-and-bound]

CONTREE [ALL]/[STRICT]; [calcule un arbre de consensus strict]

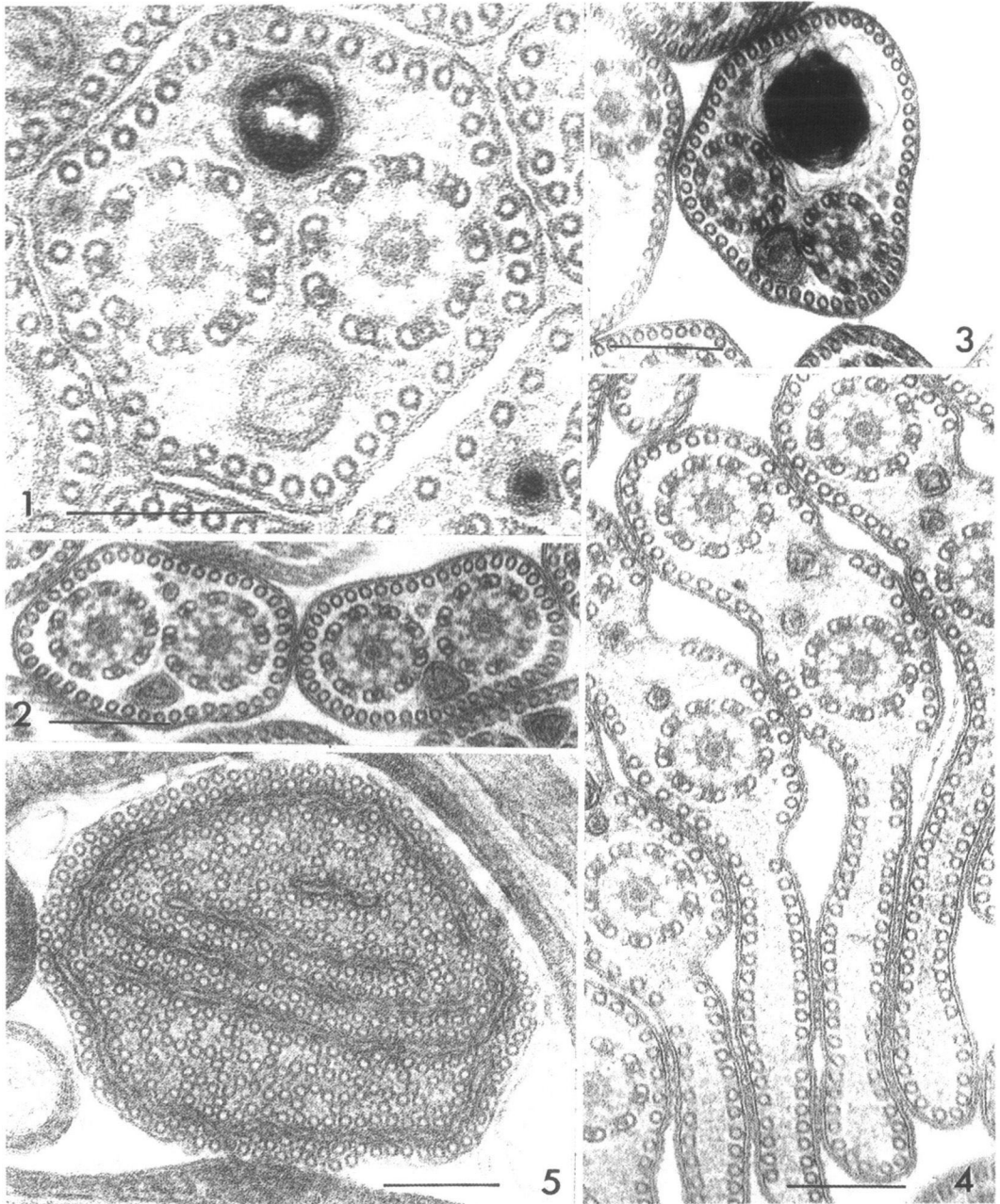
END;

RÉSULTATS

Les Polyopisthocotylea présentent une très grande homogénéité (Figures 1-4), avec des caractères limités à un seul taxon (autapomorphies) qui ne permettent pas, dans l'état actuel des données disponibles, une analyse de parcimonie. De telles autapomorphies (noyau polygonal, présence d'une pré-zone de différenciation) ont été récemment décrites chez *Atriasiter* (JUSTINE, 1992). D'autres, comme la membrane ondulante de *Gotocotyla* (Figures 2-4) ou la longueur différente des axonèmes de *Pseudomazocraes* sont potentiellement intéressantes mais n'ont pas jusqu'ici été retrouvées dans d'autres taxons, et donc doivent toujours être considérées comme des autapomorphies. Dans la matrice utilisée ici, les Polyopisthocotylea sont donc considérés comme un seul taxon. Le cas de *Diplozoon* n'est pas pris en compte; chez cet animal, le spermatozoïde est aberrant, aflagellé avec de nombreux microtubules (Figure 5) et cela est corrélé avec une biologie de la reproduction unique; les adultes sont en effet soudés par paires et les canaux génitaux communiquent.

L'analyse de parcimonie ne concerne, en tant qu'ingroup, que les Monopisthocotylea.

Une analyse de parcimonie par branch-and-bound des 15 taxons conservés dans la matrice produit 24 arbres de 30 pas de long chacun. Un arbre de consensus strict (Figure 22) a été calculé à partir de ces 24 arbres. Cet arbre de consensus présente une longueur de 32 pas, un indice de confiance (consistency index) de 0,750, et un indice de confiance après exclusion des caractères sans information ("uninformative") de 0,652. L'indice de confiance et le statut (avec ou sans information) des caractères dans cet arbre de consensus strict sont indiqués dans le Tableau V.



Figures 1-5 : Monogènes Polyopisthocotylea.

Figure 1: *Microcotyle* sp. Présence de deux axonèmes et de microtubules périphériques dorso-ventraux et latéraux.

Figures 2-4 : *Gotocotyla acanthura*. 2, région antérieure. 3, région postérieure. 4, région de la membrane ondulante.

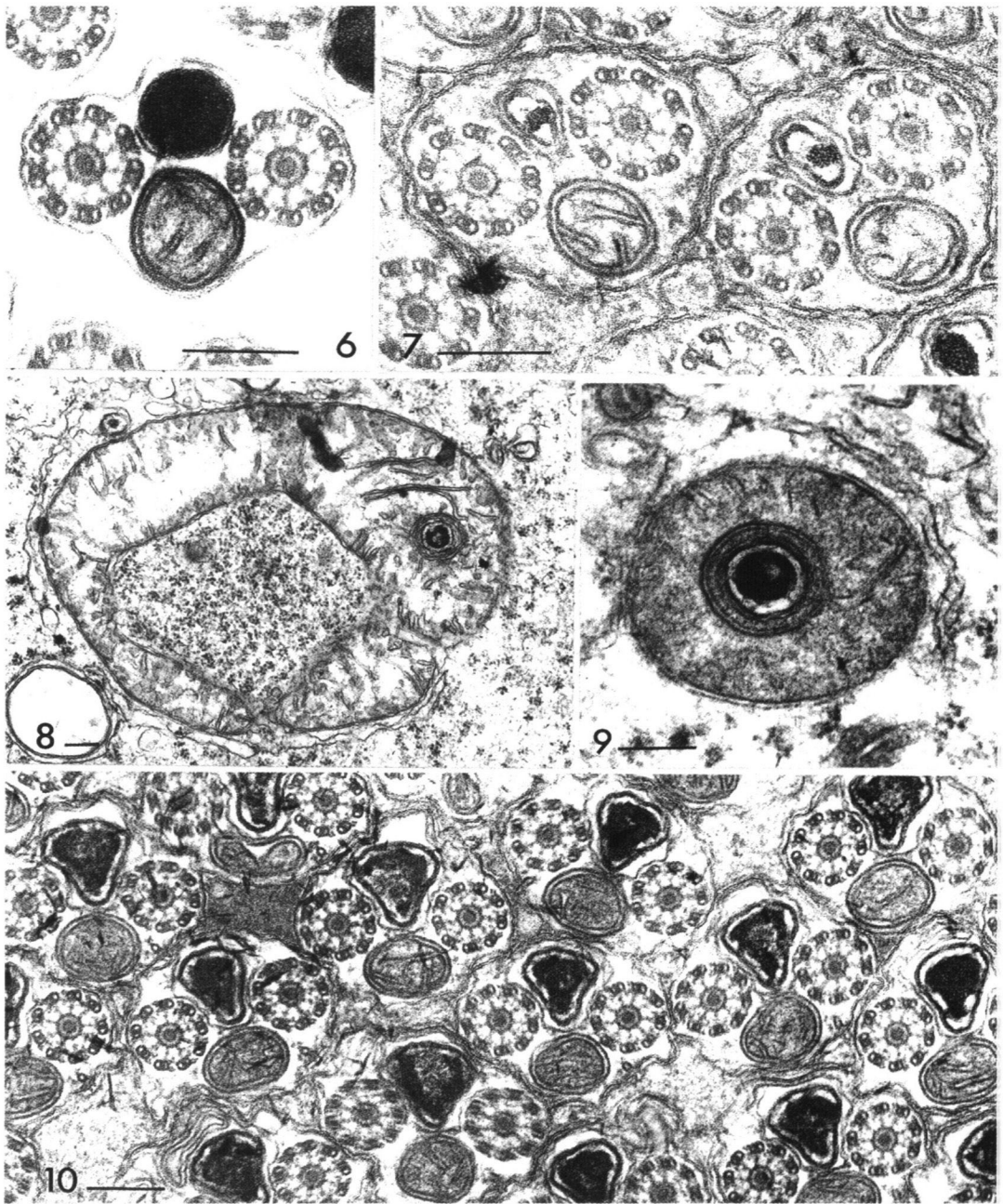
Figure 5 : *Diplozoon gracile*. Spermatozoïde aflagellé à nombreux microtubules. Barre 200 nm.

Figures 1-5 : Polyopisthocotylean monogeneans.

Figure 1: *Microcotyle* sp. Presence of two axonemes and dorsoventral and lateral peripheral microtubules.

Figures 2-4 : *Gotocotyla acanthura*. 2, anterior region. 3, posterior region. 4, undulating membrane region.

Figure 5 : *Diplozoon gracile*. Aflagellate spermatozoon with numerous microtubules. Bar 200 nm.



Figures 6-10. Monogènes Monopisthocotylea: Capsalidae et Dionchidae.

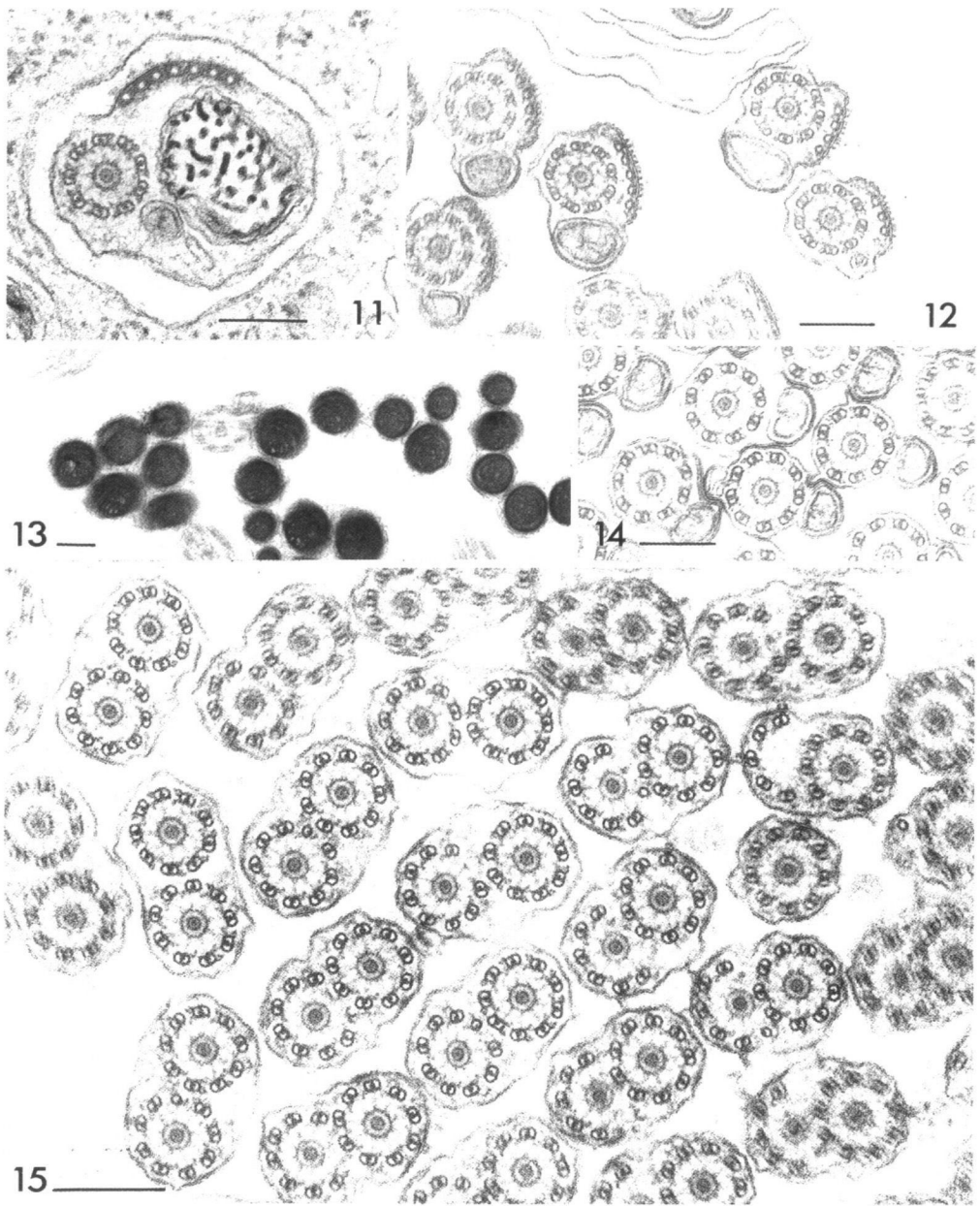
Figure 6. *Dionchus remorae*, spermatozoïde. Deux axonèmes, absence de microtubules périphériques.

Figures 7-10. *Encotyllabe* sp. 7, spermatides. 8-9, masse commune des spermatides, mitochondries en forme de perle. 10, spermatides âgées, présence d'un microtubule périphérique unique dans certaines sections. Barre 200 nm.

Figures 6-10. Monopisthocotylean Monogeneans: Capsalidae and Dionchidae.

Figure 6. *Dionchus remorae*, spermatozoon. Two axonemes, absence of peripheral microtubules.

Figures 7-10. *Encotyllabe* sp. 7, spermatids. 8-9, common cytoplasmic mass of the spermatids, bead-like mitochondrion. 10, late spermatids, presence of a single peripheral microtubule in some sections. Bar 200 nm.



Figures 11-15 : Monogènes Monopisthocotylea: Monocotylidae et Loimoidae.

Figure 11. *Heterocotyle* sp., zone de différenciation. Un seul axonème, microtubules périphériques avec ornements.

Figures 12-15 : *Loimosina wilsoni*. 12, zones de différenciation. 13, spermatozoïdes, extrémités distales avec noyaux seuls. 14, spermatozoïdes, un seul axonème, absence de microtubules périphériques. 15, spermatides, altération d'un des deux axonèmes.

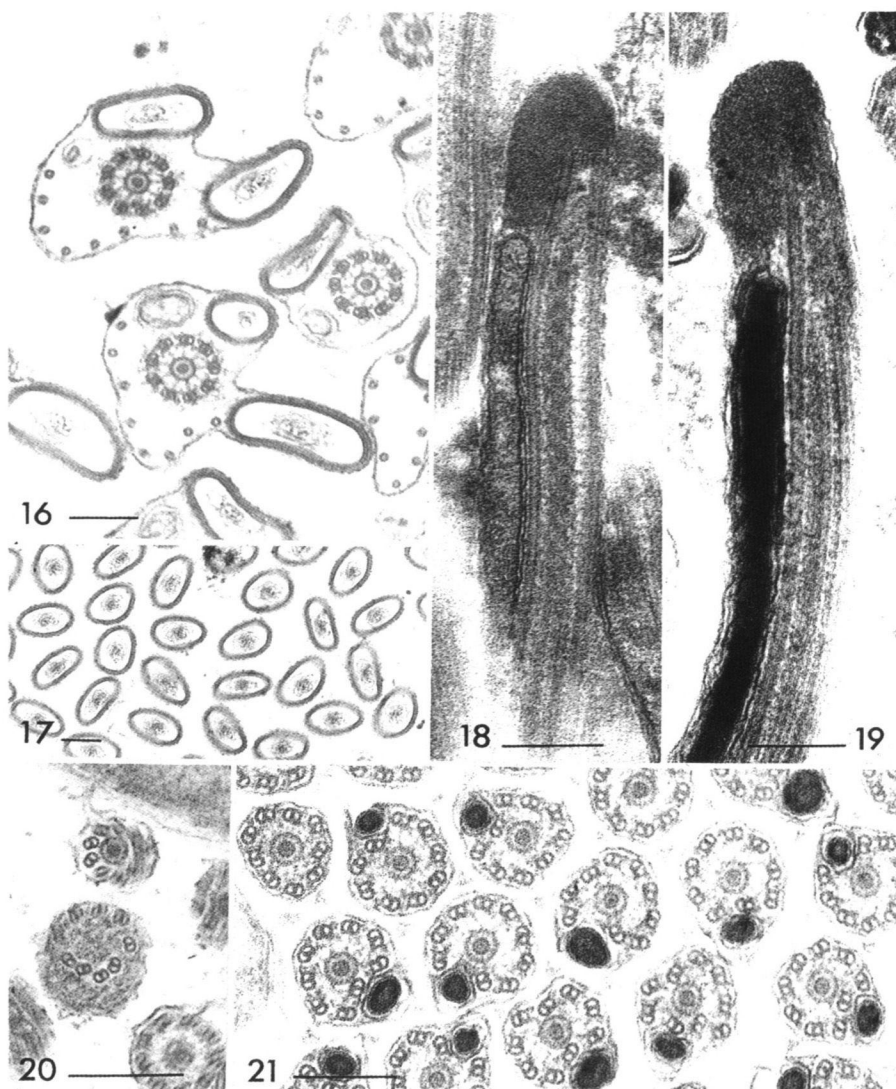
Barre 200 nm.

Figures 11-15 : Monopisthocotylean Monogeneans: Monocotylidae and Loimoidae.

Figure 11 : *Heterocotyle* sp., zone of differentiation. One single axoneme, peripheral microtubules with external membrane ornamentation.

Figures 12-15 : *Loimosina wilsoni*. 12, zone of differentiation. 13, spermatozoa, distal extremities with nucleus only. 14, spermatozoa, one single axoneme, absence of peripheral microtubules. 15, spermatids, alteration of one of the two axonemes.

Bar 200 nm.



Figures 16-21 : Monogènes Monopisthocotylea: Monoaxonematidea.

Figure 16-17 : *Diplectanum* sp. 16, spermatides âgées: un axonème, absence de microtubules périphériques; les microtubules présents sont des singulets issus de l'axonème. 17, spermatozoïdes, extrémités distales avec noyaux seuls.

Figures 18-21 : *Amphibdelloides* spp. 18, extrémité antérieure, annexe centriolaire et mitochondrie, coupe longitudinale. 19, extrémité antérieure, annexe centriolaire et noyau, coupe longitudinale. 20, spermatide, extrémité antérieure, centriole unique. 21, spermatozoïdes, axonème non circulaire, absence de microtubules périphériques.
Barre 200 nm.

Figures 16-21 : Monopisthocotylean Monogeneans: Monoaxonematidea.

Figure 16-17 : *Diplectanum* sp. 16, late spermatids: one axoneme, absence of peripheral microtubules; the microtubules present are singlets from the axoneme. 17, spermatozoa, distal extremities with nucleus only.

Figures 18-21 : *Amphibdelloides* spp. 18, anterior extremity, centriole adjunct and mitochondria, longitudinal section. 19, anterior extremity, centriole adjunct and nucleus, longitudinal section. 20, spermatids, anterior extremity, single centriole. 21, spermatozoa, non-circular axoneme, absence of peripheral microtubules.
Bar 200 nm.

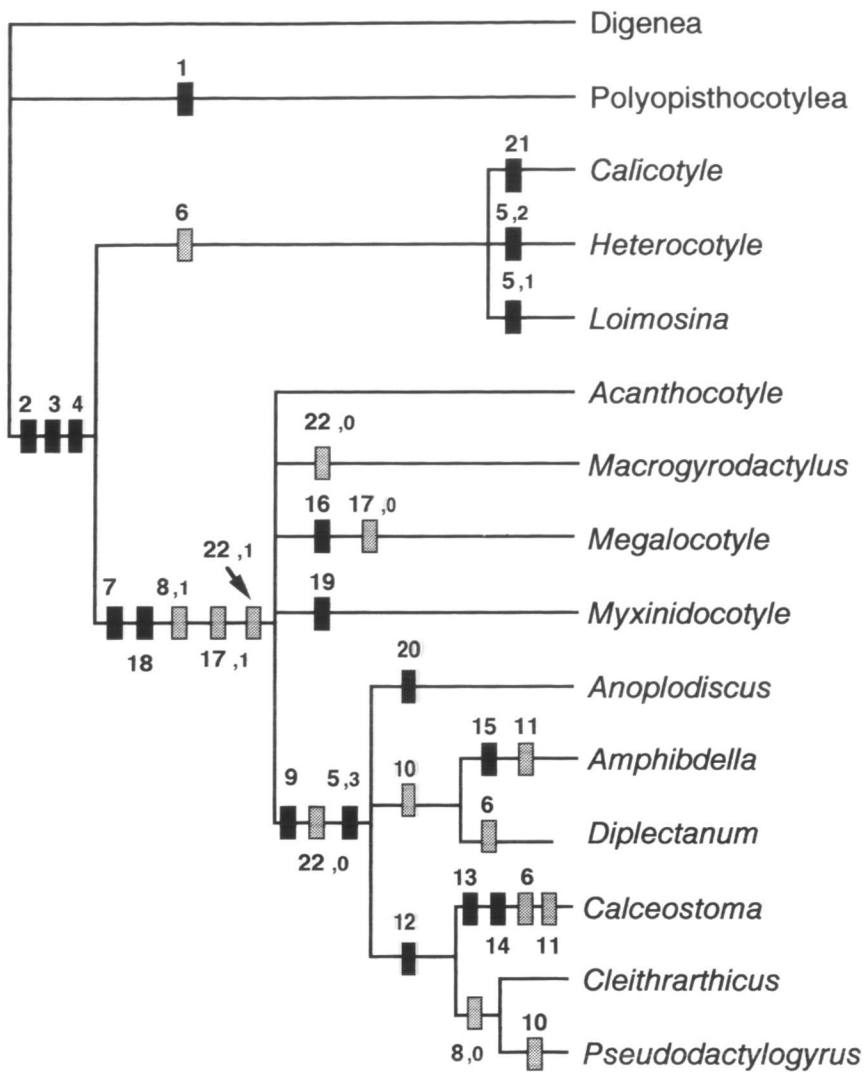


Figure 22 : Cladogramme des Monogènes, basé sur un arbre de consensus strict calculé à partir de 24 arbres (de longueur 30 pas) obtenus après une analyse de parcimonie par branch-and-bound de 22 caractères de la spermiogénèse et du spermatozoïde.

Rectangles noirs: état apomorphe d'un caractère ayant un indice de confiance de 1,0 (ni homoplasique, ni réversé).

Rectangles gris: changement d'état d'un caractère ayant un indice de confiance inférieur à 1,0. Dans le cas des caractères avec réversion, l'état du caractère est indiqué après la virgule.

Longueur de l'arbre 32 pas, indice de confiance 0,750, indice de confiance excluant les caractères sans information 0,652.

Figure 22 : Cladogram for the Monogenea, based on the strict consensus tree computed from 24 trees (length 30 steps) obtained after a branch-and-bound parsimony analysis of the 22 characters of spermiogenesis or spermatozoa.

Black rectangles: apomorphic state of a character with a consistency index of 1,0 (no homoplasy nor reversal).

Grey rectangles: changes in state of a character with a consistency index less than 1,0. In characters with reversal, the character state is indicated after a comma.

Tree length 32 steps; consistency index 0,750; consistency index excluding uninformative characters 0,652.

Tableau V : Indices de confiance (CI) des caractères dans l'arbre de consensus strict calculé à partir des 24 arbres les plus courts.

Table V : Consistency indices (CI) of the characters in the strict consensus tree computed from the 24 shortest trees.

Caractère/ Character	CI	Statut / Status
1	1,000	sans information / uninformative
2	1,000	
3	1,000	
4	1,000	
5	1,000	
6	0,333	
7	1,000	
8	0,500	
9	1,000	
10	0,500	
11	0,500	
12	1,000	
13	1,000	sans information / uninformative
14	1,000	sans information / uninformative
15	1,000	sans information / uninformative
16	1,000	sans information / uninformative
17	0,500	
18	1,000	sans information / uninformative
19	1,000	sans information / uninformative
20	1,000	sans information / uninformative
21	1,000	sans information / uninformative
22	0,333	

Les taxons caractérisés dans cet arbre de consensus sont:

Les Polyopisthocotylea, caractérisés par une apomorphie (caractère n° 1)

Les Monopisthocotylea, caractérisés par 3 synapomorphies (caractères 2, 3 et 4)

Il importe de noter que les Monogènes (Monopisthocotylea + Polyopisthocotylea) ne présentent pas de synapomorphie par rapport à l'outgroup, les Digenea.

A l'intérieur des Monopisthocotylea, les groupes suivants sont caractérisés :

Un groupe *Heterocotyle* + *Calicotyle* + *Loimosina*, qui correspond aux Monocotylidae + Loimoidae (Figures 11-15). Le groupe est faiblement défini par une synapomorphie (caractère 6) qui est homoplasique (indice de confiance 0,333).

Un groupe rassemblant les autres Monopisthocotylea. Ce groupe est caractérisé par l'apomorphie: caractère 7 (pas de séparation ECM-flagelles pendant la spermiogénèse). Les autres apomorphies caractérisant ce groupement présentent des homoplasies ou des réversions. L'apomorphie 8 (absence d'ornementation externe) présente une réversion chez *Cleithrarthicus* + *Pseudodactylogyrus*. Dans l'arbre de consensus, les caractères 17 et 18 apparaissent comme des apomorphies pour ce groupe mais cela provient du codage particulier de ces deux caractères. Le caractère 17 subit une réversion chez *Megalocotyle* (Figures 6-10) et se trouve à l'état 1 chez tous les autres taxons de ce groupe. Le caractère 18 apparaît comme une apomorphie de ce groupement alors qu'il est à l'état ? (non codable) pour tous les taxons sauf *Megalocotyle*. Le caractère 22 (microtubule unique) est considéré comme une apomorphie mais subit deux réversions: chez *Macrogryrodactylus* et dans le groupe des monogènes à spermatozoïde uniflagellé (Monoaxonematidea, voir plus loin).

A l'intérieur de ce groupe, une polytomie est visible et concerne *Acanthocotyle*, *Megalocotyle*, *Myxinidocotyle* et *Macrogryrodactylus*.

Un groupe est défini par des synapomorphies: caractère 9 (un seul centriole dans le spermatozoïde) et caractère 5 état 3 (un seul axonème dans le spermatozoïde); ces deux caractères ont un indice de confiance de 1,0. Le caractère 22 (microtubule unique absent) caractérise aussi ce groupement, mais ce caractère subit ici une réversion. Ce groupe correspond aux Monoaxonematidea Justine, 1991 ou Monogènes à spermatozoïde à un seul axonème (Figures 16-21).

A l'intérieur des Monoaxonematidea, un groupe composé de *Calceostoma* + *Cleithrarticus* + *Pseudodactylogyrus* est défini par une synapomorphie, caractère 12 (présence de microtubules b incomplets dans les doublets des axonèmes pendant la spermiogénèse). Les autres groupes sont définis par des synapomorphies d'indice de confiance inférieur à 1,0.

Une analyse de parcimonie a été tentée pour vérifier l'intérêt des caractères de la spermiogénèse par rapport aux caractères du spermatozoïde. Les caractères 3, 4, 5, 7, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 21 et 22 ont été exclus de l'analyse (par la commande EXCLUDE de PAUP, voir Matériel et Méthodes). Une analyse de parcimonie par branch-and-bound produit alors 181 arbres de 15 pas et un arbre de consensus strict a été calculé. Cet arbre de consensus strict ne montre pratiquement que des polytomies: seuls les Polyopisthocotylea, les Monopisthocotylea et le groupe Loimoidae/Monocotylidae sont caractérisés. Il est donc parfaitement clair que les caractères de la spermiogénèse sont indispensables à la compréhension des relations phylétiques des Monogènes, et que les caractères du spermatozoïde ne suffisent pas.

DISCUSSION

Une analyse de parcimonie des 18 premiers caractères considérés ici avait permis (JUSTINE, 1991b) de proposer un cladogramme des Monogènes, concernant surtout les relations à l'intérieur des Monopisthocotylea.

La présente analyse prend en compte des taxons supplémentaires (*Calicotyle*, *Macrogyrodactylus*, *Anoplodiscus*) et 4 caractères nouveaux, dont 3 sont des autapomorphies d'un seul taxon, et sont donc considérés comme caractères sans information par PAUP. Toutefois, ces autapomorphies sont utilisées dans cette analyse pour permettre une comparaison éventuelle avec les autres taxons qui seront décrits ultérieurement. Les taxons *Trochopus*, *Gyrodactylus*, *Euzetrema*, *Tetraonchus*, *Tetraonchoides* et *Cichlidogyrus*, dont les caractéristiques sont mal connues (nombreux ? dans la ligne de matrice, du fait de l'insuffisance de nos connaissances sur la spermiogénèse) et les taxons *Furnestinia*, *Lamellodiscus*, *Amphibdelloides*, *Caballerocotyla*, *Encotyllabe* et *Dionchus* (redondants ou très proches d'autres taxons) n'ont pas été considérés dans cette analyse.

Une comparaison du nouveau cladogramme obtenu avec le cladogramme obtenu précédemment (JUSTINE, 1991b) met en évidence les faits suivants:

Les deux taxons Polyopisthocotylea et Monopisthocotylea peuvent chacun être définis sur la base de synapomorphies du spermatozoïde et de la spermiogénèse. Mais aucune synapomorphie pour les Monogènes n'a pu être définie. Ce résultat est à rapprocher de celui obtenu par BAVERSTOCK *et al.* (1991) à partir d'une analyse de l'ARN ribosomal 16s des Plathelminthes, qui n'avait pas permis de définir une synapomorphie des Monogènes. Ces résultats posent la question de la monophylie des Monogènes. JUSTINE (1991a) a posé la question du choix d'un outgroup pour les études cladistiques concernant le spermatozoïde chez les Plathelminthes parasites. Une réponse semble apportée à cette question par les récents résultats de WATSON & ROHDE (1993) sur la spermiogénèse de *Kronborgia isopodicola* (Fecampiidae) qui présenterait une spermiogénèse à fusion proximo-distale. Les résultats récents de JONDELIUS (1992) indiquent que les Pterastericolidae pourraient aussi avoir une structure spermatique proche de celle des Plathelminthes parasites. Dans ces deux groupes, les microtubules font tout le tour du corps spermatique (WILLIAMS, 1988; JONDELIUS, 1992) et il y donc présence de microtubules latéraux, présents chez les Monogènes Polyopisthocotylea mais pas chez les Digenea.

Si on accepte l'hypothèse que les Fecampiidae et Pterastericolidae constituent l'outgroup des Plathelminthes parasites, la synapomorphie des Polyopisthocotylea (présence de microtubules périphériques latéraux) devient une symplesiomorphie et l'absence de microtubules latéraux devient une synapomorphie des Digenea. Cette réévaluation des caractères nécessite de savoir avec certitude si le spermatozoïde des Fecampiidae et Pterastericolidae est composé, comme celui des Digenea (JUSTINE, 1991a), d'une région antérieure prenant son origine dans la zone de différenciation et d'une région postérieure prenant son origine dans la fusion proximo-distale des flagelles. Il importe de savoir si la région comportant une rangée continue de microtubules dans le spermatozoïde des Fecampiidae et Pterastericolidae est bien homologue de la région postérieure du spermatozoïde des Digenea, et non pas homologue de la région antérieure, qui montre une rangée continue de microtubules aussi bien chez les Polyopisthocotylea que chez les Digenea (JUSTINE, 1991a).

A l'intérieur des Monopisthocotylea, la topologie du cladogramme est modifiée puisque le groupe Loimoidae/Monocotylidae est considéré comme groupe frère de l'ensemble des autres Monopisthocotylea. Toutefois ce groupe est très faiblement défini par une synapomorphie homoplasique, l'existence d'une région sans noyau dans l'extrémité distale du spermatozoïde; ce groupe Loimoidae/Monocotylidae est en fait individualisé par l'absence des synapomorphies qui caractérisent les autres Monopisthocotylea. Dans une analyse précédente (JUSTINE, 1991b) ce groupe était défini par la présence d'un axonème altéré ou disparu. Ce caractère n'est pas retrouvé ici puisque TAPPENDEN & KEARN (1991a) ont décrit le spermatozoïde de *Calicotyle* comme biflagellé; une ré investigation du spermatozoïde serait peut-être nécessaire.

Acanthocotyle et *Myxinidocotyle*, tous les deux des Acanthocotylidae, n'apparaissent pas réunis. Il n'existe actuellement pas de synapomorphie du spermatozoïde pour cette famille.

Megalocotyle est caractérisé par l'apomorphie 16 (mitochondrie en perle), la réversion de l'apomorphie 17, et l'état 1 du caractère 18 (tous les autres taxons sont à l'état ?). Ces trois caractéristiques sont retrouvées chez les autres Capsalidae (*Caballerocotyla*, *Encotyllabe*) et chez le Dionchidae *Dionchus*. Ces taxons n'ont pas été inclus dans la présente analyse simplement pour des raisons pratiques (voir matériel et méthodes), parce qu'ils étaient redondants. Le monophylum Capsalidae + Dionchidae (voir JUSTINE & MATTEI, 1987) est donc bien confirmé, bien que la présente analyse de parcimonie ne fasse pas ressortir nettement les apomorphies.

Le groupe des Monoaxonematidea est toujours défini par deux apomorphies. Ce groupe contient maintenant un nouveau membre, *Anoplodiscus* (famille Anoplodiscidae). *Tetraonchoides* (famille Tetraonchooididae), bien que non inclus dans l'analyse présentée ici puisque sa spermiogénèse est insuffisamment connue, présente aussi les synapomorphies de ce groupe.

Anoplodiscus est caractérisé par une autapomorphie, la présence d'un moyeu central de l'axonème creux. WATSON & ROHDE (1992) ont affirmé que la spermiogénèse de *Anoplodiscus* ne montrait pas de fusion proximo-distale et donc était totalement différente de celle de tous les autres Cercomeridea. L'examen des micrographies proposées par WATSON & ROHDE (1992) ne montre pas de différence évidente avec les spermiogénèses rencontrées chez d'autres Monopisthocotylea et la spermiogénèse de *Anoplodiscus* est donc interprétée ici comme non exceptionnelle par rapport aux autres Monopisthocotylea.

Le groupe *Amphibdella* + *Diplectanum* est faiblement soutenu par une apomorphie (caractère 10, annexe centriolaire) présentant une homoplasie; ce groupe ne peut donc pas être considéré comme un monophylum. *Amphibdelloides* devrait être ajouté, puisque ses caractéristiques sont identiques à celles de *Amphibdella*. De ce fait, le noyau torsadé à l'avant peut être considéré comme une synapomorphie des Amphibdellatidae. *Furnestinia*, qui est semblable à *Diplectanum*, et *Lamellodiscus*, très proche, devraient être rajoutés.

Le groupe *Calceostoma* + *Cleithrarticus* + *Pseudodactylogyrus* est soutenu par une synapomorphie, la présence de microtubules b incomplets pendant la spermiogénèse.

La présente analyse de parcimonie donne donc des résultats proches de ceux obtenus par une analyse précédente (JUSTINE, 1991b), bien qu'elle porte sur un nombre supérieur de taxons et de caractères. Les quatre types de spermatozoïdes définis par JUSTINE, LAMBERT & MATTEI (1985) sont retrouvés: type 1 chez les Polyopisthocotylea, type 2 chez les Capsalidae/ Dionchidae et quelques autres familles, avec les modifications récemment discutées par JUSTINE, MATTEI & EUZET (1991) et JUSTINE *et al.* (1993), type 3 chez les Loimoidae/ Monocotylidae, et type 4 chez les Monoaxonematidea. Les caractères concernant la spermiogenèse sont indispensables à la définition d'un nombre suffisant d'apomorphies et les caractères du spermatozoïde seuls ne suffiraient pas. Des résultats sont toujours attendus sur la spermiogenèse de familles d'affinité discutées, comme par exemple les Microbothriidae. Enfin, la recherche sur les spermatozoïdes des Plathelminthes parasites doit s'appuyer sur une définition rigoureuse d'un outgroup afin de pouvoir polariser les caractères. Les études sur les "Turbellariés" sont plus que jamais indispensables.

REMERCIEMENTS

N. WATSON et K. ROHDE ont communiqué un manuscrit sous presse. Les observations ont été pratiquées au Centre de Microscopie électronique de l'Université de Dakar, au Service de Microscopie électronique du CNRS à Paris, et au Microscope électronique du Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie du Muséum National d'Histoire Naturelle.

BIBLIOGRAPHIE

- BAVERSTOCK P.R., FIELKE R., JOHNSON A.M., BRAY R.A., BEVERIDGE I., 1991. Conflicting phylogenetic hypotheses for the parasitic platyhelminths tested by partial sequencing of 18S ribosomal RNA. *Int. J. Parasitol.*, 21, 32-339.
- BEKKOUCHE Z., FOURNIER A., PEYRIERE M., 1974. Différences ultrastructurales entre Monogènes Monopisthocotylea et Polyopisthocotylea, parasites d'Amphibiens *In* Proceedings of 3rd International Congress on Parasitology, Munich, Aug. 25-31, Section B4, 416-417, Facta, Vienna.
- BROOKS D.R., 1989. A summary of the database pertaining to the phylogeny of the major groups of parasitic platyhelminths, with a revised classification. *Can. J. Zool.*, 67, 714-720.
- EHLERS U., 1985. Das Phylogenetische System der Plathelminthes. G. Fischer, Stuttgart.
- EL-NAGGAR M.M., KHIDR A.A., KEARN G.C., 1990. Ultrastructural observations on the oviduct, Mehlis' glands and ootype of the monogenean *Cichlidogyrus halli typicus* (Price & Kirk, 1967) Paperna, 1979. *Int. J. Parasitol.*, 20, 203-209
- FOURNIER A., 1980. Les Monogènes d'Amphibiens. Approche ultrastructurale des modifications adaptatives au cours du cycle et des relations phylétiques. Thèse d'État, Université de Perpignan, France.
- HALTON D.W., HARDCASTLE A., 1976. Spermatogenesis in a monogenean, *Diclidophora merlangi*. *Int. J. Parasitol.*, 6, 43-53.
- HALTON D.W., HARDCASTLE A., 1977. Ultrastructure of the male accessory ducts and prostate gland of *Diclidophora merlangi* (Monogenoidea). *Int. J. Parasitol.*, 7, 393-401.
- HENDELBERG J., 1970. On the number and ultrastructure of the flagella of flatworm spermatozoa. *In*: Baccetti B., Spermatologia comparata, *Quad. Accad. Naz. Lincei*, 367-374.
- JONDELIUS U., 1992. Sperm morphology in the Pterastericolidae (Platyhelminths, Rhabdozoela): phylogenetic implications. *Zool. Scr.*, 21, 223-230.
- JUSTINE J.-L., 1983. A new look at Monogenea and Digenea spermatozoa. *In* ANDRÉ J., The Sperm Cell, 454-457. Martinus Nijhoff, The Hague.

JUSTINE J.-L., 1985. Étude ultrastructurale comparée de la spermiogenèse des Digènes et des Monogènes (Platyhelminthes). Relations entre la morphologie du spermatozoïde, la biologie de la fécondation et la phylogénie. Thèse d'État, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier II, France.

JUSTINE J.-L., 1991a. Phylogeny of parasitic Platyhelminthes: a critical study of synapomorphies proposed from the ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoa. *Can. J. Zool.*, 69, 1421-1440.

JUSTINE J.-L., 1991b. Cladistic study in the Monogenea (Platyhelminthes), based upon a parsimony analysis of spermiogenetic and spermatozoal ultrastructural characters. *Int. J. Parasitol.*, 21, 821-838.

JUSTINE J.-L. 1991c. Spermatozoa as a tool for taxonomy of species and supraspecific taxa in the Platyhelminthes. In BACCETTI B., Comparative Spermatology 20 Years After, 1981-1984, Raven Press, New York.

JUSTINE J.-L., 1992. Ultrastructure of spermiogenesis, spermatozoa and the tegument in *Atriaspiter* sp. (Platyhelminthes, Monogenea, Polyopisthocotylea, Microcotylidae). *Zool. Scr.*, 21, 231-238.

JUSTINE J.-L., 1993. Ultrastructure of the Monogenea: lists of investigated species and organs. In: Proceedings of the 11nd International Symposium on Monogeneans, Montpellier, 1993. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 328, 156-188.

JUSTINE J.-L., AFZELIUS B.A., MALMBERG G., MATTEI X., 1993. Ultrastructure of spermiogenesis in *Acanthocotyle* and *Myxinidocotyle* (Platyhelminthes, Monogenea, Acanthocotylidae). *Acta Zool. (Stockholm)*, 74, 119-126.

JUSTINE J.-L., LAMBERT, A., MATTEI, X., 1985. Spermatozoon ultrastructure and phylogenetic relationships in the monogeneans (Platyhelminthes). *Int. J. Parasitol.*, 15, 601-608.

JUSTINE J.-L., LE BRUN N., AND MATTEI X., 1985A. First report of aflagellate spermatozoon in a parasitic platyhelminthe, found in the monogenean *Diplozoon gracile* (Polyopisthocotylea, Diplozoidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 60, 761-762.

JUSTINE J.-L., LE BRUN N., AND MATTEI X., 1985b. The aflagellate spermatozoon of *Diplozoon* (Platyhelminthes: Monogenea: Polyopisthocotylea). A demonstrative case of relationship between sperm ultrastructure and biology of reproduction. *J. Ultrastruct. Res.*, 92, 47-54.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1982a. Réinvestigation de l'ultrastructure du spermatozoïde d'*Haematoloechus* (Trematoda: Haematoloechidae). *J. Ultrastruct. Res.*, 81, 322-332.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1982b. Présence de spermatozoïdes à un seul axonème dans trois familles de Monogènes Monopisthocotylea: Ancyrocephalidae, Diplectanidae et Monocotylidae. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 57, 419-420.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1983a. Étude ultrastructurale comparée de la spermiogenèse des Monogènes. 1. *Megalocotyle* (Monopisthocotylea Capsalidae). *J. Ultrastruct. Res.*, 82, 296-308.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1983b. Comparative ultrastructural study of spermiogenesis in monogeneans (flatworms). 2. *Heterocotyle* (Monopisthocotylea, Monocotylidae). *J. Ultrastruct. Res.*, 84, 213-223.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1983c. Comparative ultrastructural study of spermiogenesis in monogeneans (flatworms). 3. Two species of *Amphibdelloides* (Monopisthocotylea, Amphibdellatidae). *J. Ultrastruct. Res.*, 84, 224-237.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1984a. Ultrastructure du spermatozoïde du Monogène *Hexostoma* (Polyopisthocotylea, Hexostomatidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 59, 227-229.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1984b. Comparative ultrastructural study of spermiogenesis in monogeneans (flatworms). 4. *Diplectanum* (Monopisthocotylea Diplectanidae). *J. Ultrastruct. Res.*, 88, 77-91.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1985a. A spermatozoon with undulating membrane in a parasitic flatworm, *Gotocotyla* (Monogenea, Polyopisthocotylea, Gotocotylidae). *J. Ultrastruct. Res.*, 90, 163-171.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1985b. Particularités ultrastructurales des spermatozoïdes de quelques Monogènes Polyopisthocotylea. *Ann. Sci. Nat., Zool.*, (13ème Sér.), 7, 143-152.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1985c. Ultrastructure du spermatozoïde de trois Monogènes Polyopisthocotylea: *Cemocotyle*, *Heteraxine* et *Heteraxinoides*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 60, 569-663.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1985d. Ultrastructure de la spermiogenèse et du spermatozoïde de *Loimosina wilsoni* et affinités phylétiques des Loimoidae (Plathelminthes, Monogenea, Monopisthocotylea). *Zool. Scr.*, 14, 169-175.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1986a. Ultrastructural observations on fertilization in *Dionchus remorae* (Platyhelminthes, Monogenea, Dionchidae). *Acta Zool. (Stockholm)*, 67, 97-101.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1986b. Comparative ultrastructural study of spermiogenesis in monogeneans (flatworms). 5. *Calceostoma* (Monopisthocotylea Calceostomatidae). *J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res.*, 96, 54-63.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1987. Phylogenetic relationships between the families Capsalidae and Dionchidae (Platyhelminthes, Monogenea, Monopisthocotylea) indicated by the comparative ultrastructural study of spermiogenesis. *Zool. Scr.*, 16, 111-116.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., 1988. Bending of 9+1 axonemes of flatworm spermatozoa in hypotonic media: an experimental study. *J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res.*, 100, 31-38.

JUSTINE J.-L., MATTEI X., EUZET L., 1991. Ultrastructure of spermatozoa in two monopisthocotylean monogeneans: *Encotyllabe* sp. (Capsalidae) and *Tetraonchoides* sp. (Tetraonchoididae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 66, 173-178.

KRITSKY D.C., 1976. [Observations on the ultrastructure of spermatozoa and spermiogenesis in the monogenean *Gyrodactylus eucaliae* Ikezaki et Hoffman, 1957]. *Tr. Dal'nev. Nauch. Tsentralbiol. Pochv. Inst., Vladivostok*, 34 (N.S), 70-74 (in Russian).

KTARI M.-H., 1971. Recherches sur la reproduction et le développement de quelques Monogènes (Polyopisthocotylea) parasites de poissons marins. Thèse d'État, University of Montpellier, Montpellier, France.

LAMBERT A., 1980. Oncomiracidiums et phylogénèse des Monogenea (Plathelminthes). Deuxième partie: structures argyrophiles des oncomiracidiums et phylogénèse des Monogenea. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 55, 281-325.

LEBEDEV B.I., 1988. Monogenea in the light of new evidence and their position among platyhelminths. *Ang. Parasitol.*, 29, 149-167.

LE BRUN N., LAMBERT A., JUSTINE J.-L., 1986. Oncomiracidium, morphogénèse du haptor et ultrastructure du spermatozoïde de *Pseudodactylogyrus anguillae* (Yin et Sproston, 1948) Gussev, 1965 (Monogenea, Monopisthocotylea, Pseudodactylogyridae n. fam.). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 61, 273-284.

MACDONALD S., CALEY J., 1975. Sexual reproduction in the monogenean *Diclidophora merlangi*: tissue penetration by sperms. *Z. Parasitenk.*, 45, 323-334.

MALMBERG G., 1990. On the ontogeny of the haptor and the evolution of the Monogenea. *Syst. Parasitol.*, 17, 1-65.

MALMBERG G., AFZELIUS B.A., 1990. Sperm ultrastructure in *Myxinidocotyle* and *Acanthocotyle* (Platyhelminthes, Monogenea, Acanthocotylidae). *Zool. Scr.*, 19, 129-132.

MATTEI X., 1992. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. *Can. J. Zool.*, 69, 3038-3055.

MEHLHORN H., 1988. Reproduction, Platyhelminthes. In MEHLHORN H., Parasitology in Focus, 330-344. Springer-Verlag, Berlin.

ROHDE K., 1971. Phylogenetic origin of trematodes. *Parasitol. Schrift.*, 21, 17-27.

ROHDE K., 1975. Fine structure of the Monogenea, especially *Polystomoides* Ward. *Adv. Parasitol.*, 13, 1-33.

ROHDE K., 1980. Some aspects of the ultrastructure of *Gotocotyla secunda* and *Hexostoma euthynni*. *Ang. Parasitol.*, 21, 32-48.

ROHDE K., 1990. Phylogeny of Platyhelminthes, with special reference to parasitic groups. *Int. J. Parasitol.*, 20, 979-1007.

SCHMAHL G., ELWASILA M., 1992. Fine structure of spermatogenesis in monopisthocotylean monogeneans (*Macrogyrodactylus polypteri*; *Pseudodactylogyrus bin*). *Folia Parasitol. (Praha)*, 39, 19-31.

SCHMAHL G., OBIEKEZIE A., 1991 Fine structure of spermatogenesis in polyopisthocotylid monogeneans (*Protomicrocotyle ivoriensis*, *Gastrocotyle* sp.). *Parasitol. Res.*, 77, 115-122.

STORCH V., JAMIESON B.G.M., 1992. Further spermatological evidence for including the Pentastomida (tongue worms) in the Crustacea. *Int. J. Parasitol.*, 22, 95-108.

SWOFFORD D.L., 1991. PAUP : Phylogenetic analysis using parsimony, Version 3.0s for the Apple Macintosh. Computer program distributed by the Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois.

TAPPENDEN T., KEARN G.C., 1990. Spermiogenesis and sperm ultrastructure in the monogenean parasite *Acanthocotyle lobianchi*. *Int. J. Parasitol.*, 20, 747-753.

TAPPENDEN T., KEARN G.C., 1991a. Spermiogenesis and sperm ultrastructure in the monocotylid monogenean parasite *Calicotyle kroyeri*. *Int. J. Parasitol.*, 21, 57-63.

TAPPENDEN T., KEARN G.C., 1991b. Crystalline bodies associated with spermatozoa in the vas deferens of the monogeneans *Entobdella soleae* and *E. hipoglossi*. *Parasitol. Res.*, 77, 421-424.

TUZET O., KTARI M.-H., 1971a. La spermiogénèse et la structure du spermatozoïde de *Microcotyle mormyri* Lorenz, 1878 (Monogenea). *C. Rend. Acad. Sc. (Paris) Sér. D. Sci. Nat.*, 272, 2702-2705.

TUZET O., KTARI M.-H., 1971b. Recherches sur l'ultrastructure du spermatozoïde de quelques Monogènes. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 96, 535-540.

TYLER S., SMITH J.P.S. III, RIEGER R.M., EHLERS U., GREMIGNI V., 1986. Electron microscopy of turbellarian platyhelminths: a bibliography. *Hydrobiologia*, 132, 323-343.

WATROUS L.E., WHEELER Q.D., 1981. The out-group comparison method of character analysis. *Syst. Zool.*, 30, 1-11.

WATSON N.A., ROHDE K., 1992. Ultrastructure of sperm and spermatogenesis of *Anoplodiscus cirrusspiralis* (Platyhelminthes, Monogenea, Monopisthocotylea). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 67, 131-140.

WATSON N.A., ROHDE K., 1993. Ultrastructural evidence for an adelphotaxon (sister group) to the Neodermata (Platyhelminthes). *Int. J. Parasitol.*, 23, 285-289.

WILLIAMS J. B., 1988. Ultrastructural studies on *Kronborgia* (Platyhelminthes, Neophora): the spermatozoon. *Int. J. Parasitol.*, 18, 477-483.

YOUSIF M.S., CRANE J.W., 1979. Ultrastructure and spermiogenesis in *Microcotyle sebastis* (Goto) 1894 (Monogenea). In BYLUND, G. (Editor): Proceedings of IX Symposium of the Scandinavian Society for Parasitology, Åbo, Finland, 11-13 June 1979. Abstracts. *Information, Inst. Parasitol., Åbo Akad.*, 15, 5-6.