

Analyse comparée de la structure génétique de deux espèces de poissons marins apparentées et sympatriques *Dicentrarchus labrax* et *Dicentrarchus punctatus*

François Bonhomme^{a*}, Mariam Naciri^b, Lilia Bahri-Sfar^c, Christophe Lemaire^a

^a Laboratoire « Génome, populations, interactions », université Montpellier-2, CNRS UMR 5000, Station méditerranéenne de l'environnement littoral, 1, quai de la Daurade, 34200 Sète, France

^b Laboratoire de zoologie et de biologie générale, faculté des sciences, université Mohammed-V, av. Ibn-Battouta, BP 1014, Rabat, Maroc

^c Laboratoire de biologie et parasitologie marines, faculté des sciences de Tunis, Campus universitaire, Tunis, Tunisie

Reçu le 28 juin 2001 ; accepté le 28 octobre 2001

Présenté par Claude Combes

Abstract – Comparative analysis of genetic structure of two closely related sympatric marine fish species *Dicentrarchus labrax* and *Dicentrarchus punctatus*. We present here the genetic structure existing among five samples of the spotted sea bass *Dicentrarchus punctatus*, and we compare it to what prevails in the common sea bass *D. labrax*, a congeneric species sampled on almost the same geographical range. A genetic distance tree inferred from the polymorphism at six microsatellite loci shows a distinct pattern for the two species. *D. labrax* samples appears to be genetically more homogeneous with a global F_{st} of 3% as compared to the 10% observed at *D. punctatus*, indicating a lesser level of gene flow in the latter species. While appearing more differentiated, *D. punctatus* presents no clear geographical organisation of its genetic variability in opposition to *D. labrax* samples. This allows us to propose this pair of closely relative species as a good candidate for the study by comparative analysis of the biological and/or historical factors affecting genetic differentiation in marine environment. **To cite this article: F. Bonhomme et al., C. R. Biologies 325 (2002) 213–220.** © 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

Résumé – Nous présentons la différenciation génétique de cinq échantillons de loup (ou bar) ponctué *Dicentrarchus punctatus*, que nous comparons à un échantillonnage de l'espèce congénérique *D. labrax*, le loup commun, recouvrant sensiblement la même zone géographique. Un arbre des distances génétiques établies à partir de l'analyse du polymorphisme de six locus microsatellites montre une séparation nette des deux espèces. En outre, les *D. labrax* apparaissent comme beaucoup plus homogènes, avec un F_{st} global de seulement 3% sur l'ensemble de l'aire de répartition, contre 10% chez *D. punctatus*, indiquant ainsi un niveau de flux génique moindre chez cette dernière espèce. En outre, bien que très différenciée, *D. punctatus* ne présente pas d'organisation géographique claire de sa variabilité génétique, contrairement à *D. labrax*. Ceci permet de proposer ce couple d'espèces proches comme un bon candidat pour étudier, par la méthode comparative, les facteurs biologiques ou historiques qui expliquent l'apparition de structurations génétiques en milieu marin. **Pour citer cet article : F. Bonhomme et al., C. R. Biologies 325 (2002) 213–220.** © 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

Dicentrarchus punctatus / *Dicentrarchus labrax* / microsatellites / structuration génétique

Dicentrarchus punctatus / *Dicentrarchus labrax* / microsatellites / genetic structuring

*Correspondance et tirés à part.

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

. Abridged version

The common and spotted sea basses are two congeneric species in the genus *Dicentrarchus* that share a similar range in the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean. Here, we compare their genetic structure on five samples of each species using six microsatellite loci that were previously employed to unravel genetic variation in the common sea bass. Our results show that the genetic divergence among populations spanning approximately the same geographic area is much greater within the spotted sea bass (*D. punctatus*) than the common one (*D. labrax*), with global F_{st} values of 0.10 and 0.03 respectively. On the other hand, genetic diversity is lower for *D. punctatus* than for *D.*

labrax samples, whereas the contrary is true for the allelic counts over the whole species. All this indicates that genetic exchanges are more limited in the spotted bass than in its congener, and this translates quite clearly on the Neighbour-Joining tree provided in the present study. If we are dealing with an equilibrium situation, this discrepancy may be linked to differences in ecological preferences, causing a higher fragmentation for *punctatus* than for *labrax*, or to other life history traits related to larval, juvenile or adult migration. By using the comparative method, identifying the traits responsible for this comparative reduction of gene flow becomes an important issue if one is to understand how genetic differentiation builds up in the marine environment despite an apparent lack of geographic boundaries.

1. Introduction

Dans le milieu marin où les discontinuités sont peu apparentes, la majorité des organismes présente des capacités de dispersion élevées, liées à la dérive passive des larves planctoniques ou à la migration active des adultes. Ces caractéristiques, en général associées à de fortes fécondités, impliquent des flux géniques théoriquement très grands. On s'attend donc à ce que les espèces marines montrent de faibles différences génétiques sur des distances importantes. Ainsi, on trouve en général de faibles divergences génétiques chez les poissons marins [1, 2], et les exemples d'homogénéité entre populations séparées par plus de mille kilomètres sont nombreux [3–6]. Cependant, certaines études ont montré que les niveaux de divergence qui s'établissent pouvaient être bien plus importants que ce qui pouvait être inféré à partir de paramètres tels que la durée du stade larvaire et la courantologie [7], ceci posant la question des mécanismes associés à cette diminution des flux géniques réalisés. On a pu invoquer ainsi des facteurs hydrologiques tels que les fronts ou les divergences de masses d'eau, associés à des gradients de température et de salinité, qui limiteraient la dispersion passive des organismes. On peut penser également que certaines caractéristiques biologiques, telles que les différences de période de ponte, de reproduction, de reconnaissance du partenaire et/ou de tolérance environnementale peuvent limiter les occasions de contact entre populations adjacentes [8] et ainsi réduire les flux géniques. Il reste néanmoins à expliquer comment de telles différences peuvent voir le jour à partir d'une situation initialement homogène : les pressions de sélection pour une adaptation locale sont-elles suffisantes, ou bien faut-il invoquer des phénomènes

historiques ayant occasionné la remise en contact récente de populations isolées dans le passé ?

Répondre à ces questions n'est pas chose facile, car les organismes marins sont difficiles d'accès et, de ce fait, certaines caractéristiques de leur biologie, qu'il s'agisse des temps de génération, des durées de phase larvaire ou de l'étendue exacte de leur dispersion ou encore des pressions de sélection auxquelles ils sont soumis, sont souvent mal connues. Ceci est encore plus vrai quand on cherche à intégrer la dimension historique. Néanmoins, la méthode comparative entre espèces proches peut s'avérer utile, car elle permet de cibler certains paramètres susceptibles d'influer de manière sensible sur la différenciation génétique, toutes choses étant égales par ailleurs. Il serait donc intéressant d'identifier des paires d'espèces présentant des niveaux de différenciations contrastés, pour lesquelles une comparaison détaillée de leur écologie apporterait des éléments de réponse à la question des limitations du flux génique et, au-delà, celle de l'acquisition de l'isolement reproductif et de la spéciation. C'est à la première étape que nous nous adressons dans le présent travail, en comparant la structure génétique du loup ponctué *Dicentrarchus punctatus* avec celle de l'espèce congénérique voisine, le loup commun (ou bar) *D. labrax*.

D. punctatus (Bloch, 1792) et *D. labrax* (Linné, 1758) appartiennent toutes les deux à la famille des Moronidés, elle-même apparentée aux Serranidés. Le genre *Dicentrarchus* ne comporte que ces deux espèces, qui sont souvent confondues aux stades jeunes. Leur aire de répartition [9] est largement sympatrique dans l'Atlantique nord-est et en Méditerranée, avec toutefois une extension plus au nord pour *D. labrax* (jusqu'en Norvège, alors que *D. punctatus* ne dépasse pas le golfe

de Gascogne) et plus au sud pour *D. punctatus* (pêche jusqu’au Sénégal, alors que *D. labrax* n’est rencontré que jusqu’au sud du Maroc [10]. Ces deux espèces sont des prédateurs démersaux et, si l’écologie du loup commun a donné lieu à un certain nombre de publications (voir par exemple [11] et [12], le peu de données disponibles sur *D. punctatus* permet cependant de supposer que cette dernière espèce est moins abondante que le loup commun.

Dicentrarchus labrax, espèce commerciale recherchée, a déjà fait l’objet d’un certain nombre d’études génétiques utilisant les allozymes [13], l’ADN mitochondrial [14], les RAPDs [15] ou encore les locus microsatellites [16]. Récemment, en utilisant ces mêmes microsatellites sur 27 échantillons, notre groupe a rapporté l’existence d’une structuration marquée de cette espèce en trois entités, l’une regroupant les échantillons atlantiques et ceux de la mer d’Alboran, l’autre étant constituée par les populations de la Méditerranée occidentale jusqu’au détroit siculo-tunisien, la troisième comprenant les populations de Méditerranée orientale [17, 18]. Aucune étude n’a cependant été consacrée à *D. punctatus*, à l’exception de l’échantillon égyptien présent dans l’étude rapportée dans les références [13] et [15]. Dans le présent travail, nous analysons, avec les six mêmes locus microsatellites, cinq échantillons de *D. punctatus*, répartis du Sénégal à l’Égypte, que nous comparons à cinq échantillons de loup commun, dont trois sont prélevés aux mêmes endroits, l’ensemble recouvrant des distances géographiques comparables pour les deux espèces.

2. Matériel et méthodes

2.1. Échantillonnage

Le Tableau 1 et la Fig. 1 indiquent l’origine et la situation géographique des dix échantillons étudiés.

Tous les échantillons de *D. labrax* ont été décrits précédemment par Naciri et al. [17] et Bahri-Sfar et al. [18]. Pour *D. punctatus*, les poissons ont été obtenus auprès d’artisans pêcheurs, à l’exception de l’échantillon égyptien, qui nous a été fourni sous forme d’ADN par V. Sbordoni (Rome) et qui est, de ce fait, commun à notre étude et à celles d’Allegrucci, Caccone et al. [13, 15]. Pour chaque individu, un bout de muscle ou de nageoire a été stocké dans de l’alcool à 80 % afin de procéder ultérieurement à l’extraction de l’ADN.

2.2. Typage aux locus microsatellites

Les protocoles employés sont identiques à ceux précédemment décrits chez *D. labrax* [17, 18]. Environ 1 mm³ de muscle préservé dans l’éthanol ont servi pour extraire l’ADN de chaque individu par une méthode au Chelex®. Six locus microsatellites définis par [16] ont été amplifiés in vitro (PCR). Le protocole de PCR, les amorces et la méthode d’électrophorèse sont les mêmes que ceux décrits dans [17, 18].

2.3. Analyses des données

Les indices de diversité (hétérozygotie attendue non biaisée de Nei H_e [19], nombre d’allèles N_a) et de structuration génétique (F_{st} de Wright estimé par le θ de Weir et Cockerham [20]) ont été calculés à l’aide du logiciel Genetix 4.02 [21] à partir des données génotypiques individuelles. Les intervalles de confiance pour H_{exp} ont été obtenus par ré-échantillonnage sur les individus (procédure « *bootstrap* sur H_{exp} » de Genetix 4.02), les tests de significativité d’écart à l’hypothèse nulle ($\theta = 0$) des $\hat{F}_{st}(\hat{\theta})$ multilocus observés ont été réalisés par la procédure de permutations aléatoires des génotypes multilocus proposés par le même logiciel. La significativité des valeurs de $\hat{\theta}$ par paires de populations est corrigée par une procédure de Bonferroni séquentielle pour tests multiples [22].

Tableau 1. Description des échantillons de *Dicentrarchus labrax* et de *Dicentrarchus punctatus* : origine géographique, localité, code, effectif de l’échantillon (N) et habitat.

Espèce	Origine géographique	Localité	Code	N
<i>D. labrax</i>	océan Atlantique	Saint-Brieuc, France	FBRE	39
		Rabat, Maroc	MRBT	60
	Méditerranée occidentale	golfe d’Annaba, Algérie	AGLA	34
	Méditerranée orientale	lagune d’El Biban, Tunisie	TELB	63
		Thessalonique, Grèce	GTSK	30
<i>D. punctatus</i>	océan Atlantique	Dakar, Sénégal	SDKP	20
		Rabat, Maroc	MRBP	28
	Méditerranée occidentale	golfe d’Annaba, Algérie	AGLP	3
		Méditerranée orientale	lagune d’El Biban, Tunisie	TLBP
	lagune de Bardawil, Égypte		YEGP	29

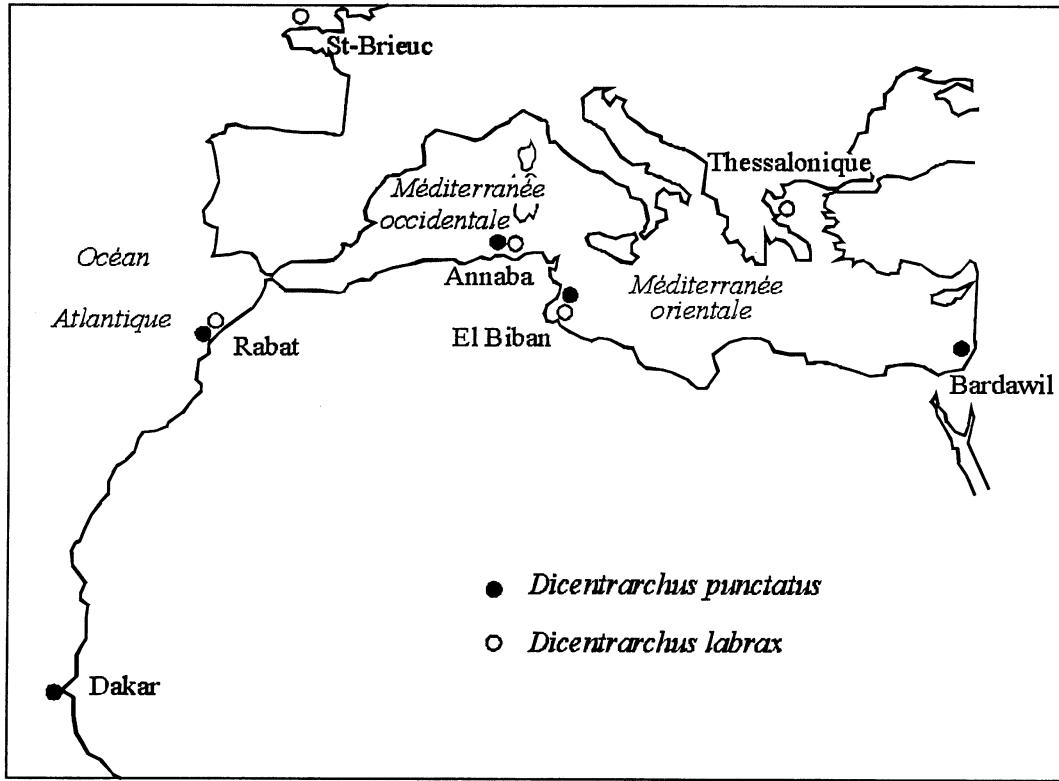


Fig. 1. Localisation géographique des échantillons de *D. labrax* et *D. punctatus*.

Le logiciel Phylip (version 3.5p, [23]) a été utilisé pour construire un arbre selon la méthode du *Neighbour-Joining* [24] à partir d'une matrice de distances de Cavalli-Sforza et Edwards [25], obtenue par la procédure « Gendist » de ce logiciel. La robustesse des nœuds de l'arbre est testée par bootstrap sur les locus (procédure « Seqboot » puis « Consense », avec 1 000 réplicats).

3. Résultats

3.1. Diversité génétique

Le **Tableau 2** donne les valeurs de diversité génique multilocus (hétérozygotie moyenne attendue H_{exp} et observé H_{obs} , ainsi que le nombre moyen d'allèles observés par échantillon Am). Les populations de *D. punctatus* montrent une diversité génique légèrement plus faible ($0,852 < H_{exp\ Punc} < 0,889$) que celle de *D. labrax* ($0,884 < H_{exp\ Lab} < 0,898$) ($p = 0,02$, test de Student à 1 ddl), alors qu'elles présentent au total légèrement plus d'allèles que celles-ci, malgré un effectif plus faible (30,7 allèles/locus observés aux six locus pour 92 individus de *D. punctatus*, contre 28 allèles/locus pour 226 individus chez *D. labrax*).

3.2. Structuration génétique comparée des deux espèces

Le **Tableau 3** montre les valeurs de $\hat{\theta}$ par paires obtenues pour les six locus microsatellites dans et entre les deux espèces étudiées. La distance de Nei [28] moyenne entre les deux espèces est de $D = 1,44$, ce qui représente plus du double de celle observée par [13] ($D = 0,648$) à partir du seul échantillon égyptien. La **Fig. 2** montre l'arbre non-raciné obtenu par la méthode *Neighbour-Joining* à partir des distances de Cavalli-Sforza et Edwards [25]. Les valeurs de bootstrap supérieures à 50% sont reportées au niveau des nœuds correspondants. Chez *D. labrax*, on retrouve la différenciation des échantillons appartenant aux trois groupes géographiques précédemment décrits (à savoir Atlantique, Méditerranée occidentale et orientale [17, 18]), avec une topologie assez bien soutenue.

Une autre différence importante entre les deux espèces est la longueur des branches de l'arbre : les *D. punctatus* sont nettement plus différenciés entre eux que ne le sont les *D. labrax*, la distance maximale entre les deux populations géographiquement les plus éloignées pour cette dernière espèce étant $D_{c-s} = 0,065$ (GMSL/FBRE), alors que $D_{c-s} = 0,119$ pour

Tableau 2. Estimation de la variabilité génétique pour les six locus microsatellites dans cinq populations de *Dicentrarchus punctatus* et quatre populations de *Dicentrarchus labrax* : (Am) nombre d'allèles moyen par échantillon analysé ; (H_{exp} et H_{obs}) hétérozygotie attendue non biaisé et observée. Valeurs de Fis en accord avec Weir et Cockerham (1984) avec la probabilité de rejeter l'hypothèse nulle. * : $P < 0,05$; ** : $P < 0,01$; *** : $P < 0,001$.

Code échantillons	Diversité génique			Fis							
	Am	H_{exp}	H_{obs}	Labrax-3	Labrax-6	Labrax-8	Labrax-13	Labrax-17	Labrax-29	Multilocus	Sans Labrax-6
FBRE	19,83	0,89 (0,06)	0,83 (0,09)	0,061	0,111	0,078	0,003	0,107	0,02	0,061**	0,053
MRBT	23,16	0,89 (0,07)	0,89 (0,13)	-0,027	0,148	-0,073	-0,049	0,016	0,015	0	-0,024
AGLA	16,2	0,85 (0,08)	0,82 (0,23)	-0,067	0,464	0,055	-0,025	-0,138	-0,038	0,028	-0,043*
TELB	18,66	0,85 (0,09)	0,79 (0,14)	0,047	0,279	0,018	0,078	-0,035	0,16	0,086	0,056
GTSK	13,33	0,80 (0,15)	0,80 (0,33)	-0,080	0,740	-0,146	-0,077	-0,011	-0,034	0,014	-0,069
YEGP	13,83	0,85 (0,10)	0,65 (0,36)	0,136	1	0,216	-0,115	0,009	0,342	0,230***	0,113***
TLBP	9,50	0,79 (0,14)	0,66 (0,20)	0,053*	0,321**	-0,021	-0,06	0,4	0,333	0,172***	0,150***
MRBP	17,66	0,82 (0,20)	0,81 (0,23)	0,004	0,125*	-0,162	0,0027	0,109**	0,020	0,008	-0,0034
AGLP	3,66	0,75 (0,23)	0,72 (0,25)	0,111	0	0,272**	-0,2	0	0,111	0,054	0,058
SDKP	10	0,68 (0,28)	0,65 (0,31)	0,193**	-0,123	-0,135	-0,070	0,047	0,242	0,030	0,041

Tableau 3. Valeurs des estimations de θ [20] (diagonale du haut) et des distances de Cavalli-Sforza et Edwards [25] (diagonale du bas) par paire de populations. Les échantillons de *D. punctatus* sont en italique. Caractères gras : valeurs significatives après test sur permutations [21] après ajustement de Bonferroni séquentiel [22].

	<i>D. labrax</i>					<i>D. punctatus</i>				
	FBRE	MRBT	AGLA	TELB	GTSK	<i>YEGP</i>	<i>TLBP</i>	<i>MRBP</i>	<i>AGLP</i>	<i>SDKP</i>
FBRE	—	0,003	0,041	0,04	0,065	—	—	—	—	—
MRBT	0,012	—	0,031	0,031	0,056	—	—	—	—	—
AGLA	0,023	0,021	—	0,011	0,014	—	—	—	—	—
TELB	0,023	0,020	0,015	—	0,014	—	—	—	—	—
GTSK	0,034	0,032	0,019	0,018	—	—	—	—	—	—
<i>YEGP</i>	0,069	0,060	0,067	0,069	0,072	—	0,106	0,089	0,118	0,156
<i>TLBP</i>	0,069	0,065	0,071	0,075	0,077	0,064	—	0,72	0,787	0,119
<i>MRBP</i>	0,057	0,051	0,057	0,059	0,067	0,054	0,058	—	0,046	0,081
<i>AGLP</i>	0,089	0,084	0,092	0,093	0,096	0,085	0,070	0,064	—	0,108
<i>SDKP</i>	0,064	0,058	0,064	0,061	0,072	0,065	0,062	0,055	0,061	—

YEGP/SDKP chez *D. punctatus*. Ceci correspond à un $\hat{\theta}$ moyen de 0,10 chez *D. punctatus* et de seulement 0,03 chez *D. labrax*. Si on ôte l'échantillon de *D. punctatus* d'Algérie (constitué de trois individus seulement), qui pourrait artificiellement augmenter l'estimation de la différenciation du fait sa faible taille, la valeur du $\hat{\theta}$ global chez *punctatus* reste identique.

4. Discussion et conclusion

Notre étude montre qu'il y a un niveau de différenciation génétique plus fort chez *D. punctatus* que chez

D. labrax, bien qu'il n'y ait pas d'organisation géographique apparente dans les populations de *D. punctatus*, contrairement à ce qui existe chez *D. labrax*. [17, 18]. Il peut y avoir a priori deux types d'hypothèses pour expliquer ce double résultat.

- Les différenciations génétiques observées refléteraient un équilibre entre migration et dérive s'établissant de manière différente dans les deux espèces : il y aurait moins de migrants entre populations de *D. punctatus* que chez *D. labrax*, et les migrations ne s'effectueraient pas dans cette espèce selon un schéma plus particulièrement lié à la géographie, tel qu'il

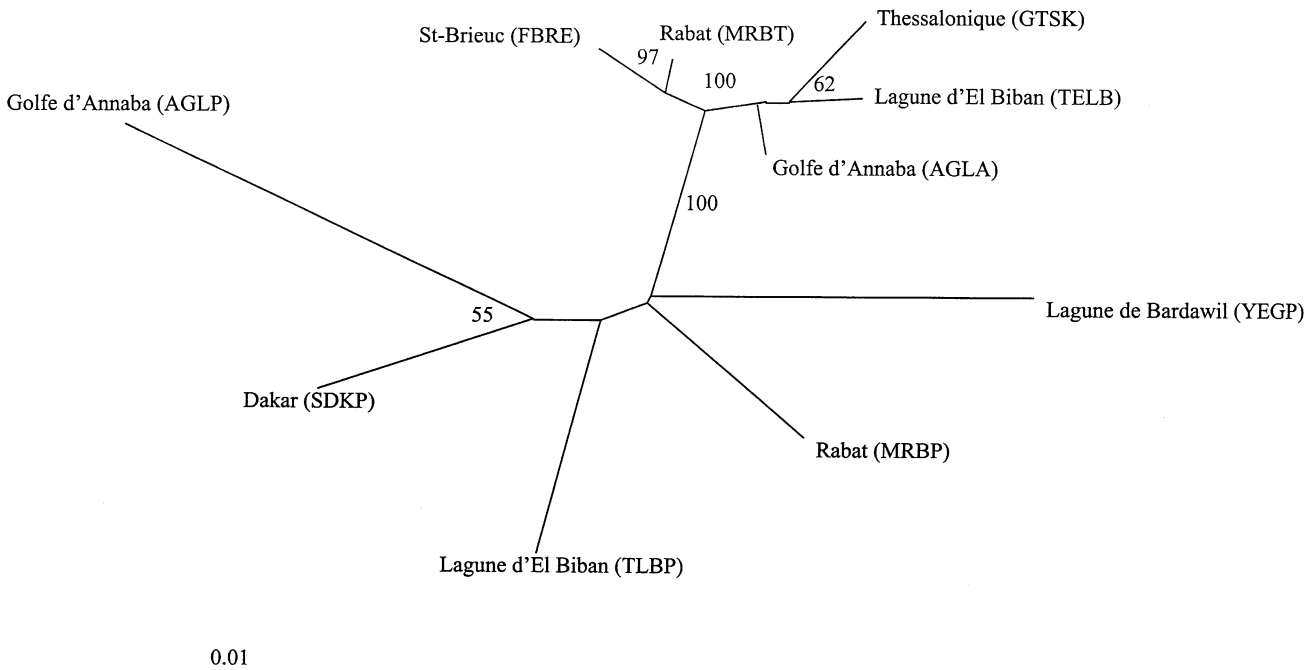


Fig. 2. Arbre non raciné construit par la méthode de *Neighbour-Joining* [24] à partir de la matrice des distances génétiques de Cavalli-Sforza et Edwards [25] par paires de populations de loup (cinq populations de *D. punctatus* et cinq populations de *D. labrax*). Les valeurs de *bootstrap* supérieures à 50% sont indiquées. Les échantillons de *D. punctatus* sont en italiques.

apparaît à longue distance chez *D. labrax* (les populations du bassin méditerranéen occidental sont dans cette espèce génétiquement intermédiaires entre celles de l'Atlantique et de la Méditerranée orientale). Ceci pourrait être mis en relation avec le fait que les populations de *D. punctatus* semblent distribuées de manière discontinue, contrairement à ce qui prévaut pour *D. labrax*.

– À l'inverse, nous ne serions pas dans une situation à l'équilibre. Il y aurait eu une re-colonisation récente de leur aire de répartition par les populations de *D. labrax* ; on n'aurait pas encore atteint chez cette espèce le même niveau de structuration que chez *D. punctatus*.

Bien entendu, les attendus de ces deux hypothèses ne sont pas mutuellement exclusifs, et l'on peut penser que le scénario le plus plausible est précisément celui qui mêlerait des différences bien réelles dans la biologie des deux espèces (preferendums écologiques et/ou comportement migratoire et grégaire) avec une histoire phylogéographique différente pour les deux espèces.

Remerciements. Les auteurs tiennent à remercier V. Sbordoni (Rome), C. Diebakate (Dakar), H. Kara (Annaba) pour la fourniture d'échantillons des deux espèces, et O.K. Ben Hassine (Tunis) pour son soutien actif du projet.

Références

- [1] U. Gyllensten, The genetic structure of fish: differences in the intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromous and freshwater species, *J. Fish. Biol.* 26 (1985) 691–699.
- [2] R.D. Ward, M. Woodwark, D.O.F. Skibinski, A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fishes, *J. Fish Biol.* 44 (1994) 213–232.
- [3] W.S. Grant, F.M. Utter, Biochemical population genetics of Pacific herring (*Clupea pallasii*), *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41 (1984) 856–864.
- [4] J.B. Shaklee, P.B. Samollow, Genetic variation and population structure in a deepwater snapper, *Pristipomoides filamentosus* in the Hawaiian archipelago, *Fish. Bull.* 82 (1984) 703–713.
- [5] W.S. Grant, R.W. Leslie, I.I. Becker, Genetic stock structure of the southern African hakes *Merluccius capensis* and *M. paradoxus*, *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 41 (1987) 9–20.
- [6] D.W. Foltz, The relationship between genetic diversity and phylogeography subdivision in coastal species, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* (accepted).
- [7] S. Planes, P. Borsa, R. Galzin, F. Bonhomme, Geographic structure and gene flow in the manini (convict surgeonfish, *Acanthurus triostegus*) in the south-central Pacific, in : A.R. Beaumont (Ed.), *Genetics and evolution of aquatic organisms*, Chapman & Hall, London, 1994, pp. 113–122.
- [8] S.R. Palumbi, Macrospecific genetic structure and speciation in marine taxa with high dispersal abilities, in : J.D. Ferraris, S.R. Palumbi (Eds.), *Molecular Zoology: Advances, Strategies and Protocols*, Wiley-Liss, New York, 1996, pp. 101–117.
- [9] FAO, Fishery statistics catches and landings, FAO Fisheries Series 48, 80, 1997, 713 p.
- [10] P.J.P. Whithead, M.L. Bauchot, J.C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese (Eds.), *Fishes of the northeastern Atlantic and the Mediterranean*, Vol. 3, Unesco, Paris, 1986, p. 1473.
- [11] G. Barnabé, Exposé synoptique des données bibliographiques sur le loup *Dicentrarchus labrax* (Linné, 1758), Synoptique FAO, Pêches, 126, 1980, 70 p.
- [12] G. Barnabé, R. Billard, P. Divanach, P. Lucet, J. Querellou, Les acquis, les points de blocage et le futur de l'aquaculture du bar et des sparidés, in : G. Barnabé, R. Billard (Eds.), *L'Aquaculture du bar et des sparidés*, Inra, Paris, 1984, pp. 531–536.
- [13] G. Allegrucci, C. Fortunato, V. Sbordoni, Genetic structure and allozyme variation of sea bass (*Dicentrarchus labrax* and *D. punctatus*) in the Mediterranean Sea, *Mar. Biol.* 128 (1997) 347–358.
- [14] T. Patarnello, L. Bargelloni, F. Caldara, L. Colombo, Mitochondrial DNA sequence variation in the european sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. (Serranidae) evidence of differential haplotype distribution in natural and farmed population, *Mol. Mar. Biol. Biotech.* 2 (1993) 333–337.
- [15] A. Caccone, G. Allegrucci, C. Fortunato, V. Sbordoni, Genetic differentiation within the European sea bass (*D. Labrax*) as revealed by RAPD-PCR assays, *J. Hered.* 88 (1997) 316–324.
- [16] F.G. Garcia de León, J.F. Dallas, B. Chatain, M. Canonne, J.J. Versini, F. Bonhomme, Development and use of microsatellite markers in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Serranidae), *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 4 (1995) 62–68.
- [17] M. Naciri, C. Lemaire, P. Borsa, F. Bonhomme, Genetic study of the Atlantic/Mediterranean transition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *J. Hered.* 90 (1999) 591–596.
- [18] L. Bahri-Sfar, C. Lemaire, O.K. Ben Hassine, F. Bonhomme, Fragmentation of sea bass populations in the western and eastern Mediterranean as revealed by microsatellite polymorphism, *Proc. R. Soc. Lond. B* 267 (2000) 929–935.
- [19] M. Nei, Genetic distance between populations, *Am. Nat.* 106 (1949) (1972) 283–292.
- [20] B.S. Weir, C.C. Cockerham, Estimating F-statistics for the analysis of population structure, *Evolution* 38 (1984) 1358–1370.
- [21] K. Belkhir, P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste, F. Bonhomme, Genetix version 4.02, un logiciel pour l'analyse des données en génétique des populations, université Montpellier-2, France, 2000, <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>.

[22] W.R. Rice, Analysing tables of statistical tests, *Evolution* 43 (1989) 223–225.

[23] J. Felsenstein, PHYLIP 3.5 (Phylogeny Inference Package), University of Washington, Seattle, Washington, USA, 1993.

[24] N. Saitou, M. Nei, The Neighbor-Joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol. Biol. Evol.* 4 (4) (1987) 406–425.

[25] L.L. Cavalli-Sforza, A.W.F. Edwards, Phylogenetic analysis: models and estimation procedures, *Am. J. Human Genet.* 19 (1967) 233–257.

[26] P. Borsa, M. Naciri, L. Bahri, L. Chikhi, F.J. Garcia de León, G. Kotoulas, F. Bonhomme, Zoogéographie infra-spécifique de la mer Méditerranée : analyse des données génétiques populationnelles sur seize espèces atlanto-méditerranéennes (Poissons et Invertébrés), *Vie et Milieu* 47 (4) (1997) 295–305.

[27] J.P. Quignard, Introduction à l'ichthyologie méditerranéenne : aspect général du peuplement, *Bull. Off. Natl Pêches Tun.* 2 (1978) 3–21.

[28] M. Nei, Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, *Genetics* 89 (1978) 583–590.