

# Hybridation naturelle entre deux espèces sympatriques de souris *Mus musculus domesticus* L. et *Mus spretus* Lataste

Annie Orth<sup>a</sup>, Khalid Belkhir<sup>a</sup>, Janice Britton-Davidian<sup>b</sup>, Pierre Boursot<sup>a</sup>, Touria Benazzou<sup>c</sup>, François Bonhomme<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire génome populations interactions, UMR 5000 CNRS-université Montpellier-II, 34095 Montpellier cedex 5, France

<sup>b</sup> Institut des sciences de l'évolution, UMR 5554 CNRS-université Montpellier-II, 34095 Montpellier cedex 5, France

<sup>c</sup> Département de biologie, université Mohamed-V, BP 1014, Rabat, Maroc

Reçu le 18 juillet 2001 ; accepté le 15 octobre 2001

Présenté par Yvon Le Maho

---

**Abstract – Natural Hybridisation between two sympatric species of mice *Mus musculus domesticus* L. and *Mus spretus* Lataste.** Using protein loci and DNA markers, we show by a multilocus genetic analysis that certain populations of the two sympatric mouse species *Mus musculus domesticus* and *Mus spretus* show clear signs of partial introgression. Given the sterility of F1 males and the known partial genetic incompatibilities between the genomes of the two species, our finding does not invalidate the biological species complex, but allows to think that very limited genetic exchanges remain possible even long after the divergence of taxa. This may have some consequences on the dynamics of certain kinds of invasive or advantageous DNAs like transposable elements or pathogen resistance genes. **To cite this article:** A. Orth et al., C. R. Biologies 325 (2002) 89–97. © 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

allozymes / microsatellites / mt DNA / *Mus* / multilocus analysis / sympatric hybridisation

**Résumé –** Par une analyse génétique multilocus ayant fait appel aussi bien à des marqueurs protéiques qu'à des microsatellites ou de l'ADN mitochondrial, nous montrons que certaines populations de deux espèces sympatriques de souris *Mus musculus domesticus* et *Mus spretus* présentent de manière répétée des signes d'introgression partielle. Étant donné la stérilité des mâles hybrides et les incompatibilités génétiques partielles connues pour exister entre les génomes de ces deux espèces, ceci ne remet pas en cause le dogme du concept biologique de l'espèce, mais permet d'envisager que des échanges génétiques même très limités restent néanmoins possibles longtemps après la divergence des taxons. Ceci pourrait avoir des conséquences sur la dynamique de certains éléments invasifs ou avantageux comme les éléments transposables ou les gènes de résistance aux pathogènes. **Pour citer cet article :** A. Orth et al., C. R. Biologies 325 (2002) 89–97. © 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

*Mus* / hybridation sympatrique / ADN mitochondrial / allozymes / microsatellites

---

\*Corresponding author.

Adresse e-mail : bonhomme@crit.univ-montp2.fr (F. Bonhomme).

## . Abridged version

The biological species concept has been an extremely productive working tool, even if its applicability is in practice limited to the demonstration of the existence of valid sympatric species. In essence, sympatric overlap has often been taken as the ultimate stage of speciation, when two entities have acquired sufficient ecological and genetical differentiation to ensure complete reproductive isolation. Molecular markers have allowed demonstrating that this is the case in many situations, such as that of the two mouse taxa *Mus musculus domesticus* and *Mus spretus* in Europe. By a multilocus analysis, we show however that some populations of these species present repeated signs of introgression, some individuals showing one and some-

times two or three loci heterozygous for the allospecific allele among the dozen diagnostic loci tested. This implies repeated back-crossing despite a reported F1 male sterility and partial genomic incompatibilities between the two species. This introgressive phenomenon seems to be absent from the northernmost part of the species range, whereas it is not infrequent in North Africa (Tables 1 and 2), where there is possibly a higher niche overlap. Even if these results do not infirm the dogma of the biological species concept, they suggest that genetic permeability may persist to a certain extent long after speciation. This may have important evolutionary consequences on the dynamics of invasive genes such as advantageous alleles or transposable elements. In mice, this may help understand why some L1 copies of *spretus* origin are found in *M. musculus*.

## 1. Introduction

Le concept biologique de l'espèce (CBE), largement employé en biosystématique depuis sa formulation explicite par Mayr [1] stipule que les taxons du rang d'espèce sont génétiquement isolés entre eux. La vérification de cet isolement reproductif s'est révélée être souvent problématique quand les ensembles pour lesquels la question se posait étaient séparés géographiquement (parapatric). En revanche, la coexistence desdits taxons en situation de sympatrie a souvent été considérée comme une preuve même de l'efficacité de cet isolement génétique. La généralisation de l'emploi des marqueurs macromoléculaires en systématique à partir des années soixante a d'ailleurs largement confirmé ce fait, et de nombreuses études basées sur l'analyse des polymorphismes enzymatiques ont démontré l'absence d'hétérozygotes (c'est-à-dire, de génotypes hybrides) pour les locus dits diagnostiques entre deux espèces en situation de sympatrie. Ce concept a d'ailleurs montré toute sa puissance dans les cas de forte ressemblance morphologique associés aux espèces dites « jumelles » ou cryptiques, et l'existence de nombre d'entre elles a été démontrée par ce critère (voir par ex. [2–9] et beaucoup d'autres).

Chez les rongeurs, le premier cas d'espèces dont l'existence a été formellement démontrée par l'emploi de critères moléculaires se trouve dans le genre *Mus* où deux formes de souris longtemps considérées comme des races écologiques ou tout au plus des sous-espèces, *Mus spretus* et *Mus musculus domesticus*, ont été élevées au rang d'espèces en 1976 sur la base d'une absence d'hétérozygotes au locus *Ldh2* [10,11]. Ce même type de critères électrophorétiques a également permis d'établir de manière définitive l'identité spéci-

fique particulière de deux autres espèces jumelles paléarctiques, *M. spicilegus* et *M. macedonicus* [12] jusque-là souvent confondues avec des écotypes de *M. musculus*. Tout récemment, une nouvelle espèce jumelle de souris asiatique vient également d'être identifiée notamment par des critères moléculaires [13].

Tout semble donc simple dans les situations de sympatrie : coexistence de bonnes espèces = absence d'hétérozygotes aux locus diagnostiques, et donc absence de flux génique. Néanmoins, même chez les animaux où le phénomène semble beaucoup plus rare que chez les plantes, un certain nombre de cas ont été rapportés où des introgressions partielles ont pu être observées entre espèces sympatriques par ailleurs reconnues comme valides : par exemple chez l'escargot terrestre *Mandarina* [14], des papillons [15], des fourmis [16], des poissons [17], chez les oiseaux [18,19], ou encore entre le loup et le coyote [20]. Ceci pose alors le problème de la validité même du CBE, qui s'accommode mal de la notion d'entités génétiques « partiellement isolées ». Dans la présente étude, nous rapportons un cas d'échanges génétiques restreints que nous avons pu mettre en évidence entre les deux espèces sympatriques *M. musculus domesticus* et *M. spretus*, en essayant de discuter les causes possibles de nos observations ainsi que leurs conséquences à long terme.

## 2. Matériels et méthodes

La Fig. 1 montre l'aire de répartition de *M. spretus*, qui est partout sympatrique avec *M. m. domesticus*. Dans la présente étude, nous utilisons les résultats obtenus par électrophorèse enzymatique sur 130

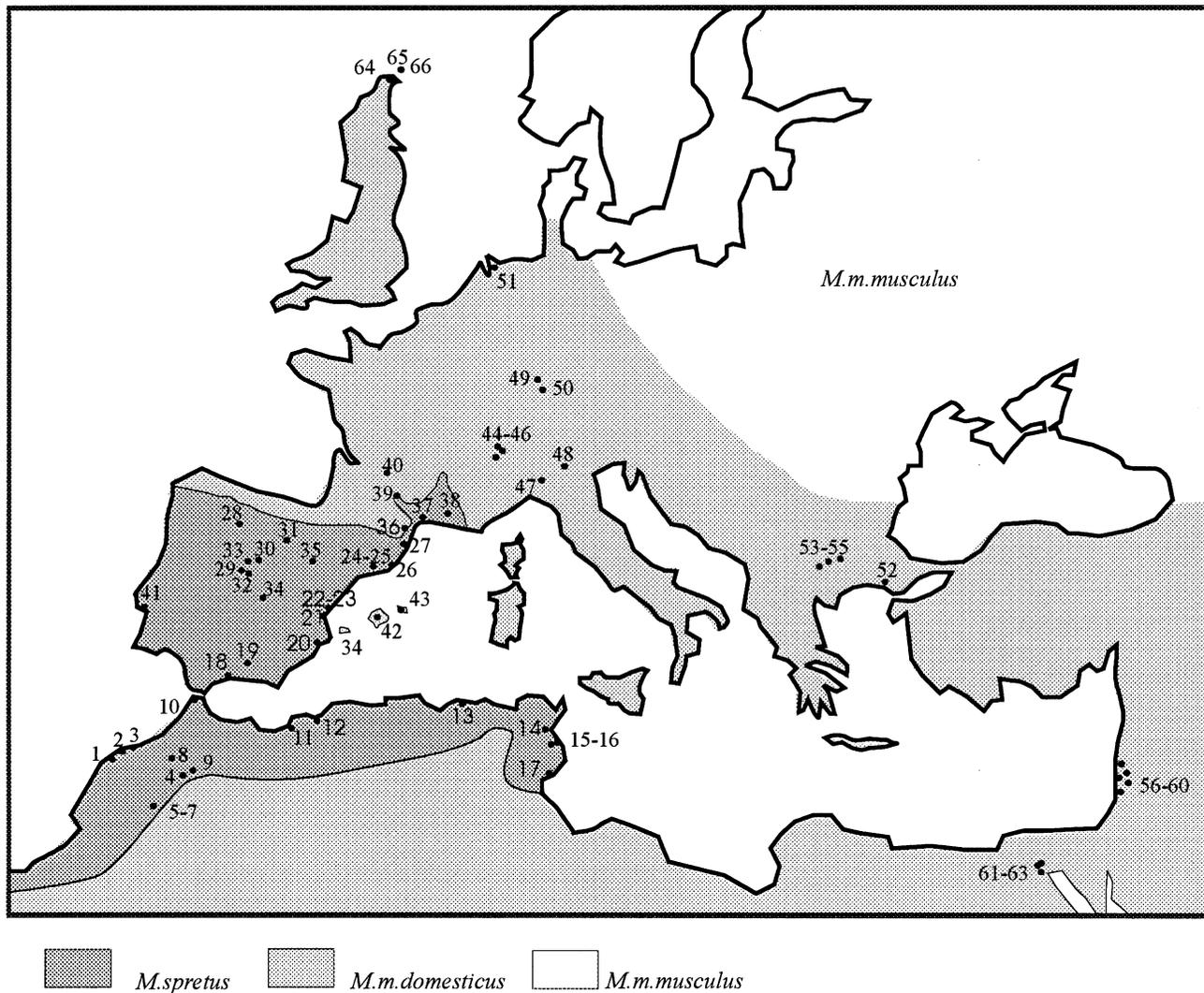


Fig. 1. Aire de répartition de *Mus spretus* incluse dans celle de *M. m. domesticus* et points d'échantillonnage.

échantillons traités dans notre laboratoire au cours des vingt-cinq dernières années, et analysons quinze nouvelles populations échantillonnées plus récemment (voir [Tableau 1](#)). Certains de ces échantillons ont été analysés pour leur polymorphisme enzymatique, d'autres pour leur variabilité au niveau de l'ADN codant pour certains gènes nucléaires ou cytoplasmiques, d'autres enfin pour les deux types de marqueurs.

### 2.1. Électrophorèse des protéines

Les techniques standards sur gel d'amidon telles que décrites dans Pasteur et al. [21] ont été employées pour 23 locus polymorphes dans l'une, l'autre ou les deux espèces à la fois (*Aat1*, *Aat2*, *Adh1*, *Alb1*, *Amy1*, *Car2*, *Es1*, *Es2*, *Es10*, *Es15*, *Glo1*, *Gdc1*, *Gpd1*, *Gpi1*, *Idh1*, *Idh2*, *Ldh1*, *Mod 1*, *Mor1*, *Mpi1*, *Np1*, *Pgm1*, *Pgm2*). Un 24 locus, *Ldh2*, n'a pas été utilisé pour les raisons exposées plus bas, bien que ce locus ait servi initiale-

ment à diagnostiquer les deux espèces en France. Certains de ces locus, à priori diagnostiques des deux espèces sur l'ensemble de l'aire de répartition (cf. discussion), sont montrés dans le [Tableau 2](#).

### 2.2. Polymorphisme de restriction de l'ADN mitochondrial

D'après la séquence complète de l'ADN mitochondrial publiée par Bibb et al. [22], nous avons défini des amorces spécifiques qui amplifient dans les deux espèces un fragment de 911pb compris entre les sites 3281 et 4192 et qui possède un site de restriction *Bam*H1 en position 3565 chez *domesticus*, et un fragment de 851 pb entre les sites 13695 et 14546 montrant chez *spretus* un autre site *Bam*H1 en position 14238. Ces fragments sont visualisés sur gel d'agarose après digestion par *Bam*H1.

Tableau 1. Origine géographique des échantillons analysés (comme numérotés sur la Fig. 1), effectifs analysés pour chaque type de locus et références des données [ ]. \* = Espagne N-E, \*\* = Espagne Centre, [A] = cette étude

<i>Mus musculus domesticus</i>						<i>Mus spretus</i>					
N° sur la carte	Pays	Localités	ADNmt	ADN nucléaire	Allozymes	N° sur la carte	Pays	Localités	ADNmt	ADN nucléaire	Allozymes
1	Maroc	Azemmour	26 [A]	26 [A]	26 [A]	1	Maroc	Azemmour	50 [A]	50 [A]	50 [A]
3	Maroc	Rabat			1 [A]	2	Maroc	Sidi Rahal			4 [A]
5	Maroc	Ouarzazate	3 [A]	3 [A]		4	Maroc	Beni Mellal	3 [28]		3 [36]
6	Maroc	Tanannt	21 [A]	21 [A]		5	Maroc	Ouarzazate	1 [A]	1 [A]	
7	Maroc	Agdz			5 [A]	8	Maroc	Meknès	2 [A]	2 [A]	
11	Algérie	Bou Zadjar			12 [36]	9	Maroc	Saïs	9 [28]		11 [A]
12	Algérie	Oran			8 [36]	10	Maroc	Tanger	6 [A]	6 [A]	6 [A]
16	Tunisie	M'Sakin	3 [A]	3 [A]		13	Algérie	Annaba			5 [36]
17	Tunisie	Sfax			11 [45]	14	Tunisie	Fondouk Djedid	1 [A]	1 [A]	
26	Espagne	Barcelone			10 [45]	14	Tunisie	Fondouk Djedid	8 [28]		43 [36]
26	Espagne	Barcelone			14 [45]	14	Tunisie	Grombalia	10 [28]		10 [36]
28	Espagne	León	7 [A]	7 [A]		15	Tunisie	Kairouan	6 [A]	6 [A]	
29	Espagne	Colmenar			12 [36]	18	Espagne	Malaga	3 [28]		6 [36]
36	France	Pratx			20 [45]	19	Espagne	Grenade			10 [36]
37	France	Montpellier	1 [A]	1 [A]		20	Espagne	Alicante			23 [36]
37	France	Montpellier1			7 [45]	21	Espagne	Valence			5 [35]
37	France	Montpellier2			6 [45]	22	Espagne	* Sagunto	7 [28]		25 [36]
39	France	Toulouse			10 [36]	23	Espagne	* Almenara	6 [28]		9 [36]
40	France	Dordogne			24 [45]	24	Espagne	* Borjas Blancas	1 [28]		12 [36]
42	Espagne	Majorque			13 [45]	25	Espagne	* Fraga	4 [28]		4 [36]
44	France	Isère1			14 [45]	27	Espagne	Calonge			13 [36]
44	France	Isère2			6 [45]	28	Espagne	León	4 [A]	4 [A]	
44	France	Isère3			9 [45]	29	Espagne	Colmenar			7 [36]
45	France	Le Bourget			24 [45]	30	Espagne	** Aranjuez	1 [28]		10 [36]
46	France	Savoie			9 [45]	30	Espagne	Taracena			21 [36]
47	Italie	Binasco			27 [45]	31	Espagne	** Arganda	1 [28]		3 [36]
47	Italie	Ovada			16 [45]	32	Espagne*	** Campo Real	5 [28]		13 [36]
48	Italie	Bergamo			30 [28]	32	Espagne	El Goloso			5 [45]
49	Allemagne	Tubingen1			21 [45]	32	Espagne	** Malejan	2 [28]		37 [36]
49	Allemagne	Tubingen2			13 [45]	33	Espagne	** Tortola	5 [28]		8 [36]
49	Allemagne	Tubingen3			13 [45]	33	Espagne	** Zafra	1 [28]		6 [36]
50	Allemagne	Ravensburg			43 [45]	34	Espagne	Ibiza	1 [28]		
51	Pays Bas	Amsterdam			10 [45]	35	Espagne	** Paniza	1 [28]		
52	Grèce	Orestias			9 [45]	37	France	Hérault			75 [35]
53	Grèce	Doirani			15 [45]	37	France	La Gardiole	2 [28]		4 [36]
54	Grèce	Marasia			15 [45]	37	France	Montpellier	18 [A]	18 [A]	
55	Grèce	Prosotsani			27 [45]	37	France	St Christol			9 [35]
56	Israël	Bet Nir			14 [45]	37	France	St Montan	1 [28]		17 [36]
57	Israël	El Rom			9 [45]	38	France	Aix en Provence	3 [28]		5 [A]
58	Israël	Geshum			6 [45]	41	Portugal	Setubal	2 [28]		
59	Israël	Sede-Yacov			6 [45]	43	Espagne	Minorque			7 [35]
60	Israël	Yaara			24 [45]						
61	Egypte	El Fayoum			13 [45]						
62	Egypte	Gizeh			18 [45]						
63	Egypte	Le Caire			24 [45]						
64	Grande Bretagne	Ecosse			27 [45]						
65	Grande Bretagne	Orcadel			18 [45]						

### 2.3. Analyse du pseudogène $\Phi 53$

Le polymorphisme de présence / absence du pseudogène  $\Phi$ -P53 a été analysé conformément au protocole décrit par Prager et al. [23].

### 2.4. Polymorphisme de longueur de locus microsatellites

Les locus D13mit302, D3mit22, D8mit7 (Murine Map Pairs, Research Genetics, Inc, Huntsville, AL, USA) et MMNGFG2 [24] présentent des distributions

de taille disjointes chez *domesticus* et *spretus* suffisamment importantes pour être visualisées sur gel d'agarose à 4% après amplification par PCR.

### 2.5. Analyse factorielle des correspondances

Les données de fréquences alléliques pour 32 échantillons de *M. spretus* et 43 de *M. m. domesticus* à 21 locus (*Mpi1* et *Gpd1* ont été exclus de l'analyse car les données n'étaient pas disponibles pour de nombreuses populations), ont été soumises à une analyse factorielle des correspondances pondérée par la taille des échan-

Tableau 2. Composition génétique d'échantillons de *M. spretus* et *M. musculus domesticus* pour quelques locus ADN et protéiques diagnostiques entre les deux espèces. Les individus d'une même population montrant le même génotype sont regroupés en une seule ligne

N	Pays	Localité	ADNmt	MMNGFG2: 100<dom<200 240<sp<400	D13Mit302: 110<dom<126 130<sp<210	D3Mit22 : 218<dom<260 180<sp<210	D8Mit7 170<dom<260 260<sp<400	φP53 A=sp P=dom	Adh1		Alb1		Es1		Gpd1		Mpi		Np1		Pgm1	
									spr	dom	spr	dom	spr	dom	spr	dom	spr	dom	spr	dom	spr	dom
<i>M. m. domesticus</i>																						
5	Espagne	León	dom	dom	dom	dom	dom	P														
2	Espagne	León	sp	dom	dom	dom	dom	P														
1	France	Montpellier	dom	dom	dom	dom	dom	P														
5	Maroc	Agdz							0	1	-	-	0	1	0	1	0	1	0	1	-	-
22	Maroc	Azemmour	dom	dom	dom	dom	dom	P	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
1	Maroc	Azemmour	dom	dom	dom	dom	dom	P	<b>0.5</b>	0.5	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
1	Maroc	Azemmour	dom	dom	dom	dom	dom	P	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	<b>0.5</b>	0.5
3	Maroc	Ouarzazate	dom	dom	dom	dom	dom	P														
20	Maroc	Tanannt	dom	dom	dom	dom	dom	P														
1	Maroc	Tanannt	sp	dom	dom	dom	dom	P														
3	Tunisie	M'sakin	dom	dom	dom	dom	dom	P														
<i>M. spretus</i>																						
5	Algérie	Annaba							1	0	0,3	<b>0,7</b>	1	0	1	0	-	-	1	0	1	0
1	Espagne	Almenara	dom						1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
15	Espagne	Espagne NE	sp						1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0,97	<b>0,03</b>
16	Espagne	Espagne Centre	sp						1	0	1	0	1	0	0,94	<b>0,06</b>	-	-	1	0	1	0
13	Espagne	Calonge							0,92	<b>0,08</b>	1	0	1	0	1	0	-	-	1	0	1	0
23	Espagne	Alicante							1	0	1	0	1	0	1	0	-	-	1	0	0,97	<b>0,03</b>
5	Espagne	El Goloso							1	0	1	0	1	0	-	-	1	0	0,90	<b>0,10</b>	1,00	0
3	Espagne	León	sp	sp	sp	sp	sp	A														
1	Espagne	León	dom	<b>120/280</b>	sp	sp	sp	A														
6	Espagne	Malaga							1	0	1	0	1	0	0,92	<b>0,08</b>	-	-	1	0	1	0
18	France	Montpellier	sp	sp	sp	sp	sp	A														
27	Maroc	Azemmour	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
1	Maroc	Azemmour	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	0,5	<b>0,5</b>	0	1	0,5	<b>0,5</b>	1	0
2	Maroc	Azemmour	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	0,5	<b>0,5</b>	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
9	Maroc	Azemmour	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	0,5	<b>0,5</b>	1	0	1	0	1	0
3	Maroc	Azemmour	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1
1	Maroc	Azemmour	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	0,5	<b>0,5</b>	0,5	<b>0,5</b>	1	0	1	0
2	Maroc	Azemmour	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0,5	<b>0,5</b>	1	0
1	Maroc	Azemmour	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0,5	<b>0,5</b>
2	Maroc	Azemmour	dom	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
1	Maroc	Azemmour	sp	<b>130/310</b>	sp	sp	sp	P	1	0	1	0	1	0	1	0	0,5	0,5	1	0	1	0
1	Maroc	Azemmour	dom	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
2	Maroc	Meknès	sp	sp	sp	sp	sp	A														
1	Maroc	Ouarzazate	sp	sp	sp	sp	sp	A														
11	Maroc	Saïf	sp						1	0	0,90	<b>0,10</b>	1	0	1	0	-	-	1	0	1	0
1	Maroc	Sidi Rahal							0,5	<b>0,5</b>	-	-	0,5	<b>0,5</b>	0,5	<b>0,5</b>	0,5	<b>0,5</b>	0,5	<b>0,5</b>	-	-
1	Maroc	Sidi Rahal							1	0	-	-	1	0	0	1	1	0	1	0	-	-
2	Maroc	Sidi Rahal							1	0	-	-	1	0	1	0	1	0	1	0	-	-
6	Maroc	Tanger	sp	sp	sp	sp	sp	A	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
2	Portugal	Setubal	sp																			
1	Tunisie	Fondouk Djedid	sp	sp	sp	sp	sp	A														
43	Tunisie	Fondouk Djedid	sp						0,99	<b>0,01</b>	0,10	<b>0,90</b>	1	0	1	0	-	-	1	0	0,97	0,03
6	Tunisie	Kairouan	sp	sp	sp	200/240	sp	A														
8	Tunisie	Grombalia	sp						1	0	1	0	1	0	1	0	-	-	1	0	1	0

tillons [25] à l'aide de la version 4.02 du logiciel Genetix (Belkhir et coll. 1996-2001). Les coordonnées des échantillons sur l'axe de différenciation maximale (axe factoriel 1, séparant ici *domesticus* de *spretus*), ont été utilisées comme mesure de l'introggression éventuelle de certains échantillons

### 3. Résultats

Certains des échantillons analysés présentent différents individus pour lesquels un ou plusieurs des allèles qu'ils portent proviennent de l'autre espèce (Tableau 2). Pour les échantillons marocains analysés pour l'ensemble des locus ADN et protéiques, il apparaît donc clairement que plusieurs individus montrent des signes d'introggression à certains locus nucléaires et mitochondriaux (en caractères gras dans le Tableau 2), alors que de tels signes sont totalement absents d'autres échantillons. Des traces d'introggressions mitochondriales réciproques sont également détectées dans certains échantillons espagnols. On note des phénomènes analogues à certains locus allozymiques en Tunisie et en Algérie. Hormis l'un des quatre individus de l'échantillon de Sidi Rahal qui est clairement hétérozygote à cinq locus sans toutefois pouvoir être considéré comme un hybride de première génération (il était homozygote « *spretus* » pour un autre locus, *Hao*, non montré ici), les allèles introgressants sont répartis de manière assez sporadique à travers les individus et les locus. Notons le cas particulier du locus *Amy1* qui possède sans ambiguïté des allèles diagnostiques entre les deux espèces [26], et pour lequel aucun individu hétérozygote n'a jamais été observé dans les échantillons où il a été analysé (non montré). Il faut mentionner aussi le cas de *Ldh2* (non montré), qui est diagnostique en France et où aucun hétérozygote n'a jamais été trouvé dans la nature (*spretus* *Ldh2*<sup>1</sup>, *domesticus* *Ldh2*<sup>2</sup>, [27]). Par contre, ce locus est fixé en Afrique du Nord pour l'allèle *Ldh2*<sup>2</sup>, où il ne peut donc servir à détecter une éventuelle introggression.

Le Tableau 3 classe les 75 échantillons analysés pour les allozymes en fonction de leur position sur l'axe 1 de l'AFC. Cet axe explique à lui seul 49,4% de l'inertie totale, et sépare clairement les populations des deux espèces, alors qu'aucun des axes suivants ne porte plus de 6,5% (non présenté). Sidi Rahal apparaît logiquement comme l'échantillon de *spretus* le plus proche de *domesticus*. Les populations européennes de *M. spretus* montrent un éloignement par rapport à *M. m. domesticus* globalement plus fort que les populations d'Afrique du Nord, ce qui peut être interprété comme un impact plus fort des échanges génétiques entre ces deux espèces au sud de l'aire de répartition de *M. spretus*.

Aucun phénomène comparable n'apparaît cependant pour les échantillons *domesticus* qui sont plus densément regroupés sur cet axe 1 (écart type deux fois plus faible que chez *spretus*).

### 4. Discussion

En dehors des indications claires d'hybridation interspécifique fournies par l'analyse protéique de l'échantillon de Sidi Rahal, ainsi que par les marqueurs ADN analysés à Azemmour notamment, la généralisation de l'interprétation des polymorphismes observés dans les autres échantillons demande au préalable que l'on soit sûr de l'origine hétérospécifique des allèles réputés introgressants. A priori, deux facteurs pourraient être la cause de confusion : l'homoplasie, certains allèles de *spretus* seraient par exemple analogues à des allèles *domesticus* alors qu'ils proviendraient par mutation d'un allèle *spretus*, ou bien l'existence de polymorphismes ancestraux communs aux deux espèces. Hormis le cas très apparent de *Ldh2* mentionné plus haut, pour lequel il semble clair que l'allèle présent en Afrique du Nord dans les deux espèces est l'allèle ancestral existant dans toutes les espèces proches du genre *Mus* [26] et raison pour laquelle nous l'avons exclu de l'analyse, nous pouvons écarter cette dernière hypothèse. En effet, il faudrait sinon accepter que les mêmes allèles ancestraux se soient maintenus à basse fréquence dans l'une et l'autre espèce dans certaines populations et pas dans d'autres (voir par exemple le cas d'*Alb1* dans les populations d'Afrique du Nord dans le Tableau 1). En outre, pour le cas de l'ADN mitochondrial au moins, la coalescence séparée des lignées dans l'une et l'autre espèce est complète [28] ce qui exclut ce phénomène. Pour ce qui est de l'homoplasie, cela semble a priori aussi exclu pour l'ADN mitochondrial, car nos fragments ont été analysés pour la présence simultanée de plusieurs sites de restriction. C'est également très peu vraisemblable pour les locus microsatellites considérés, étant donné les distributions disjointes des tailles des allèles. Enfin, pour les locus enzymatiques, des mutations convergentes peuvent bien entendu affecter la charge d'une protéine de manière similaire dans deux espèces, mais il serait surprenant que ce phénomène se soit produit indépendamment sur plusieurs locus, et dans certaines populations et pas dans d'autres, même si on ne peut exclure que certains allèles de mobilité identique trouvés ici ou là ne soient pas d'origine homoplasique. Nous avons donc bien la signature d'une introggression partielle entre les deux espèces, ayant affecté plus fortement *M. spretus* que *M. m. domesticus* dans les échantillons que nous avons analysés. Ces résultats sont concordants avec des indications indirectes

Tableau 3. Classification de 75 échantillons de *M. spretus* et *M. musculus domesticus* en fonction de leur coordonnées sur l'axe 1 de l'analyse factorielle des correspondances (AFC) à 21 locus enzymatiques

<i>Mus m. domesticus</i>					<i>Mus spretus</i>				
N	N° sur la carte	Pays	Localités	axe 1: inertie 49,4%	N	N° sur la carte	Pays	Localités	axe 1: inertie 49,4%
6	58	Israël	Geshum	-0,37	3	31	Espagne	Arganda	0,84
5	7	Maroc	Agdz	-0,41	12	27	Espagne	Calonge	0,84
21	49	Allemagne	Tubingen1	-0,43	17	37	France	St Montan	0,83
24	60	Israël	Yaara	-0,45	75	37	France	Hérault	0,82
13	49	Allemagne	Tubingen2	-0,46	7	43	Espagne	Minorque	0,82
26	1	Maroc	Azemmour	-0,48	7	29	Espagne	Colmenar	0,82
14	56	Israël	Bet Nir	-0,48	9	37	France	St Christol	0,82
10	51	Hollande	Amsterdam	-0,49	5	32	Espagne	El Goloso	0,81
6	61	Egypte	El Fayoum	-0,49	25	22	Espagne	Sagunto	0,81
6	59	Israël	Sede Yaco	-0,49	21	30	Espagne	Taracena	0,81
12	11	Algérie	Bou Zadjar	-0,50	6	33	Espagne	Zafra	0,81
21	63	Egypte	Le Caire	-0,50	12	24	Espagne	Borjas Blanca	0,80
9	57	Israël	El Rom	-0,51	27	19	Espagne	Grenade	0,80
18	62	Egypte	Gizeh	-0,51	37	32	Espagne	Malejan	0,80
1	3	Maroc	Rabat	-0,51	7	10	Maroc	Tanger	0,80
43	50	Allemagne	Ravensburg	-0,51	10	38	France	Aix-en-P <sup>ce</sup>	0,79
7	37	France	Montpellier 1	-0,55	4	37	France	La Gardiole	0,79
13	49	Allemagne	Tubingen3	-0,55	9	23	Espagne	Almenara	0,78
24	45	France	Le Bourget	-0,56	13	32	Espagne	Campo Real	0,78
13	42	Espagne	Majorque	-0,56	4	25	Espagne	Fraga	0,78
18	65	Gde-Bretagne	Orcade1	-0,57	23	20	Espagne	Alicante	0,77
6	66	Gde-Bretagne	Orcade2	-0,57	5	21	Espagne	Valence	0,77
27	55	Grèce	Prosotsani	-0,57	10	30	Espagne	Aranjuez	0,76
10	26	Espagne	Barcelone2	-0,57	50	1	Maroc	Azemmour	0,75
12	29	Espagne	Colmenar	-0,58	3	4	Maroc	Beni Melal	0,74
9	44	France	Isère 1	-0,58	11	9	Maroc	Saïs	0,74
15	54	Grèce	Marasia	-0,58	8	33	Espagne	Tortola	0,74
1	12	Algérie	Oran	-0,58	6	18	Espagne	Malaga	0,65
20	36	France	Pratx	-0,58	11	14	Espagne	Grombalia	0,60
27	47	Italie	Binasco	-0,60	5	13	Algérie	Annaba	0,57
6	37	France	Montpellier 2	-0,60	43	14	Tunisie	Fondouk Djedid	0,51
27	64	Gde-Bretagne	Ecosse	-0,61	4	2	Maroc	Sidi Rahal	0,25
16	47	Italie	Ovada	-0,61	489			moyenne	0,25
9	52	Grèce	Orestia	-0,62				écart type	0,14
9	46	France	Savoie	-0,62					
10	26	Espagne	Barcelone1	-0,62					
15	53	Grèce	Doirani	-0,65					
24	40	France	Dordogne	-0,65					
14	44	France	Isere 2	-0,65					
6	44	France	Isère 3	-0,65					
10	39	France	Toulouse	-0,66					
30	48	Italie	Bergamo	-0,67					
11	17	Tunisie	Sfax	-0,68					
624			moyenne	-0,54					
			écart type	0,07					

tes obtenues par l'analyse de certains pseudogènes de l'élément transposable L1 dont il a été montré que certaines copies présentes dans une souche de laboratoire représentative de l'espèce *M. musculus* s.l. étaient en fait d'origine *M. spretus* [29]. De manière réciproque, la même équipe a également identifié dans une lignée de *M. spretus* maintenue au laboratoire des copies d'origine *M. musculus domesticus* [30]. Nos

résultats montrent que ces phénomènes introgressifs sont une réalité actuelle en train de se produire sous nos yeux, et ils soulèvent la question de la nature de l'isolement reproductif entre les deux espèces. A l'évidence, celui-ci n'est pas complet, bien qu'il ait pu être démontré que les mâles de F1 entre les deux espèces sont complètement stériles [31] et que cette stérilité soit liée à l'action de plusieurs gènes [32]. Par ailleurs, des

expériences de création de lignées de laboratoire qui soient des mosaïques entre les deux génomes ont montré qu'il était très difficile de maintenir sur le long terme ces génomes chimères et que seuls certains petits fragments chromosomiques *spretus* étaient capables de s'intégrer de manière durable dans le génome *domesticus* [33,34]. Il doit donc y avoir un coût sélectif important pour les populations dans lesquelles des hybridations se produisent. Ce coût sélectif explique d'ailleurs probablement que les gènes introgressés semblent diffuser peu à l'extérieur des populations où les introgressions se produisent, car nous n'avons pas relevé ces phénomènes par exemple sur tous les échantillons prélevés au Maroc.

Bien qu'un grand nombre d'individus des deux espèces aient été analysés électrophorétiquement au cours des vingt-cinq dernières années, de tels phénomènes n'ont jamais été observés dans le sud de la France [35,36] ce qui est conforté par la position relative de ces populations dans le Tableau 3. Dans cette région, qui correspond à la limite Nord de l'aire de répartition de *M. spretus*, les contacts possibles entre les deux espèces sont en fait limités à des biotopes bien précis et peu étendus, une hypothèse étant qu'elles s'excluent de manière compétitive dans les autres biotopes [37–39]. Plus au sud, il n'existe aucune indication concernant les niveaux d'interaction comportementale entre les deux espèces, mais il est patent qu'elles manifestent des comportements d'occupation du territoire fortement différenciés [40]. Ainsi il serait possible que l'interpénétration des biotopes favorables à l'une et l'autre espèce soit spatialement plus développée dans les endroits où ni la température ni l'humidité ne sont des facteurs limitants. Il est possible

que cela soit le cas dans les zones fruticoles (orange-raies) de la péninsule ibérique. Les échantillons marocains de la côte atlantique ont été également capturés dans des grandes zones maraîchères et fruticoles où les densités de souris peuvent être grandes, ce qui favorise les appariements allospécifiques accidentels. De tels phénomènes peuvent s'être produits également ailleurs en Afrique du Nord, comme l'atteste également la position de certains échantillons tunisiens sur l'axe 1 de l'AFC (Tableau 2).

Le fait que des traces d'introgression ancienne de lignées L1 d'origine *spretus* aient pu être relevées chez *M. m. domesticus* [41] montre néanmoins que ces phénomènes se sont produits de manière récurrente dans le passé, et que même si les échanges entre les deux espèces restent sporadiques et très limités probablement à cause du dysfonctionnement de certaines combinaisons de gènes allospécifiques, une petite fenêtre de communication entre les génomes des deux espèces reste néanmoins ouverte. Ceci peut permettre l'échange de gènes particulièrement invasifs (par exemple les éléments transposables auxquels nous avons fait référence) ou avantageux (par exemple certaines gènes de résistance, cf. les hypothèses émises pour expliquer la circulation possible entre différentes espèces de souris du gène *Fv1* de résistance au virus de la leucémie murine MuLV [42]). Nous pensons que nos observations, si elles ne remettent pas en cause de manière profonde le dogme du concept biologique de l'espèce, ont une portée évolutive importante étant donné qu'elles concernent des génomes ayant divergé depuis 1 à 3 M.A. [43]. L'importance de tels phénomènes a été également soulignée par d'autres auteurs à partir de travaux sur les oiseaux [44] ou les escargots [14].

**Remerciements.** Les auteurs souhaitent remercier plus particulièrement J. Cassaing et N. Hariche pour leur contribution à la compréhension de l'écologie de *Mus spretus* au Maroc, J. Catalan pour certaines analyses électrophorétiques, et P. Vogel pour la collecte de l'échantillon de Sidi Rahal qui a été à l'origine de cette étude.

## Références

- [1] Mayr E., Systematics and the Origin of Species, Columbia University Press, New York, 1942.
- [2] Dawson M.N., Jacobs D.K., Molecular evidence for cryptic species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa), Biol. Bull. 200 (1) (2001) 92–96.
- [3] Lampo M., Torgerson D., Marquez L.M., Rinaldi M., Garcia C.Z., Arab A., Occurrence of sibling species of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera : Psychodidae) in Venezuela: First evidence from reproductively isolated sympatric populations, Am. J. Trop. Med. Hyg. 61 (6) (1999) 1004–1009.
- [4] Renard E., Bachmann V., Cariou M.L., Moreteau J.C., Morphological and molecular differentiation of invasive freshwater species of the genus *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidea) suggest the presence of three taxa in French rivers, Mol. Ecol. 9 (12) (2000) 2009–2016.
- [5] Ridgway T.M., Stewart B.A., Branch G.M., Hodgson A.N., Morphological and genetic differentiation of *Patella gannularis* (Gastropoda : Patellidae): recognition of two sibling species along the coast of southern Africa, J. Zool. Lond. 245 (1998) 317–333.
- [6] Trewick S.A., Mitochondrial DNA sequences support allozyme evidence for cryptic radiation of New Zealand Peripatoides (Onychophora), Mol. Ecol. 9 (3) (2000) 269–281.
- [7] Wirth T., Le Guellec R., Vancassel M., Veuille M., Molecular and reproductive characterization of sibling species in the European earwig (*Forficula auricularia*), Evolution 52 (1) (1998) 260–265.
- [8] Bertozzi T., Adams M., Walker K.F., Species boundaries in carp gudgeons (Eleotrididae : Hypseleotris) from the River Murray, South Australia: evidence for multiple species and extensive hybridization, Mar. Freshw. Res. 51 (8) (2000) 805–815.
- [9] Lavergne A., Verneau O., Patton J.L., Catzeflis F.M., Molecular discrimination of two sympatric species of opossum (genus *Didelphis*: Didelphidae) in French Guiana, Mol Ecol 6 (9) (1997) 889–891.
- [10] Britton J., Pasteur N., Thaler L., Les souris du Midi de la France : caractérisation génétique de deux groupes de populations sympatriques, C. R. Acad. Sci. Paris 283 (1976) 515–518.
- [11] Sage R.D., Genetic heterogeneity of Spanish house mice (*Mus musculus* complex), in : Morse H.C. (Ed.), Origins of Inbred Mice, 3d ed, Academic Press, New York, 1978, pp. 519–553.

- [12] Bonhomme F., Catalan J., Gerasimov S., Orsini P., Thaler L., Le complexe d'espèce du genre *Mus* en Europe Centrale et Orientale, *Z. Säugetierkunde* XX (1983) 78–85.
- [13] Auffray J., Orth A., Catalan J., Gonzalez J., Desmarais E., Bonhomme F., A new species of subgenus *Mus* (Rodentia, Mammalia) from Thailand, the sheath-tailed mouse (*Mus fragilicauda*, sp. nov), *Zoologica Scripta* (2002), (sous presse).
- [14] Chiba S., Genetic variation derived from natural gene flow between sympatric species in land snails (*Mandarina*), *Heredity* 80 (1998) 617–623.
- [15] Vanewright R.I., Smith C.R., Occurrence and Significance of Natural Hybrids between *Papilio Dardanus* and *P.Phorcas* (Lepidoptera, Papilionidae), *Syst. Entomol.* 17 (3) (1992) 269–272.
- [16] Umphrey G.J., Danzmann R.G., Electrophoretic evidence for hybridization in the ant genus *Acanthomyops* (Hymenoptera : Formicidae), *Biochem. Syst. Ecol.* 26 (4) (1998) 431–440.
- [17] She J.X., Autem M., Kotulas G., Pasteur N., Bonhomme F., Multivariate analysis of genetic exchanges between *Solea aegyptiaca* and *Solea senegalensis* (Teleosts Soleidae), *Biol. J. Linn. Soc.* (1987) 357–371.
- [18] Schreiber A., Stubbe M., Stubbe A., Red kite (*Milvus milvus*) and black kite (*M.migrans*): minute genetic interspecies distance of two raptors breeding in a mixed community (Falconiformes: Accipitridae), *Biol. J. Linn. Soc.* 69 (3) (2000) 351–365.
- [19] Grant P.R., Grant B.R., Hybridization of Bird Species, *Science* 256 (5054) (1992) 193–197.
- [20] Roy M.S., Geffen E., Smith D., Ostrander E.A., Patterns of differentiation and hybridization in North American wolflike canids, revealed by analysis of microsatellite loci, *Mol. Biol. Evol.* 11 (4) (1994) 553–570.
- [21] Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme F., Catalan J., Britton-Davidian J., Manuel technique de genetique par électrophorèse des protéines, *Techniques et Documentation*, Lavoisier, Paris, 1987.
- [22] Bibb M.J., Van Etten R.A., Wright C.T., Walberg M.W., Clayton D.A., Sequence and Gene Organisation of mouse Mitochondrial DNA, *Cell* 26 (1981) 167–180.
- [23] Prager E.M., Boursot P., Sage R.D., New assays for Y chromosome and p53 pseudogene clines among East Holstein house mice, *Mamm. Genome* 8 (4) (1997) 279–281.
- [24] Love J.M., Knight A.M., Mc Aleer M.A., Todd J.A., Towards construction of a high resolution map of the mouse genome using PCR-analysed microsatellites, *Nucleic Acids Res.* 18 (1990) 4123–4130.
- [25] Benzecri J.P., L'analyse des correspondances, L'analyse des données, Vol. 2, Dunod, Paris, 1973, 615 p.
- [26] Bonhomme F., Catalan J., Britton-Davidian J., Chapman V.M., Moriawaki K., Nevo E., Thaler L., Biochemical diversity and evolution in the Genus *Mus*, *Biochem. Genet.* 22 (3/4) (1984) 275–303.
- [27] Britton J., Thaler L., Evidence for the presence of two sympatric species of mice (genus *Mus* L.) in southern France based on biochemical genetics, *Biochem. Genet.* 16 (3/4) (1978) 213–225.
- [28] Boursot P., Jacquart T., Bonhomme F., Britton-Davidian J., Thaler L., Différenciation géographique du génome mitochondrial chez *Mus spretus* Lataste, *C. R. Acad. Sci. Paris* 301 (1985) 157–161.
- [29] Zhao Y., Daggett L.P., Hardies S.C., *Mus spretus* LINE-1s in the *Mus musculus domesticus* inbred strain C57BL/6J are from two different *Mus spretus* LINE-1 subfamilies, *Genetics* 142 (2) (1996) 549–555.
- [30] Greene-Till R., Zhao Y., Hardies S.C., Gene flow of unique sequences between *Mus musculus domesticus* and *Mus spretus*, *Mamm. Genome* 11 (3) (2000) 225–230.
- [31] Bonhomme F., Martin S., Thaler L., Hybridation en laboratoire de *Mus musculus* et *Mus spretus* Lataste, *Separatum Experimentia* 34 (1978) 1140.
- [32] Pilder S.H., Identification and linkage mapping of *Hst7*, a new *M. spretus*/*M. m. domesticus* chromosome 17 hybrid sterility locus, *Mamm. Genome* 8 (4) (1997) 290–291.
- [33] Montagutelli X., Voegeling S., Szatanik M., Guénet J.L., Introgressing *Mus spretus* genome into a C57BL/6 background: lessons from the establishment of interspecific recombinant congenic strains, The 13th International Mouse Genome Conference, Philadelphia PA, USA, 1999.
- [34] Montagutelli X., Voegeling S., Szatanik M., Guénet J.L., A set of 50 interspecific recombinant congenic strains between *Mus spretus* and C57BL/6: a tool for the identification of QTLs and analysis of epistasis, The 13th International Mouse Genome Conference, Philadelphia PA, USA, 1999.
- [35] Britton-Davidian J., Différenciation génique et chromosomique chez les souris *Mus musculus domesticus* et *Mus spretus*, Relations avec la distribution spatiale des populations, thèse université Montpellier-II, Montpellier, 1985, 168 p.
- [36] Jacquart T., Structure génétique et phylogénie intraspécifique chez la souris sauvage *Mus spretus* Lataste: Distribution spatiale du polymorphisme des gènes nucléaires de structure et de l'ADN mitochondrial, thèse université Montpellier-II, Montpellier, 1986, 122 p.
- [37] Orsini P., Cassaing J., Duplantier J.M., Crosset H., Premières données sur l'écologie des populations naturelles de souris *Mus spretus* Lataste et *Mus musculus domesticus* Ruddy dans le Midi de la France, *Rev. Ecol.* 36 (1982) 321–336.
- [38] Cassaing J., Intéactions intra- et interspécifiques chez les souris sauvages du Midi de la France *Mus musculus domesticus* et *Mus spretus*: conséquences sur la compétition entre les deux espèces, *Biol. Behav.* 9 (1984) 281–293.
- [39] Cassaing J., Crosset H., Organisation spatiale compétition et dynamique des populations sauvages de souris (*Mus spretus* Lataste et *Mus musculus domesticus* Ruddy) du Midi de la France, *Z. Säugetierkunde* 50 (1985) 271–284.
- [40] Gray S.J., Hurst J.L., Behavioural mechanisms underlying the spatial dispersion of commensal *Mus domesticus* and grassland *Mus spretus*, *Anim. Behav.* 53 (3) (1997) 511–524.
- [41] Hardies S.C., Wang L., Zhou L., Zhao Y., Casavant N.C., Huang S., LINE-1 (L1) lineages in the mouse, *Mol. Biol. Evol.* 17 (4) (2000) 616–628.
- [42] Qi C.F., Bonhomme F., Buckler-White A., Bucler C., Orth A., Lander M.R., Chattopadhyay S.K., Morse H.C.I., Molecular phylogeny of *Fv1*, *Mamm. Genome* 9 (1998) 1049–1055.
- [43] Boursot P., Auffray J.C., Britton-Davidian J., Bonhomme F., The Evolution of House Mice, *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24 (1993) 119–152.
- [44] Grant P.R., Grant B.R., Speciation and hybridization in island birds, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* 351 (1341) (1996) 765–772.
- [45] Britton-Davidian J., Genic differentiation in *M. m. domesticus* populations from Europe the Middle East and North Africa: geographic patterns and colonization events, *Biol. J. Linn. Soc.* 41 (1990) 27–45.