

Différenciation allozymique multilocus des populations de moule *Mytilus galloprovincialis* Lmk. des côtes marocaines

Hassane Jaziri*, Touria Benazzou

Laboratoire de zoologie, département de biologie, faculté des sciences, BP 1014, av. Ibn Batouta, Agdal,
10106 Rabat, Maroc

Reçu le 18 juillet 2002 ; accepté le 22 octobre 2002

Présenté par Jean Rosa

Abstract – Multilocus allozyme differentiation of mussel populations *Mytilus galloprovincialis* Lmk. from Moroccan coasts. Along the Moroccan coasts, the systematic status of *Mytilus* populations have been for a long time uncertain and confused, due to the use of unreliable morphometric criteria. In the present study, allozyme markers reveal the exclusive existence of *M. galloprovincialis* on Mediterranean and Atlantic coasts. Nei's genetic distances are low and reflect a high gene flow between Atlantic and Mediterranean populations. However, a significant multilocus discontinuity revealed by F-statistics separate southern Atlantic populations from Mediterranean and north Atlantic ones and could be explained by a gene flow breaking because of a larval dispersal decrease, due to a sea surface current direction change from Cap Ghir towards the Canaries archipelago, and probably by differential selection effects in these two geographic areas. **To cite this article:** H. Jaziri, T. Benazzou, C. R. *Biologies* 325 (2002) 1175–1183. © 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

allozymes / Atlantic Ocean / Mediterranean Sea / Morocco / *Mytilus* / phylogeography / systematic status

Résumé – Au Maroc, la systématique du genre *Mytilus* est restée pendant longtemps confuse et incertaine, en raison de l'utilisation de caractères morphométriques peu fiables. Dans le présent travail, l'utilisation des marqueurs allozymiques montre la présence exclusive de *Mytilus galloprovincialis* en Méditerranée et dans l'Atlantique. Les faibles valeurs de distance génétique obtenues reflètent un flux génique important entre les populations atlantiques et méditerranéennes. Cependant, une différenciation multilocus nette prouvée par le paramètre Fst existe entre les populations atlantiques localisées au sud du cap Ghir et celles situées plus au nord et en Méditerranée. Cette divergence pourrait s'expliquer par une sélection différentielle dans ces deux zones et/ou par le changement du sens du courant de surface, principal moyen de dispersion larvaire, qui s'oriente vers l'archipel des Canaries, d'où une rupture possible du flux génique. **Pour citer cet article :** H. Jaziri, T. Benazzou, C. R. *Biologies* 325 (2002) 1175–1183. © 2002 Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

allozymes / Atlantique / Maroc / Méditerranée / *Mytilus* / phylogéographie / systématique

Abridged version

In Morocco, the systematic status of the mussel populations belonging to the genus *Mytilus* have been

for a long time uncertain and confused because of the use of only morphometric criteria in diagnosis. According to these criteria, two presumptive taxa *M. edulis* and *M. galloprovincialis* have been described along the

*Correspondance et tirés à part.

Adresse e-mail : hassanjaziri@hotmail.com (H. Jaziri).

Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. We report here a multilocus allozyme characterisation of eight Moroccan populations from Mediterranean Sea (Nador and Ksar Sghir) and the Atlantic coast (Asilah, Guy-ville, Essaouira, Taghazout, Tantan, and Dakhla). All these populations belong to the *M. galloprovincialis* species according to allelic frequencies at the most diagnostic loci MPI, EST-D, ODH, GPI and LAP using a Mediterranean sample from Sète (southern France) as a reference of the *M. galloprovincialis* taxon.

Allelic frequencies heterogeneity at eight polymorphic loci was tested by F-statistics and reveal no apparent discontinuity between Mediterranean populations (Nador and Ksar Sghir) and the northern Atlantic ones (Asilah, Guy ville and Essaouira) and could be explained by a high gene flow between these two areas in relationship to larval dispersal, which is exclusively under the control of marine current action. Along the Atlantic coast, a significant divergence is observed between the northern populations (Asilah, Guy ville

and Essaouira) and the southern ones (Taghazout, Tantan and Dakhla). This discontinuity is probably due to hydrodynamic and/or differential selection effects in these two different geographic areas. Indeed, at Cap Ghir, exactly between Essaouira and Taghazout, the coastal sea surface current moves towards the Canaries archipelago. Thus, a gene flow breaking caused by an important larval dispersal decrease right through Cap Ghir becomes possible and could explain this divergence. Moreover, coastal ecological factors, especially water temperature, appear to be different in these two areas, and could generate differential selection impact on *M. galloprovincialis* population genotypes.

The reference sample (Sète) diverges significantly from the Mediterranean Moroccan ones. This result could be explained by an Almeria–Oran boundary action as a barrier to larval dispersal between the Alboran Sea, including the Moroccan stations (Nador and Ksar Sghir) and the eastern side, containing Sète.

1. Introduction

La systématique du genre *Mytilus* pose un problème de détermination des espèces à l'échelle mondiale à cause d'une forte plasticité phénotypique génératrice d'une grande variabilité des caractères morphologiques [1], en raison de la possibilité d'hybridation à l'état naturel entre taxons différents à chaque fois qu'ils se trouvent en sympatrie [2–4] et également à cause du caractère cosmopolite de sa distribution géographique antitropicale, qui englobe en effet de larges territoires côtiers des zones médiolittorale et infralittorale des cinq continents. Sur la base des caractères morphologiques (formes de la coquille et de l'empreinte du muscle adducteur antérieur, nombre de dents cardinales), huit taxons ont été décrits. Il s'agit de *M. edulis*, *M. galloprovincialis*, *M. planulatus*, *M. platensis*, *M. chilensis*, *M. desolationis*, *M. coruscus* et *M. californianus*. Le statut taxinomique, souvent incertain, attribué à ces taxons variait entre espèces pour certains auteurs et sous-espèces pour d'autres [5]. Ces controverses, dues à l'insuffisance des caractères morphométriques à établir une diagnose satisfaisante [5–9], ont conduit à la recherche d'autres critères, plus fiables, particulièrement les marqueurs allozymiques et l'ADN mitochondrial et nucléaire. En effet, les travaux pionniers acquis par la technique d'électrophorèse des protéines enzymatiques aux États-Unis [10] et en Europe [11, 12] ont contribué à revoir la systématique de ce genre, de sorte qu'actuellement, trois taxons seulement sont valides et reconnus, à savoir *M. edulis*, *M. gallo-*

provincialis et *M. trossulus* [3]. Ces travaux montrent également qu'à chaque fois que deux taxons se trouvent en sympatrie, ils s'hybrident sur toute la zone de chevauchement ou de contact de leurs aires de distribution géographique, tout particulièrement *M. edulis* et *M. galloprovincialis* [11–15]. Par conséquent, le problème du statut attribué à ces entités taxinomiques demeure posé. Ainsi, pour certains auteurs [4, 8, 16, 17], *M. galloprovincialis* représente une sous-espèce de *M. edulis*, qui se serait différenciée dans la partie méridionale de l'aire de distribution, notamment en Méditerranée, à la suite des événements paléoclimatiques du Pléistocène [18]. Pour d'autres [3], *M. edulis* et *M. galloprovincialis* représentent deux espèces différentes, malgré l'absence de critère diagnostique total. Quoi qu'il en soit, les deux taxons sont génétiquement très différenciés, au point que certains locus allozymiques (MPI, EST-D, ODH et, à un moindre degré, GPI et LAP) sont partiellement diagnostiques [4]. Les haplotypes d'ADN-mt [19, 20] et, plus récemment, les locus mac-1 [21] et Glu-5' [22] d'ADN nucléaire confirment cette divergence. Le polymorphisme à ces marqueurs constitue aujourd'hui un outil performant et par conséquent des plus utilisés dans la diagnose de ces taxons.

Au Maroc, le statut taxinomique des moules du genre *Mytilus* est resté pendant longtemps incertain. Les travaux antérieurs basés sur la morphologie [5, 23–25] mentionnent la présence des deux taxons *M. edulis* et *M. galloprovincialis* sur les côtes atlantique et méditerranéenne. Des résultats préliminaires obtenus à partir de quelques locus allozymiques [26–28] et à partir d'un

seul locus d'ADN nucléaire [21] avaient signalé la présence de *M. galloprovincialis*.

Le présent travail a pour objectifs de clarifier le statut taxinomique de *Mytilus galloprovincialis*, des côtes marocaines depuis l'extrémité est de la Méditerranée (Nador) jusqu'aux zones les plus méridionales du Sahara marocain (baie de Dakhla), et d'appréhender le niveau de différenciation génétique entre les populations peuplant les côtes atlantiques et méditerranéennes. Les marqueurs allozymiques utilisés et un échantillonnage représentatif, tant par le nombre de locus et de stations analysés que par la taille de ces échantillons, devraient permettre d'atteindre ces objectifs.

2. Matériel et méthodes

2.1. Échantillonnage

Huit stations couvrant et représentant l'ensemble du littoral marocain depuis la zone la plus orientale de la Méditerranée jusqu'aux régions les plus méridionales du Sahara marocain ont été échantillonnées (Fig. 1). Il s'agit de Nador (NDR) en Méditerranée, de Ksar-Sghir

(KSG), située au large du détroit de Gibraltar et d'Asilah (ASL), de Guy-ville (GVL), d'Essaouira (ESR), de Taghazout (TGZ), de Tantan (TNT) et de Dakhla (DKL), sur la côte atlantique. De plus, un échantillon témoin, composé de 23 individus, représentant le taxon *M. galloprovincialis* (SET) provenant de Sète (côte méditerranéenne française), est étudié et servira de référence dans la diagnose des populations marocaines. En effet, conformément aux travaux antérieurs (cités plus haut), le polymorphisme aux locus les plus diagnostiques (MPI, EST-D, ODH, GPI et LAP) est envisagé ici et servira d'outil dans ce sens.

Dans chaque station, un échantillon de 50 individus adultes récoltés à l'intérieur d'une large superficie de la zone intertidale exondant à marée basse a été prélevé au hasard, en évitant notamment de prélever plusieurs individus à partir d'un même agrégat ou d'échantillonner le long d'une même ligne parallèle ou perpendiculaire au niveau de marée. Les collectes ont eu lieu au cours de trois campagnes échelonnées entre janvier 1997 et juin 2000. Ainsi les échantillons DKL et GVL ont été collectés en janvier 1997, NDR, KSG et ASL, en avril 1997 et enfin ESR, TGZ et TNT en juin 2000.

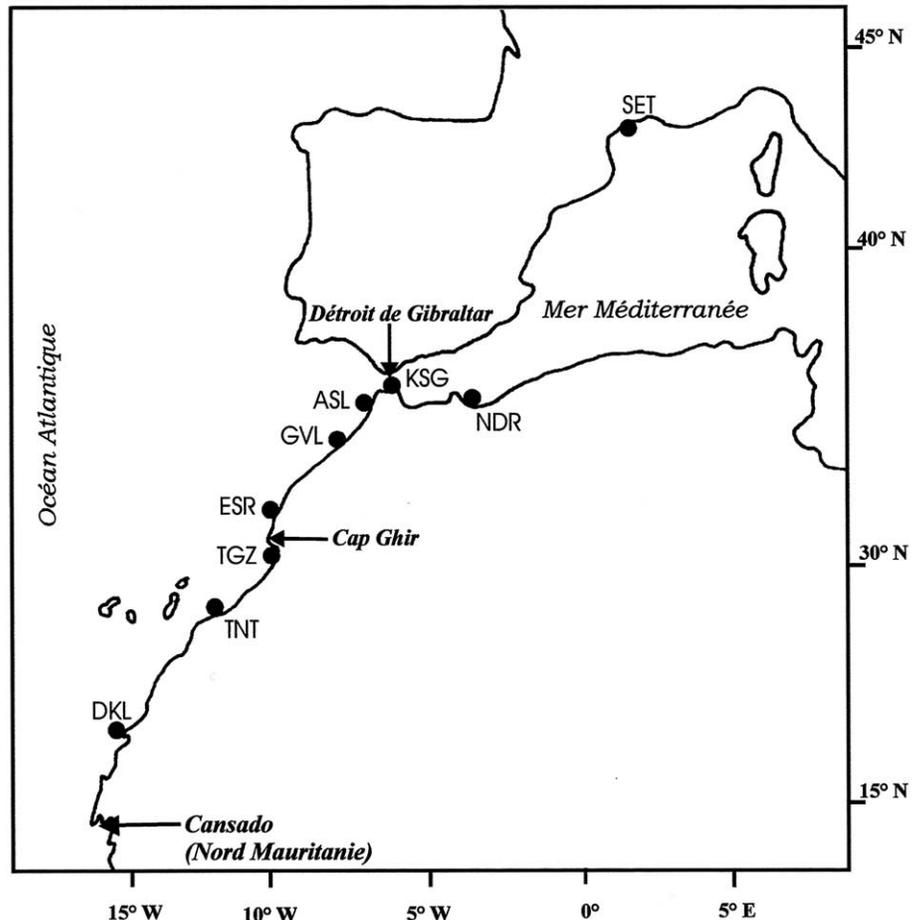


Fig. 1. Localisation des stations d'échantillonnage des populations de moule du genre *Mytilus* sur les côtes du Maroc : NDR (Nador) en Méditerranée, KSG (Ksar Sghir) au large du détroit de Gibraltar, et ASL (Asilah), GVL (Guy ville), ESR (Essaouira), TGZ (Taghazout), TNT (Tantan) et DKL (Dakhla) sur le littoral atlantique, ainsi qu'un échantillon de référence (SET) représentant le taxon *Mytilus galloprovincialis* provenant de Sète (Méditerranée française).

2.2. Électrophorèse

Les individus prélevés ont été ramenés vivants au laboratoire dans une glacière. Dès leur arrivée, ils sont stockés au congélateur (-30°C) jusqu'aux dissections. Sur chaque individu disséqué, des fragments de muscles adducteurs et de glande digestive ont été prélevés, homogénéisés dans du tampon Tris-HCl 0,1 M pH 6,8 et centrifugés à 12 000 tours/minute. Les surnageants contenant les extraits d'enzymes solubles ont été récupérés et conservés à -30°C . Les électrophorèses ont été réalisées sur des gels horizontaux d'amidon à 12% et à voltage constant (100 V). Treize systèmes enzymatiques (AAT, EST-D, GPI, IDH, LAP, MDH, ME, MPI, ODH, 6-PGD, PGM, SDH et SOD) codés par 16 locus sont retenus dans la présente étude. Ces mêmes locus sont communément étudiés dans les populations naturelles du genre *Mytilus*, comme en témoignent les travaux antérieurs [3, 4, 8–15], ce qui offre et justifie des comparaisons avec ces derniers. Les conditions expérimentales d'électrophorèse des différents systèmes enzymatiques retenus dans la présente étude sont récapitulées dans le [Tableau 1](#).

2.3. Traitements statistiques

Les résultats bruts obtenus par électrophorèse sont soumis à des traitements statistiques permettant de calculer les fréquences alléliques aux locus polymorphes et d'analyser le degré de différenciation génétique inter-stations par :

– le paramètre F_{st} [33, 34], d'après l'estimateur θ [35], permettant de tester l'hétérogénéité des fréquences alléliques entre différents échantillons pris par paires à cha-

que locus polymorphe ; des valeurs moyennes multilocus de θ sont ensuite calculées en prenant en considération l'ensemble des locus polymorphes analysés ; θ varie de 0 (absence totale d'hétérogénéité donc de différenciation) à 1 (divergence maximale) ; les valeurs négatives qui apparaissent parfois sont dues simplement au mode de calcul des estimateurs et sont automatiquement assimilées à 0 ; le caractère significatif des valeurs trouvées est vérifié d'après le test des permutations [36], après ajustement séquentiel de Bonferroni [37] ;

– la distance génétique, calculée d'après l'indice de Nei [38], communément appelé distance standard (D_s) de Nei, estimée à partir des fréquences alléliques observées pour chaque locus ; des moyennes D_s tenant compte de l'ensemble des locus étudiés (y compris les monomorphes) sont ensuite calculées ; seules les valeurs D_s obtenues entre échantillons ou groupes d'échantillons dont les fréquences alléliques sont significativement différentes présentent un intérêt réel et peuvent être interprétées [39] ; dans ce cas, elles servent à établir les relations phylogénétiques entre les populations étudiées représentées sous forme de dendrogramme UPGMA.

Les traitements statistiques sont effectués par la version 4 du logiciel GENETIX [36].

3. Résultats

3.1. Locus diagnostiques

L'analyse des fréquences alléliques ([Tableau 2](#)) montre clairement que tous les échantillons marocains s'apparentent à l'échantillon témoin de Sète et, par

Tableau 1. Conditions expérimentales d'électrophorèse des enzymes étudiées chez la moule *Mytilus galloprovincialis* Lmk. des côtes atlantique et méditerranéenne du Maroc.

Système enzymatique	E.C.N. ^(*)	Nombre de locus	Tissu(s)	Tampon
AAT : Aspartate amino transférase	2.6.1.1	2	m.a., m.d.	Tris-citrate pH 7 : T.C. 7 [29]
EST-D : Estérase-D	3.1.1.1	1	m.d.	Phospho-citrate pH 6,3 : P.C. 6,3 [30]
GPI : Glucose-phosphate isomérase	5.3.1.9	1	m.a.	Tris-citrate pH 8 : T.C. 8 [31]
IDH : Isocitrate déshydrogénase	1.1.1.42	2	m.a.	T.C. 7 [29]
LAP : Leucine amino peptidase	3.4.11.–	1	m.d.	P.C. 6,3 [30]
MDH : Malate déshydrogénase	1.1.1.37	1	m.a.	Tris-citrate EDTA pH 8,6 : T.C.E. 8,6 [32]
ME : Malico-enzyme	1.1.1.40	2	m.a.	T.C.E. 8,6 [32]
MPI : Mannose-6-phosphate isomérase	5.3.1.8	1	m.a.	T.C. 8 [31]
ODH : Octopine déshydrogénase	1.5.1.11	1	m.a.	T.C. 8 [31]
6-PGD : 6-Phosphoglucose déshydrogénase	1.1.1.44	1	m.a.	Tris-citrate pH 6,7 : T.C. 6,7 [30]
PGM : Phosphoglucomutase	2.7.5.1.	1	m.a.	T.C. 8 [31]
SDH : Sorbitol déshydrogénase	1.1.1.14	1	m.a.	T.C.E. 8,6 [32]
SOD : Superoxyde dismutase	1.15.1.1	1	m.a.	T.C.E. 8,6 [32]

(*) : *Enzyme Commission Number* ou code universel.

m.a. : muscle adducteur.

m.d. : masse digestive.

Tableau 2. Fréquences alléliques à 16 locus enzymatiques dans huit échantillons de moules du genre *Mytilus* des côtes méditerranéenne et atlantique du Maroc et un échantillon témoin de *Mytilus galloprovincialis* Lmk. provenant de Sète (Méditerranée française).

		SET	NDR	KSG	ASL	GVL	ESR	TGZ	TNT	DKL
AAT ₂		23*	49	50	50	50	59	50	50	48
	93	0,024	0,020	0,040	0,040	0,040	0,017	0,010	—	—
	100	0,905	0,970	0,940	0,960	0,940	0,975	0,990	0,990	1,000
EST-D	110	0,071	0,010	0,020	—	0,020	0,008	—	0,010	—
		20	48	50	50	50	60	47	45	50
	90	—	0,080	0,020	0,020	0,040	0,033	0,020	0,020	0,010
	100	0,976	0,830	0,860	0,870	0,830	0,858	0,950	0,960	0,970
	112	—	0,050	0,050	0,080	0,100	0,017	—	—	—
GPI	120	0,238	0,040	0,070	0,030	0,030	0,092	0,030	0,020	0,020
		22	50	48	50	50	60	50	50	50
	75	—	0,020	0,020	0,020	0,020	0,017	—	—	—
	80	0,024	0,080	0,050	0,070	0,080	0,067	0,030	0,030	0,020
	100	0,786	0,530	0,540	0,580	0,580	0,658	0,730	0,740	0,760
	105	0,190	0,330	0,340	0,320	0,260	0,242	0,240	0,230	0,220
	110	—	0,040	0,050	0,010	0,040	0,017	—	—	—
IDH ₁	125	—	—	—	—	0,020	—	—	—	—
		21	50	50	47	50	60	58	48	50
	70	0,024	0,030	0,020	—	0,020	0,017	0,040	0,040	0,030
	75	0,143	0,140	0,100	0,100	0,090	0,208	0,320	0,300	0,290
	80	—	—	—	0,020	0,110	—	—	—	—
	100	0,833	0,830	0,870	0,820	0,760	0,775	0,630	0,660	0,680
LAP	110	—	—	0,010	0,060	0,020	—	0,010	—	—
		23	50	50	50	50	60	50	50	46
	74	—	0,020	0,020	0,020	0,020	—	—	—	—
	80	0,047	0,020	—	0,060	0,060	0,017	0,020	—	—
	90	0,262	0,390	0,380	0,280	0,300	0,367	0,290	0,280	0,280
	100	0,667	0,500	0,510	0,550	0,540	0,550	0,650	0,660	0,700
ODH	105	0,024	0,070	0,090	0,090	0,080	0,066	0,040	0,060	0,020
		23	47	49	50	50	60	50	50	46
	95	0,071	0,020	—	—	—	0,017	—	—	—
	100	0,595	0,680	0,770	0,750	0,790	0,808	0,910	0,920	0,920
	110	0,047	0,100	0,050	0,070	0,080	0,058	—	0,020	—
6-PGD	120	0,287	0,200	0,180	0,180	0,130	0,117	0,090	0,060	0,080
		20	49	50	50	50	60	50	48	50
	70	0,048	0,080	0,060	0,020	0,050	0,033	—	—	0,010
	100	0,904	0,910	0,900	0,940	0,930	0,970	1,000	1,000	0,990
PGM	125	0,048	0,010	0,040	0,040	0,020	—	—	—	—
		23	50	49	50	50	56	50	50	45
	80	0,071	0,040	0,020	—	0,040	—	0,020	—	—
	90	0,262	0,250	0,250	0,260	0,220	0,267	0,160	0,090	0,080
	100	0,643	0,650	0,560	0,590	0,490	0,542	0,760	0,830	0,820
	105	—	—	—	—	0,060	—	—	—	—
AAT ₁	110	0,024	0,060	0,170	0,150	0,190	0,191	0,060	0,080	0,100
		18	43	42	46	40	51	40	44	45
IDH ₂	100	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		20	46	49	50	44	53	50	46	50
MDH	100	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		23	48	45	50	50	58	47	50	49
ME ₁	100	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		23	50	49	50	50	60	50	48	50
ME ₂	100	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		23	48	50	50	50	60	50	50	48
MPI	100	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		23	47	49	50	47	56	50	46	50
SDH	100	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		22	50	47	48	50	59	50	50	50
	100	1	1	1	1	1	1	1	1	1

* : Effectif analysé dans chaque population à chaque locus.

— : Absence de l'allèle considéré.

conséquent, qu'ils appartiennent tous au taxon *M. galloprovincialis*. En effet, au niveau du locus MPI (le plus diagnostique), le même allèle fixé à Sète existe dans toutes les stations marocaines. En plus, au niveau des autres locus partiellement diagnostiques, ODH, EST-D, LAP et GPI, les fréquences des allèles 100 (les plus communs) pour chacun de ces locus dans l'échantillon témoin et dans ceux du Maroc sont très proches : les petites différences qui existent sont, en fait, du même ordre de grandeur que celles que l'on trouve communément entre populations conspécifiques de bivalves marins, en particulier celles de *M. galloprovincialis* [8, 9, 15, 40]. Le caractère significatif de ces différences sera testé ci-après (§ 3.2) et servira à établir le degré de différenciation entre les populations méditerranéennes et atlantiques, appartenant toutes au taxon *M. galloprovincialis*.

3.2. Paramètre Fst

Le calcul du paramètre Fst d'après l'estimateur θ en considérant à chaque fois les stations deux à deux et en testant toutes les combinaisons possibles (Tableau 3) montre (1) que l'échantillon de Sète présente une différenciation significative avec les populations du Maroc aussi bien méditerranéennes qu'atlantiques, et (2) qu'en ce qui concerne les stations marocaines, on note clairement l'existence de deux groupes génétiquement différenciés : le premier (Atlantique sud) comprend les stations qui se trouvent au sud d'Essaouira, à savoir TGZ, TNT, et DKL ; le second (Méditerranée–Atlantique nord) réunit les stations atlantiques d'Essaouira ESR et celles situées plus au Nord GVL et ASL, ainsi que celles du littoral méditerranéen KSG et NDR. En effet, les valeurs de θ obtenues entre les stations d'un même groupe sont faibles et traduisent une hétérogénéité génétique statistiquement non significative. En revanche, pour toutes les combinaisons associant une station du premier groupe à une autre du second, les valeurs du paramètre θ sont élevées et

montrent une divergence significative au seuil de 1% ($p < 0.01$) d'après le test des permutations, établi ici sur la base de 1000 tirages aléatoires.

3.3. Distance génétique D_s

Les valeurs de D_s obtenues entre les neuf stations étudiées prises deux à deux sont reportées dans le Tableau 4. Elles confirment le résultat précédent, obtenu d'après le paramètre Fst. En effet, là aussi, les valeurs de D_s mettent en évidence les deux groupes précédemment révélés par l'indice θ . À l'intérieur de chaque groupe, ces valeurs sont très faibles, variant de 10^{-3} à 4×10^{-3} à l'intérieur du groupe Méditerranée–Atlantique nord, et de 0 à 10^{-3} à l'intérieur du groupe Atlantique sud. Entre les représentants des premier et deuxième groupe, elles sont nettement plus élevées et varient de 6×10^{-3} (ESR/TGZ) à 13×10^{-3} (KSG/DKL). Sur le dendrogramme UPGMA (Fig. 2) construit à partir de la matrice des distances D_s (Tableau 4), les deux groupes précédemment identifiés s'individualisent nettement. Le nœud représentant le point de dichotomie entre les deux groupes correspond à une valeur de D_s proche de 11×10^{-3} unité. Les branchements à l'intérieur de chaque groupe n'ont pas d'importance, car l'hétérogénéité des fréquences alléliques testée par le paramètre Fst n'est pas significative. L'échantillon témoin de Sète, malgré sa différenciation par rapport à tous les échantillons marocains, se rattache nettement au groupe Méditerranée–Atlantique nord.

4. Discussion

Le résultat obtenu d'après l'analyse des locus ayant une haute valeur diagnostique comme MPI et à moindre degré ODH et EST-D montre que les populations du littoral marocain appartiennent exclusivement au taxon *M. galloprovincialis*, depuis l'extrémité est de la Méditerranée, représentée par Nador (NDR), jusqu'aux zones

Tableau 3. Moyennes multilocus du paramètre θ [35] estimées entre huit échantillons de moule (*Mytilus galloprovincialis*) des côtes atlantique et méditerranéenne du Maroc, plus un échantillon témoin provenant de la Méditerranée française (Sète).

	NDR	KSG	ASL	GVL	ESR	TGZ	TNT	DKL
SET	0,0132*	0,0193*	0,0104*	0,0178*	0,0190*	0,0356*	0,0500*	0,0481*
NDR		-0,0047	-0,0024	0,0028	0,0047	0,0403*	0,0517*	0,0564*
KSG			-0,0067	-0,0026	-0,0019	0,0439*	0,0558*	0,0587*
ASL				-0,0061	-0,0017	0,0322*	0,0438*	0,0464*
GVL					-0,0013	0,0333*	0,0447*	0,0477*
ESR						0,0204*	0,0325*	0,0349*
TGZ							-0,0108	-0,0095
TNT								-0,0128

* : Écart significatif ($p < 0,01$) d'après le test des permutations [36] établi ici à partir de 1000 tirages aléatoires, après ajustement séquentiel de Bonferroni [37].

Tableau 4. Matrice des distances D_s [38] entre huit échantillons de moule (*Mytilus galloprovincialis*) des côtes atlantique et méditerranéenne du Maroc, plus un échantillon témoin provenant de la Méditerranée française (Sète).

$D_s \times 10^3$	NDR	KSG	ASL	GVL	ESR	TGZ	TNT	DKL
SET	8	9	7	9	8	10	12	11
NDR		2	2	4	4	10	12	12
KSG			1	2	2	11	12	13
ASL				1	2	8	10	10
GVL					2	9	10	11
ESR						6	8	8
TGZ							0	1
TNT								0

les plus confinées du Sahara marocain (baie de Dakhla) sur le littoral atlantique. Ce résultat concorde avec les données antérieures obtenues par l’analyse des marqueurs allozymiques et/ou d’ADN mitochondrial, qui montrent que *M. galloprovincialis* occupe une aire de distribution géographique comprenant le littoral atlantique et méditerranéen de la péninsule ibérique [20, 40, 41], la Méditerranée française [15] et également avec celles d’ADN nucléaire au locus mac-1 [21], qui révèlent la présence de *M. galloprovincialis*, encore plus au sud de Dakhla, précisément dans la région de Cansado en Mauritanie (Fig. 2).

Les analyses statistiques (Fst) ont mis en évidence l’existence de deux groupes de populations génétiquement différenciés, répartis sur deux aires géographiques contiguës : la zone Atlantique sud, englobant l’ensemble du littoral atlantique marocain au sud d’Essaouira,

d’une part, et la zone Méditerranée–Atlantique nord, comprenant la tranche du littoral atlantique allant d’Essaouira jusqu’au détroit de Gibraltar au nord et intégrant aussi la côte méditerranéenne du Maroc, d’autre part. La frontière entre ces deux zones se situe quelque part entre Essaouira et Agadir. Cette discontinuité, clairement établie par une hétérogénéité significative au niveau des fréquences alléliques, peut s’expliquer par les éléments suivants.

– (1) Une rupture brusque du flux génique : chez la moule, comme d’ailleurs chez tous les Invertébrés marins sessiles ou sédentaires à l’état adulte, le flux génique est sous le contrôle exclusif de la phase larvaire pélagique. Cette phase du cycle biologique, pourtant de courte durée (une à trois semaines [5]), contribue efficacement à la dispersion. En effet, les larves pélagiques peuvent effectuer des migrations de long trajet [42] sous l’action des grands courants marins (mouvement passif). À l’échelle locale, les larves peuvent également effectuer des déplacements grâce aux cils qui entourent leur corps (mouvement actif). Ceci permet de comprendre l’homogénéité génétique sur de longues distances, en particulier, dans notre cas, entre la Méditerranée et l’Atlantique, qui peut s’expliquer par un effet homogénéisateur du courant de surface sortant de la Méditerranée [43] et baignant la côte atlantique du Maroc, mais soulève en même temps une autre question, qui est de savoir pourquoi le flux génique s’interrompt brusquement, ou du moins fléchit considérablement, entre les populations du premier groupe et celles du second. La réponse tient vraisemblablement au fait que, justement au niveau du cap Ghir, exactement entre Essaouira et Taghazout (Fig. 1), le courant marin longeant la côte change complètement de direction et s’oriente vers l’archipel des Canaries [44], ce qui empêcherait par conséquent les larves pélagiques de la moitié nord d’atteindre les zones adjacentes situées au sud du cap Ghir, d’où la rupture brusque du flux génique observée ici.

– (2) Un changement important au niveau des conditions écologiques du milieu : il est important de signa-

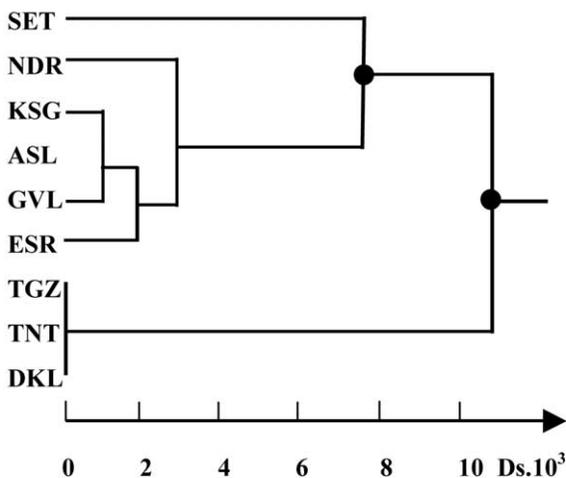


Fig. 2. Dendrogramme UPGMA établi à partir des distances D_s [38] à 16 locus enzymatiques entre huit échantillons de moules (*Mytilus galloprovincialis*) des côtes atlantique et méditerranéenne du Maroc, plus un échantillon témoin provenant de la Méditerranée française (Sète). • : points de dichotomie les plus significatifs.

ler à ce sujet que le cap Ghir constitue, pour bon nombre d'espèces marines, une limite méridionale infranchissable, qui délimite leur aire de répartition géographique, notamment des bivalves comme *Litophaga litophaga* [45] et l'huître plate *Ostrea edulis* [46, 47]. Si de tels changements se confirmaient au niveau des variables abiotiques, telles que la température, et coïncidaient avec un dépassement des seuils de tolérance, en particulier au cours des stades de développement post-embryonnaire et juvénile, ils compromettraient les chances de survie de ces organismes dans ce type de milieu. Chez la moule, des effets sélectifs différentiels dans ces deux zones biogéographiques pourraient être à l'origine de la différenciation génétique entre les deux compartiments, révélée dans la présente étude, ou du moins y contribuer, à côté des facteurs hydrodynamiques.

– (3) Dans la mesure où *M. galloprovincialis* n'est pas décrite au-delà du Nord de la Mauritanie [21], hormis sur les côtes de l'Afrique du Sud, où sa présence est expliquée par l'introduction de l'espèce dans cette région [48], le groupe Atlantique sud, mis en évidence dans le présent travail, occupe donc la limite méridionale de l'aire de distribution de *M. galloprovincialis* sur le littoral atlantique. Sur le plan évolutif, une telle situation s'accompagne inévitablement de changements significatifs au niveau des fréquences alléliques dans les populations périphériques, sous l'action combinée de plusieurs facteurs, les uns intrinsèques de nature génétique (mutations différentielles), les autres exogènes, liés essentiellement à des effets de sélection naturelle et de dérive génétique, surtout en présence de barrières physiques fonctionnelles s'opposant au flux génique, telles que celle soulevée ici, manifestée par le « grand courant des Canaries », que l'on peut baptiser front cap Ghir–Canaries. Ce qui accentue par conséquent le degré de différenciation génétique des populations périphériques par rapport à celles de la partie centrale de l'aire de répartition.

Concernant l'absence de discontinuité (Tableau 3) entre les populations méditerranéennes (Nador et Ksar Sghir) et leurs plus proches voisins géographiques du littoral atlantique (Asilah, Guy ville et Essaouira), ce résultat concorde parfaitement avec les données obtenues à partir du locus mac-1 d'ADN nucléaire [21] sur des populations marocaines de Méditerranée (Tétouan, se trouvant à ~30 km à l'est de Ksar Sghir étudiée ici) et de la côte atlantique (Témara, située à moins de 3 km de la localité de Guy ville, analysée dans la présente étude). En effet, aucune divergence significative de fréquences alléliques n'a été détectée par l'utilisation du paramètre Fst (utilisé également dans la présente étude) entre Tétouan et Témara. Il concorde également avec les résultats obtenus sur les populations atlantiques et méditerranéennes (jusqu'à Almeria) de la péninsule Ibérique, par l'utilisation des marqueurs allozymiques [40] et d'ADN-mt [20, 41]. Cette homogénéité génétique est expliquée par le déversement important des eaux atlantiques en Méditerranée occidentale à travers le détroit de Gibraltar, accompagné d'une dispersion massive des larves. La mer d'Alboran, délimitée par le front Almeria–Oran [49] est considérée, à ce juste titre d'ailleurs, comme une annexe de l'Atlantique. La divergence de la population de Sète par rapport aux autres populations marocaines de Méditerranée (Nador et Ksar Sghir) peut s'expliquer justement par le fait que Sète se trouve plus à l'est de cette frontière marine, qui joue le rôle de barrière à la dispersion larvaire. Toutefois, d'après les résultats obtenus au locus mac-1 [50], les populations européennes de *M. galloprovincialis* vivant sur la côte atlantique de la péninsule Ibérique divergent sensiblement par rapport à leurs homologues méditerranéennes, sous l'effet d'une introgression possible le long du littoral atlantique d'Europe du génotype *M. galloprovincialis* par celui de *M. edulis*.

Enfin, même si la population de Sète est génétiquement différenciée par rapport à toutes ses homologues marocaines, comme le prouve le paramètre Fst (Tableau 3), elle présente néanmoins nettement plus d'affinités phylogénétiques avec le groupe Méditerranée–Atlantique nord. Ce dernier constat est illustré sur le dendrogramme UPGMA établi d'après le calcul de la distance standard D_s de Nei (Fig. 2) et peut s'expliquer vraisemblablement par une histoire commune de mise en place des peuplements en relation avec les événements paléoclimatiques qu'a connus la Méditerranée au cours du Plio-Quaternaire [18].

Enfin, même si la population de Sète est génétiquement différenciée par rapport à toutes ses homologues marocaines, comme le prouve le paramètre Fst (Tableau 3), elle présente néanmoins nettement plus d'affinités phylogénétiques avec le groupe Méditerranée–Atlantique nord. Ce dernier constat est illustré sur le dendrogramme UPGMA établi d'après le calcul de la distance standard D_s de Nei (Fig. 2) et peut s'expliquer vraisemblablement par une histoire commune de mise en place des peuplements en relation avec les événements paléoclimatiques qu'a connus la Méditerranée au cours du Plio-Quaternaire [18].

Remerciements. Les auteurs tiennent à remercier particulièrement F. Bonhomme (université Montpellier-2) pour ses critiques et commentaires pertinents concernant le manuscrit, P. Borsa (université Montpellier-2) pour leur avoir fourni l'échantillon de Sète, le secrétariat d'État à la Recherche scientifique (gouvernement marocain) pour le soutien financier et J. Rosa pour avoir accepté de présenter cette note.

Références

[1] R. Seed, Factors influencing shell shape in the mussel *Mytilus edulis*, J. Mar. Biol. Ass. UK 48 (1968) 561–584.

[2] P. Lubet, G. Prunus, M. Masson, D. Bucaille, Recherches expérimentales sur l'hybridation de *Mytilus edulis* L. et *M. galloprovincialis* Lmk. (Mollusques, Lamellibranches), Bull. Soc. Zool. Fr. 109 (1984) 87–98.

[3] R.K. Koehn, The genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus*, Aquaculture 94 (1991) 125–145.

- [4] J.P.A. Gardner, *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.) (Bivalvia: Mollusca): the taxonomic status of the Mediterranean mussel, *Ophelia* 35 (1992) 219–243.
- [5] P. Lubet, Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1818), Synopsis FAO sur les pêches, n° 88, FAO, Rome, 1973, 43 p.
- [6] R. Seed, Morphological variation in *Mytilus* from the French coasts in relation to the occurrence and distribution of *Mytilus galloprovincialis*, *Cah. Biol. Mar.* 13 (1972) 357–384.
- [7] R. Seed, The systematics and evolution of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk), in: B. Battaglia, J.A. Beardmore (Eds.), *Marine Organisms: Genetics, Ecology and Evolution*, Plenum Press, New York, 1978, pp. 447–468.
- [8] E.M. Gosling, The systematic status of *Mytilus galloprovincialis* in western Europe: a review, *Malacologia* 25 (1984) 551–568.
- [9] A.R. Beaumont, R. Seed, P. Garcia-Martinez, Electrophoretic and morphometric criteria for the identification of the mussels *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*, in: J.S. Ryland, P.A. Tyler (Eds.), *Reproduction, genetics and distributions of marine organisms*, Olsen and Olsen Publishers, Fredensborg, Denmark, 1989, pp. 251–258.
- [10] R.K. Koehn, R. Milkman, J.B. Mitton, Population genetics of marine Pelecypods: selection, migration and genetic differentiation in the blue mussel *Mytilus edulis*, *Evolution* 30 (1976) 2–32.
- [11] D.O.F. Skibinski, M. Ahmad, J.A. Beardmore, Genetic evidence for naturally occurring hybrids between *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis*, *Evolution* 32 (1978) 354–364.
- [12] D.O.F. Skibinski, T.F. Cross, M. Ahmad, Electrophoretic investigation of systematic relationships in the marine mussels *Modiolus modiolus*, *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis* in the British Isles, *Biol. J. Linn. Soc.* 13 (1980) 65–73.
- [13] D.O.F. Skibinski, J.A. Beardmore, T.F. Cross, Aspects of the population genetics of *Mytilus* (*Mytilidae*; *Mollusca*) in the British Isles, *Biol. J. Linn. Soc.* 19 (1983) 137–183.
- [14] S.L. Varvio, R.K. Koehn, K. Vainölä, Evolutionary genetics of the *Mytilus edulis* complex in the North Atlantic region, *Mar. Biol.* 98 (1988) 51–60.
- [15] C. Coustau, F. Renaud, B. Delay, Genetic characterisation of the hybridization between *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis* on the Atlantic coast of France, *Mar. Biol.* 111 (1991) 87–93.
- [16] E.M. Gosling, Systematics and geographical distribution of *Mytilus*, in: E.M. Gosling (Ed.), *The mussel Mytilus: ecology, physiology, genetics and culture*, Elsevier, Amsterdam, 1992, pp. 1–20.
- [17] R. Vainölä, M.M. Hvilson, Genetic divergence and a hybrid zone between Baltic and North Sea *Mytilus* populations (*Mytilidae*: *Mollusca*), *Biol. J. Linn. Soc.* 43 (1991) 127–148.
- [18] G. Barsotti, C. Melluzzi, Osservazioni su *Mytilus edulis* L., e *M. galloprovincialis* Lmk., *Conchiglia* 4 (1968) 50–58.
- [19] D.O.F. Skibinski, C.A. Edwards, Studies of mitochondrial DNA variation in marine mussels (*Mytilus*), *Proc. World Symp. on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture of fish and shellfish*, Bordeaux, France, 1987, pp. 209–226.
- [20] H. Quesada, C.M. Beynon, D.O.F. Skibinski, A mitochondrial DNA discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk.: Pleistocene vicariance biogeography and secondary intergradation, *Mol. Biol. Evol.* 12 (1995) 521–524.
- [21] C. Daguin, P. Borsa, Genetic characterisation of *Mytilus galloprovincialis* Lmk. in Northwest Africa using nuclear DNA markers, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 235 (1999) 55–65.
- [22] C. Daguin, P. Borsa, Genetic relationships of *Mytilus galloprovincialis* Lamarck worldwide: evidence from nuclear-DNA markers, in: E.M. Harper, J.D. Taylor (Eds.), *The Evolutionary Biology of the Bivalvia*, Geological Society, London, Special Publication 177, 2000, pp. 389–397.
- [23] C. Pasteur-Humbert, Les mollusques marins testacés du Maroc. Les Lamellibranches et les Scaphopodes, *Trav. Inst. Chérif., Rabat (Maroc)* 23 (1962) 1–245 42 pl., 1 carte.
- [24] C. Bellon-Humbert, Les mollusques marins testacés du Maroc, Premier supplément, *Trav. Inst. Chérif., Rabat (Maroc)* 37 (1973) 1–144, 23 pl.
- [25] N.E. Zine, M. Menioui, Le peuplement malacologique de la lagune méditerranéenne de Nador (Maroc) : état des connaissances, *Mar. Life* 2 (1992) 39–45.
- [26] H. Jaziri, T. Benazzou, Biogéographie évolutive des *Mytilidae* des côtes marocaines: statut taxinomique et répartition géographique, *Abstr. Premier Congrès National de Génétique et de Biologie Moléculaire, Agadir (Maroc)*, 14–17 novembre 1997, p. 60.
- [27] H. Jaziri, A. Yahyaoui, L. Riad, T. Benazzou, Diversité génétique des ressources marines du littoral marocain: contribution à une meilleure exploitation, *Proc. First International Conference on Biodiversity and renewable natural resources preservation*, Ifrane, (Morocco), 13–15 May 1999, pp. 237–243.
- [28] H. Jaziri, T. Benazzou, Les populations du genre *Mytilus* au Maroc : statut taxinomique et répartition géographique, *Proc. 36th CIESM Congress, Monte Carlo (Monaco)*, 36, 2001, p. 394.
- [29] F.J. Ayala, J.R. Powell, M.L. Tracey, C.A. Mourao, S. Perez-Salas, Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group. IV. Genic variation in natural populations of *Drosophila willistoni*, *Genetics* 70 (1972) 113–139.
- [30] N. Pasteur, G. Pasteur, F. Bonhomme, J. Catalan, J. Britton-Davidian, Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines, Tec&Doc Lavoisier, Paris, 1987.
- [31] R.K. Selander, M.H. Smith, S.H. Yang, W.E. Johnson, J.B. Gentry, Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*), *Stud. Genet., Univ. Texas Publ.* VI (7103) (1971) 49–90.
- [32] B.A. Schaal, W.W. Anderson, An outline of techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from the American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin, *Tech. Rep. Ser. Ga. Mar. Sci. Cent. Savannah, GA* 74 (1974) 1–17.
- [33] S. Wright, The genetical structure of populations, *Ann. Eugen.* 15 (1951) 322–354.
- [34] S. Wright, *Evolution and genetics of populations*, Vol. 2. Theory of gene frequencies, University of Chicago Press, Chicago, USA, 1969.
- [35] B.S. Weir, C.C. Cockerham, Estimating F-statistics for the analysis of population structure, *Evolution* 38 (1984) 1358–1370.
- [36] K. Belkhir, P. Borsa, L. Chikhi, J. Goudet, F. Bonhomme, Genetix version 4, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations, UPR CNRS 9060, université Montpellier-2, France, 1996–2001.
- [37] W. Rice, Analyzing tables of statistical tests, *Evolution* 43 (1989) 223–225.
- [38] M. Nei, Genetic distance between populations, *Amer. Natur.* 106 (1972) 283–292.
- [39] M. Katz, Étude des propriétés de certains indices de distance génétique et de leurs estimateurs, thèse, université Paris-7, 1986, 172 p.
- [40] H. Quesada, C. Zapata, G. Alvarez, A multilocus allozyme discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis*: the interaction of ecological and life-history factors, *Mar. Biol. Prog. Ser.* 116 (1995) 99–115.
- [41] A. Sanjuan, A.S. Comesana, A. De Carlos, Macrogeographic differentiation by mtDNA restriction site analysis in the SW European *Mytilus galloprovincialis* Lmk, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 198 (1996) 89–100.
- [42] R.S. Scheltema, I.P. Williams, Long-distance dispersal of planktonic larvae and the biogeography and evolution of some Polynesian and Western Pacific Mollusks, *Bull. Mar. Sci.* 33 (1983) 545–565.
- [43] I.M. Ovchinnikhov, Circulation in the surface and intermediate layers of Mediterranean, *Okeanologika* 6 (1966) 48–59.
- [44] E. Mittelstaedt, The ocean boundary along the NW African coast: circulation and oceanographic properties at the sea surface, *Prog. Oceanogr.* 26 (1991) 307–355.
- [45] M. Menioui, Contribution à la connaissance des peuplements infra-littoraux superficiels des côtes atlanto-méditerranéennes du Maroc (études faunistique, écologique et biogéographique), thèse d'État, université Mohammed-V, Rabat, Maroc, 1988, 256 p.
- [46] G. Ranson, Les espèces d'huîtres vivant actuellement dans le monde définies par leurs coquilles larvaires ou prodissoconques. Étude de quelques-uns des grands musées d'Histoire naturelle, *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 31 (1967) 127–199.
- [47] H. Jaziri, Variations génétiques et structuration biogéographique chez l'huître plate *Ostrea edulis* L., thèse, université Montpellier-2, France, 1990 148 p.
- [48] W.S. Grant, M.I. Cherry, *Mytilus galloprovincialis* Lmk. in South Africa, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 90 (1985) 179–191.
- [49] J. Tintore, P.E. La Violette, I. Blade, G. Cruzado, A study of an intense density front in the eastern Alboran Sea: the Almeria-Oran front, *J. Phys. Oceanogr.* 18 (1988) 1384–1397.
- [50] C. Daguin, F. Bonhomme, P. Borsa, The zone of sympatry and hybridization of *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis*, as described by intron length polymorphism at locus mac-1, *Heredity* 86 (2001) 342–354.