



HAL
open science

**Invasion des côtes françaises par le mollusque exotique
Crepidula fornicata : contribution de la dispersion
larvaire et du système de reproduction au succès de la
colonisation**

Lise Dupont

► **To cite this version:**

Lise Dupont. Invasion des côtes françaises par le mollusque exotique *Crepidula fornicata* : contribution de la dispersion larvaire et du système de reproduction au succès de la colonisation. Biologie de la reproduction. Paris 6, 2004. Français. NNT : . tel-01115712

HAL Id: tel-01115712

<https://hal.sorbonne-universite.fr/tel-01115712>

Submitted on 11 Feb 2015

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

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

Avertissement

Au vu de la législation sur les droits d'auteur, ce travail de thèse demeure la propriété de son auteur, et toute reproduction de cette oeuvre doit faire l'objet d'une autorisation de l'auteur. (cf Loi n°92-597; 1/07/1992. Journal Officiel, 2/07/1992)

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS VI

Spécialité

DIVERSITE DU VIVANT

Présentée par

Mlle Lise DUPONT

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université PARIS VI

**Invasion des côtes françaises par le mollusque exotique
Crepidula fornicata : contribution de la dispersion larvaire
et du système de reproduction au succès de la colonisation.**

Soutenue le 24 novembre 2004, devant le jury composé de :

M. Dominique Davault, Professeur, Université Paris VI	(Président)
M. Jan Pechenik, Professeur, Université Tufts, Medford, USA	(Rapporteur)
M. Pierre Boudry, Chargé de recherche, IFREMER, La Tremblade	(Rapporteur)
M. Guy Bachelet, Directeur de Recherche, CNRS, Arcachon	(Examineur)
M. Patrice David, Chargé de recherche, CNRS, Montpellier	(Examineur)
Mme Frédérique Viard, Chargé de recherche, CNRS, Roscoff	(Directeur de thèse)

REMERCIEMENTS

De nombreuses personnes ont contribué, de mille et une façons, à ce que ce travail de thèse arrive à son terme et je voudrais toutes chaleureusement les remercier, en tentant de n'oublier personne !

Frédérique : MERCI, de m'avoir, dans un premier temps, acceptée en stage de DEA puis de m'avoir fait confiance en me proposant ce travail de thèse. Toute ma gratitude pour ton encadrement scientifique, tes encouragements, ton investissement sans faille durant ces quatre années et tout ce que j'ai appris sous ta tutelle.

Je voudrais ensuite remercier tous les « permanents » de l'équipe EGPM, en particulier Myriam Valéro, pour m'avoir accueillie dans son équipe ; Carolyn Engel, pour de nombreuses discussions et pour avoir corrigé mon anglais ; Claire Daguin, une super organisatrice de laboratoire ; Didier Jollivet, pour de nombreux conseils et Dominique Leguen pour son aide lors des électrophorèses de protéines !

Ce travail n'aurait pas pu être réalisé sans un grand nombre de « collecteurs » de crépidules que je nomme dans le manuscrit et que je remercie chaleureusement. Un grand merci également à Frédéric Olivier et Alexandre Vagne, les organisateurs des missions Benthomont 1 & 2, aux équipages du Côte de la Manche, à l'équipe de plongeurs de la station biologique de Roscoff et aux participants (étudiants et encadrants) du DU de Biologie et d'Ecologie sous-marine de Rennes.

Ce travail a également bénéficié de l'aide de Michel Blanchard, Joelle Richard, Céline Ellien, Eric Thiébault et Thierry Comtet à qui j'ai souvent fait appel et qui m'ont apporté des informations précieuses et parfois bien plus : merci Céline, d'avoir pris du temps pour paramétrer le modèle hydrodynamique et merci Joelle, de t'être occupée de la nurserie de crépidules !

J'ai bénéficié d'un sérieux coup de main de la part de mes quatre stagiaires : Tiphaine, Damien, Dorothée et Hélène (dans l'ordre chronologique). Merci à tous les quatre de vous être penchés avec autant d'enthousiasme sur toutes ces petites crépidules et d'avoir passé des heures à mesurer des coquilles, scruter des pénis et décrypter des génotypes !

Je souhaiterais aussi remercier Nicole et Maryse, du service de documentation de la station biologique de Roscoff, qui m'ont toujours déniché les publications ou les livres que je cherchais désespérément.

Si je remonte un peu plus loin dans le temps, j'ai une pensée pour une ancienne équipe de thésards sétois (Beni, Krostif et Clairotte) qui m'ont donné le goût de la génétique évolutive ; un grand merci à Nicolas Bierne qui m'a appris, lors de mon stage de maîtrise, les rudiments de la PCR et de Genetix (entre autres outils indispensables à notre discipline)!

Merci aux rapporteurs et aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail !

Merci Fred, Myriam, Didier et Thierry, sans oublier Marie, Delphine et Carolyn, d'avoir eu le courage de relire ma prose !

Toutes ces années passées à la station ont été ponctuées par les fêtes, le sport, la danse bretonne et les moments de détente ; j'ai une pensée pour tous ceux qui les ont partagés avec moi : Mélanie, Delphine, Emmanuelle, Baptiste, Magali (une super partenaire de double), Alain (un professeur de danse bretonne émérite), Claire, Marie-Laure. Merci Marie d'avoir été aussi attentionnée ces derniers temps et pour la rapidité de tes « copier-coller » ! Merci Sophie pour tes pauses cafés, tes commérages et les plongées...merci d'avoir cherché tous les moyens de me remonter le moral lors des passages à vide !

Je voudrais remercier tous ceux qui, même de loin, m'ont soutenu et réconforté : mon grand frère Xavier (& Samantha), Annabelle et Stéphanie (il est loin le lycée !), Alix, Sébastien, Fabrice, Sandrine, Sophie V., Sophie & Philippe, Nelly & Cédric.

Un très, très, grand merci à mes parents sans qui tout cela n'aurait pas été possible : merci de votre soutien inconditionnel et d'avoir toujours crû en moi !

Enfin, pour ton soutien inestimable (notamment pendant une période de rédaction douloureuse !) et pour tant d'autres choses...merci Damien.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
i.1 Invasions biologiques et processus de colonisation : convergences et divergences ...	2
i.1.1 Le phénomène d'introduction biologique : un cas spécifique du processus de colonisation	2
i.1.2 Comment distinguer les espèces invasives des espèces colonisatrices et/ou introduites ?	3
i.1.3. Le processus d'introduction biologique : différentes étapes et différents modèles de dispersion	4
i.1.4 Les introductions biologiques en milieu marin : que sait-on des étapes d'expansion et d'intégration ?	4
i.2 Colonisation en milieu marin : le rôle de la phase larvaire.....	6
i.2.1 Capacité de dispersion des espèces marines par voie larvaire	6
i.2.2 Une forte capacité à la dispersion fait-elle d'une espèce une bonne colonisatrice ? ..	7
i.2.3 Les méthodes d'étude de la dispersion en milieu marin	8
i.2.4 Quelles sont les limites au flux de gènes en milieu marin ?	9
i.3 Les stratégies de reproduction des espèces colonisatrices.....	11
i.4 <i>Crepidula fornicata</i> : un modèle biologique pour l'étude du processus de colonisation en milieu marin côtier.....	13
i.4.1 La crépidule : un cas typique parmi les mollusques introduits des bassins conchylicoles	13
i.4.2 Introduction de la crépidule en France : une histoire complexe	14
i.4.3 Impact de la crépidule sur l'habitat et les espèces indigènes	14
i.4.4 Particularité du cycle de vie : une longue phase larvaire	15
i.4.5 Un système de reproduction original	16
i.4.6 Les questions	17
CHAPITRE I : MODES ET STRATEGIES DE DISPERSION.....	18
I.1 Analyse des scénarios d'introduction à l'échelle européenne.....	21
I.1.1. Comparaison de la diversité génétique des populations natives et introduites.....	21
I.1.2. Identification des populations sources	27
I.1.3 Conclusion	30
I.2 Expansion de la crépidule a l'échelle des bassins conchylicoles français.....	31
I.2.1 Quels facteurs jouent un rôle majeur dans la dissémination de l'espèce à l'échelle des côtes Manche-Atlantique ?	31
I.2.2 Mer d'Iroise et Péninsule du Cotentin : des barrières naturelles à la dispersion ? ..	35
I.2.3 Quid de l'influence des gyres à l'échelle d'une baie : le golfe Normano-Breton ? ..	47
I.2.4 Conclusion	52
CHAPITRE II : LES MODALITES DE RECRUTEMENT LOCAL.....	53
II.1 Microstructure et dynamique de recrutement dans une baie fortement colonisée.....	56
II.1.1 Site et populations étudiées	56
II.1.2 Quelle est la structure démographique de <i>C. fornicata</i> dans les populations étudiées en Baie du Mont-St-Michel ?	57
II.1.3 Existe-t'il une variation temporelle de fréquences alléliques dans les populations de <i>C. fornicata</i> ?	62
II.1.4 Conclusion	67
II.2 Dynamique d'installation de la crepidule dans une baie récemment colonisée	68
II.2.1 Site d'étude et stratégie d'échantillonnage.....	69
II.2.2 Densité et répartition des crépidules sur le site d'étude	69

II.2.3	Quelle est la dynamique de recrutement en baie de Morlaix ?.....	70
II.2.4	Quelle est l'origine des recrues en baie de Morlaix : autorecrutement ou apport extérieur ?.....	73
II.2.5	Conclusion.....	76
CHAPITRE III	: UN SYSTEME DE REPRODUCTION ORIGINAL.....	78
III.1	Théorie d'allocation des ressources et protandrie : sex-ratio et taille des morphes sexuels chez <i>C. fornicata</i>	80
III.1.1	Introduction.....	80
III.1.2	La sex-ratio dans les populations de <i>C. fornicata</i>	81
III.1.3	La taille de changement de sexe dans les populations de <i>C. fornicata</i>	83
III.1.4	Conclusion.....	85
III.2	Analyses de paternité chez <i>Crepidula fornicata</i>	86
III.2.1	Introduction.....	86
III.2.2	Matériel et méthodes.....	88
III.2.3	Résultats.....	90
III.2.4	Discussion.....	93
III.2.5	Conclusion et perspectives.....	96
CONCLUSIONS & PERSPECTIVES	97
C.1	Synthèse des résultats	98
C.2	Les clefs du succès de la colonisation	99
C.2.1	Une installation réussie dans les bassins conchylicoles français.....	99
C.2.2	Un processus de colonisation initié par l'homme mais qui se poursuit <i>via</i> la phase larvaire.....	101
C.2.3	Taille démographique et taille efficace des populations.....	103
C.3	Perspectives	104
C.3.1	Les modèles de dispersion.....	104
C.3.2	L'étude de la phase larvaire.....	104
C.3.3	L'étude du déterminisme du sexe.....	105
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	107

ANNEXES

ANNEXE 1 : Inventaire des espèces invasives des bassins conchylicoles de la Manche et de l'Atlantique

ANNEXE 2 : Techniques de révélation des marqueurs allozymiques

ANNEXE 3 : Marqueurs enzymatiques : fréquences alléliques

ANNEXE 4 : Développement de marqueurs microsatellites à partir d'une banque non enrichie

ANNEXE 5 : Conditions d'amplification et de migration des locus microsatellites de *C. fornicata*

ANNEXE 6 : Marqueurs microsatellites : fréquences alléliques

ANNEXE 7 : Matrices d'échanges larvaires et représentations des nuages larvaires

ANNEXE 8 : Structure sexuelle et structure d'âge dans la population Mx1

ANNEXE 9 : Analyses de paternité : génotypes des mères, des larves et des individus des chaînes

ANNEXE 10 : Articles publiés ou en cours de préparation

INTRODUCTION

I.1 INVASIONS BIOLOGIQUES ET PROCESSUS DE COLONISATION : CONVERGENCES ET DIVERGENCES

i.1.1 Le phénomène d'introduction biologique : un cas spécifique du processus de colonisation

Dans sa définition la plus simple, un processus de colonisation est décrit comme l'apparition d'une population dans une localité où l'espèce n'existait pas récemment (Brown & Burdon, 1987). Grâce à ce processus naturel, une espèce a la possibilité d'accroître ses chances de survie en étendant son aire de distribution vers de nouveaux habitats favorables. Par ailleurs, en favorisant l'action des forces évolutives de dérive génétique (i.e. fluctuation aléatoire de la fréquence des gènes liée à un effet d'échantillonnage des gamètes dans une population d'effectif limité ; Wright, 1921) et de sélection (i.e. survie différentielle des individus dans un environnement donné), ce phénomène peut être à l'origine d'événements de spéciation (Carson, 1987). Reznick & Ghalambor (2001) ont notamment montré qu'il existait une forte association entre l'établissement de nouvelles populations dans un nouvel environnement et l'évolution rapide des espèces. En effet, sur 47 études écologiques mettant en évidence des adaptations « contemporaines » (i.e. ayant eu lieu durant les 200 dernières années) et documentant des changements dans la morphologie, les traits de vies, le comportement ou les caractères physiologiques, 41 portaient sur des cas de colonisation et la majorité était attribuable à des influences anthropiques. Par exemple, Byrne & Nichols (1999) ont mis en évidence un changement dans la diapause et le comportement reproductif chez le moustique *Culex pipiens* au cours de la colonisation du « métro » londonien par cet insecte.

Le processus de colonisation de nouveaux sites a lieu lorsqu'une espèce envahit une nouvelle région mais également quand elle recolonise un habitat suite à une perturbation. Une distinction est alors faite entre colonisation primaire (e.g. établissement d'une population dans une aire qui n'était pas occupée par l'espèce) et colonisation secondaire (e.g. réinstallation de l'espèce après une extinction locale). Au cours d'une colonisation secondaire, la source de propagules est proche de l'aire altérée tandis que la colonisation primaire peut impliquer une dispersion à longue distance. Une classification des phénomènes de colonisation peut ainsi se faire en fonction de l'échelle géographique considérée (Brown & Burdon, 1987). Dans cette

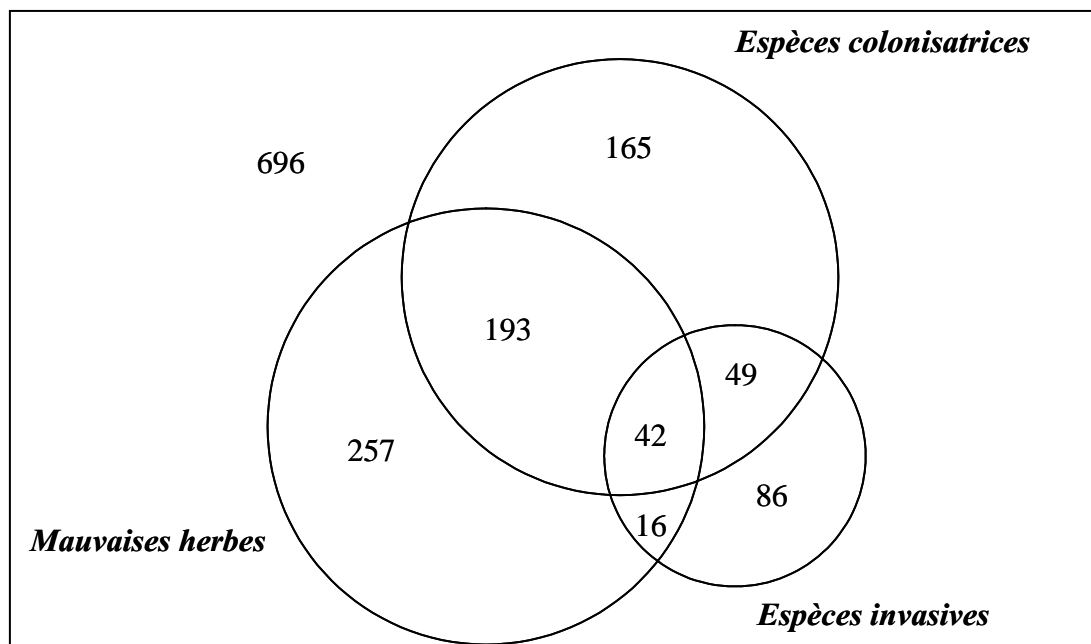


Figure i.1- Diagramme montrant le chevauchement de trois catégories d'espèces de la flore britannique : les mauvaises herbes, les espèces invasives et les espèces colonisatrices. Le nombre dans chaque secteur correspond au nombre d'espèces comptabilisées dans chaque catégorie. 696 est le nombre d'espèces qui n'appartiennent à aucune de ces catégories (d'après Williamson, 1996).

optique, on peut concevoir deux extrêmes dans ces processus de colonisation : d'une part, l'introduction liée à l'homme (ce processus n'est donc plus naturel) d'une espèce exotique venant d'une zone géographiquement lointaine (isolée par des barrières biogéographiques) et d'autre part, les processus localisés d'expansion géographique des espèces qu'elles soient natives ou exotiques. **Une introduction biologique peut donc être considérée comme un cas spécifique du processus plus général de colonisation.**

i.1.2 Comment distinguer les espèces invasives des espèces colonisatrices et/ou introduites ?

D'après Williamson (1996) il est nécessaire de distinguer les espèces colonisatrices des espèces invasives afin de mieux comprendre les phénomènes d'invasion biologique. Cette distinction est difficile car, comme le montre la figure i.1, ces deux catégories se chevauchent et les définitions que l'on trouve dans la littérature sont parfois divergentes.

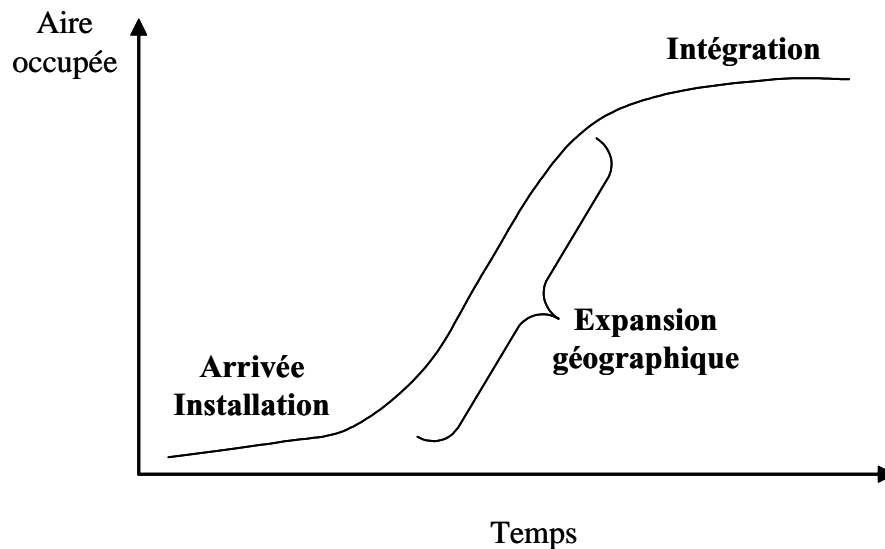
Afin de donner une définition claire des deux catégories, Davis & Thompson (2000) ont proposé une nomenclature des différents types de colonisateurs basée sur des concepts écologiques et géographiques : la distance de dispersion (courte *versus* longue), le caractère exceptionnel (le colonisateur est un nouvel arrivant *versus* le colonisateur avait déjà été répertorié dans l'environnement colonisé) et l'impact dans le nouvel environnement (négligeable ou important). Ces auteurs ont ainsi défini huit types de colonisateurs, et parmi eux seulement deux types d'envahisseurs. Selon Davis & Thompson (2000), une invasion biologique est caractérisée par l'arrivée, suite à une dispersion à courte (Type 1) ou longue distance (Type 2), d'individus dans un environnement où ils n'ont jamais été répertoriés et où ils ont un impact négatif. A la différence de Williamson (1996), pour qui une espèce invasive est toujours introduite, ces auteurs considèrent donc qu'elle peut également être native, impliquant alors une dispersion à courte distance.

Néanmoins, un point sur lequel les définitions de Davis & Thompson (2000) et Williamson (1996) s'accordent est l'effet négatif de l'envahisseur sur l'écosystème envahi. Cette définition est également appuyée par Vitousek *et al.* (1996) et Carlton (1996) qui ont montré que l'installation d'un envahisseur ne pouvait pas avoir lieu sans effets sur les communautés natives et pouvait profondément modifier le fonctionnement des écosystèmes.

On voit donc par ces quelques exemples que la terminologie est ambiguë. Aussi, dans la suite de cette thèse, le terme de colonisatrice sera employé pour une espèce ayant la capacité

ENCADRE i.1 : Le processus d'introduction biologique

Le processus d'introduction biologique peut être schématisé par **trois phrases successives**, illustrées sur cette figure qui représente l'augmentation de l'aire de distribution en fonction du temps (d'après Shigesada & Kawasaki, 1997):



Définitions (d'après Vermeij, 1996) et unités biologiques de références (d'après Radosevich *et al.* 2003) des trois étapes d'une introduction biologique :

Etape de l'invasion	Définition	Unité biologique de référence
Arrivée/installation	- Arrivée dans l'aire d'introduction suite à une dispersion à longue distance . - Reproduction locale et/ou recrutement	Individu
Expansion géographique	- Expansion par dispersion à courte (diffusion graduelle) ou longue distance (dispersion saltatoire). - Adaptation aux nouveaux sites rencontrés	Population
Intégration	- L'espèce invasive a forgé des liens écologiques stables avec les espèces natives. - Des changements évolutifs reflétant le changement des pressions de sélection du nouvel environnement peuvent avoir lieu.	Métapopulation

A chaque étape du processus d'invasion est associée une **probabilité d'échec**. Cela a amené Williamson & Fitter (1996) à énoncer « **la règle des un dixième** ». D'après cet auteur 10% des espèces introduites réussissent à s'installer ; parmi elles seules 10 % sont capables de coloniser de nouveaux milieux et de s'y établir définitivement et enfin, parmi ces dernières, 10% seraient susceptibles de provoquer des dégâts écologiques et économiques.

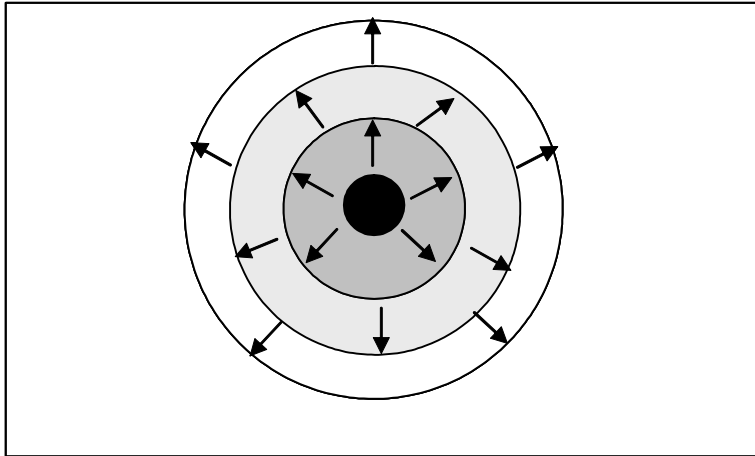
d'envahir un territoire, qu'elle soit native ou introduite ; le terme d'espèce introduite ou exotique décrira une espèce ayant été introduite par l'homme dans un environnement éloigné de son aire native et enfin, le terme d'espèce invasive sera employé pour une espèce introduite ayant eu un impact négatif sur l'écosystème envahi.

i.1.3. Le processus d'introduction biologique : différentes étapes et différents modèles de dispersion

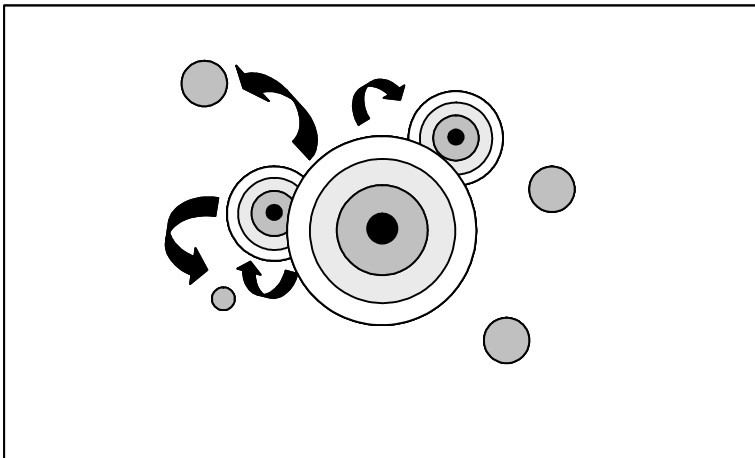
Un processus d'introduction biologique peut être divisé arbitrairement en trois étapes successives : l'arrivée et l'installation, l'expansion et l'intégration de l'espèce (Vermeij, 1996 ; Williamson, 1996). La définition de ces différentes étapes est présentée dans l'encadré i.1. L'arrivée et l'installation de l'espèce correspondent en réalité à une forme extrême d'expansion géographique attribuable aux hommes plutôt qu'à la dispersion naturelle (Vermeij, 1996) tandis que l'expansion et l'intégration de l'espèce dans son nouvel environnement s'apparentent au phénomène naturel de colonisation par des espèces indigènes. La figure i.2 illustre les différents modèles proposés pour décrire la dispersion en phase d'expansion. Alors que l'épisode primaire de colonisation est initié par une dispersion à longue distance (généralement saltatoire), il est souvent suivi par des épisodes localisés de dispersion à courte distance (par diffusion ou par sauts) dans l'aire géographique nouvellement colonisée (Davis & Thompson, 2000). Par exemple, *Dreissena polymorpha*, la moule zébrée originaire d'Europe de l'Est a été initialement introduite en Amérique du Nord sous forme larvaire dans des eaux de ballast (dispersion à longue distance ; Herbert *et al.*, 1989). Par la suite l'expansion de cette espèce s'est faite à la fois par diffusion graduelle (dispersion naturelle au sein et entre les systèmes aquatiques connectés entre eux) et par dispersion saltatoire entre bassins (par l'intermédiaire des bateaux de loisir ; Griffiths *et al.*, 1991).

i.1.4 Les introductions biologiques en milieu marin : que sait-on des étapes d'expansion et d'intégration ?

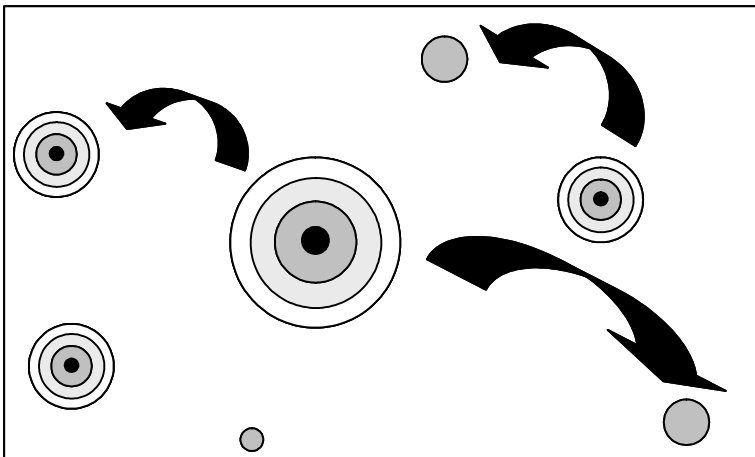
Jusqu'à maintenant, la majorité des études sur les espèces invasives en milieu marin s'est penchée sur les phases d'arrivée et d'installation de l'espèce. En effet, bien que les



Diffusion à partir de la population primaire



Diffusion à partir de la périphérie de la population primaire et formation de colonies satellites générées par une dispersion à longue distance mais qui restent suffisamment près pour que les deux types de populations finissent par se rencontrer.



Même modèle que ci-dessus mais avec des colonies satellites plus éloignées de la population parente et restant isolées pendant une longue période.

Figure i.2- Caractéristiques générales de la dispersion d'espèces introduites au cours de la phase d'expansion géographique (cf. Encadré i.1 ; d'après Shigesada & Kawasaki, 1997)

introductions d'espèces exogènes aient existé de tout temps (voir par exemple le cas des bivalves *Mya arenaria* et *Teredo navalis* introduites il y a plus de 200 ans ; Reise *et al.*, 1999 ; Strasser, 1999), la plupart des phénomènes d'invasions en milieu marin a surtout été observé depuis la fin du 20^{ème} siècle (Carlton, 1996). Leur rythme s'est accru ces dernières décennies (Zibrowius, 1991 ; Ruiz *et al.*, 1997) en raison, notamment, d'une intensification du transport maritime et de l'utilisation courante de ballasts liquides permettant de déplacer de grands volumes d'eau contenant du plancton à travers des barrières océaniques naturelles (Carlton & Geller, 1993). Les introductions liées à l'homme ont également d'autres origines, en particulier des échanges entre bassins conchylicoles à une échelle mondiale (Wolff & Reise, 2002) mais aussi le transport d'espèces sur les coques des navires, les ballast solides, l'aquariologie et les percements de canaux (Carlton, 1989 ; Zibrowius, 1991 ; Boudouresque & Ribera, 1994). Des exemples majeurs d'étude de l'étape d'installation au cours d'un processus d'invasion en milieu marin sont ceux de la caulerpe (*Caulerpa taxifolia* ; Jousson *et al.*, 1998 ; Jousson *et al.*, 2000), du crabe vert (*Carcinus maenas* ; Bagley & Geller, 2000), de la palourde asiatique (*Potamocorbula amurensis* ; Duda, 1994), de la moule brune (*Perna perna* ; Holland, 2001), de la littorine (*Littorina saxatilis* ; Knight *et al.*, 1987) et du botrylle (*Botryllus schlosseri* ; Stoner *et al.*, 2002).

Peu d'études empiriques en milieu marin ont abordé le processus de colonisation une fois que l'espèce est déjà bien intégrée dans son nouvel environnement. Des exceptions notables sont, néanmoins, les espèces d'intérêt commercial et exploitées depuis longtemps dans différentes régions du globe. Parmi ces dernières on trouve, par exemple, la moule *Mytilus galloprovincialis*, native du sud de l'Europe et de la mer Méditerranée, qui a été introduite dans de nombreuses régions telles que le Japon, Hong-Kong, Singapour, l'Afrique du Sud, le Sud de la Californie (Grant & Cherry, 1985 ; McDonald *et al.*, 1991 ; Seed, 1992 ; Sarver & Foltz, 1993 ; Geller, 1994) et l'huître creuse *Crassostrea gigas*, originaire du Japon et introduite dans de nombreuses autres régions telles que les Etats-Unis, l'Argentine, l'Europe, l'Australie et la Nouvelle-Zélande (Grizel & Heral, 1991 ; Mann *et al.*, 1991 ; Eno *et al.*, 1997 ; Carlton, 1999 ; Orensanz *et al.*, 2002). En milieu terrestre, dulçaquicole ou saumâtre de nombreuses histoires de colonisation sont, par contre, particulièrement bien documentées. C'est le cas, par exemple, de l'expansion géographique du crapaud géant *Bufo marinus* (Easteal, 1985 ; Guinand & Easteal, 1996 ; Scribner *et al.*, 1997 ; Leblois *et al.*, 2000), de la moule zébrée *Dreissena polymorpha* (Hebert *et al.*, 1989 ; Boileau & Hebert, 1993 ; Johnson & Carlton, 1996 ; Johnson & Padilla, 1996 ; Marsden *et al.*, 1996 ; Claxton & Boulding, 1998 ; Müller *et al.*, 2001) et de la mouche Méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* (Carey,

1996 ; Gasparich *et al.*, 1997 ; Villablanca *et al.*, 1998 ; Davies *et al.*, 1999a ; Bohonak *et al.*, 2001 ; Bonizzoni *et al.*, 2001 ; Meixner *et al.*, 2002). Selon les traits de vie de l'espèce exotique et les caractéristiques des habitats envahis l'histoire de la colonisation est très variable, aucune généralisation relative aux patrons d'expansion géographique ne semble donc pouvoir être faite (Gray, 1986 ; Parsons, 1987). Deux caractéristiques des espèces introduites tiennent néanmoins une place importante dans les études empiriques des processus de colonisation et d'invasion biologique : le potentiel à la dispersion permettant l'arrivée au site colonisé et la reproduction locale ; deux aspects que je vais détailler dans les prochains paragraphes.

I.2 COLONISATION EN MILIEU MARIN : LE ROLE DE LA PHASE LARVAIRE

i.2.1 Capacité de dispersion des espèces marines par voie larvaire

Les communautés marines comprennent des taxons avec des cycles de vie très différents. Certaines espèces ont un développement direct de juvéniles tandis que d'autres sont caractérisées par une larve transportée dans le plancton pendant une grande partie de son développement (Thorson, 1950 ; Strathmann, 1985). Parmi les exemples d'invertébrés marins colonisateurs cités précédemment, la plupart présente un cycle de vie benthopélagique avec une phase adulte fixée et une phase larvaire pélagique. C'est le cas notamment de *Mya arenaria*, *Teredo navalis*, *Crassostrea gigas*, *Mytilus galloprovincialis*, *Potamocorbula amurensis*, *Perna perna* et *Botryllus schlosseri*.

La capacité de dispersion des espèces à cycle benthopélagique dépend de différents facteurs :

- la durée de la phase larvaire

La durée variable de la période larvaire - longue pour une larve planctonotrophe (i.e. la larve se nourrit au cours de son développement) et courte pour une larve lécitotrophe (i.e. la larve ne se nourrit pas) - influence la distance de dispersion et par conséquent, la capacité à coloniser des habitats éloignés (Scheltema, 1986 ; Palumbi, 1995 ; Palumbi, 1996 ; McQuaid & Phillips, 2000 ; Armonies, 2001). Ainsi, dans l'étude de Todd *et al.* (1998) comparant deux

espèces de nudibranches, la capacité de dispersion de l'espèce planctonotrophe (3 mois de vie larvaire) a été estimée théoriquement (à partir de données de courantologie) à 10^2 - 10^3 km tandis que celle de l'espèce lécitotrophe (2 jours de vie larvaire en laboratoire mais pouvant retarder la métamorphose plusieurs semaines) a été estimée à 10^1 - 10^2 km.

- les conditions hydrodynamiques

Du fait des faibles capacités natatoires des larves, leur dispersion dépend fortement des conditions hydrodynamiques du milieu (e.g. courant résiduel de marée, courant induit par le vent, fronts et tourbillons ; Scheltema, 1986 ; Ellien *et al.*, 2000). Ces conditions vont, en fonction de leur direction et de leur intensité, soit cantonner les larves à proximité des populations adultes conduisant à de l'auto-recrutement (Tremblay & Sinclair, 1988), soit favoriser la dissémination des larves.

- les mécanismes alternatifs de dispersion

Chez certains invertébrés benthiques, la dispersion en phase adulte peut jouer un rôle important dans le processus de colonisation. Kelaher & Rouse (2003) ont ainsi montré que la colonisation par les adultes (en nageant et en rampant) contribuait à maintenir l'abondance du polychète *Proscoplus bondi*. Highsmith (1985) a mis en évidence deux autres mécanismes alternatifs de dispersion : la flottaison (floating) et le transport sur les algues (rafting). Chez certains invertébrés, la distance parcourue quand ils sont attachés à des plantes marines peut dépasser celle atteinte par des larves planctoniques (Worcester, 1994).

i.2.2 Une forte capacité à la dispersion fait-elle d'une espèce une bonne colonisatrice ?

Bien qu'une forte capacité à la dispersion soit souvent considérée comme un atout pour la colonisation de nouveaux habitats, ce n'est pas toujours le cas pour des animaux benthiques marins (Dethier *et al.*, 2003). L'établissement d'une population dans un habitat isolé ou nouveau implique un événement de migration vers ce site mais également un recrutement réussi. La dispersion larvaire permet la colonisation de sites éloignés à condition que les larves soient transportées vers des fonds propres à leur sédentarisation (White *et al.*, 1988). De plus, la distribution des espèces est affectée par d'autres facteurs tels que les interactions biotiques (compétition et prédation) et les perturbations abiotiques (Johnson *et al.*, 2001).

Par la suite, la persistance de la population nécessite soit un recrutement continu depuis des sources extérieures soit la rétention de descendants au sein du site (Dethier *et al.*, 2003).

ENCADRE i.2 : Statistiques F et estimateurs de Weir & Cockerham (1984)

Les statistiques F

Wright (1951) a construit un ensemble d'outils mathématiques, les statistiques F , permettant de décrire la répartition de la variabilité génétique entre et au sein des populations. Il a défini le jeu de paramètres suivant :

- F_{st} mesure la différenciation génétique entre les populations
- F_{is} mesure la déviation par rapport aux proportions attendues sous l'équilibre de Hardy-Weinberg (i.e. structure attendue lorsque l'union des gamètes se fait au hasard) au sein de chacune des populations
- F_{it} mesure la déviation par rapport aux proportions attendues sous l'équilibre de Hardy-Weinberg sur l'ensemble des populations.

Différentes méthodes d'estimation ont été développées pour estimer ces paramètres, celle développée par Weir & Cockerham (1984) est détaillée ici.

Estimations des statistiques F par la méthode de Weir & Cockerham (1984)

Weir & Cockerham (1984) ont montré la correspondance entre les paramètres F de Wright et les composantes de la variance des fréquences alléliques dans des populations structurées. Trois nouveaux paramètres, égaux respectivement à F_{st} , F_{is} et F_{it} , peuvent être estimés par le biais d'une analyse de variance :

- θ , la corrélation des allèles de différents individus dans une même sous-population
- f , la corrélation des allèles d'un même individu dans une sous-population donnée
- F , la corrélation des allèles au sein des individus sur l'ensemble des sous-populations

On considère un modèle à r sous-populations de même taille, dérivées d'une population ancêtre à l'équilibre de Hardy-Weinberg et en équilibre de liaison, les sous-populations sont supposées n'avoir divergé les unes des autres que sous l'effet de la dérive génétique et de la dérive d'échantillonnage. Pour le cas d'un locus à deux allèles, les composantes de la variance sont :

- a , la composante de la variance entre les sous-populations
- b , la composante de la variance au sein des populations
- c , la composante de la variance au sein des individus

et les estimateurs des paramètres F , θ et f sont :

$$1 - \hat{F} = \frac{c}{a + b + c}$$

$$\hat{\theta} = \frac{a}{a + b + c}$$

$$1 - \hat{f} = \frac{c}{b + c}$$

Néanmoins, un organisme avec une phase dispersive à longue distance risque d'exporter plus de propagules que le site n'en reçoit si celui-ci est isolé des populations sources ; cela se traduit par une perte nette en larves recrutées. A l'inverse, une très courte période planctonique est à l'origine d'un fort autorecrutement et donc d'un plus grand potentiel pour exploiter des conditions locales favorables. Ainsi, les organismes avec un fort potentiel à la dispersion peuvent s'avérer être de mauvais colonisateurs en raison d'une absence d'autorecrutement et les organismes avec un bon autorecrutement peuvent s'avérer être de mauvais colonisateurs en raison d'une dispersion limitée (Strathmann, 1974). Ce paradoxe a été illustré par Johannesson (1988) qui a comparé le succès du processus de colonisation chez deux espèces de littorines. Il montre que l'espèce à développement direct *Littorina saxatilis* a un plus fort potentiel de colonisation que l'espèce à dispersion larvaire *Littorina littorea* et explique cette différence par un meilleur succès reproducteur dans les groupes fondateurs de *L. saxatilis* en raison d'une plus forte rétention de juvéniles (Johannesson, 1988).

i.2.3 Les méthodes d'étude de la dispersion en milieu marin

Notre capacité à tester des hypothèses sur la dispersion en milieu marin dépend directement de notre capacité à caractériser des patrons de dispersion larvaire (Gilg & Hilbish, 2003a). Les mouvements de larves et l'échelle spatiale à laquelle ils se font sont des forces majeures régulant la dynamique des populations et des communautés marines (Gaines *et al.*, 1985 ; Gaines & Bertness, 1992). Il est néanmoins difficile de comprendre la dynamique des espèces à cycle benthopélagique car les larves recrutant sur un site ont peu de chance d'être originaire de cet endroit (Nathan, 2001). L'échelle de la dispersion larvaire ainsi que sa régulation par la circulation physique restent encore souvent inconnues, et ceci est en grande partie dû à l'impossibilité de mesurer directement la dispersion d'une larve. Grâce à de nombreux progrès technologiques, des méthodologies alternatives aux méthodes directes de mesures de la dispersion (i.e. capture-recapture) permettent de nos jours d'estimer indirectement la dispersion larvaire. Il s'agit (1) des modèles mathématiques et (2) des analyses génétiques (Nathan, 2001).

Les modèles mathématiques offrent une méthode quantitative permettant d'appliquer les informations d'océanographie physique à la problématique de la dispersion larvaire, avec, en particulier, la possibilité d'appréhender l'origine des larves et de quantifier les taux de rétention larvaire (Hill, 1991 ; Tremblay *et al.*, 1994). Il est possible, grâce à ces modèles, de

Tableau i.1- Structure génétique et dispersion chez des espèces d'invertébrés marins (d'après une revue de Palumbi, 1992). Pour chacune des espèces est indiqué le potentiel à la dispersion évalué théoriquement en fonction de la durée de la phase larvaire ainsi que le marqueur moléculaire utilisé pour estimer les différences génétiques entre localités séparées par la distance géographique indiquée.

Organismes	Capacité à la dispersion	Marqueur moléculaire	Différences génétiques entre localités	Echelle géographique (km)
Gastéropodes				
<i>Nucella</i>	Faible	Allozymes	importantes	200
<i>Littorina</i>	Faible	Allozymes	importantes	1
<i>Littorina</i>	Faible	Allozymes	importantes	1
Copépodes				
<i>Tigriopus</i>	Faible	Allozymes	importantes	2
Crabes				
<i>Limulus</i>	Faible	Allozymes	importantes	3000
<i>Limulus</i>	Faible	ADN mitochondrial	importantes	3000
Oursins				
<i>Strongylocentrotus</i>	Forte	ADN nucléaire	nulles	2000
<i>Strongylocentrotus</i>	Forte	ADN mitochondrial	nulles	1500
<i>Strongylocentrotus</i>	Forte	ADN mitochondrial	nulles	15000
<i>Arbacia</i>	Forte	Allozymes	importantes	1000
Moules				
<i>Mytilus edulis</i>	Forte	Allozymes	importantes	2000
<i>M. edulis</i>	Forte	Allozymes	importantes	40
<i>M. californianus</i>	Forte	Allozymes	faibles	4000
Huîtres				
2 genres		Allozymes	faibles	2000-3000
<i>Crassostra</i>	Forte	ADN mitochondrial	importantes	100
Gastéropodes				
<i>Littorina</i>	Forte	Allozymes	Faibles	1000
<i>Nassarius</i>	Forte	Allozymes	Nulles	1000
Homard				
<i>Homarus</i>	Forte	ADN mitochondrial	modérées	1000

déterminer l'influence relative des différentes composantes de la circulation hydrodynamique et des caractéristiques biologiques sur la dispersion larvaire (Ellien, 2000). Bien que ces méthodes soient intéressantes car elles permettent de caractériser le potentiel de dispersion larvaire, elles ne permettent pas de caractériser le succès réel de la dispersion en terme de juvéniles recrutés puis d'adultes reproducteurs.

Les approches moléculaires peuvent se montrer efficaces pour mesurer de manière indirecte la dispersion effective entre populations (Rousset, 2001). La migration d'individus entre les populations est à l'origine de flux de gènes contrebalançant la divergence génétique par dérive génétique (Palumbi, 1994 ; Bohonak, 1999). Les statistiques-F (Encadré i.2) fournissent un moyen indirect d'estimer les flux de gènes à partir des divergences de fréquence d'allèles entre populations et sont à la base de méthodologies qui ont été fréquemment utilisées dans les études de différenciation génétique des populations d'animaux marins (Féral, 2002). Il convient toutefois de noter que ces estimateurs statistiques permettent de donner une image des relations entre populations mais que leur traduction directe en terme de nombre de migrants efficaces est rarement faisable (Whitlock & McCauley, 1999).

i.2.4 Quelles sont les limites au flux de gènes en milieu marin ?

De nombreuses études d'invertébrés marins ont mis en évidence une homogénéité génétique sur de larges distances reflétant vraisemblablement la capacité dispersive des stades larvaires (exemples : tableau i.1 ; Hunt & Ayre, 1989 ; Benzie, 1994 ; Borsa *et al.*, 1994). Cependant, les fronts océaniques, les patrons locaux et globaux des courants océaniques, la topographie du fond, l'influence des estuaires et des barrières climatiques peuvent réduire la dispersion des larves pélagiques et ainsi favoriser la différenciation génétique entre populations (Bowen & Grant, 1997 ; Lessios *et al.*, 1999). Des niveaux élevés de subdivision génétique ont ainsi été mis en évidence chez des espèces récifales vivant dans des archipels (Johnson *et al.*, 1994) ou chez des espèces vivant dans des estuaires (Ayvazian *et al.*, 1994).

Chez les espèces à large distribution, et à forte capacité de dispersion, certaines de ces conditions hydrodynamiques ou géographiques peuvent être à l'origine d'un isolement par la distance (i.e. augmentation de la différenciation génétique entre populations avec l'augmentation de la distance géographique entre ces populations ; e.g. Hellberg, 1994 ; Palumbi *et al.*, 1997). Un isolement par la distance peut être décelé chez les espèces à phase larvaire sur de très grandes échelles. Ainsi, un isolement par la distance sur des distances de

5000 à 10000 km a été mis en évidence chez des espèces d'oursins *Echinometra* (Palumbi *et al.*, 1997). Parmi les espèces côtières, un isolement par la distance sur 2500 à 3000 Km a été montré chez le corail solitaire *Balanophyllia elegans* (Hellberg, 1994) et l'ormeau *Haliotis rubra* (Brown, 1991). Johnson & Black (1998), quant à eux, ont mis en évidence un isolement par la distance sur une distance de 300 Km chez la littorine *Littoraria cingulata*.

Chez les espèces à dispersion planctonique, une différenciation à petite échelle est également possible. Ainsi, les études de Burton (références dans Burton, 1997) ont illustré une structure génétique de populations de copépodes à une échelle de seulement 100 m. Une hétérogénéité génétique à petite échelle spatiale a également été décelée chez le gastéropode *Siphonaria jeanae* (Johnson & Black, 1984), l'étoile de mer *Acanthaster planci* (Nishida & Lucas, 1988), l'oursin *Echinometra mathaei* (Watts *et al.*, 1990), l'huître *Crassostrea gigas* (Hedgecock, 1994) et la spicule *Spisula ovalis* (David *et al.*, 1997). Même si ce n'est pas la règle, il semble donc que la différenciation génétique locale des populations d'invertébrés marin soit plus répandue que ce que leur forte capacité de dispersion laisse généralement supposer (Hedgecock, 1986 ; Burton, 1997).

Cette variation génétique à fine échelle peut s'expliquer par une sélection des juvéniles après le recrutement ou par une hétérogénéité dans la composition génétique des recrues. Johnson & Black (1984), Watt *et al.* (1990), Hedgecock (1994) et David *et al.* (1997) ont ainsi démontré que l'hétérogénéité génétique observée à fine échelle était temporellement instable mettant ainsi en évidence que, sur un site donné, les groupes de larves qui se fixent à des moments différents sont génétiquement différenciés. Afin d'expliquer cette instabilité temporelle, Hedgecock (1994) a émis l'hypothèse que les animaux marins ont en général une très grande variance de succès reproducteur résultant de leur forte fécondité et du côté aléatoire des conditions environnementales permettant la maturation, la fertilisation, le développement larvaire et le recrutement. Le tirage aléatoire d'un petit nombre de géniteurs par rapport à la taille réelle de la population occasionne des effets de dérive génétique et par conséquent, une différenciation entre groupes larvaires sur une petite échelle géographique.

Ces différents exemples montrent qu'il est difficile d'interpréter et de prévoir les flux de gènes chez les espèces marines car de nombreux facteurs interviennent tels que les conditions hydrodynamiques et les barrières biogéographiques mais aussi la dynamique locale de la population et les modalités de la reproduction.

**ENCADRE i.3 : Classification et critères de reconnaissance de
Crepidula fornicata (LINNE, 1758)**

Embranchement : Mollusques

Classe : Gastéropodes

Ordre : Sorbeoconcha

Famille : Calyptraéidés

Genre : *Crepidula*

- Les individus sont fixés sur divers substrat rocheux et sur les coquillages morts ou vivants de l'étage infralittoral et exceptionnellement sur l'estran. On trouve cette espèce sur de nombreux types de substrat, des vases aux cailloutis.
- La coquille est de forme ovale, de structure à peine spiralée. L'apex est postérieur, légèrement déporté sur le côté droit.
- La coloration externe de la coquille est rosée ou jaune blanchâtre marbrée de brun
- L'intérieur de la coquille a un aspect brillant porcelainé.
- Les muscles pédieux assurent la fixation des parties molles de l'animal au septum qui crée une cavité conique dorsale dans laquelle est logée la masse viscérale.
- La tête de l'animal est aplatie, pourvue d'une paire de tentacules sur la face externe desquels se trouvent les yeux (cf. figure i.7).
- Le pied est bien développé avec une partie postérieure servant à fixer l'animal au substrat et une partie antérieure mobile permettant l'exploration du substrat lors des déplacements de l'animal.
- La cavité palléale est dorsale formée de filaments branchiaux longs et rigides.



I.3 LES STRATEGIES DE REPRODUCTION DES ESPECES COLONISATRICES

Le paragraphe précédent a montré que la capacité de dispersion permet l'arrivée de l'espèce colonisatrice sur un nouveau site. Excepté dans le cas d'apports récurrents de propagules de l'extérieur, cela ne suffit cependant pas à assurer le succès de la colonisation. Il doit s'y ajouter la disponibilité en habitats adéquats et le maintien local de la population. Cette dernière condition dépend notamment du système de reproduction. Dans le cas de l'introduction d'une espèce exotique, et suite à la colonisation primaire, la reproduction locale est fondamentale car la source de propagules est trop éloignée. De plus, pour ces espèces, elle facilite l'installation durable lors de l'expansion géographique dans l'aire d'introduction. Une meilleure connaissance des processus de reproduction des espèces invasives et/ou colonisatrice est ainsi une étape clé pour la compréhension du succès de l'installation de l'espèce dans son nouvel environnement, permettant même dans certains cas le contrôle des populations établies (Myers *et al.*, 2000).

Le succès de la colonisation a souvent été mis en relation avec la capacité de se reproduire par autogamie (Baker, 1965). Ainsi, sur 400 espèces poussant sur les îles britanniques il a été mis en évidence que l'autogamie était plus fréquente chez les espèces colonisatrices ou supposées colonisatrices (e. g. Brown & Burdon, 1987). Il a aussi été montré que les systèmes reproducteurs permettant la production de jeunes à partir de femelles isolées, tels que le stockage de sperme (Whittier & Limpus, 1996) et la parthénogenèse (Gomez *et al.*, 2002), sont avantageux pour la création d'une nouvelle population.

Dans un deuxième temps, la création de nouvelles combinaisons génotypiques par reproduction sexuée et recombinaison est plus avantageuse pour l'adaptation à de nouvelles pressions de sélection abiotiques, de nouvelles espèces compétitrices ou de nouveaux agents pathogènes. De même, les stratégies de reproduction permettant d'éviter la reproduction entre apparentés ou favorisant la reproduction avec plusieurs partenaires (i.e. polyandrie ou polygynie) permettent d'éviter les effets délétères associés à la consanguinité et plus généralement, permettent d'augmenter la diversité génétique chez les jeunes.

Dans l'idéal, une espèce invasive ou colonisatrice devrait donc pouvoir être génétiquement très variable tout en se reproduisant de temps en temps de manière clonale pour assurer sa propagation. Etant donné la pluralité des fonctions nécessaires pour assurer le

ENCADRE i.4 : Distribution actuelle de *Crepidula fornicata*

Aire de distribution naturelle :

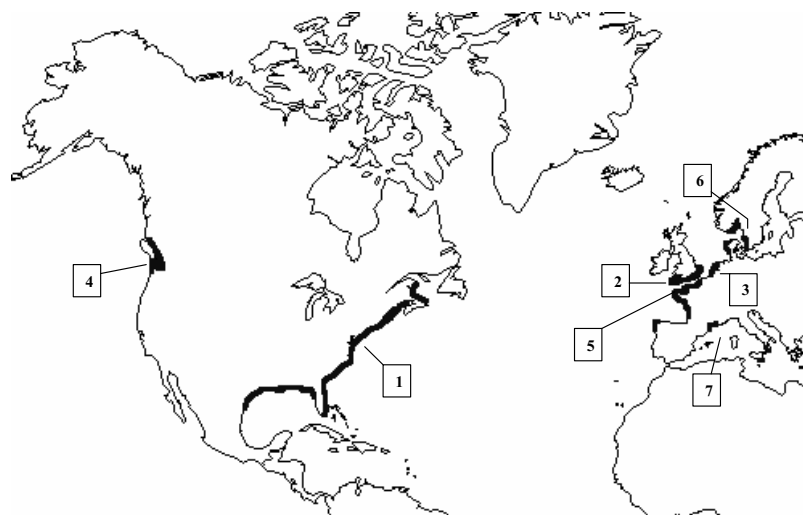
Crepidula fornicata est une espèce originaire de la côte est de l'Amérique du Nord où elle se répartit du Canada jusqu'aux Caraïbes (Marteil, 1963).

Aire d'introduction :

- Côte ouest américaine : Puget Sound (Kozloff, 1974).
- Europe : du sud-ouest de la Norvège au nord-ouest de l'Espagne

Histoire de l'invasion en Europe :

- Apparue pour la première fois en Europe en 1872 dans la Baie de Liverpool (Mac Millan, 1938). De la baie de Liverpool elle s'étend au nord jusqu'en Ecosse. Elle est rencontrée dans River Crouch (Essex) en 1893 (Crouch, 1893). Sur les côtes de la Manche une première observation est faite en 1913 dans la baie de Porstsmouth (Cole, 1952). Le long des côtes de Cornouailles, une extension plus lente ne la fait apparaître dans Helford River qu'en 1946 (Cole, 1952).
- Après l'Angleterre cette espèce va atteindre la Belgique en 1911 (Polk, 1962).
- Entre 1930 et 1950 cette espèce va ensuite être observée en Allemagne, aux Pays-Bas, au Danemark et en Suède (e.g. Hessland, 1951 ; Blanchard, 1997).
- En France les premières observations remonteraient aux années 1930. En 1949 la crépidule est rencontrée en deux points des côtes françaises : Hermanville (Calvados) et en Rade de Brest (Coum, 1979). Entre 1962 et 1965 sa présence est signalée dans le nord de la France (Boulogne) ; sur le littoral nord de la Bretagne (Paimpol et baie de Morlaix) ; en Bretagne sud (baie de Quiberon et Golfe du Morbihan) et Vendée (Baie de Bourgneuf ; Marteil, 1963 et 1965). Dans les années 1970 cette espèce fait son apparition dans les parcs ostréicole de Cancale (Retière, 1980), en baie de St Brieux (Dupouy & Latrouite, 1979), en Charente-Maritime (Deslous-Paoli & Massé, 1982). Depuis 1982, cette espèce est présente dans l'étang de Thau .



Carte de répartition mondiale de *Crepidula fornicata* et étapes de l'invasion d'après Blanchard (1997) : 1, aire native : depuis la frontière du Canada jusqu'à Mexico ; 2, (1880's) côtes Est de l'Angleterre ; 3, (1910's – 1950's) Belgique, Allemagne et Hollande ; 4, (1930's) côte Ouest américaine ; 5, (1940's) Sud de l'Angleterre et France ; 6, (1950's) Danemark, Suède, Norvège ; 7, (1970's) Espagne et spots méditerranéen.

succès de la colonisation, il est avantageux que le système reproducteur des espèces colonisatrices présente un mélange de modes de reproduction. Les espèces avec des modes de reproduction multiples (e.g. une phase végétative et une phase sexuée) sont donc potentiellement de bonnes colonisatrices. Huenneke & Vitousek (1990) ont, par exemple, montré que le succès de l'invasion des forêts hawaïennes par le goyavier, *Psidium cattleianum*, s'expliquait par sa capacité à produire un grand nombre de rejets clonaux couvrant de larges surfaces ainsi que des graines pouvant germer dans des conditions très variables.

L'évolution des stratégies de reproduction semble également jouer un rôle important dans la colonisation de nouveaux habitats. Un exemple de changement micro-évolutif au cours de la colonisation est celui de l'augmentation par dix du taux de reproduction entre individus non apparentés chez le brome, *Bromus mollis*, en Australie par rapport à l'aire native (Brown & Marshall, 1981). Ce phénomène a également été mis en évidence par Gray (1986) dans des populations colonisatrices de trèfle, *Trifolium hirtum*.

De nombreux cas ont également été mis en évidence chez les animaux. Tsai & Dai (2001), par exemple, ont illustré un phénomène d'adaptation de stratégie de reproduction chez le crustacé gonochorique invasif *Ligia exotica*. Ils ont montré que dans l'aire d'introduction les femelles repoussent leur âge de maturité sexuelle, investissent plus dans la reproduction et produisent moins mais de plus gros œufs que les femelles de l'aire d'origine. Tsai & Dai (2001) ont expliqué cette adaptation par une mortalité juvénile plus importante dans l'aire d'introduction. La production de jeunes en moins grand nombre mais plus résistants a été sélectionnée. Une stratégie opposée a été illustrée chez le corégone blanc, *Coregonus albula*, avec une diminution de la taille de première reproduction au cours de l'invasion (Bohn *et al.*, 2004). Riccardi *et al.* (2004), quant à eux, ont montré que la production accrue de banques d'œufs en diapause chez le crustacé *Daphnia parvula* reflétait une stratégie pour augmenter la probabilité de survie et d'établissement dans le nouvel environnement. Ces exemples montrent que l'évolution des stratégies de reproduction en réponse aux changements environnementaux permet aux animaux colonisateurs d'exploiter des habitats variés. On assiste à une adaptation des caractéristiques biologiques aussi différentes que la phénologie de reproduction, la taille de maturité sexuelle, la fécondité, la taille et la durée de vie des œufs, la taille des jeunes et la sex-ratio.

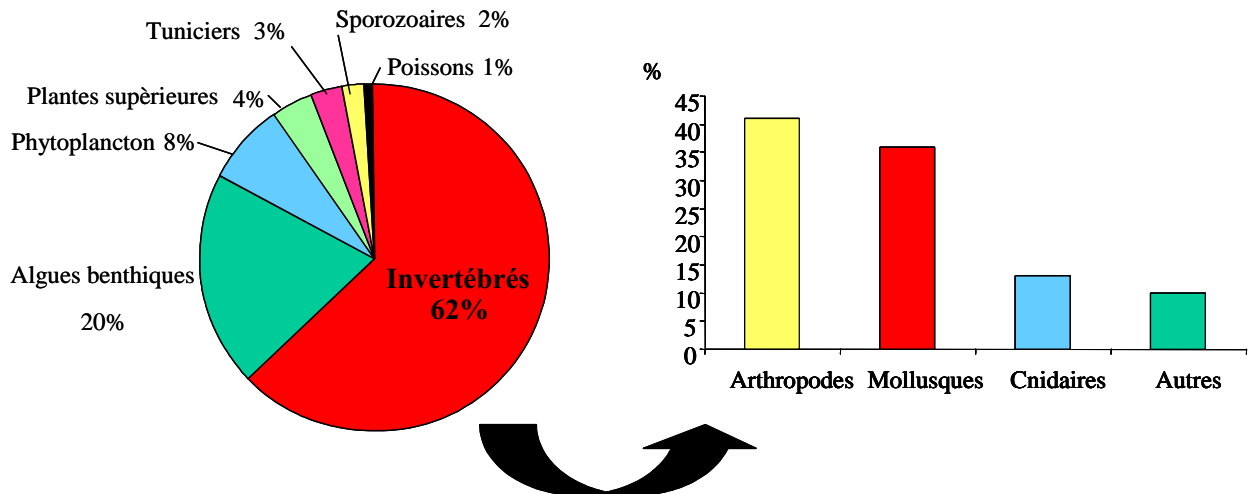


Figure i.3- Espèces invasives des côtes de l'Atlantique et de la Manche (N = 104) d'après Gouletquer *et al.* (2002). Le camembert indique la distribution (en pourcentage) des groupes d'espèces. L'histogramme présente la distribution (en pourcentage) des phylums au sein des 65 espèces d'invertébrés recensés.

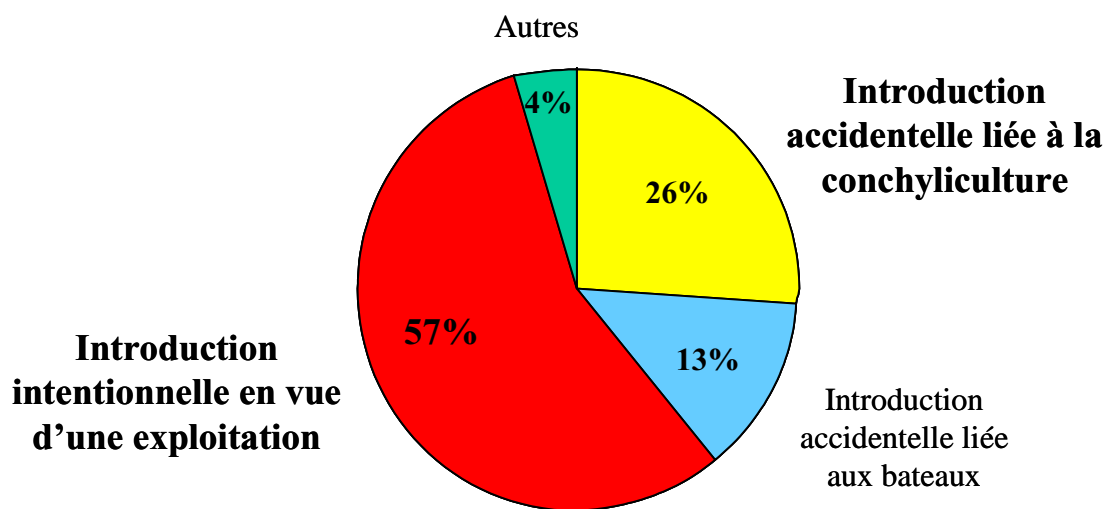


Figure i.4- Distribution (en pourcentage) des causes des introductions d'espèces de mollusques sur les côtes françaises de l'Atlantique et de la Manche (d'après Gouletquer *et al.* 2002).

I.4 CREPIDULA FORNICATA : UN MODELE BIOLOGIQUE POUR L'ETUDE DU PROCESSUS DE COLONISATION EN MILIEU MARIN COTIER.

Dans le cadre de cette thèse, je me suis intéressée au phénomène de colonisation suivant la phase initiale d'arrivée et d'installation d'une espèce exotique en milieu marin.

Le modèle biologique étudié ici est *Crepidula fornicata*, une espèce invasive qui a réussi avec succès les premières étapes de l'introduction (Le Gall, 1980 ; Blanchard, 1995 ; Blanchard, 1997). La systématique de *C. fornicata* ainsi que quelques critères de reconnaissance sont présentés dans l'encadré i.3. Cette espèce a été introduite il y a plus de 120 ans en Angleterre (Mac Millan, 1938) et prolifère de nos jours sur les côtes européennes. La répartition mondiale de l'espèce est décrite dans l'encadré i.4.

Je me suis en particulier penchée sur deux caractéristiques biologiques permettant d'expliquer le succès du processus de colonisation chez cet organisme à cycle de vie pérenne et benthopélagique : le potentiel de dispersion et le système reproducteur.

i.4.1 La crépidule : un cas typique parmi les mollusques introduits des bassins conchylicoles

C. fornicata fait partie des 104 espèces invasives recensées par Gouletquer *et al.* (2002) le long des côtes de l'Atlantique et de la Manche (la liste des espèces est présentée dans l'annexe 1 et résumée dans la figure i.3). 63% de ces espèces sont des invertébrés et parmi eux 36 % sont des mollusques. La plupart de ces espèces ont été introduites volontairement en vue d'exploitation (e.g. *Crassostrea gigas*, *Mercenaria mercenaria* et *Tapes philippinarum*) ou accidentellement par le biais d'importations d'espèces exploitées (e.g. *Crepidula fornicata*, *Cyclope neritea* et *Anomia chinensis*), ce qui les associe fortement aux bassins conchylicoles (Figure i.4). La plupart de ces espèces sont à l'origine d'une déstabilisation temporaire voire permanente de l'écosystème envahi (Gouletquer *et al.*, 2002).

i.4.2 Introduction de la crépidule en France : une histoire complexe

C. fornicata, originaire de la côte Est de l'Amérique du Nord a été introduite à la fin du 19^{ème} siècle en Angleterre avec des huîtres provenant de l'Est de l'Amérique du Nord (Hoagland, 1985).

En France, les premières observations remonteraient aux années 1930 mais la deuxième guerre mondiale est l'occasion d'une deuxième vague d'introductions dans le port de Brest et en Normandie dans les années 40 (Blanchard, 1995). L'évolution est ensuite progressive du nord vers le sud de la côte Atlantique, elle est relativement lente jusque dans les années 1960 après lesquelles elle s'accélère (Marteil, 1963).

L'extension de *C. fornicata* dans les parcs ostréicoles aurait ensuite été favorisée par l'introduction de l'huître japonaise *Crassostrea gigas* dans les années 70 (Blanchard, 1995). *C. fornicata* est maintenant largement distribuée le long des côtes de l'Atlantique et de la Manche (Blanchard, 1997). L'expansion de cette espèce continue en mer du Nord (Sjotun, 1997) bien que la croissance des populations soit limitée par les faibles températures hivernales (Thieltges *et al.*, 2004) et dans des baies françaises plus isolées (Chauvaud, 1998 ; Sauriau *et al.*, 1998).

Compte tenu de ces données historiques, issues d'observations de terrain pour la plupart, il est certain que la colonisation primaire et l'expansion géographique de cette espèce ont été facilitées par les activités humaines, en particulier par les échanges entre les sites de conchyliculture ou de pêche à la coquille (par transport avec du naissain d'espèces exploitées ou par des activités de dragage des fonds ; Blanchard, 1997 ; Sauriau *et al.*, 1998)

i.4.3 Impact de la crépidule sur l'habitat et les espèces indigènes

C. fornicata prolifère dans la plupart des baies où elle atteint des densités importantes. Des biomasses atteignant 18500t en Rade de Brest (Chauvaud, 1998), 250000t en baie de St Brieuc (Hamon & Blanchard, 1994) et 170 000 t en baie de Cancale (Cariguel, 1994) ont été répertoriées.

La présence de la crépidule a des conséquences majeures sur la faune macro-benthique. Comme d'autres gastéropodes exotiques tels que *Littorina littorea* au Canada et aux Etats-Unis (Carlton, 1992) ou *Ilyanassa obsoleta* en baie de San Francisco (Race, 1982) cette



Figure i.5- Larve véligère de *Crepidula fornicata* (photo C. Houbin, Roscoff)



Figure i.6- Les larves de *Crepidula fornicata* sont regroupées dans des capsules ovigères avant l'émission larvaire. (Vue ventrale d'une femelle ovigère)

espèce est devenue dominante dans certaines baies, occupant une place prépondérante dans la structure des communautés (Eno *et al.*, 1997). De Montaudouin & Sauriau (1999) ont démontré que la présence de la crépidule modifiait les assemblages d'espèces marines indigènes, bien que ne changeant pas la biomasse totale et la richesse spécifique des communautés. Le Pape *et al.* (2004), quant à eux, ont mis en évidence un effet négatif de la présence de ce mollusque sur la densité des jeunes soles (*Solea solea*) de l'année dans les zones côtières de nurserie de la baie de Biscay.

La prolifération de la crépidule a également des conséquences sur la structure de l'habitat. Erhold *et al.* (1998) montre que sa prolifération en baie du Mont-Saint-Michel entraîne un accroissement des dépôts vaseux. Les nombreuses colonies modifient le substrat de manière irréversible et profitent de cette modification pour accentuer leur propre recrutement.

Les conséquences de son installation sont donc écologiques mais également économiques car cette espèce suspensivore entre en compétition spatiale voire trophique, bien que sur ce dernier point les données soient contradictoires (DeMontaudouin *et al.*, 1999), avec d'autres filtreurs à intérêt commercial (huîtres, coquilles St-Jacques ; Blanchard, 1995).

i.4.4 Particularité du cycle de vie : une longue phase larvaire

C. fornicata est une espèce à cycle benthopélagique possédant une larve qui peut passer de 2 à 4 semaines dans le plancton (Figure i.5), une caractéristique favorisant à la fois un important flux de gènes entre populations (Palumbi, 1994) et le recrutement de groupes de larves potentiellement différents génétiquement (Hedgecock, 1994).

La nutrition, le taux de croissance, la métamorphose de la larve de *C. fornicata* ont été intensivement étudiées dans l'aire native (Pechenik & Gee, 1993 ; Pechenik *et al.*, 1996 ; Pechenik *et al.*, 2001 ; Pechenik *et al.*, 2002) mais également dans l'aire d'introduction (Marty *et al.*, 2003). La présence d'une phase larvaire dans le cycle de vie peut être particulièrement avantageuse pour une espèce invasive ou colonisatrice car c'est un moyen d'éviter la compétition pour les ressources entre adultes et juvéniles, de diminuer le taux de consanguinité et de s'échapper d'habitats défavorables ou instables (Pechenik, 1999). Ces avantages sont néanmoins contrebalancés par des taux importants de mortalité larvaire durant la phase pélagique, par la phase de recrutement et par une sensibilité plus importante aux stress environnementaux. Des expériences en laboratoire sur des larves pré-compétentes ont montré qu'une diminution de la concentration en phytoplancton induisait une diminution de la

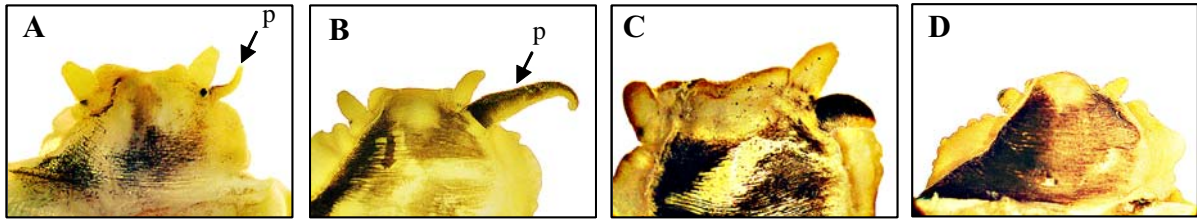


Figure i.7- Détermination du type sexuel de *Crepidula fornicata*. Photos de la partie antérieure dorsale montrant la position du pénis (p). (Photos D. Bernas)
 A, mâle immature ; B, mâle mûre ; C, stade de transition ; D, femelle mûre



Figure i.8- Chaîne de crépidule composée d'une chaîne principale sur la périphérie de laquelle on observe une chaîne latérale ainsi que des petits individus « externes » c'est-à-dire non emboîtés dans une chaîne.

durée du stade larvaire de *C. fornicata*, stimulant la métamorphose et diminuant ainsi la période de dispersion (Pechenik *et al.*, 1996).

Jusqu'au stade véligère où se produit l'éclosion, les larves sont incubées dans des capsules ovigères au sein desquelles plusieurs œufs sont réunis (Figure i.6). Toutes les capsules d'une ponte sont fixées au même point du substrat, par la base de leur long pédoncule. Après une fécondation interne, la femelle pond entre 5000 et 10000 œufs par ponte (J. Richard, communication personnelle). Le Gall (1980) a constaté dans ses élevages qu'une même femelle pouvait pondre deux fois à six semaines d'intervalle.

i.4.5 Un système de reproduction original

C. fornicata fait partie du 1% de gastéropodes prosobranches se reproduisant par hermaphrodisme séquentiel (Heller, 1993). Les modalités particulières de la sexualité chez *C. fornicata* ont, depuis longtemps, retenu l'attention des biologistes. L'hermaprodisme protandre (i.e. les individus sont d'abord mâles puis changent de sexe et se transforment en femelle ; Figure i.7) chez *Crepidula fornicata* a été étudié par Coe (1936 ; 1938 ; 1953), Chipperfield (1951), Gould (1952), Orton (1909), Hoagland (1975 ; 1978), et plus récemment par Collin (1995) dans l'aire native de l'espèce et par Le Gall (1980) dans l'aire d'introduction.

Une particularité de cette espèce est l'association des individus pour former des chaînes composées d'une chaîne principale (avec les mâles plus jeunes et plus petits qui sont attachés aux coquilles des femelles plus âgées) qui porte parfois des chaînes latérales plus courtes (Figure i.8). En ce qui concerne le déterminisme de l'association en chaîne, Coe (1953) a mis en évidence le fait que les femelles de plusieurs espèces du genre *Crepidula* possèdent un effet attractif vis-à-vis des immatures et des jeunes mâles. Chez *C. fornicata*, Hoagland (1978) a montré que les jeunes crépidules ne sont attirées que par les adultes de leur propre espèce.

Le déterminisme du sexe est mal connu ; cependant, il semblerait qu'il soit lié à la sex-ratio locale (Coe, 1938 ; Le Gall, 1980 ; Collin, 1995). Par exemple, des expériences en laboratoire ont montré que, lorsqu'une femelle est enlevée d'une chaîne, le mâle le plus à la base de la pile va changer de sexe (Coe, 1938).

Malgré les nombreuses études sur le sujet, la stratégie de reproduction chez cette espèce présente encore de nombreuses zones d'ombre en particulier dans l'aire d'introduction.

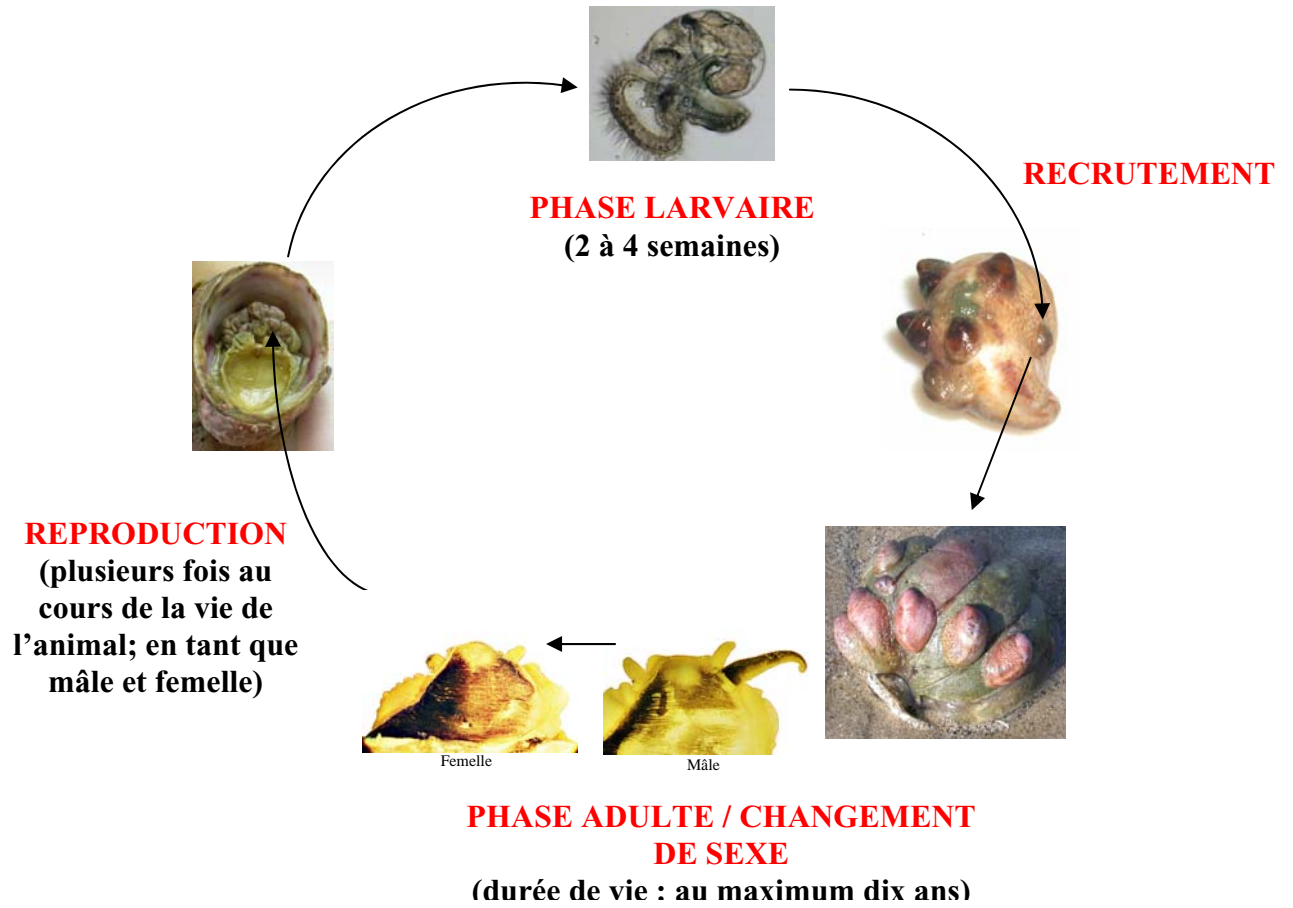


Figure i.9- Cycle de vie de *Crepidula fornicata*

i.4.6 Les questions

L'étude présentée ici a pour but d'étudier deux caractéristiques favorisant l'expansion géographique en milieu marin chez une espèce invasive à cycle-benthopélagique dans l'aire d'introduction : le potentiel à la dispersion et le système de reproduction. En raison de l'invasion particulièrement réussie des côtes européennes par *C. fornicata* et de son système de reproduction original, cette espèce est un modèle particulièrement pertinent pour ce type d'étude.

Les questions abordées au cours de ce travail portent sur chacune des étapes du cycle de vie de *C. fornicata* présenté figure i.9 : la phase larvaire, le recrutement et la phase adulte au cours de laquelle a lieu le changement de sexe et la reproduction.

Ces problèmes sont de trois ordres qui correspondent aux trois chapitres de la thèse. Ils ont été abordés à l'aide d'une approche joignant des approches classiques d'écologie des populations et des études empiriques de génétique des populations :

(1) déterminer quels sont les vecteurs ayant une action prédominante dans la dispersion de la crépidule (les vecteurs anthropiques ou la dispersion naturelle) et quelles sont les barrières au flux de gènes chez cette espèce (pour cela, la distribution de la diversité génétique a été analysée sur différentes échelles spatiales le long du littoral français).

(2) établir les modalités de recrutement chez *C. fornicata* en s'interrogeant sur l'origine des recrues en un site donné. Cette question a été abordée à la fois par une étude de la structure démographique des populations et par une analyse temporelle de la variation génétique dans les populations introduites.

(3) analyser le rôle de l'hermaphrodisme séquentiel, en particulier par la capacité à l'ajustement de la sex-ratio, dans le succès de la colonisation et déterminer les stratégies de reproduction de cette espèce. Des analyses de paternité ont permis de mettre en évidence certaines modalités de la reproduction chez cette espèce.

**CHAPITRE I : MODES ET
STRATEGIES DE DISPERSION**

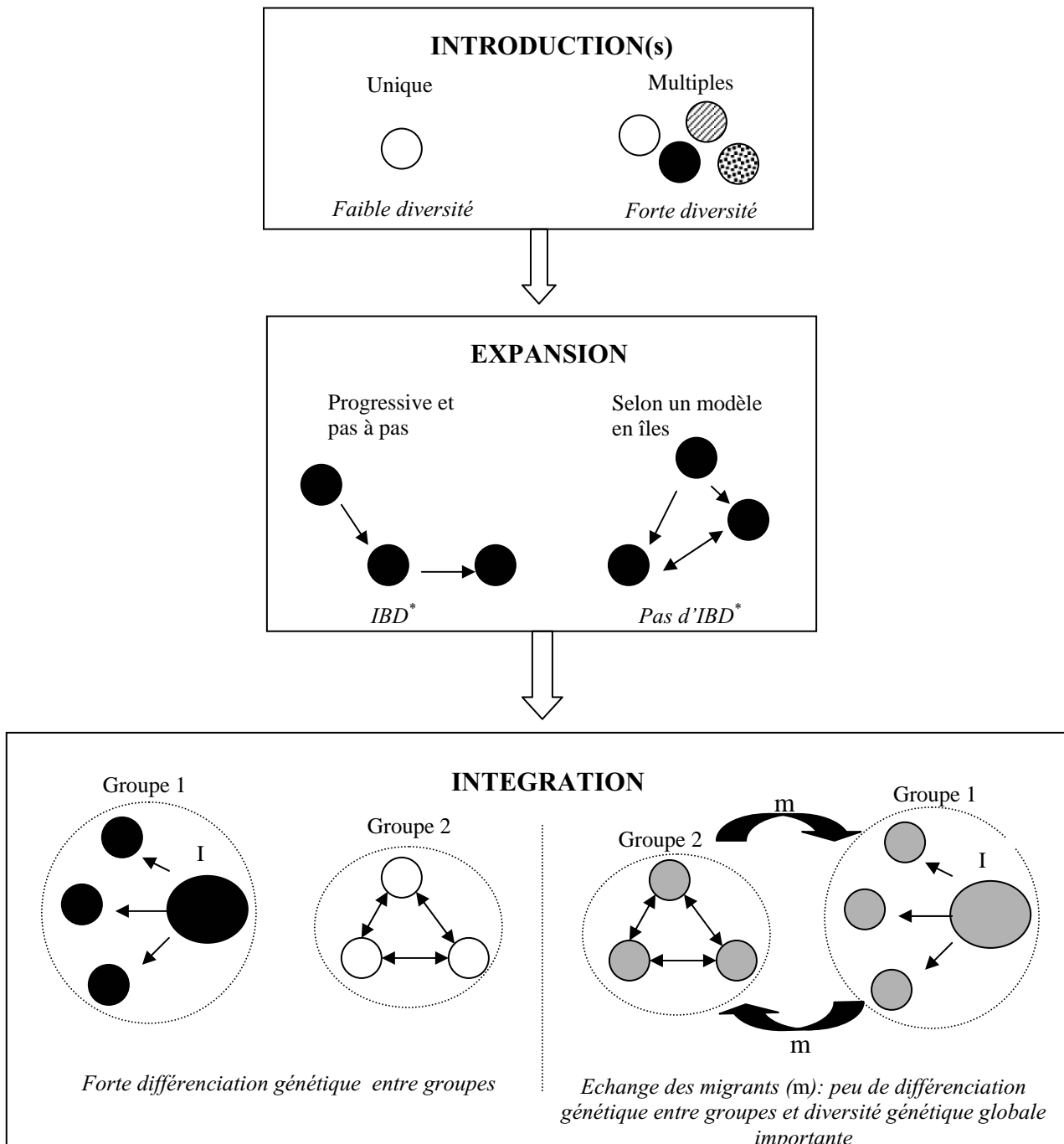


Figure I.1- Exemples de caractéristiques génétiques attendues sous différents modes de dispersion, à chaque étape du processus d'invasion

L'espèce exogène est subdivisée en populations locales (cercles) qui peuvent interagir par migration (flèches noires).

Suite à l'introduction qui se fait, soit par l'arrivée d'un pool unique d'individus, soit à partir de plusieurs pool génétiques différents, la fondation de nouvelles populations a lieu lors de la phase d'expansion. Celle-ci peut se dérouler selon différents modèles, par exemple un modèle de type « pas à pas » ou encore selon un modèle en île. Au cours de la phase d'intégration, il y a formation de groupes de populations au sein desquels différents mode de migration sont possibles : dans le groupe 1, la sous-population I est une population source pour les autres ; dans le groupe 2, la migration suit un modèle en île. Il peut y avoir échange, ou non, de migrants entre les groupes.

*IBD = Isolement par la distance = « Isolation by distance » : isolement génétique des populations corrélé positivement à la distance géographique les séparant.

Une espèce introduite colonise généralement un territoire à partir d'une ou de quelques populations fondatrices, à partir desquelles une dispersion a lieu. Les outils moléculaires et analytiques de la génétique des populations, en étudiant la variabilité génétique présente au sein et entre les populations, sont susceptibles d'apporter des indications sur l'histoire de ces populations et peuvent permettre de retracer les événements de dispersion (Holland, 2000 ; Sakai *et al.*, 2001 ; Müller & Griebeler, 2002).

Au cours de l'introduction mais également lors de l'expansion, les populations d'une espèce invasive sont susceptibles de subir des effets importants de dérive génétique dus à des effets de fondation répétés. L'efficacité de la dérive génétique dans la modification de la variabilité génétique dépend de la taille efficace de la population. Dans le cas de la fondation d'une nouvelle population par un petit nombre de colonisateurs, ces changements génétiques stochastiques sont particulièrement importants et sont à l'origine d'une réduction de la variation génétique par rapport à la population source. Des effets de fondation successifs conduisent à une augmentation de la différenciation génétique entre populations nouvellement fondées (Husband & Barrett, 1991)

Dans le cas d'introductions multiples d'une espèce invasive, les attendus sont plus complexes car chaque nouvelle introduction augmente la probabilité d'introduire de la variabilité génétique additionnelle (Figure I.1). De plus, si les populations sources diffèrent, des génotypes qui ne se trouvaient pas réunis dans l'aire d'origine sont susceptibles d'être rassemblés au sein de la même population dans l'aire d'introduction.

Au cours de la phase d'expansion géographique, différents modèles de dispersion peuvent ensuite être utilisés dans le but de décrire les flux de gènes (Figure I.1). Le modèle le plus simple pour mettre en évidence le rôle de la migration est le modèle dit « en îles » (Wright, 1940). Un modèle alternatif, et plus réaliste dans le cas de l'expansion géographique graduelle d'une espèce exogène, est le modèle dit « pas à pas » qui prédit que le flux de gènes entre sous-populations distribuées dans l'espace dépend de la distance qui les sépare. Les modèles classiques de génétique des populations prédisent qu'une dispersion géographiquement limitée résulte en un isolement génétique par la distance géographique (Wright, 1943). Grâce à la comparaison des données génétiques observées avec celles attendues sous l'hypothèse d'un isolement par la distance, il est possible de quantifier indirectement le rôle de la migration à longue distance dans l'aire colonisée (Wilson *et al.*, 1999). Une diffusion graduelle avec des populations persistantes au cours du temps s'adaptera à ce modèle tandis que l'existence de mécanismes de dispersion additionnels stochastiques (tels que des vecteurs humains) le feront dévier de ce modèle (Figure I.2).

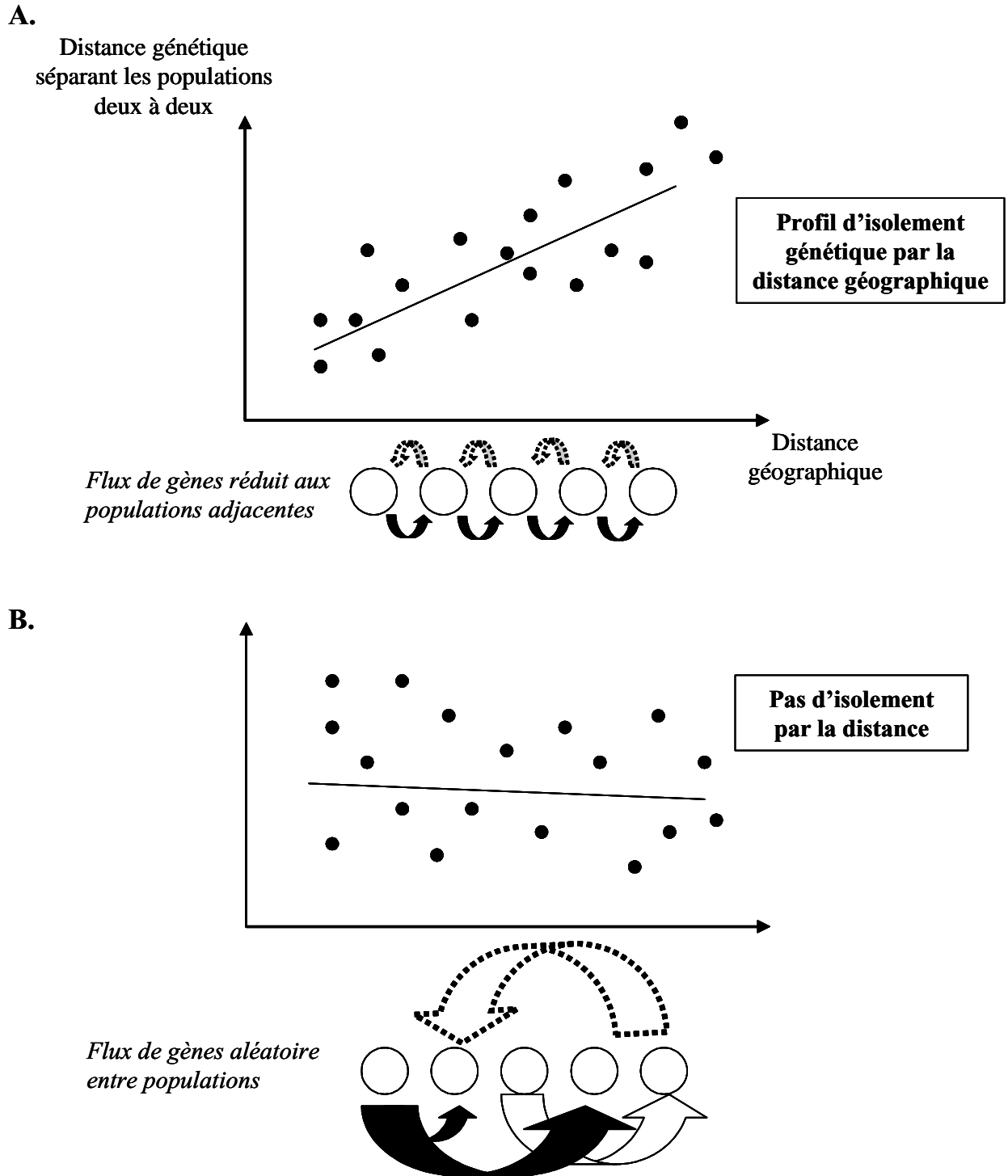


Figure I.2- Relation entre distance génétique et distance géographique en fonction de deux modèles de dispersion : un modèle de dispersion réduit aux populations adjacentes (A) et un modèle de dispersion stochastique entre les populations (B).

Plusieurs modes de dispersion sont possibles chez *Crepidula fornicata*. La dispersion liée aux activités humaines - *via* le transport de naissains de moules ou les activités de dragage et de chalutage - a été considérée jusqu'à maintenant comme étant majoritaire et facilitant le succès de l'espèce par sa translocation dans de nouveaux habitats favorables (Blanchard, 1995 ; Blanchard, 1997 ; Sauriau *et al.*, 1998). Cette espèce a également un fort potentiel à la dispersion « naturelle » grâce à une vie larvaire d'une durée estimée de 2 à 4 semaines (Hoagland, 1975). La migration naturelle en phase adulte, par déplacement spontané de l'animal ou de mouvements du substrat, est minoritaire et se produit probablement à une échelle réduite (charriage par la marée en zone intertidale). Selon l'importance de ces deux modes, les patrons de dispersion de cette espèce peuvent suivre différents modèles : soit des modèles attendus sous un mode de dispersion naturelle (retrçant les courants résiduels de marée et/ou la circulation océanique générale) soit un modèle de migration stochastique (saltatoire entre bassins conchylicoles).

L'histoire de l'introduction de la crépidule en France étant complexe et ancienne et les vecteurs de dispersion de cette espèce étant variés deux questions se posent alors :

(i) Peut-on encore aujourd'hui identifier différentes sources ou différents événements d'introduction (entités génétiques différentes et récurrence d'introduction) à l'échelle française ?

(ii) Quel vecteur (transport lié aux activités humaines ou conditions hydrodynamiques) joue un rôle majeur dans la dissémination de l'espèce ?

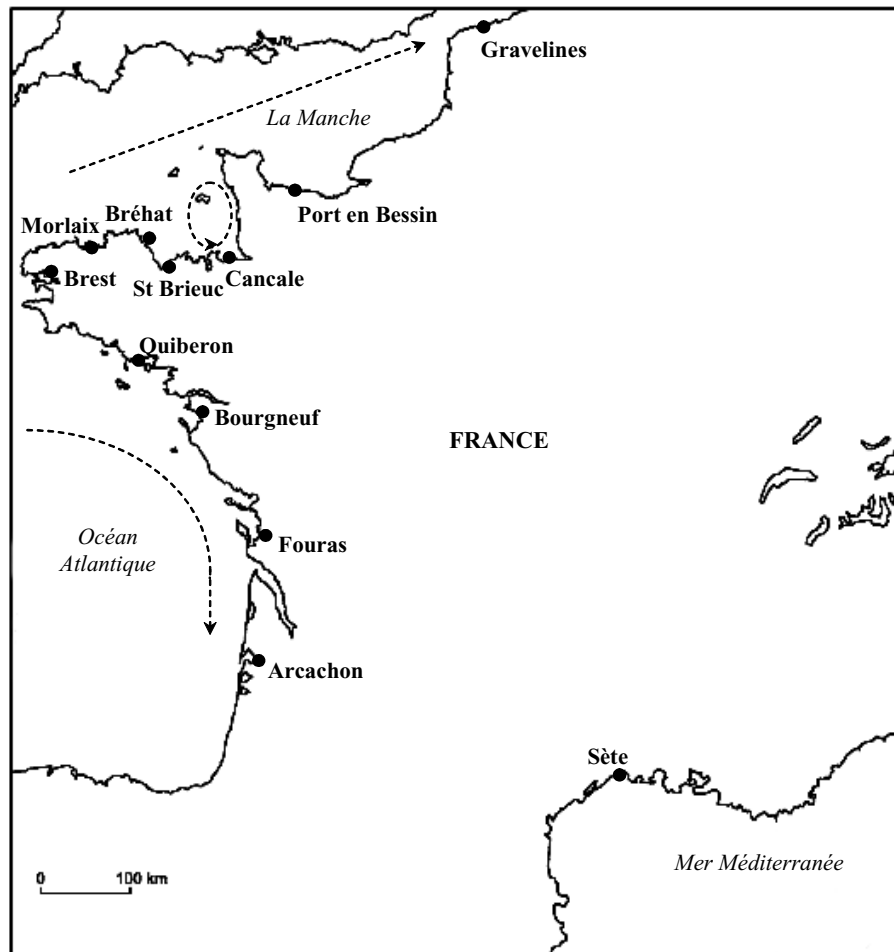


Figure I.3- Carte d'échantillonnage des populations françaises de *Crepidula fornicata* échantillonnées en 2001* (sauf Morlaix en 2000). Les flèches indiquent le sens du courant (non côtier) d'après Salomon & Breton (1991) et Lazure & Salomon (1991).

* Les échantillons ont été fournis par M. Blanchard, G. Brezellec, N. Cuvelier, A. Langlade, C. Lemaire, J.L Martin, X. de Montaudouin, M. Ropert et P.G. Sauriau

Tableau I.1- Données historiques et quantitatives dans les différents sites étudiés : date de première observation de *C. fornicata*, vecteur supposé d'introduction d'après Blanchard (1995) et stock de crépidules dans les différentes baies où des échantillons ont été prélevés (littoral Atlantique-Manche et étang de Thau).

Populations	1 ^{ère} observation	Vecteur	Stock en tonne dans les baies
Gravelines	1963 (Marteil, 1963)	Pêche à la coquille	-
Port en Bessin	1945 (Blanchard, 1995)	Trafic naval / débarquement	-
Cancale	1976 (Blanchard, 1995)	Importation d'huîtres	170 000 tn (Cariguel, 1994)
St Brieuc	1974 (Dupouy & Latrouite, 1979)	Importation d'huîtres	250 000 tn (Hamon & Blanchard, 1994)
Bréhat	1960 (Blanchard, 1995)	-	-
Morlaix	1960 (Blanchard, 1995)	-	-
Brest	1949 (Cole, 1952)	Trafic naval / débarquement	18 500 tn (Chauvaud, 1998)
Quiberon	1963 (Marteil, 1963)	-	10-50 tn/ha (Blanchard, 1995)
Bourgneuf	1963 (Marteil, 1963)	-	-
Fouras	1972 (Lubet & Le Gall, 1972)	Importation d'huîtres	5000 tn (Sauriau <i>et al.</i> , 1998)
Arcachon	1969 (Bachelet <i>et al.</i> , 1980)	-	155 tn (de Montaudouin <i>et al.</i> , 2001)
Sète	1982 (Blanchard <i>et al.</i> , 1995)	Importation d'huîtres	-

I.1 ANALYSE DES SCENARIOS D'INTRODUCTION A L'ECHELLE EUROPEENNE.

Remarque préliminaire :

L'assignation des populations françaises de *Crepidula fornicata* aux populations de l'aire native n'était pas une question centrale de ma thèse, puisque l'objet principal de celle-ci était l'étude des modalités de dispersion contemporaine, de recrutement et de reproduction chez cette espèce introduite. Cependant, ayant été amenée à comparer les populations natives et introduites (cf. paragraphe I.1.1.) et ayant collaboré au travail portant sur l'identification des sources d'introduction, conduit par Inken Kruse lors de son post-doctorat au laboratoire, j'exposerai également brièvement les résultats obtenus sur cette question (cf. paragraphe I.1.2.).

I.1.1. Comparaison de la diversité génétique des populations natives et introduites*

* Cette partie est traitée dans une publication présentée en annexe 10A :

Dupont L., Jollivet, D. & Viard, F., 2003. High genetic diversity and ephemeral drift effects in a successful introduced mollusc (*Crepidula fornicata* : Gastropoda). Mar. Ecol. Prog. Ser., 253 : 183-195

Il est difficile de déterminer l'histoire de l'introduction d'une espèce invasive car ces espèces sont souvent détectées et étudiées plusieurs années, voire plusieurs décennies, après l'événement d'introduction initial. Un processus d'invasion peut, néanmoins, être à l'origine de signatures génétiques spécifiques, dans les populations introduites, qui restent décelables pendant une longue période. Ces signatures peuvent être étudiées en comparant la diversité et la structure génétique des populations natives et introduites (Sakai *et al.*, 2001 ; Lee, 2002). La première étape de ma thèse a donc été de vérifier si des effets fondateurs avaient, ou non, profondément modifiés la structure génétique de *C. fornicata* dans l'aire colonisée par rapport à l'aire native. Afin de répondre à cette question, une étude indirecte a été menée comparant des données enzymatiques obtenues dans l'aire d'introduction avec des données, déjà existantes dans la littérature, sur la structure génétique de *C. fornicata* dans l'aire native (Hoagland, 1984 ; Hoagland, 1985).

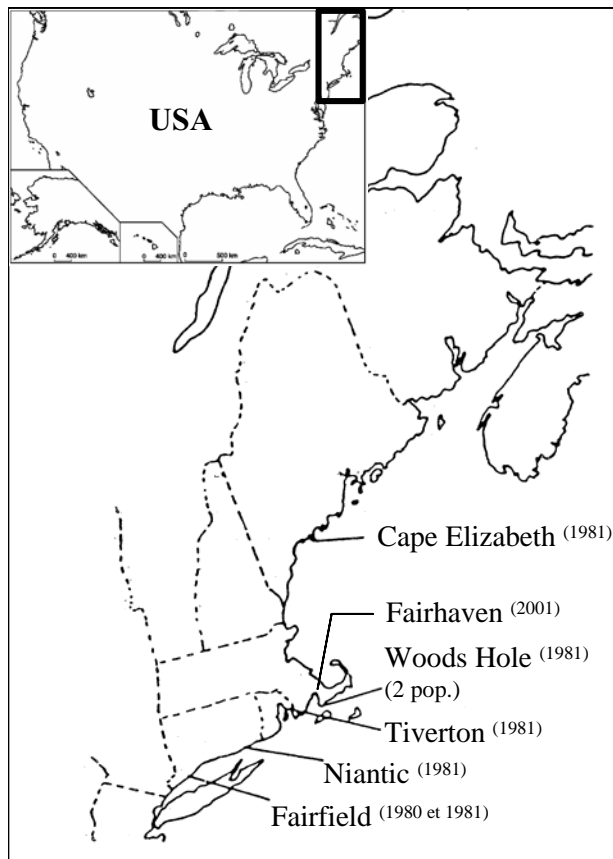


Figure I.4- Localisation géographique des populations américaines et dates d'échantillonnage. Sont représentées les populations étudiées par Hoagland (1984) et la population de Fairhaven* ajoutée dans cette étude. Deux populations ont été prélevées à Woods Hole dans deux sites différents. La population de Fairfield a été échantillonnée deux années de suite.

* La population de Fairhaven étudiée dans cette étude a été collectée par K. Halanych

Tableau I.2 - Les caractéristiques des différents systèmes enzymatiques utilisés.

Pour chaque locus sont indiqué le nombre d'allèle (N_{all}), le tampon d'électrophorèse, le voltage et la durée de migration (Tps)

Nom du système enzymatique (code international)	locus	Structure quaternaire	N_{all}	Tampon	Voltage	Tps
AAT Aspartate amino transférase (EC 2 6 1 1)	Aat	Dimère	4	TBE 8,6	210 V	3h30
EST Esterase NA (EC 3 1 1 1)	Est-1	Monomère	2	TBE 8,6	210 V	3h30
Leu-Tyr Peptidase (Leu-Tyr)	Pep-2	Monomère	3	TC8	90 V	5h
MDH Malate-déshydrogénase – NADdépendante (EC 1 1 1 37)	Mdh-1	Dimère	5	TC8	90 V	5h
	Mdh-2	Monomère	4	TC8	90 V	5h
MPI Mannose-6-phosphate isomérase (EC 5 3 1 8)	Mpi-2	Monomère	5	TC8	90 V	5h
PGI Phosphogluco-isomérase (EC 5 3 1 9)	Pgi	Dimère	5	TC8	90 V	5h
PGM Phosphoglucomutase (EC 2 7 5 1)	Pgm	Monomère	5	TBE8,6/TC8	210V/90V	3h30/5h

I.1.1.1 Démarche

I.1.1.1.a Echantillonnage

L'échantillonnage réalisé pour cette étude, présenté figure I.3, avait pour but d'être le plus représentatif possible de la distribution française de la crépidule. Le tableau I.1 détaille les dates et les vecteurs des introductions connus dans ces différents sites.

Cet échantillonnage a été complété par une population américaine provenant de Fairhaven qui nous a permis d'établir une correspondance avec les données publiées par Hoagland (1984 ; 1985). En effet, à l'aide de 24 locus enzymatiques, dont 5 étaient monomorphes, Hoagland (1984) a étudié 7 populations (6 sites différents, dont l'un a été échantillonné deux années de suite) de l'aire d'origine de *C. fornicata* (carte et dates d'échantillonnage présentés figure I.4) dont l'une, située à l'ouest de Woods Hole, est géographiquement proche de la population de Fairhaven (20 Km). Au total, 12 populations françaises ont donc été comparées à huit populations américaines.

I.1.1.1.b Les analyses allozymiques

En se basant sur les études d'Hoagland (1984 & 1985), onze systèmes enzymatiques ont été testés (les caractéristiques générales des allozymes sont présentées dans l'encadré I.1). A partir de ces analyses préliminaires, sept systèmes enzymatiques ont permis de visualiser 8 locus (Tableau I.2). Les quatre autres présentaient soit des problèmes de révélation, soit des ambiguïtés de lecture. Les protocoles de révélation des différents systèmes enzymatiques sont détaillés dans l'annexe 2.

I.1.1.1.c Les analyses statistiques des données génétiques

- ***Diversité génétique des populations native et introduites***

Un effet fondateur se traduit par une perte d'allèles rares, à l'origine d'une diminution d'hétérozygotie et d'un changement de fréquences alléliques (Hartl & Clark, 1997). Les fréquences alléliques, le nombre total d'allèles, le nombre moyen d'allèles (N_{all}), l'hétérozygotie observée (H_o) et la diversité génique (H_e) ont été estimés en utilisant le logiciel Genetix V4.01 (Belkhir *et al.*, 2000). L'hypothèse nulle d'indépendance entre les locus a été testée à l'aide d'une analyse de déséquilibre de liaison génotypique, en utilisant le logiciel Genepop V3.3 (Raymond & Rousset, 1995).

ENCADRE I.1 : Les électrophorèses de protéine

Définition des allozymes

Les allozymes sont des variations alléliques des enzymes

Principe des électrophorèses de protéine

L'électrophorèse correspond au déplacement qu'effectue une **particule ionisée** dans un **champ électrique** donné. Le principe de cette méthode repose donc sur le caractère amphotère des protéines. L'ionisation porte sur les groupements terminaux acide ou basique (NH₃⁺, COO⁻ et groupements imidazole) des résidus aminés qui déterminent la **charge nette de la protéine**. La vitesse de migration de la protéine à l'intérieur du support (gel d'amidon ou de polyacrylamide) dépend de la charge nette à un pH donné, du poids moléculaire et des différentes interactions que la protéine peut avoir avec son solvant. En électrophorèse, seules les différences de charges nettes sont détectées. Elles correspondent à des **substitutions d'acides aminés** dans la structure primaire de la molécule, ces substitutions étant issues de mutations sur les codons d'au moins un nucléotide de l'ADN. Cependant, toutes les mutations de triplets ne sont pas décelables en raison de la redondance du code génétique, ainsi que les substitutions aminés qui ne modifient pas la charge nette de la protéine (substitution neutre-basique, acide-neutre etc...). On considère que les deux tiers des mutations sont cryptiques, ce qui sous-estime la variabilité génétique des organismes.

Révélation des allozymes

Les techniques électrophorétiques sont couplées à des méthodes histochimiques qui permettent une révélation spécifique des fonctions enzymatiques. Les procédés histochimiques permettent soit de colorer les produits de dénaturation de la protéine ou un corps chimique qui lui est associé, soit d'obtenir un produit coloré à l'emplacement de cette protéine en utilisant ses propriétés catalytiques.

L'interprétation des zymogrammes

Considérons un gène codant un enzyme et possédant deux allèles codominants. Que l'enzyme soit monomère (formé d'une seule chaîne polypeptidique) ou polymère (formé de plusieurs) toutes les molécules produites par ce gène seront identiques chez un individu homozygote, et leur zymogramme présentera une bande unique dont l'emplacement sur le gel dépendra de la charge de la molécule. Chez les hétérozygotes, deux types de chaînes peptidiques sont produites, de sorte que :

- si l'enzyme considéré est **monomère** l'hétérozygote présentera deux bandes
- si l'enzyme considéré est **dimère**, les deux chaînes polypeptidiques produites par l'hétérozygote s'associeront au hasard et donneront naissance à trois sorte de molécules : des homodimères et des hétérodimères. Sur les zymogrammes les hétérozygotes montreront trois bandes (cf figure)
- si l'enzyme est **trimère**, l'hétérozygote montrera quatre bandes
- si l'enzyme est **tétramère**, l'hétérozygote montrera cinq bandes.

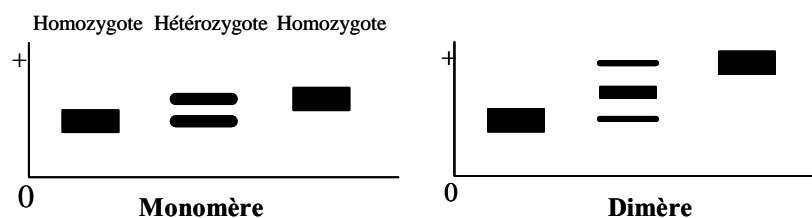


Diagramme des représentations allozymiques attendues chez les hétérozygotes et les homozygotes pour des enzymes monomères et dimères.

(D'après Pasteur *et al.* 1987)

- Variations de la taille efficace (N_e)

Nei *et al.* (1975) ont montré qu'au cours d'un effet fondateur, la diversité allélique diminue plus vite que l'hétérozygotie. Ainsi, dans une population ayant récemment subi un goulot d'étranglement, la diversité génétique attendue à partir des fréquences observées (mesurée par H_e) est supérieure à celle attendue pour un nombre d'allèles donné à l'équilibre mutation-dérive (Luikart *et al.*, 1998). Inversement, les populations en phase d'expansion sont caractérisées par des déficits en hétérozygotes par rapport aux attendus (Maruyama & Fuerst, 1984). Les traces de variations récentes de N_e ont donc été recherchées par cette méthode, en utilisant le logiciel Bottleneck (Cornuet & Luikart, 1996). Le modèle mutationnel choisi, qui permet d'établir la relation de référence à l'équilibre mutation-dérive, est le modèle en nombre d'allèles infini (« IAM » ; Maruyama & Fuerst, 1985).

Pour tester, si un déficit ou un excès d'hétérozygotie significatif existe, trois méthodes sont proposées. Seul le test de rang de Wilcoxon (Luikart & Cornuet, 1997) sera utilisé ici, car il est assez puissant pour être utilisé à partir de quatre locus polymorphes et de n'importe quel nombre d'individus, bien que 15 à 40 individus et 10 à 15 locus polymorphes soient recommandés.

- Structure génétique entre les populations de l'aire d'introduction

La différenciation génétique entre les populations introduites a été mesurée à l'aide de l'indice F_{st} de Wright (1951). L'estimation monolocus du F_{st} est obtenue à l'aide de l'estimateur $\hat{\theta}$ de Weir & Cockerham (1984). Les estimateurs multilocus sont calculés par Genepop V3.3 (Raymond & Rousset, 1995). Des tests exacts de différenciation génique globaux ont été effectués à l'aide de Genepop V3.3, l'hypothèse nulle testée étant : « la distribution allélique est identique entre populations ». Pour chaque locus, ce programme construit des tables de contingence, décrivant la composition allélique dans chaque population et réalise un test exact de Fisher (Raymond & Rousset, 1995). Une estimation non biaisée de la valeur de probabilité du test exact de Fisher est donnée.

- Comparaison de la diversité génique moyenne et de la structure génétique entre les populations natives et introduites

Pour son analyse des populations natives, Hoagland (1984) a utilisé 7 des locus employés dans cette étude. Etant donné que la correspondance allélique exacte était ambiguë entre les deux études, ce sont les paramètres statistiques estimés qui ont été utilisés pour comparer les deux études plutôt que les données de fréquence allélique. Les diversités géniques moyennes

Tableau I.3- Mesures de diversité et de variation génétique multilocus.

N_{all} : nombre moyen d'allèles par locus ; H_o : hétérozygotie observée ; H_e : diversité génique attendue à partir des fréquences observées

Population	N	N_{all} (écart-type)	H_o	H_e
Gravelines	49	3,13 (1,64)	0,248 (0,239)	0,251 (0,238)
Port en Bessin	50	2,63 (0,92)	0,195 (0,183)	0,224 (0,212)
Cancalle	50	3,00 (1,41)	0,214 (0,225)	0,222 (0,232)
St. Brieuc	50	2,88 (1,25)	0,200 (0,198)	0,221 (0,213)
Bréhat	36	2,50 (0,93)	0,192 (0,232)	0,205 (0,205)
Morlaix	74	3,25 (1,17)	0,210 (0,212)	0,232 (0,222)
Brest	50	2,50 (0,93)	0,200 (0,232)	0,203 (0,225)
Quiberon	50	2,88 (1,25)	0,225 (0,173)	0,247 (0,210)
Bourgneuf	50	2,88 (1,46)	0,229 (0,190)	0,248 (0,206)
Fouras	50	3,25 (1,04)	0,217 (0,206)	0,230 (0,196)
Arcachon	50	2,63 (1,30)	0,200 (0,191)	0,207 (0,207)
Sète	51	3,13 (1,36)	0,206 (0,185)	0,225 (0,192)
Moyenne (France)		2,89 (0,27)	0,211 (0,016)	0,226 (0,016)
Fairhaven (USA)	50	2,63 (1,30)	0,253 (0,247)	0,255 (0,243)

Tableau I.4- Comparaison de diversité génétique entre les populations analysées dans cette étude et les populations natives étudiées par Hoagland (1984). Sont présentés dans ce tableau : le nombre total d'allèles par locus (N_{Tall}), le nombre moyen d'allèles par populations (N_{all}) et la diversité génique (H_e). Pour les sept populations américaines étudiées par Hoagland (1984), N_{all} et H_e ont été calculés à partir des fréquences données dans l'appendice. N_{pop} et N_{ind} correspondent au nombre de populations et au nombre d'individus.

Populations		Aat	Est-1	Pgi	Mpi	Mdh-1	Mdh-2	Pgm	Mean	SD
Introduites	N_{Tall}	4	2	5	5	5	5	5		
$N_{\text{pop}}=12$	N_{all}	2,16	1,33	3,50	3,58	3,67	1,83	4,17	2,89	1,09
$N_{\text{ind}}=610$	σ^*	1,12	0,49	0,67	0,90	0,78	0,84	0,58		
	H_e	0,040	0,007	0,494	0,135	0,305	0,044	0,504	0,219	0,216
	σ	0,039	0,011	0,052	0,065	0,083	0,056	0,054		
Fairhaven ²⁰⁰¹	N_{all}	2	1	4	4	2	1	4	2,57	1,40
$N_{\text{ind}}=50$	H_e	0,040	0,000	0,477	0,378	0,114	0,000	0,609	0,231	0,252
Woods Hole Y.C ¹⁹⁸¹	N_{all}	2	2	5	2	2	1	3	2,43	1,27
$N_{\text{ind}}=48$	H_e	0,040	0,116	0,676	0,217	0,040	0,000	0,434	0,218	0,251
Natives	N_{Tall}	4	5	6	4	6	7	4		
Hoagland (1984)	N_{all}	2,14	2,71	4,43	2,14	2,57	2,71	3,43	2,88	0,81
$N_{\text{pop}}=7$	σ	1,07	0,76	0,98	0,69	1,13	1,25	0,53		
$N_{\text{ind}}=437$	H_e	0,093	0,116	0,452	0,085	0,049	0,163	0,284	0,177	0,143
	σ	0,109	0,044	0,182	0,072	0,040	0,154	0,119		

* σ = écart-type

des deux échantillons de Woods Hole (1981 : Hoagland ; 2001 : cette étude) ont été comparées d'après la méthode proposée par Nei & Kumar, p.246 (2000), pour déterminer si les diversités géniques différaient temporellement dans l'aire native. L'absence de différence significative a permis la comparaison de diversité génique entre les populations françaises introduites et les populations natives analysées par Hoagland (1984).

Un effet fondateur peut être détecté lorsque la structure génétique est plus importante dans l'aire d'introduction que dans l'aire native. En effet, la dérive génétique associées aux effets fondateurs successifs se traduit par une augmentation des différences génétiques entre populations. Pour comparer la structure génétique globale entre les populations natives d'une part et les populations introduites d'autre part, un F_{st} global entre les populations natives a été calculé à partir des fréquences alléliques fournies par Hoagland (1984) en utilisant le logiciel BIOSYS (Swofford & Selander, 1989). Un test de différenciation entre échantillons (logiciel Arlequin V2.0 ; Schneider et al. 2000) a été utilisé pour tester l'hypothèse nulle $F_{st} = 0$ pour les valeurs monocus de F_{st} . Un test global de significativité combinant les probabilités des tests a été réalisé d'après les recommandations données dans Sokal & Rohlf (1995).

I.1.1.2 Résultats

Les valeurs de diversité génétique et le nombre moyen d'allèles par locus obtenus dans le cadre de cette étude chez *C. fornicata* sont semblables entre les populations françaises, quelque soit la date d'introduction au site échantillonné (Tableau I.3, les fréquences alléliques sont présentées dans l'annexe 3). Aucune différence majeure de diversité génétique n'est mise en évidence par rapport à la population américaine que nous avons analysée. Les données comparées pour 7 locus communs à l'analyse de Hoagland (1984) et à la notre sont résumées dans le tableau I.4. La valeur moyenne de diversité génique, H_e , dans les populations analysées par Hoagland (1984) est 0,187 et le nombre d'allèles moyen par locus 2,93. Ces valeurs sont proches de celles obtenues pour la population de Fairhaven ($H_e = 0,255$; $N_{all} = 2,625$) mais également de celles obtenues pour les 12 populations françaises ($H_e = 0,226$; $N_{all} = 2,885$). Alors qu'une diminution de la diversité génique et du nombre d'allèles est attendue dans le cas d'un effet fondateur, la diversité génique moyenne des populations de l'aire d'introduction est identique, voire légèrement supérieure, à celle de l'aire d'origine.

De plus, aucun goulot d'étranglement n'a été mis en évidence à l'aide du logiciel Bottleneck. Au contraire, des valeurs significatives du test de rang de Wilcoxon contre un déficit en hétérozygotes ont révélé une expansion récente de la taille efficace dans les

populations de Cancale et Fouras ($P = 0,017$ et $P = 0,019$; ce résultat sera discuté plus en détail dans la partie I.2).

Alors que l'on attend une structure génétique plus importante dans l'aire native en cas d'effets fondateurs successifs, l'estimation globale de différenciation génétique dans l'aire d'origine est de même ordre, voire supérieure ($F_{st} = 0,052$; $P < 0,050$) à celle obtenue dans l'aire d'introduction ($\hat{\theta} = 0,022$; $P < 0,000$).

I.1.1.3 Discussion

Aucune diminution de diversité génétique n'a donc été mise en évidence dans les populations introduites de *C. fornicata*. En considérant que les populations subissant une perte considérable de diversité génétique ont un risque élevé de disparaître, il n'est pas surprenant qu'une espèce ayant réussi avec succès une invasion n'ait pas subi un effet fondateur suffisant pour réduire drastiquement sa variabilité génétique (Barton & Charlesworth, 1984). Néanmoins, des effets fondateurs ont été régulièrement signalés chez de nombreuses espèces invasives. Par exemple, les invasions successives de la mouche des fruits *Ceratitis capitata*, au cours du 20^{ème} siècle, en Californie, ont eu pour conséquence une réduction de 60% de diversité génétique (Villablanca *et al.*, 1998). Des diminutions significatives de variabilité génétique par rapport à la population source ont été répertoriées chez les plantes (Eckert *et al.*, 1996 ; Amsellen *et al.*, 2000 ; Goodisman *et al.*, 2001), les insectes (Berlocher, 1984 ; Tsutsui *et al.*, 2000), les oiseaux (Baker & Moed, 1987) et les mollusques (Selander & Ochman, 1983 ; Knight *et al.*, 1987 ; Johnson, 1988).

De plus, aucune augmentation de structure génétique n'a été observée sur les côtes françaises, par rapport à l'aire native, alors que de nombreuses études génétiques d'invasion ont montré une augmentation de la différenciation génétique après l'introduction, comme chez l'étourneau *Sturnus vulgaris* en Nouvelle-Zélande (Ross, 1983), le gastéropode *Theba pisana* en Australie (Johnson, 1988) ou encore la mouche *Rhagoletis completa* en Californie (Berlocher, 1984).

Aucune trace d'effet fondateur n'a donc été mise en évidence chez *C. fornicata* ; l'hypothèse d'un effet persistant de dérive génétique, durant l'invasion des côtes françaises, peut donc être rejetée. Ce résultat rejoint celui de Hoagland (1985) qui, en comparant les résultats obtenus dans l'aire d'origine avec ceux obtenus dans une population introduite anglaise (Portsmouth), avait montré l'absence de changement génétique significatif entre la population introduite et les populations américaines, à l'exception d'une perte de quelques allèles rares.

En milieu terrestre, l'augmentation de diversité génétique dans les populations introduites du lézard cubain *Anolis agnei*, par rapport aux populations d'origine, a permis à Kolbe *et al.* (2004) de montrer que le succès de l'invasion chez cette espèce s'explique par des introductions multiples qui ont transformé la variation génétique inter-population de l'aire d'origine en une variation intra-population dans l'aire d'introduction. La forte diversité génétique des populations françaises de *C. fornicata* trouverait donc son explication dans l'histoire connue de l'introduction de la crépidule en France. En effet, plusieurs vagues d'introductions ont été répertoriées (dans les années 40 puis les années 70). De plus, l'absence de différence de diversité génétique entre les populations françaises, en dépit de différentes dates de première observation, supporte l'hypothèse que la plupart des populations se sont établies à partir de plusieurs sources. Une telle hypothèse a également été émise pour expliquer la forte diversité génétique observée chez deux autres mollusques introduits des bassins conchylicoles français : *Cyclope neritea* (Bachelet *et al.*, 2004) et *Ocenebrellus inornatus* (Martel *et al.*, 2004a) ainsi que chez la moule zébrée *Dreissena polymorpha* (Marsden *et al.*, 1995). Chez cette dernière, les populations introduites d'Amérique du nord présentaient le même niveau de variabilité génétique que les populations natives européennes. De plus, comme les populations européennes, les populations introduites étaient faiblement structurées génétiquement. Ces deux constatations suggéraient donc que les populations fondatrices n'étaient pas de petite taille et/ou que des introductions multiples avaient eu lieu.

On remarque que les vecteurs potentiels (e.g. eau de ballast, aquaculture) des espèces invasives à cycle benthopélagique et/ou vivant préférentiellement dans des bassins conchylicoles permettent le transport d'un grand nombre d'individus et facilitent les introductions récurrentes.

I.1.1.4 Conclusion

En conclusion, cette étude indique une forte diversité génétique des populations françaises. Un résultat qui peut avoir différentes explications non exclusives. Deux de ces explications sont relatives à l'histoire de l'introduction :

- de multiples événements d'introduction
- des populations peu différenciées et génétiquement très diversifiées dans la zone d'origine, ce qui limite l'effet de dérive génétique lors de l'introduction si le nombre d'individus introduits est grand.

Une identification des populations sources, présentée dans le paragraphe suivant, va permettre d'aborder ces différents points.

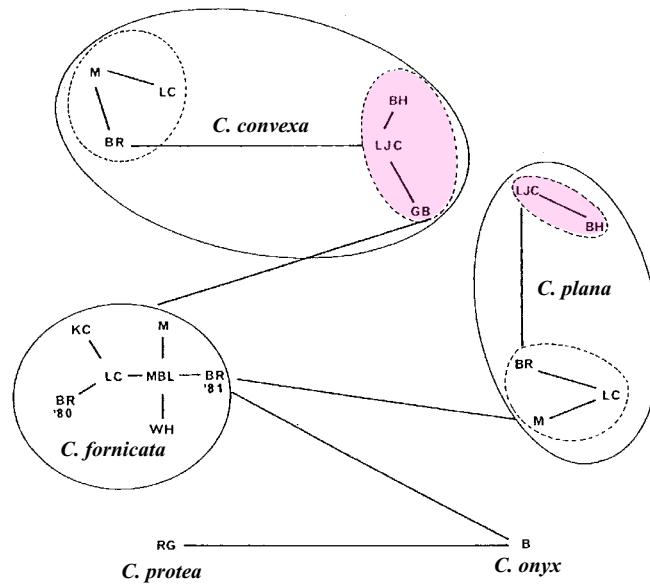


Figure I.5- Réseau de distances minimales basé sur la distance de Rogers obtenu par Hoagland (1984). Ce réseau représente les distances génétiques entre des populations d'espèces du genre *Crepidula* échantillonnées sur la côte nord-est américaine et en Floride (en rose) calculées à partir de données allozymiques (12 locus). La longueur des segments représente de la distance entre les taxons.

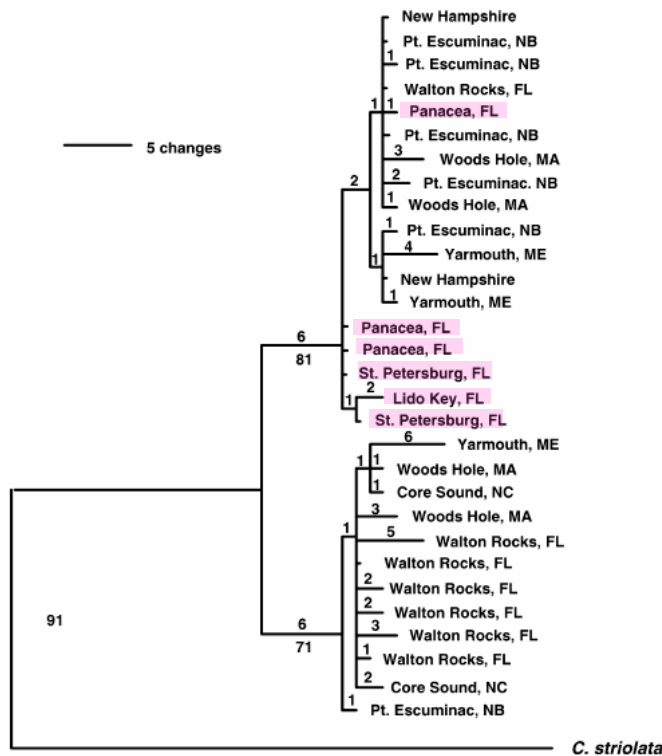


Figure I.6- Arbre de parcimonie basé sur les haplotypes du fragment Cytochrome oxydase (640 bp) obtenue par Collin (2001) à partir d'individus de *C. fornicata* échantillonnés le long de la côte nord-est américaine et en Floride. Les individus échantillonnés dans le Golfe de Floride sont indiqués en rose (Walton Rocks se trouve dans l'état de Floride mais pas dans le Golfe). Le nombre au-dessus des branches représente la longueur des branches et ceux en-dessous des branches sont les valeurs de bootstrap supérieures à 50%.

La dernière explication : une forte capacité à la dispersion naturelle *via* la phase larvaire permettant d'augmenter les flux de gènes et de limiter les effets de dérive génétique lors des processus de colonisation de l'aire d'introduction, sera traitée dans la deuxième partie de ce chapitre.

I.1.2. Identification des populations sources

Déterminer les routes et les populations sources de l'introduction est une composante fondamentale dans l'étude des espèces invasives. L'identification des routes d'introduction permet en effet de déterminer les vecteurs et donc d'espérer pouvoir maîtriser d'éventuelles ré-introductions. Quant à l'identification des points d'origine, elle permet de connaître l'environnement naturel dans lequel l'espèce a évolué et d'analyser les éventuelles modifications et adaptations de ses traits d'histoire de vie dans le nouvel environnement colonisé (Myers *et al.*, 2000 ; Sakai *et al.*, 2001 ; Lee, 2002).

Les analyses de séquences de gènes sont très largement utilisées pour retracer des processus historiques à l'échelle infra-spécifique (i.e. phylogéographie ; Avise, 2000) et assigner des populations introduites à des populations de l'aire d'origine. En raison du mode de transmission maternel et de l'absence de recombinaison de l'ADN mitochondrial, l'ADN_{mt} est souvent choisi pour obtenir les haplotypes qui permettront de réaliser une étude phylogéographique (Avise, 1994 ; Geller *et al.*, 1997). Un des préalables fondamentaux à l'assignation des zones d'origine d'une espèce invasive est l'existence d'une structure génétique significative et cohérente d'un point de vue phylogéographique dans l'aire d'origine.

I.1.2.1 Que connaît-on de la structure phylogéographique de *C. fornicata* dans l'aire native ?

Dans l'aire native de *C. fornicata*, où d'autres espèces congénères telles que *C. plana* et *C. convexa* sont présentes, plusieurs études sur la structure génétique des populations américaines du genre *Crepidula* (Prosobranchie : Calyptraeidae) ont été menées, à l'aide de marqueurs allozymiques (Hoagland, 1984) puis mitochondriaux (Collin, 2001 ; D. McGlashan & F. Viard, données non publiées).

Sans remettre en cause le statut d'espèce de *C. plana*, *C. convexa* et *C. fornicata*, Hoagland (1984) a mis en évidence une importante divergence génétique entre les populations

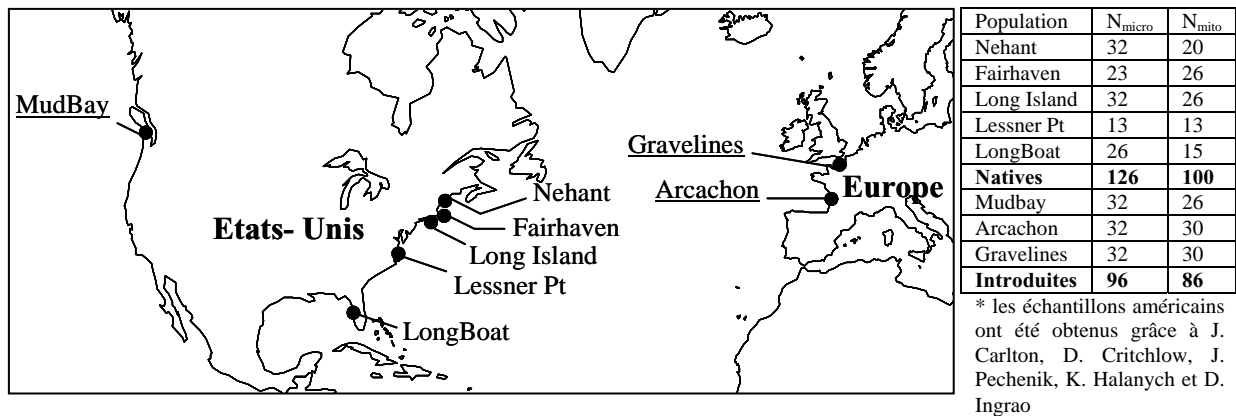


Figure I.7- Carte d'échantillonnage des populations natives et introduites (soulignées) et nombre d'individus analysées avec le marqueur mitochondrial CoI (N_{mito}) et les marqueurs microsatellites (N_{micro}).

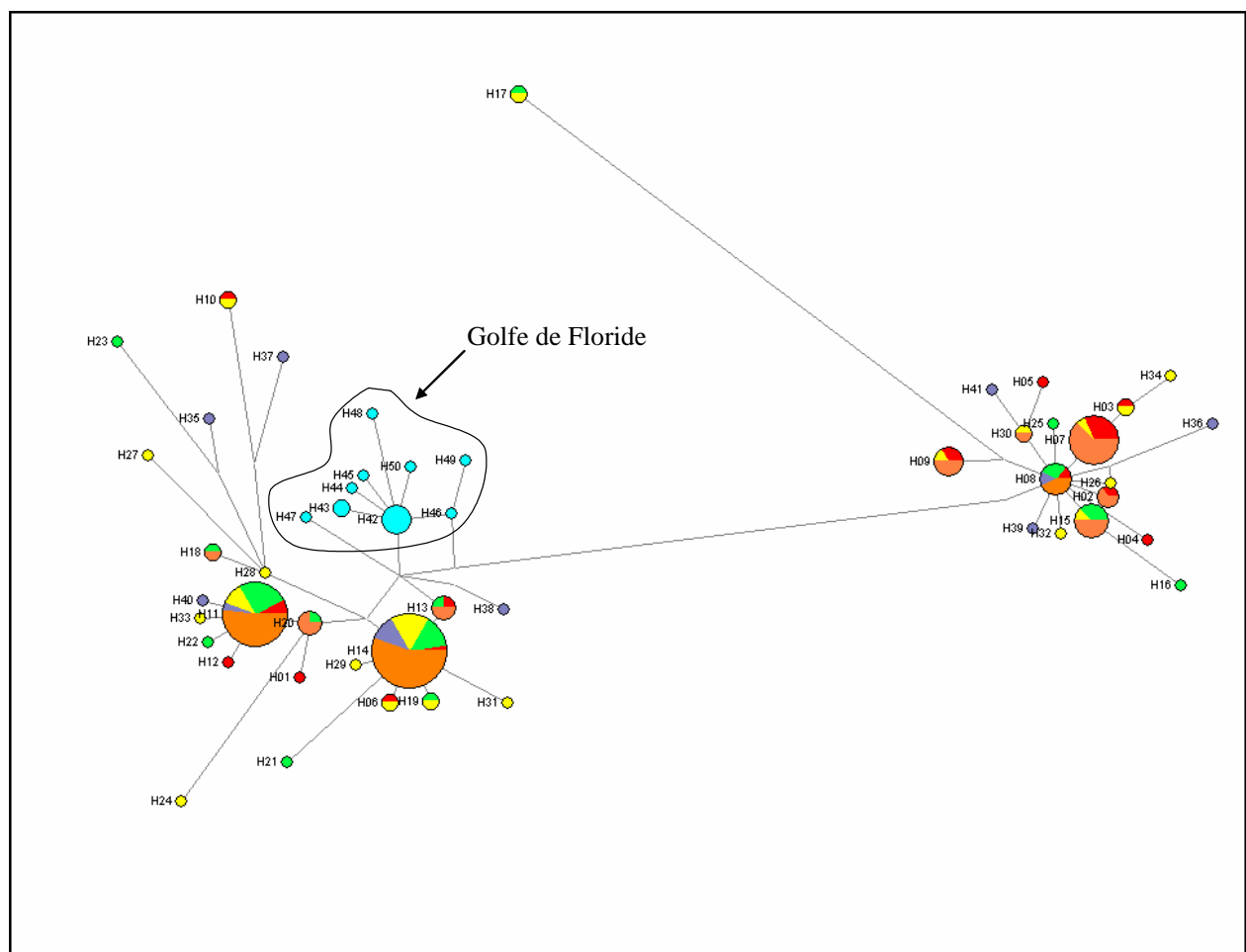


Figure I.8-Réseau haplotypique de distance minimale au locus COI. La longueur des segments entre chaque haplotype est proportionnelle à la distance génétique les séparant (nombre de mutations). Chaque cercle correspond à un haplotype. Les couleurs déterminent l'appartenance des haplotypes aux populations: Nehant (rouge); Fairhaven (vert); Long Island (jaune); Lessner Pt (parme); LongBoat (Turquoise); populations introduites (orange). La taille des camemberts représente la fréquence des haplotypes dans le jeu de données. Il faut noter ici que les populations introduites ont été représentées dans ces camemberts pour montrer les haplotypes partagés avec les populations natives mais elles n'ont pas servi à la construction du réseau (cf. paragraphe I.1.2.2).

du Golfe de Floride et celles localisées le long de la côte Est-Américaine chez *C. plana* et *C. convexa* (Figure I.5). En revanche, du fait de l'absence d'échantillons du Golfe de Floride, ce résultat n'a pu être mis en évidence chez *C. fornicata* au cours de cette même étude.

Les résultats obtenus sur *C. fornicata* par Collin (2001), montrent quant à eux, que les individus du golfe de Floride se regroupent dans un seul des deux clades de l'arbre construit à partir de séquences mitochondriales d'un fragment du gène Cytochrome Oxydase I (Figure I.6). Cependant, ce clade n'est pas spécifique de ces seuls individus, puisque des individus échantillonnés dans des populations de la côte Est-américaine s'y retrouvent également.

Aussi, afin d'affiner les deux études précédentes dans lesquelles le nombre d'individus analysés par population était très limité, D. McGlashan & F. Viard (données non publiées) ont récemment conduit une étude phylogéographique, basée sur une approche populationnelle. Un fragment de 640 paires de bases a été séquencé chez 126 individus, issus de 5 populations de l'aire d'origine : Nehants (MA), Fairhaven, (MA), Long Island (NJ), Lessner (DEL) et Longboat Key (Golfe de Floride ; carte d'échantillonnage présentée figure I.7). La population de Floride analysée est à quelques kilomètres de la population de Lido Key, analysée par Collin (2001). La méthode de reconstruction de la généalogie des types mitochondriaux choisie par McGlashan & Viard est une construction en réseau d'haplotypes, qui prend en compte les spécificités de la phylogénie intra-spécifique (Posada & Crandall, 2001). En effet, à l'échelle intra-spécifique, les types mitochondriaux ancestraux sont potentiellement présents dans le jeu de données, aux côtés de plusieurs haplotypes dérivés, du fait du faible temps écoulé depuis l'apparition de ces derniers, occasionnant des multifurcations. A ces multifurcations, s'ajoutent des possibilités de réticulations ou boucles dues à des phénomènes d'homoplasie qui doivent être prises en compte (Posada & Crandall, 2001). La figure I.8 montre le réseau d'haplotypes construit à l'aide d'une méthode visant à minimiser la distance (en terme d'événements de mutation) au sein du réseau d'haplotypes (logiciel NETWORK V4.1). Ce réseau a été construit à partir des 50 haplotypes observés dans les 5 populations de la zone d'origine. Conformément à l'étude de Collin (2001), une absence de structure phylogéographique cohérente a été notée dans l'aire d'origine. Sur ce réseau, il apparaît clairement que les haplotypes trouvés dans le Golfe de Floride (LongBoat) sont regroupés entre eux, au sein d'un groupe différencié des autres types mitochondriaux.

A travers ces trois études utilisant des marqueurs enzymatiques ou mitochondriaux, et des méthodes statistiques différentes, on note donc, à l'exception du Golfe de Floride, une faible structure phylogéographique dans l'aire d'origine.

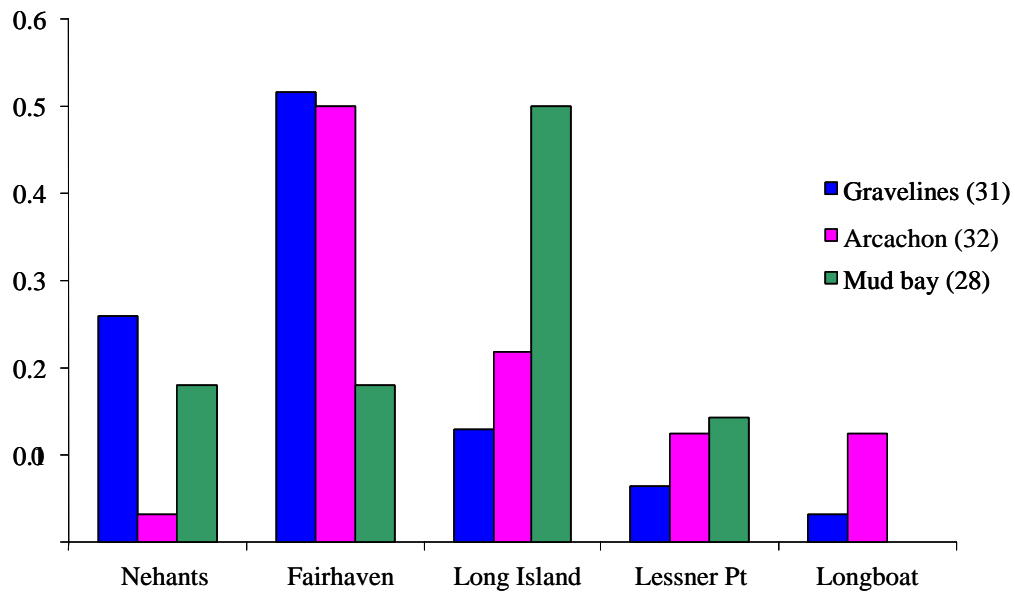


Figure I.9-Proportion d'individus des populations introduites assignés à chacune des populations natives. Ce graphe est une synthèse des résultats des tests d'assignation aux populations de l'aire d'origine. Les populations de la côte est américaine sont classées de gauche à droite pour figurer le gradient nord-sud.

I.1.2.2 Quid de l'assignation de populations introduites de *C. fornicata* à des populations de l'aire native ?

Lors de leur étude à l'aide d'un marqueur mitochondrial, D. McGlashan & F. Viard ont également étudié trois populations introduites : Mud Bay dans le Puget Sound (côte ouest nord-américaine ; introduction vers 1920) et deux populations françaises, Gravelines (située en Mer du Nord ; introduction vers 1960) et Arcachon (située sur l'Atlantique ; introduction vers 1970). Si on positionne les haplotypes de l'aire d'origine trouvés dans ces trois populations introduites (figure I.8), il apparaît qu'ils sont, comme les populations natives, distribués largement dans le réseau. Ce type de marqueur ne permet donc pas d'assigner des populations sources aux populations introduites chez *C. fornicata*. Des problèmes ont souvent été rencontrés dans les études tentant d'assigner des populations introduites à des populations de l'aire d'origine. Chez la fourmi d'Argentine (*Linepithema humile*), par exemple, le manque de polymorphisme mitochondrial empêchait toute assignation (Tsutsui *et al.*, 2001). Le problème rencontré par Villablanca *et al.* (1998) lors de leur étude de l'espèce invasive *Ceratitis capitata* à l'aide de séquences d'introns nucléaires venait, comme pour *C. fornicata*, d'un manque de structure phylogéographique dans l'aire d'origine, expliqué par de la rétention de polymorphisme ancestral. Dans certains cas, néanmoins, cette technique s'est montrée particulièrement efficace, comme dans le cas de l'algue verte *Caulerpa taxifolia*, introduite en Méditerranée, et dont la source a été identifiée comme étant la souche cultivée dans les aquariums d'Europe occidentale (Jousson *et al.*, 1998).

Pour palier ces difficultés, le même jeu de données de populations natives et introduites a été analysé à l'aide de locus microsatellites, marqueurs caractérisés par des taux de mutation élevés et potentiellement plus adaptés à des assignations (Davies *et al.*, 1999b).

Afin de résoudre ce problème, Inken Kruse (post-doctorante au laboratoire) a donc mené une étude utilisant des marqueurs moléculaires dont les propriétés mutationnelles pouvaient permettre de révéler des événements plus récents ; étude à laquelle j'ai collaboré pour l'obtention des données microsatellites.

Six locus microsatellites (CfCA2, CfCA4, CfCATGT, CfGT14, CfGT9 et CfH7 ; décrits dans l'annexe 2 et la partie I.2) ont été utilisés pour analyser ces populations. Les mêmes populations que celles analysées sur la région COI par D. MacGlashan & F. Viard ont été étudiées (Figure I.7), avec toutefois un nombre supérieur d'individus (incluant les mêmes individus, sauf pour Arcachon). Des tests d'assignation ont été réalisés avec le logiciel GenClass v2.0 b (Piry *et al.*, soumis) selon les méthodes proposées par Rannala & Mountain

(1997) et Paetkau *et al.* (2004). La figure I.9 présente le pourcentage d'individus assignés statistiquement à chacune des 5 populations de la côte Est-Américaine. On remarque, pour les deux populations françaises, que la majorité (respectivement 52% et 50% pour Gravelines et Arcachon) des individus est assignée à la population américaine de Fairhaven. En revanche, les individus de Mud Bay sont majoritairement assignés à Long Island. L'utilisation de marqueurs microsatellites à taux de mutation élevé montre que les deux zones d'introduction (Côte Ouest américaine et France) semblent différer par leur(s) population(s) d'origine. Ces dernières sont cependant géographiquement proches et il est notable que dans les deux cas, les populations du Sud de l'aire de distribution naturelle de *C. fornicata* ne contribuent pas ou peu à la diversité génétique présente dans les populations des régions d'introduction.

I.1.3 Conclusion

En conclusion de cette première partie, il ressort que les populations de l'aire d'introduction française présentent une diversité génétique considérable et analogue à celle présente dans l'aire de distribution originelle. La forte diversité génétique des populations introduites semble résulter de la forte diversité présente dans la zone d'origine qui a probablement été accrue par le mélange d'individus issus de plusieurs populations sources, toutes situées dans la partie nord de la distribution naturelle actuelle de *C. fornicata*.

La différence génétique des populations du Golfe de Floride souligne le rôle de la cassure biogéographique présente à l'est de la Floride dans la structure génétique de *C. fornicata* dans l'aire d'origine. D'après Collin (2001), cette cassure biogéographique n'est pas le résultat de facteurs hydro-géographiques influençant le recrutement car les espèces planctoniques et les espèces à développement direct montrent la même cassure génétique. Il serait intéressant de mener un travail plus fin sur la péninsule de Floride afin de déterminer précisément la localisation de cette cassure.

I.2 EXPANSION DE LA CREPIDULE A L'ECHELLE DES BASSINS CONCHYLICOLES FRANÇAIS

I.2.1 Quels facteurs jouent un rôle majeur dans la dissémination de l'espèce à l'échelle des côtes Manche-Atlantique ?*

* Cette partie est traitée dans la publication présentée en annexe 10A :

Dupont L., Jollivet, D. & Viard, F., 2003. High genetic diversity and ephemeral drift effects in a successful introduced mollusc (*Crepidula fornicata* : Gastropoda). Mar. Ecol. Prog. Ser., 253 : 183-195

Crepidula fornicata a colonisé la majeure partie des bassins conchylicoles du littoral français, de la Manche et de l'Atlantique (Blanchard, 1995). Le jeu de données présenté dans le paragraphe I.1.1, représentatif de la répartition de la crépidule à l'échelle des côtes françaises, m'a permis d'étudier les modalités d'expansion de *C. fornicata* le long des côtes Manche-Atlantique et de rechercher dans quelle mesure les échanges de naissains d'huîtres entre bassins conchylicoles étaient à l'origine de l'expansion rapide de cette espèce.

I.2.1.1 Méthodes d'étude des relations entre populations et des modèles de dispersion dans l'aire d'introduction**

**Les analyses allozymiques sont présentées dans la partie I.1.1

1.2.1.1.a La différenciation génétique par paire de populations

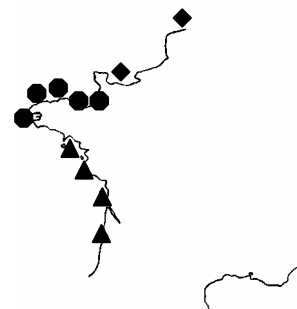
Les estimateurs $\hat{\theta}$ de l'indice F_{st} ont été calculés entre chaque paire de populations. Des tests exacts de différenciation génique par paire de populations ont également été effectués à l'aide de GENETPOP V3.3. Une estimation non biaisée de la valeur de probabilité du test exact de Fisher est donnée.

1.2.1.1 b Analyse hiérarchique de la structure génétique

A partir des données de courantologie et de biogéographie de la littérature, les côtes françaises ont été partitionnées en zones potentiellement disjointes en terme de dispersion larvaire. La mer d'Iroise agissant comme une barrière hydrodynamique avec deux courants majeurs : l'un d'eux s'étend vers le Nord-ouest de la Manche et l'autre longe les côtes atlantiques de la Manche vers le Sud (Lazure & Salomon, 1991 ; Salomon & Breton, 1991) ;

Tableau I.5- Analyse hiérarchique de la variance moléculaire

Groupes: “Nord”(◆): Gravelines, Port en Bessin; “Manche”(●): St Brieuc, Cancale, Bréhat, Morlaix, Brest; “Atlantique”(▲): Quiberon, Fouras, Arcachon, Bourgneuf.
En gras les valeurs significatives.



Source de la variation	% de la variation	Indice de fixation	P
A- Nord, Manche et Atlantique			
Entre les groupes	0,29	$F_{ct} = 0,003$	0,058
Entre populations au sein des groupes	0,48	$F_{sc} = \mathbf{0,005}$	0,032
Entre populations	99,23	$F_{st} = \mathbf{0,008}$	0,001
B- Nord et Manche			
Entre les groupes	6,86	$F_{ct} = \mathbf{0,069}$	0,000
Entre populations au sein des groupes	0,42	$F_{sc} = \mathbf{0,005}$	0,050
Entre populations	92,71	$F_{st} = \mathbf{0,073}$	0,000
C- Manche et Atlantique			
Entre les groupes	1,15	$F_{ct} = \mathbf{0,011}$	0,000
Entre populations au sein des groupes	0,51	$F_{sc} = \mathbf{0,005}$	0,019
Entre populations	98,34	$F_{st} = \mathbf{0,017}$	0,000
D- Nord et Atlantique			
Entre les groupes	0,07	$F_{ct} = 0,001$	0,275
Entre populations au sein des groupes	0,39	$F_{sc} = 0,004$	0,181
Entre populations	99,54	$F_{st} = 0,005$	0,113

Tableau 1.6 : Estimation des valeurs de $\hat{\theta}$ par paire de populations échantillonnées le long des côtes françaises. Test exact de Fisher de différenciation génotypique : ***, $P < 0,001$; **, $P < 0,01$; *, $P < 0,05$.

Les valeurs de différenciation génétique par paire mettant en évidence une divergence génétique des populations du « Nord » avec les autres populations sont surlignées en bleu. Les cas où l'absence de différenciation génétique entre les populations s'explique par une action anthropique sont surlignés en rose.

P. en Bessin	-0,001										
Cancale	0,085***	0,076***									
St Brieuc	0,052***	0,050***	0,007*								
Bréhat	0,062***	0,055***	0,008*	-0,008							
Morlaix	0,073***	0,067***	0,001*	0,007***	0,004						
Brest	0,067***	0,066***	0,009*	0,013***	0,013*	0,000					
Quiberon	0,050***	0,045***	0,011***	0,008***	0,012***	0,018***	0,026***				
Bourgneuf	0,010	0,006	0,030***	0,015***	0,021***	0,026***	0,024***	0,010			
Fouras	0,036**	0,030***	0,012**	0,006*	0,008**	0,009**	0,011	-0,002	0,001		
Arcachon	0,042**	0,036*	0,013***	0,001	0,004	0,010***	0,005*	0,016*	0,004	0,005	
Sète	0,032**	0,028***	0,019***	0,003*	0,006**	0,020***	0,024***	0,006	-0,001	0,001*	0,006
	Gravelines	Port en Bessin	Cancale	St Brieuc	Bréhat	Morlaix	Brest	Quiberon	Bourgneuf	Fouras	Arcachon

une différenciation a été faite entre Atlantique et Manche. La péninsule du Cotentin étant connue pour être également une barrière à la dispersion larvaire (Ellien *et al.*, 2000 ; Jolly *et al.*, 2004) une différenciation a été faite entre Manche occidentale et Manche orientale (appelée « Nord » dans le reste de l'étude). Les populations étudiées ont été regroupées en fonction de ces zones géographiques. La seule population méditerranéenne de notre étude (Sète) n'a pas été prise en compte dans l'analyse hiérarchique (il faut en effet deux populations au minimum par niveau de hiérarchie).

La différenciation des populations entre les groupes a été calculée à l'aide d'une AMOVA hiérarchique basée sur les F_{st} (analyse de variance moléculaire ; Excoffier *et al.*, 1992). Cette analyse est effectuée à l'aide du logiciel Arlequin V2.0 (Schneider *et al.*, 2000). Une matrice de distances à deux dimensions entre toutes les données multi-locus est calculée dans un premier temps. L'analyse hiérarchique de la variance répartit ensuite la variance totale en composés qui sont attribués aux différences entre les groupes définis (F_{ct}), entre les populations à l'intérieur des groupes définis (F_{sc}) et entre les populations (F_{st}). La significativité des indices de fixation est testée par permutations selon l'approche décrite par Excoffier *et al.* (1992).

1.2.1.1.c Isolement par la distance

Un modèle d'isolement par la distance (Slatkin, 1993) a été testé à l'aide du logiciel GENEPOPV3.3 qui permet de calculer la régression linéaire entre les estimations de $F_{st}/(1-F_{st})$ et la distance géographique (trait de côte) par paire de populations. Il effectue également un test analogue à celui proposé par Mantel (1967) : l'hypothèse nulle testée est « les matrices de distances génétiques et de distances géographiques sont indépendantes », en utilisant un coefficient de corrélation de rang de Spearman, calculé à partir des matrices de F_{st} par paire et de distances géographiques. Les distances entre populations utilisées sont les distances le long de la côte, évaluées à l'aide du programme ENCARTA. Pour cette analyse, la population de Sète est exclue du jeu de données.

1.2.1.2 Résultats

L'AMOVA montre que, bien qu'aucune différence génétique significative ne soit observée globalement entre les trois groupes Nord, Manche et Atlantique ($P = 0,058$; Tableau I.5), le groupe Manche est différent des deux autres. Par contre, les groupes Nord et Atlantique ne sont pas significativement différents. Les groupes proches géographiquement

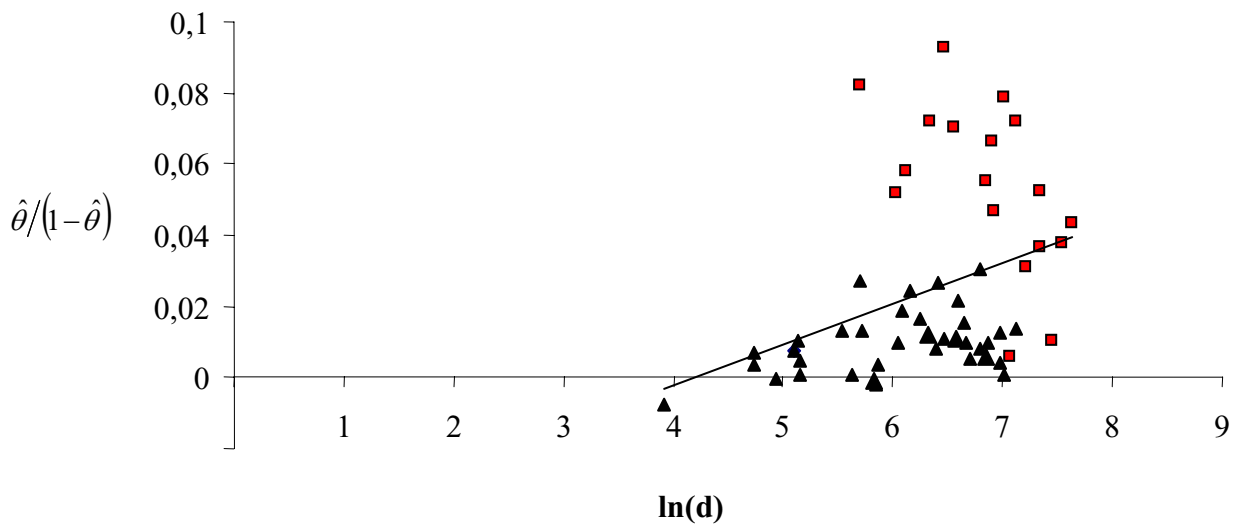


Figure I.10: Distance génétique entre paires de populations de *C. fornicata* $\hat{\theta}/(1-\hat{\theta})$ en fonction de la distance géographique $\ln(d)$. La population de Sète est exclue de l'analyse. Les valeurs de différenciation par paire de populations incluant une population du "Nord" sont indiquées par des carrés rouges. Valeur de probabilité du test unilatéral de Mantel : $P(\text{correlation} > \text{correlation observée}) = 0,01$.

(Nord et Manche ; Atlantique et Manche) sont génétiquement différents, en dépit de probables transferts de naissains d'huîtres entre les baies.

Au sein du groupe Atlantique, aucune structure génétique ($\hat{\theta} = 0,006$, $P = 0,230$) et aucun isolement par la distance ($P = 0,380$) n'a été observé alors qu'une légère mais significative différenciation génétique ($\hat{\theta} = 0,005$, $P = 0,000$) et un isolement par la distance ($P = 0,020$) a été détecté au sein du groupe Manche. Les deux populations du groupe Nord sont génétiquement identiques ($\hat{\theta} = - 0,001$, $P = 0,340$).

Afin d'étudier plus précisément les relations génétiques entre les populations, la différenciation génétique entre toutes les paires de populations ont été analysées (Tableau I.6) : 71% des valeurs de $\hat{\theta}$ (47 sur 66) sont significatives au seuil de 5% et 41% restent significatives après une correction de Bonferroni séquentielle (Rice, 1989). Au sein des groupes, les paires les plus proches géographiquement sont généralement identiques génétiquement, sauf pour la paire Cancale/StBrieuc. D'autres paires identiques génétiquement sont plus surprenantes, telle que Arcachon et Sète ; Bourgneuf et Gravelines ou Port en Bessin et pour finir Arcachon et Cancale, StBrieuc ou Bréhat.

On remarque également que les deux populations du Nord se différencient génétiquement de toutes les autres populations à part Bourgneuf. Cette différence génétique du groupe Nord est bien illustrée par le graphique d'isolement par la distance, présenté dans la figure I.10. L'isolement par la distance observé ($P = 0,010$) est essentiellement dû à l'isolement génétique des populations du Nord. En effet, lorsque ces deux populations sont exclues de l'analyse le test n'est plus significatif (0,34).

I.2.1.3 Discussion

Au cours du processus d'invasion, l'expansion graduelle de la population installée est généralement liée à des processus naturels mais peut être accrue par une dispersion à longue distance liée à des activités humaines comme cela a été mis en évidence chez la moule zébrée *Dreissena polymorpha* (Griffiths *et al.*, 1991). Les activités humaines sont notamment connues pour diminuer la différenciation génétique entre populations. Par exemple, les importations de naissains d'huîtres de Norvège vers l'Ecosse sont responsables de l'homogénéité génétique des populations écossaises et nordique d'*Ostrea edulis* (Johannesson *et al.*, 1989). Par conséquent, une explication de la rapide expansion de *C. fornicata* le long des côtes françaises est une dispersion entre bassins conchylicoles liée au transfert d'huîtres, une pratique commune entre les fermes conchylicoles de l'Atlantique et de la Manche (M.

Blanchard, communication personnelle). Contrairement à cet attendu, une différence génétique entre les baies de la Manche et de l'Atlantique a été montrée. La seule exception est la population d'Arcachon qui est génétiquement semblable à trois populations de la Manche.

Des effets de transport liés à l'homme ont été mis en évidence dans de rares cas. Par exemple, l'absence de différenciation génétique entre les populations du Nord (Gravelines et Port en Bessin) et Bourgneuf, trouve sans doute son explication dans une action anthropique. Selon Marteil (1963), la crépidule, observée en 1963 dans la baie de Bourgneuf, a été accidentellement introduite dans la rivière de Pénerf (située à proximité de Bourgneuf) avec un transfert de moules provenant de Hollande. Il est donc fort probable que la population de Bourgneuf ait la même origine que les populations du Nord. Autre exemple, d'après les données historiques (Tableau I.1 ; Blanchard, 1995), *C. fornicata* serait arrivée à Sète en 1982 lors de transferts massifs d'huîtres japonaises, *Crassostrea gigas*, provenant d'Arcachon, dans l'étang de Thau. La différenciation génétique est également nulle entre ces deux populations. Cette dernière constatation est renforcée par un résultat similaire observé chez un autre mollusque introduit des bassins conchylicoles de l'Atlantique : *Cyclope neritea*. Une étude réalisée chez cette espèce à l'aide d'un marqueur mitochondrial a permis d'identifier une similitude génétique entre une population d'Arcachon et une population de l'étang de Thau (Bachelet *et al.*, 2004) qui s'explique également par les transferts de *Crassostrea gigas* ayant lieu depuis les années 1960, entre les fermes ostréicoles (Sauriau, 1991).

La détection d'effets ponctuels des activités humaines sur la structure génétique des populations avait été, de la même manière, montrée entre des populations méditerranéennes et atlantiques d'*Ostrea edulis*. Saavedra *et al.* (1993) ont mis en évidence que les transports extensifs de naissains d'huîtres, entre les deux aires géographiques, étaient seulement décelables dans certaines localités spécifiques, alors que la dispersion larvaire expliquait la majeure partie de la structure génétique observée chez cette espèce à phase larvaire planctonique. Ainsi, chez *Ostrea edulis*, des barrières hydrodynamiques réduisent le flux de gènes entre la mer Méditerranée et l'Atlantique en raison de la présence du détroit de Gibraltar (Saavedra *et al.*, 1993).

Dans l'étude présentée ici, la différenciation génétique entre les groupes Manche et Atlantique illustre le rôle majeur des courants résiduels au niveau de la mer d'Iroise (entrée ouest de la Manche). De même, la différenciation génétique entre les groupes Nord et Manche semblent indiquer que la péninsule du Cotentin peut agir comme une barrière biogéographique, qui influence la circulation marine et réduit probablement les flux de gènes entre la Manche occidentale et la Manche orientale.

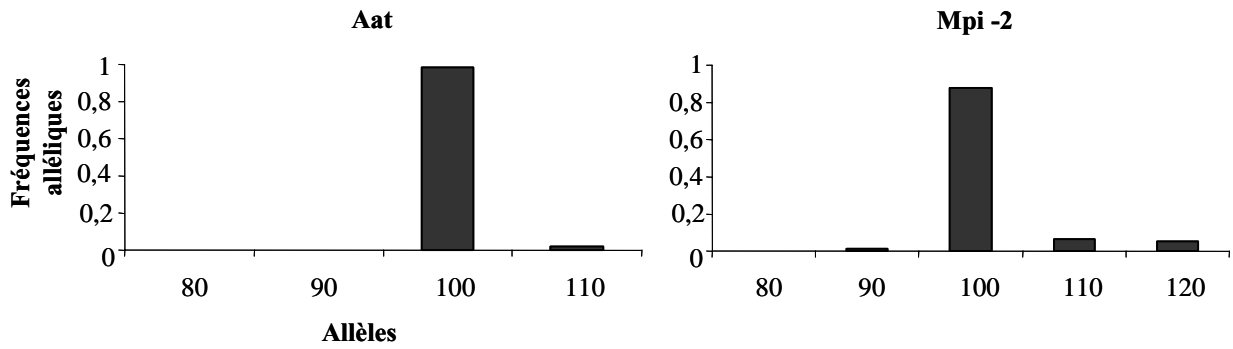
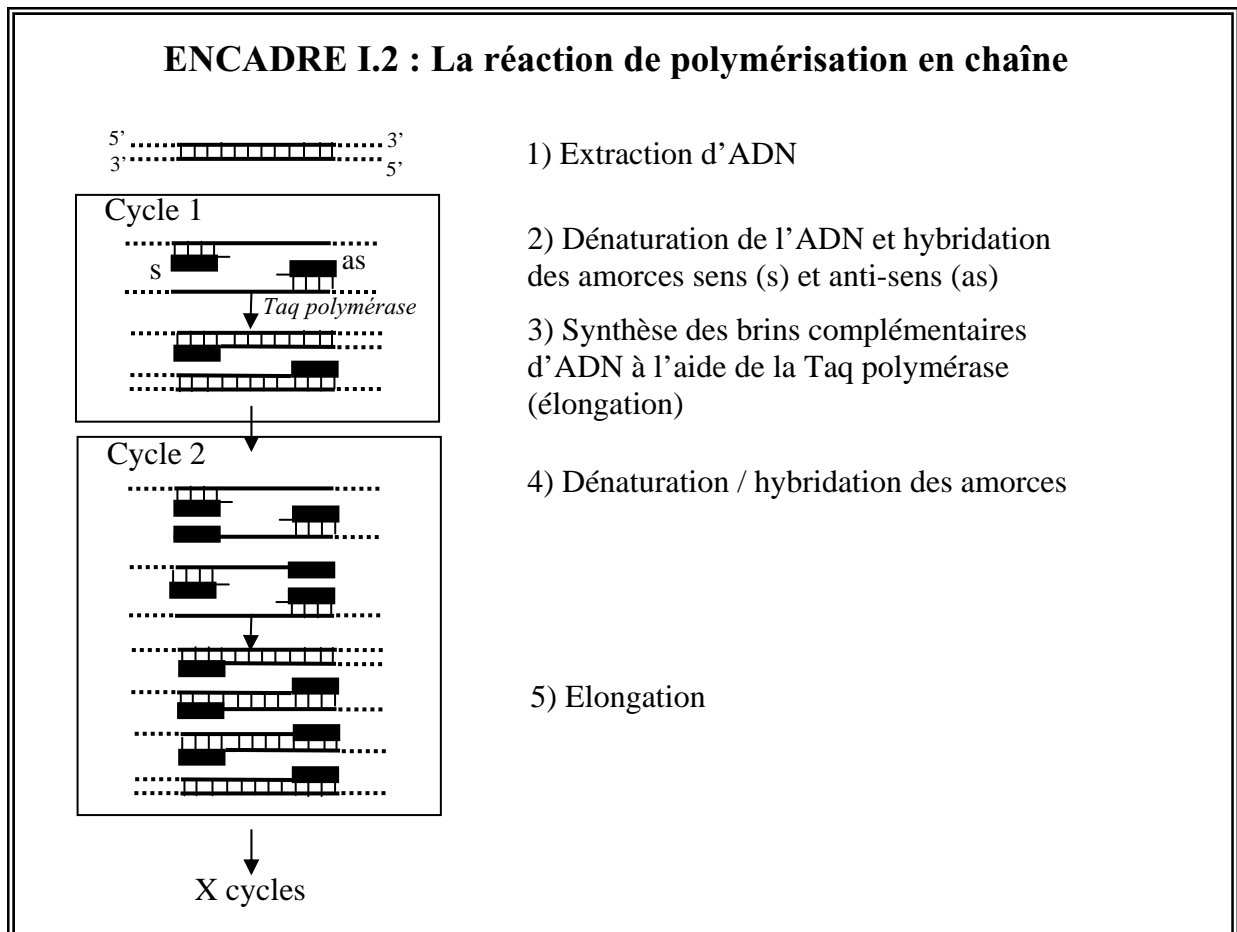


Figure I.11- Histogrammes des fréquences alléliques des locus Aat et Mpi-2 dans la population de Cancale (Golfe Normano-breton). N = 50.



I.2.1.4 Conclusion

La différenciation génétique des populations du Nord (Gravelines et Port en Bessin) suggère l'hypothèse qu'au moins deux phases d'introduction, espacées dans le temps, ont eu lieu à l'échelle des côtes françaises.

Cette étude a permis également de montrer que la distribution de cette espèce dans l'aire d'introduction était ponctuellement influencée par des facteurs humains locaux. Ceci avait également été mis en évidence dans le paragraphe I.1.1 pour les populations de Cancale et Fouras. En effet, ces deux populations sont en déséquilibre démographique et semblent se trouver dans une phase récente d'expansion. Ces résultats sont en accord avec des données historiques et des données de terrain, qui indiquent que ces baies ont été récemment recolonisées, suite à des actions de nettoyage des fonds. En effet, les baies de Cancale (depuis 1976) et de Fouras (depuis 1972) sont connues pour subir des épisodes de recolonisation explosifs après chaque essai d'éradication de la crépidule (Sauriau *et al.*, 1998 ; Blanchard & Erhold, 1999).

Enfin, le dernier résultat majeur de cette étude est la structure génétique à l'échelle des côtes françaises Atlantique-Manche qui semble fortement influencée par la présence de deux barrières biogéographiques : la mer d'Iroise et la péninsule du Cotentin. Afin de confirmer ce dernier point une étude à une échelle plus fine, ciblée sur les côtes de la Manche, a été menée.

I.2.2 Mer d'Iroise et Péninsule du Cotentin : des barrières naturelles à la dispersion ?

A l'échelle du littoral Manche-Atlantique, l'étude réalisée à l'aide des allozymes fait émerger deux grands groupes, séparés par la mer d'Iroise, au sein desquels la dispersion larvaire pourrait jouer un rôle important dans la répartition actuelle de la crépidule. Au sein du groupe Manche, en particulier, un isolement par la distance a été mis en évidence, laissant supposer que les conditions hydrodynamiques agissent comme des barrières invisibles au flux de gènes chez cette espèce. En effet, bien que la circulation générale des masses d'eau transporte les propagules de l'Atlantique vers la mer du Nord, la présence de certains gyres liés à la topographie de la côte et d'intensité variable (Salomon & Breton, 1991) peuvent jouer un rôle important dans la rétention de larves et, par conséquent, dans la formation de structure génétique à l'échelle de la Manche.

ENCADRE I.3 : Les marqueurs microsatellites

Définition : Séquences répétées en tandem d'un motif de deux à cinq paire de bases

5' AGTGTCAGTAGCTAG...CACACACACACACACA...CGTGATACATGCA 3'

séquence flanquante

8 répétitions

séquence flanquante

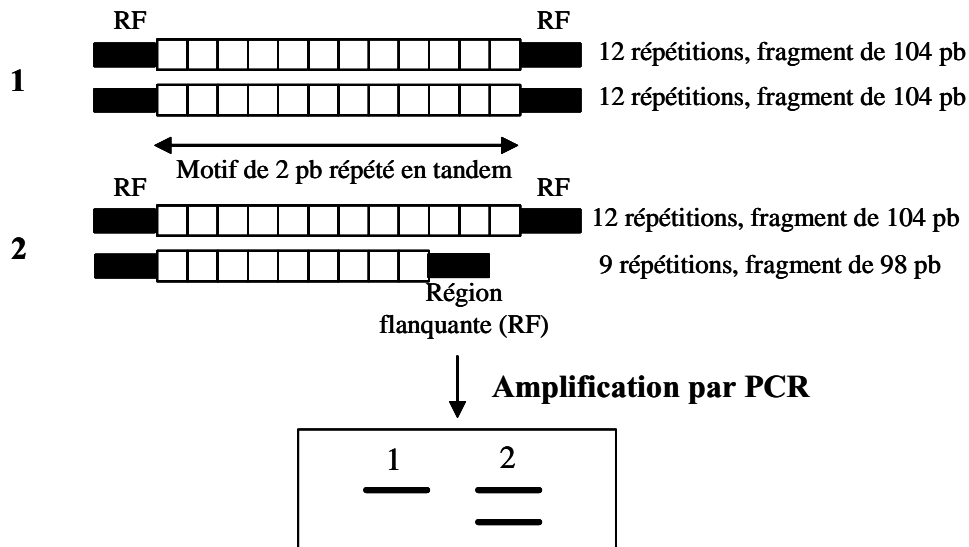
Les amorces de PCR (région soulignée) sont choisies dans les séquences (uniques) flanquant la zone répétée.

Trois catégories de microsatellites :

- les microsatellites parfaits où le motif est répété sans interruption : CACACACACA
- les microsatellites imparfaits qui présentent une ou plusieurs interruptions de la répétition en tandem : CACAGACACACA
- les microsatellites composés qui comprennent deux ou plusieurs microsatellites dont l'unité répétitive n'est pas la même : CACACAGAGAGA

Polymorphisme de longueur :

Un allèle correspond à un nombre de répétitions (en théorie) et à une taille d'amplifié (en pratique). Sur l'exemple ci-dessous, les amorces et les séquences flanquantes font 80 paires de bases.



Visualisation sur gel

Mécanismes moléculaires de mutation :

Glissement de brins (« slippage ») ou « crossing-over » inégaux

Taux de mutation : 10^{-2} à 10^{-5}

D'après Viard (1996) et Weinmayr (1999)

J'ai donc choisi, dans un deuxième temps, de cibler mon étude sur les côtes de la Manche afin d'analyser le rôle de la dispersion larvaire sur la connectivité entre populations géographiquement proches, et par conséquent, sur l'expansion rapide de la crépidule entre les bassins conchylicoles. J'ai notamment cherché à tester l'hypothèse que la mer d'Iroise et la péninsule du Cotentin puissent agir comme des barrières biogéographiques chez la crépidule, comme c'est le cas pour d'autres espèces natives à cycle benthopélagique (par exemple l'annélide *Pectinaria koreni*, Ellien *et al.*, 2000 ; Jolly *et al.*, 2003).

Afin de déterminer comment, chez *C. fornicata*, la diversité génétique est structurée à moyenne échelle en fonction de la courantologie locale, des échanges larvaires obtenus à partir d'un modèle de circulation physique d'advection-diffusion et développé par Salomon & Breton (Salomon & Breton, 1991 ; Salomon & Breton, 1993) ont été comparés aux données de différenciation génétique entre populations. Pour évaluer les échanges larvaires, Céline Ellien (MCF, Paris 6) a mis à notre disposition un programme de simulation de dispersion larvaire, prenant en compte ce modèle, mais également les caractéristiques biologiques de la crépidule dans la région étudiée (durée d'émission larvaire, fécondité, densité locale des populations). Bien que ce programme de simulation soit très simple, puisqu'il n'intègre pas d'événements le long de la colonne d'eau (modèle à deux dimensions), ni de données météorologiques réelles (telle que des séquences de vent) et qu'une seule période d'émission larvaire soit paramétrée, il a permis d'avoir une approche originale de l'étude de la dispersion. En effet, peu d'études ont cherché à confronter des modèles de dispersions larvaires et des données de flux de gènes (mais voir Gilg & Hilbish, 2003a).

Bien que les marqueurs allozymiques aient donné de bons résultats pour l'étude de la variabilité génétique à l'échelle des côtes françaises, trois raisons m'ont amené à développer un nouveau type de marqueurs au cours de cette thèse :

(i) l'utilisation de la technique d'électrophorèse enzymatique restreint les possibilités de récolte/conservation des échantillons (vivants ou congelés à -80°C), notamment pendant les campagnes en mer.

(ii) les marqueurs enzymatiques utilisés ci-dessus sont caractérisés par un allèle très largement majoritaire aux côtés d'allèles en très faibles fréquences (une caractéristique illustrée par la figure I.11 pour deux locus, dans la population de Cancale) et par un nombre faible d'allèles sur l'ensemble des locus. Or, de telles caractéristiques diminuent la puissance des tests de différenciation (Estoup *et al.*, 1998).

(iii) cette technique nécessite des quantités importantes de tissus. Dans l'optique d'étudier la phase larvaire pour avoir accès à des composantes du système de reproduction (analyse de

Tableau I.7- Caractéristiques des locus microsatellites utilisés dans ce travail de thèse.
Sont présentés dans ce tableau : le motif du microsatellite, les amorces sens (F) et anti-sens (R), la température d'appariement (T_a) et la taille du fragment cloné.

Locus	Séquence Coeur	Amorces (5'-3')	T_a * (°c)	Taille (pb)
CfCA2	(CA) ₂ GA(CA) ₅ CG(CA) ₈ AACAAA(CA) ₈ TA(CA) ₆ CG(CA) ₆ CG(CA) ₂	F-GCTGATTGGACGTAAAGGAA R-GCCCGGTGACATCATACTTA	55°	227
CfCA4	(CA) ₇ CTCATT(CA) ₈	F-CACCCGAGAAAATCTGGTTA R-GATCTTGATGGCGAGTTGTT	58°	173
CfCATGT	(CAT) ₅ TAT(CAT) ₃ N ₅₈ GA(GT) ₃ GCGTC T(GT) ₈ CT(GT) ₃ CT(GTGA) ₂ (GT) ₃	F-ACAGGGAATGTAAATGCTCCAT R-CATACACACCCGAGAAAATCTG	57°	214
CfGT9	(GTGA) ₂ (GT) ₂₁ AT(GT) ₂ AT(GT) ₉ (GCG T) ₂ (GT) ₁₇ AT(GTGC) ₂ GT	F-AACCTCCAACAAGCAAAGTC R-AACGAAGAAAATTGTTCCACA	57°	286
CfGT14	GTGA(GT) ₅ (CT) ₂ (GT) ₃₇	F-AAATGTTTCTGCAACACAG R-GCCTTTAAACACCCGAGAA	57°	237
CfH7	(GTTT) ₁₀ (GCTT) ₂	F-GGTAACGTATTGCTACCGAAAG R-TCATGCGGGTTTGGTGG	54°	137



Figure I.12- Répartition géographique des populations analysées au sein des différentes baies*

* Les échantillons ont été obtenus grâce à E. Foucher, T. Jolly, F. Olivier, M. Savina et G. Thouzeau

Tableau I.8- Positions géographiques et date d'échantillonnage des populations analysées dans les différentes baies. N_{ind} : nombre d'individus analysés

Baie	Population	Latitude N	Longitude W	Date	N_{ind}
Baie de Seine	Bs60	49°31'88	00°14'11	2001	40
	Bs62	49°31'65	00°16'97	2001	38
Baie des Veys	Bv159	49°33'71	00°54'90	2001	26
	Bv7	49°30'99	00°59'64	2001	39
	Bv21	49°32'00	01°15'50	2003	41
Baie du M ^t S ^t Michel	Bdm24	48°45'95	01°50'10	2002	50
	BdmBi	48°45'05	01°50'10	2002	56
	BdmRb	48°43'25	01°46'70	2002	52
	Bdm49	48°40'50	01°45'50	2002	49
Baie de S ^t Briec	Stb2	48°35'00	02°37'80	2002	31
	Stb104	48°37'37	02°45'41	2002	32
	Stb1	48°42'62	02°50'90	2002	31
Baie de Morlaix	Mx1	48°40'20	03°53'11	2002	92
	Mx5	48°40'22	03°53'17	2002	78
Rade de Brest	Br3	48°19'81	04°30'70	2003	86
	Brz2	48°19'30	04°31'70	2003	112
	Brk	48°22'33	04°25'69	2003	87

paternité de larves obtenues à partir de femelles récoltées *in natura*), il était intéressant de développer des marqueurs moléculaires permettant de travailler à partir d'une très faible quantité de tissus notamment en utilisant la technique de PCR (i.e. réaction de polymérisation en chaîne d'amplification de l'ADN ; encadré I.2).

Des marqueurs microsatellites (Encadré I.3) ont donc été développés chez *C. fornicata*. En effet, les microsatellites semblaient des marqueurs de choix pour les différents types d'analyse envisagés dans cette thèse car ils sont hypervariables et permettent d'utiliser une très faible quantité de tissus conservés indifféremment congelés ou dans de l'alcool (amplification par PCR). De plus, ils sont couramment obtenus chez les gastéropodes (par exemple *Bulinus truncatus*, Viard *et al.*, 1996 ; *Melanoides tuberculata*, Samadi *et al.*, 1999 ou encore *Littorina subrotundata*, Tie *et al.*, 2000).

1.2.2.1 Isolement, caractérisation et mise au point de marqueurs microsatellites

Dans un premier temps, une banque génomique non enrichie a permis d'obtenir sept locus polymorphes chez *C. fornicata*. Le protocole détaillé d'isolement, de caractérisation et de mise au point des locus microsatellites élaboré, par Estoup & Martin est à l'adresse <http://www.inapg.inra.fr/dsa/microsat/microsat.htm> ; il est résumé dans l'annexe 4. Le développement de ces marqueurs a fait l'objet d'une publication sous forme d'une note présentée en annexe 10.B. Cependant, l'utilisation en routine de certains de ces marqueurs a mis en évidence un taux non négligeable d'allèles nuls pour certains d'entre eux. Des amorces ont donc été redéfinies pour les locus CfCA6, CfCATGT, CfGT3 et CfGT9. Malgré de nouvelles amorces, les profils obtenus avec les locus CfCA6 et CfGT3 restaient ambigus, ils n'ont donc pas été utilisés au cours de ce travail. Une autre banque a ensuite été réalisée au laboratoire par Inken Kruse et une optimisation (toujours en cours) a permis d'obtenir un nouveau locus (CfH7). Le tableau I.7 récapitule les caractéristiques de tous les locus effectivement utilisés au cours de cette thèse ; les conditions de PCR pour chacun de ces locus sont présentées dans l'annexe 5.

1.2.2.2 Echantillonnage et caractéristiques des populations

Les baies choisies en Manche pour cette étude à moyenne échelle ont été sélectionnées de part et d'autre de la péninsule du Cotentin : la Baie de Seine (Bs) et la Baie des Veys (Bv) à l'Est de la péninsule et la Baie du Mont St Michel (Bdm), la Baie de St Briec (Stb) et la Baie de Morlaix (Mx) à l'Ouest de la péninsule. Deux à quatre populations par baie ont été échantillonnées. Trois populations de la rade de Brest ont été ajoutées à l'analyse, pour étudier

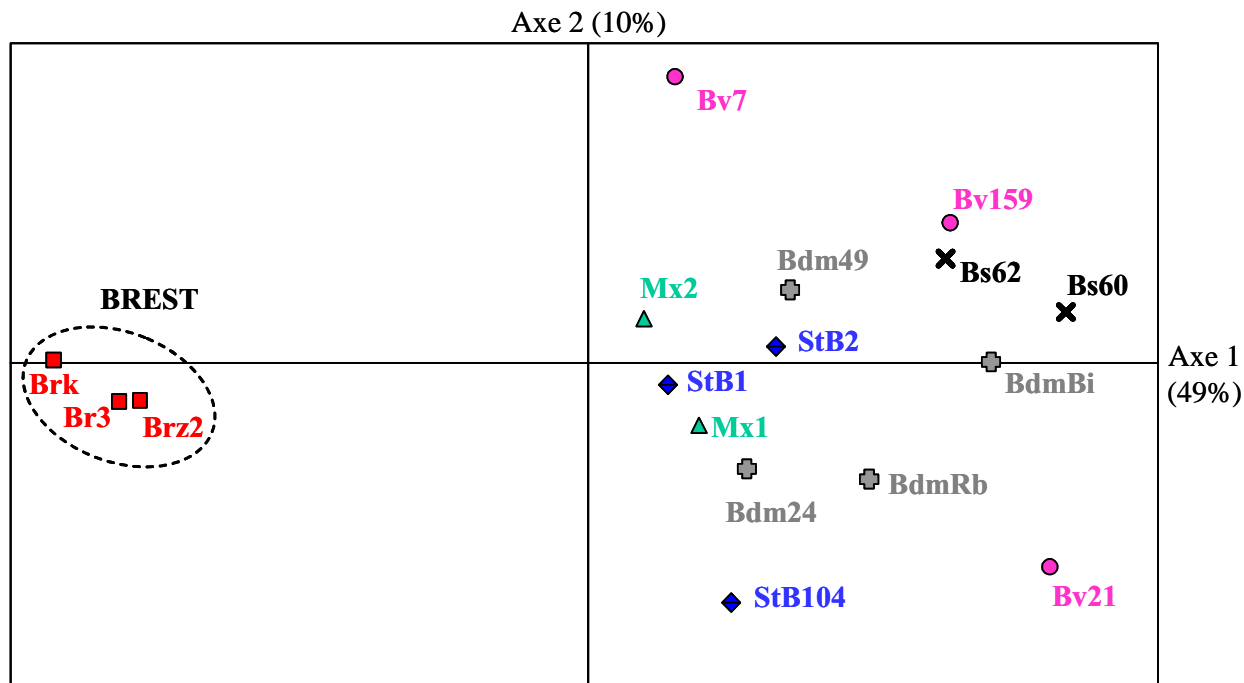
Tableau I.9- Variabilité génétique au sein des populations des différentes baies

N_{ind} : nombre d'individus analysés ; N_{all} : nombre moyen d'allèles par locus ; A_r : richesse allélique calculée pour une taille minimale d'échantillon de 24 individus pour les comparaisons de populations et de 76 individus pour les comparaisons de baies ; H_o : hétérozygotie observée ; H_e : diversité génique attendue à partir des fréquences observées ; \hat{f} : estimateur de F_{is} de Weir & Cockerham (1984), la probabilité associée est celle du test de Fisher (*, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$, ***, $P < 0,001$).

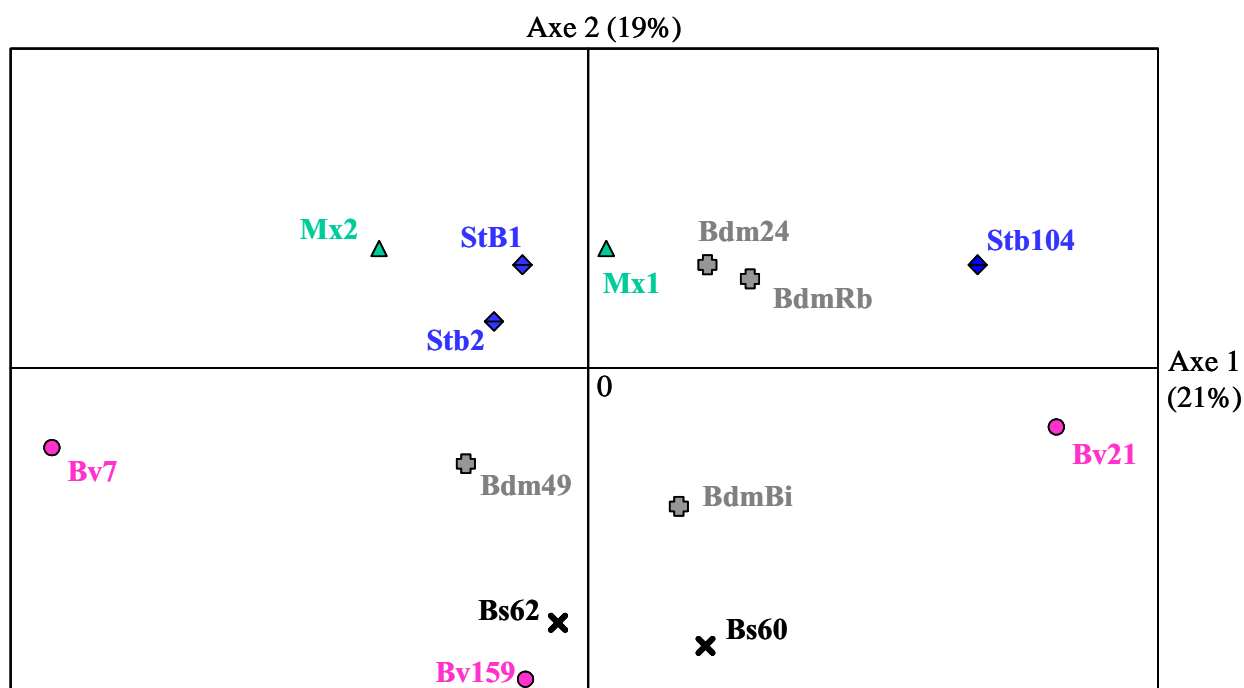
Baie	Populations	N_{ind}	N_{all}	A_r	H_o (écart type)	H_e (écart type)	\hat{f}
Baie de Seine	Bs60	40	14,2	12,5	0,744 (0,114)	0,796 (0,204)	0,066***
	Bs62	38	14,7	12,9	0,729 (0,190)	0,802 (0,180)	0,092
	Total	78	17,0	16,9	0,736 (0,148)	0,798 (0,191)	0,078
Baie des Veys	Bv159	26	11,7	11,6	0,627 (0,143)	0,804 (0,196)	0,223***
	Bv7	39	14,7	12,7	0,715 (0,138)	0,804 (0,181)	0,112***
	Bv21	41	13,7	12,0	0,725 (0,284)	0,756 (0,251)	0,041**
	Total	106	18,0	17,1	0,698 (0,190)	0,794 (0,208)	0,122***
Baie du M^t S^t Michel	Bdm24	50	14,7	12,1	0,734 (0,181)	0,770 (0,211)	0,047**
	BdmBi	56	16,5	12,6	0,685 (0,183)	0,768 (0,242)	0,110***
	BdmRb	52	17,5	13,1	0,661 (0,180)	0,761 (0,238)	0,132***
	Bdm49	49	15,7	12,5	0,697 (0,130)	0,808 (0,187)	0,138***
	Total	207	22,5	18,1	0,694 (0,166)	0,778 (0,221)	0,109***
Baie de S^t Brieuç	Stb2	31	14,5	13,3	0,716 (0,182)	0,806 (0,204)	0,112**
	Stb104	32	12,5	11,5	0,666 (0,214)	0,759 (0,218)	0,124***
	Stb1	31	13,0	12,0	0,714 (0,188)	0,780 (0,186)	0,086***
	Total	94	19,2	18,5	0,699 (0,192)	0,784 (0,203)	0,109***
Baie de Morlaix	Mx1	92	17,7	12,4	0,721 (0,130)	0,788 (0,196)	0,086***
	Mx5	78	19,2	13,1	0,687 (0,190)	0,792 (0,199)	0,134***
	Total	170	21,7	18,4	0,706 (0,146)	0,790 (0,197)	0,107***
Rade de Brest	Br3	86	12,2	9,3	0,707 (0,122)	0,777 (0,134)	0,091*
	Brz2	112	12,2	9,3	0,710 (0,117)	0,768 (0,135)	0,076***
	Brk	87	11,7	9,2	0,705 (0,113)	0,773 (0,136)	0,088***
	Total	287	14,7	12,0	0,707 (0,111)	0,772 (0,136)	0,084**
TOTAL		940	26,5		0,705 (0,148)	0,790 (0,186)	0,108***

Tableau I.10- Estimation des valeurs de $\hat{\theta}$ (sous la diagonale) et des distances géographiques en kilomètres (au-dessus de la diagonale) par paire de populations des différentes baies analysées. Test-G de différence de fréquences alléliques entre populations : *, P<0,001 ; **, P<0,01 ; *, P<0,05. Les valeurs soulignées correspondent aux test-G significatifs après une correction de Bonferroni séquentielle.**

	Bs60	Bs62	Bv159	Bv7	Bv21	Bdm24	BdmBi	BdmRb	Bdm49	Stb2	Stb104	Stb1	Mx1	Mx5	Br3	Brz2	Brk
Bs60	-	4	49	55	74	271	269	265	260	320	329	341	448	448	569	570	576
Bs62	-0,002	-	45	51	70	267	265	261	256	316	325	337	444	444	565	566	572
Bv159	-0,003	-0,003	-	7	24	221	219	215	210	270	279	291	398	398	519	520	526
Bv7	0,012	0,008	0,008	-	18	215	213	209	204	264	273	285	392	392	513	514	520
Bv21	0,001	0,006	0,011	<u>0,022***</u>	-	197	195	161	156	246	255	268	374	374	495	496	502
Bdm24	0,006	0,004	0,007	0,009	0,002	-	2	6	11	49	58	71	177	177	298	299	305
BdmBi	0,007***	-0,001	0,006	0,010	0,003	0,002	-	4	9	51	60	72	179	179	300	301	307
BdmRb	0,009*	0,006	0,008	0,011	0,003	-0,002	0,003	-	5	55	64	76	183	183	304	305	311
Bdm49	0,006	0,000	0,003	0,005	0,007	0,003	-0,001	0,008	-	60	69	81	188	188	309	310	316
Stb2	0,004	0,002	0,001	0,003	0,001	0,000	0,004	0,002	-0,004	-	10	21	128	128	249	250	256
Stb104	0,008*	0,006	0,006*	0,019**	-0,004	-0,004	0,003*	0,000	0,003	0,000	-	12	119	119	240	241	247
Stb1	0,007***	0,001*	0,008*	0,008*	0,009**	-0,003	0,005	0,004	0,003	0,002	0,002*	-	107	107	228	229	235
Mx1	0,005*	0,006	0,008*	0,009**	0,004**	-0,003	0,005**	0,002	0,001	-0,004	0,000	-0,001	-	0,5	121	122	128
Mx5	0,009**	0,004	0,008	0,006	<u>0,011***</u>	0,002*	0,007**	0,004	0,003	-0,004	0,004*	-0,001	-	-	121	122	128
Br3	<u>0,034***</u>	<u>0,024***</u>	<u>0,030***</u>	<u>0,020***</u>	<u>0,032***</u>	<u>0,015***</u>	<u>0,029***</u>	<u>0,021***</u>	<u>0,016***</u>	<u>0,014***</u>	<u>0,015***</u>	<u>0,010***</u>	<u>0,011***</u>	<u>0,011***</u>	-	1	7
Brz2	<u>0,039***</u>	<u>0,029***</u>	<u>0,032***</u>	<u>0,018***</u>	<u>0,038***</u>	<u>0,016***</u>	<u>0,033***</u>	<u>0,027***</u>	<u>0,022***</u>	<u>0,017***</u>	<u>0,015***</u>	<u>0,013***</u>	<u>0,015***</u>	<u>0,013***</u>	0,000*	-	9
Brk	<u>0,031***</u>	<u>0,023***</u>	<u>0,025***</u>	<u>0,021***</u>	<u>0,031***</u>	<u>0,013***</u>	<u>0,026***</u>	<u>0,024***</u>	<u>0,015***</u>	<u>0,015***</u>	<u>0,010***</u>	<u>0,012***</u>	<u>0,011***</u>	<u>0,011***</u>	0,000	-0,001	-



A. Analyse multivariée avec les populations de la Rade de Brest



B. Analyse multivariée sans les populations de la Rade de Brest

Figure I.13- Représentation graphique de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) des fréquences alléliques des populations des différentes baies.

(×) Baie de Seine; (●) Baie des Veys; (■) Baie du Mont-St-Michel; (◆) Baie de St Brieu; (▲) Baie de Morlaix et (■) Rade de Brest.

le rôle de la mer d'Iroise comme barrière à la dispersion. Un total de 17 populations a été considéré. La carte d'échantillonnage est présentée sur la figure I.12 et les caractéristiques des populations sont données dans le tableau I.8.

I.2.2.3 Analyse du polymorphisme de marqueurs microsatellites

Quatre locus microsatellites ont été utilisés pour cette étude : cfCA2, CfCA4, CfGT14 et CfH7. Les paramètres génétiques des populations sont présentés dans le tableau I.9 (les fréquences alléliques sont présentées dans l'annexe 6). La diversité génique varie peu suivant les populations et s'échelonne de 0,756 à 0,808. Les valeurs de richesse allélique sont comprises entre 9,2 et 13,3 suivant les populations et sont nettement plus faibles pour les trois populations de la Rade de Brest. La richesse allélique évaluée sur l'ensemble de la Rade de Brest est de 12 alors qu'elle s'échelonne de 16,9 à 18,5 pour les 5 autres baies.

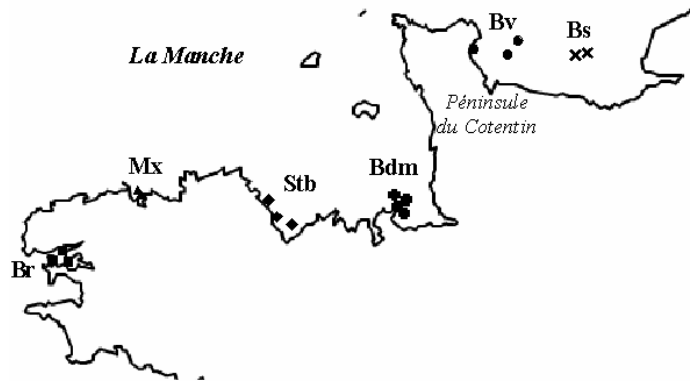
Un déficit en hétérozygotes par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg a été mis en évidence dans quasiment toutes les populations sauf BS62. Les valeurs de \hat{f} sont comprises entre 0,041 et 0,223 selon les populations. Ce déficit en hétérozygote multi-locus est un résultat fréquemment rencontré chez les mollusques marins (Zouros & Foltz, 1984) qui peut avoir plusieurs explications possibles : la consanguinité, la présence d'allèles nuls, un effet Wahlund spatial et/ou temporel et la sélection. Une dérive d'échantillonnage peut également avoir lieu lorsque le polymorphisme des locus est trop important par rapport au nombre d'individus échantillonnés. Ce déficit en hétérozygote sera discuté plus en détail dans le chapitre 2 pour les populations Bdm24 et Bdm49. Nous verrons que les explications les plus plausibles sont la dérive d'échantillonnage, la présence d'allèles nuls ainsi qu'un effet Wahlund.

I.2.2.4 Etude de la structure génétique des populations au sein et entre les baies

I.2.2.4.a La structure génétique par paire de populations

Une matrice de distance génétique entre populations est présentée tableau I.10. Soixante-cinq valeurs de $\hat{\theta}$ sont significatives sur 136 testées ; 44 restent significatives après un test de Bonferroni séquentiel. Toutes les populations de la Manche sont significativement différentes des populations de la Rade de Brest, avec des valeurs de $\hat{\theta}$ qui s'échelonnent de 0,010 à 0,038. Très peu de valeurs significatives ont été mises en évidence au sein des baies, à l'exception de Bv21 et Bv7 en Baie des Veys et de Stb104 et Stb1 en Baie de St Brieuc.

Tableau I.11- Analyse hiérarchique de la différenciation génétique à l'échelle de la Manche. Une baie correspond en au regroupement des populations au sein de cette baie. En gras les valeurs significatives.



Source de Variation	% de variation	Indice de fixation	P
A. Six groupes : cinq baies de la Manche et la rade de Brest			
Entre groupes	1,05	$F_{ct} = \mathbf{0,011}$	0,001
Entre populations au sein des groupes	0,24	$F_{sc} = \mathbf{0,002}$	0,033
Entre populations	98,71	$F_{st} = \mathbf{0,013}$	0,000
B. Cinq groupes : cinq baies de la Manche			
Entre groupes	0,07	$F_{ct} = 0,001$	0,225
Entre populations au sein des groupes	0,36	$F_{sc} = \mathbf{0,004}$	0,021
Entre populations	99,57	$F_{st} = \mathbf{0,005}$	0,004
C. Deux groupes : (1) Baie de Morlaix (Mx) + Baie de St Brieuc (StB) et (2) Baie de Seine (Bs) + Baie des Veys (Bv).			
Entre groupes	0,33	$F_{ct} = \mathbf{0,003}$	0,010
Entre populations au sein des groupes	0,27	$F_{sc} = 0,003$	0,116
Entre populations	99,40	$F_{st} = \mathbf{0,006}$	0,006
D. Deux Groupes : (1) Mx + StB + Baie du Mont-St-Michel (Bdm) et (2) Bs + Bv			
Entre groupes	0,23	$F_{ct} = \mathbf{0,002}$	0,004
Entre populations au sein des groupes	0,32	$F_{sc} = \mathbf{0,003}$	0,026
Entre populations	99,45	$F_{st} = \mathbf{0,005}$	0,004
E, Deux Groupes : (1) Mx + StB et (2) Bs + Bv + Bdm			
Entre groupes	0,15	$F_{ct} = 0,001$	0,053
Entre populations au sein des groupes	0,34	$F_{sc} = \mathbf{0,003}$	0,012
Entre populations	99,51	$F_{st} = \mathbf{0,005}$	0,004

Une comparaison entre baies montre qu'aucune valeur significative de différenciation par paire n'est mise en évidence entre les populations de Bs et de Bv et entre les populations de Bv et de Bdm. Les populations de Bdm sont également génétiquement très proches de celles de Stb car seule une valeur de $\hat{\theta}$ est significative sur 12 comparaisons entre les deux baies. A l'inverse, 50% ou plus de différences significatives sont mises en évidence entre certaines baies : c'est le cas de Bv et Bs avec Stb et Mx.

1.2.2.4.b Analyse en composantes principales des fréquences alléliques

Afin de visualiser graphiquement les distances génétiques entre populations, une analyse multivariée sur les fréquences alléliques a été réalisée avec le logiciel PCA (Goudet, 1999). Ce logiciel calcule le pourcentage d'inertie des axes factoriels corrélés à la différence génétique globale ; la significativité de ces valeurs est testée par permutations. La représentation graphique est présentée figure I.13. Les pourcentages d'inertie des deux premiers axes sont respectivement 49% ($P = 0,002$) et 10% ($P = 1,000$). L'axe 1 marque très nettement la différenciation significative des trois populations de Brest, conformément aux résultats des tests-G.

La forte différenciation des populations de Brest masque les relations entre les autres populations. Une analyse en composante principale a donc été réalisée en enlevant les trois populations de Brest de l'analyse. Les pourcentages d'inertie des deux premiers axes sont respectivement 21% ($P = 0,412$) et 19% ($P = 0,008$). L'axe 2 met en évidence une différenciation des populations de Bs et de Bv par rapport à celles de la Stb et de Mx. Les populations de Bdm se trouvent des deux côtés de l'axe.

Afin d'analyser plus finement la structure génétique au sein et entre les baies, une approche basée sur des analyses hiérarchiques de la variance (AMOVA) a été conduite.

1.2.2.4.c Analyse hiérarchique de la différenciation génétique des populations

L'ACP n'a pas permis de montrer si les populations de Bdm étaient génétiquement plus proches de celles de Mx et Stb ou de celles de Bs et Bv. Pour tenter de clarifier ce point une analyse hiérarchique de la différenciation génétique a été réalisée. Les résultats des différentes AMOVA réalisées sont présentés dans le tableau I.11. Comme l'ACP le laissait supposer, une différence significative a été mise en évidence entre un groupe regroupant les populations de Mx et Stb et un groupe regroupant les populations de Bv et Bs. Deux types de regroupement de populations ont ensuite été testés, afin de savoir si les populations de la Baie du Mont St

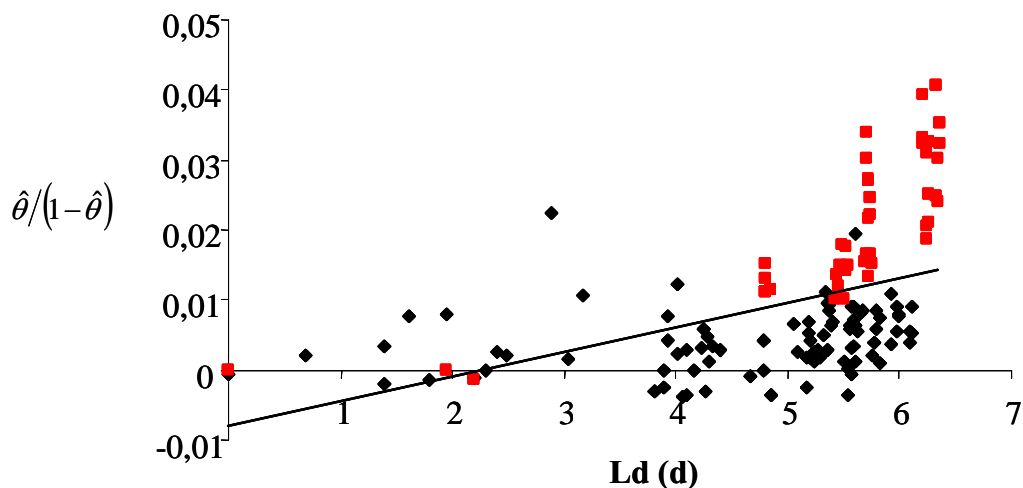


Figure I.14- Distance génétique entre paires de populations de *C. fornicata* des différentes baies de la Manche et de la Rade de Brest en fonction de la distance géographique. Les valeurs de différenciation par paire de populations incluant une des trois populations de la rade de Brest sont indiquées par des carrés rouges. Valeur de probabilité du test unilatéral de Mantel : $P(\text{corrélation} > \text{corrélation observée}) = 0,000$

ENCADRE I.4 : Le modèle hydrodynamique 2D de la Manche

Le modèle hydrodynamique de la Manche utilisé dans cette étude est un modèle 2D de type Lagrangien développé par Salomon et Breton (1991 et 1993).

Le modèle de courant instantané

- Ce modèle numérique calcule dans un premier temps les courants de marée instantanés sur l'ensemble du domaine.
- Les limites géographiques sont comprises entre 48°18'N et 51°20'N en latitude et 6°28'W et 3°00'E en longitude. Sa résolution spatiale est d'un mille nautique. Cette taille de maille conduit à une matrice de dimensions 367 x 184 mailles (Salomon & Breton, 1991).
- Le modèle instantané est utilisé pour calculer dans un deuxième temps les trajectoires de particules, supposées se déplacer avec les masses d'eau au cours du cycle de marée.

Le modèle de courant résiduel

- Le modèle résiduel s'appuie sur l'hypothèse d'homogénéité de la colonne d'eau et de la prépondérance dans la dynamique des masses d'eau des phénomènes barotropes sur les phénomènes baroclines.
- Basée sur les courants de marée résiduels, l'onde de marée est réduite à ses composantes lunaires et solaires M2 et S2.
- La variable vent est considérée comme uniforme sur l'ensemble de la zone géographique.
- Le transport et la diffusion des larves, considérées comme passives dans la colonne d'eau, sont obtenus par les solutions d'une équation d'advection-diffusion.

Michel étaient génétiquement plus semblables du groupe Mx-StB ou du groupe Bv-Bs. Le tableau I.13 montre qu'une différence entre groupes est observée lorsque les populations de Bdm sont regroupées avec le groupe Mx-StB, tandis qu'aucune différence génétique entre groupes n'est mise en évidence lorsque les populations de Bdm sont regroupées avec le groupe Bv-Bs.

Ce résultat montre que les populations de la baie du Mont-St-Michel sont génétiquement plus proches des populations de la baie de Morlaix et de la Baie de St Brieuc. Il semble donc que la péninsule du Cotentin ne soit pas une barrière biogéographique au sens strict chez *C. fornicata* mais qu'elle limite néanmoins les flux de gènes entre les baies présentes de part et d'autre.

I.2.2.5 Quels sont les facteurs explicatifs de la structure génétique des populations à l'échelle de la Manche ?

Trois résultats majeurs sont obtenus à l'issue de l'étude génétique :

- un isolement génétique des populations de la rade de Brest
- une très faible, voire aucune, différence génétique entre les baies de la Manche
- une homogénéité génétique au sein des baies

Afin d'expliquer ces résultats, les données génétiques ont ensuite été analysées, d'une part en regard de la distance géographique séparant les populations et d'autre part en regard des résultats de simulations de dispersion larvaire à l'échelle de la Manche.

I.2.2.5.a L'isolement par la distance

Dans un premier temps, l'adéquation des données génétiques à un modèle d'isolement par la distance a donc été testée. Une corrélation positive entre la distance génétique et la distance géographique qui séparent les populations a été mise en évidence, que les populations de Brest soient intégrées ou pas à l'analyse ($P < 0,001$; figure I.14). Ce résultat, qui confirme l'étude allozymique, permet de rejeter l'hypothèse d'un rôle majeur des échanges stochastiques entre les bassins de la Manche *via* les activités humaines, dans la dispersion de la crépidule. En effet, des profils d'isolement par la distance géographique ne sont généralement pas associés à des échanges saltatoires et stochastiques mais au contraire à des processus de diffusion naturelle (Wilson *et al.*, 1999).

1.2.2.5.b Modélisation de la dispersion larvaire

▪ *Présentation du modèle hydrodynamique lagrangien 2D*

Les modèles mathématiques offrent une méthode quantitative permettant d'appliquer les informations d'océanographie physique à la problématique de la dispersion larvaire, avec, en particulier, la possibilité d'appréhender des paramètres tels que l'estimation quantitative des flux larvaires, et l'origine des particules suivies (Hill, 1990 ; Ellien *et al.*, 2000 ; Gilg & Hilbish, 2003a). Un modèle hydrodynamique lagrangien 2D développé par Salomon & Breton (Salomon & Breton, 1991 ; Salomon & Breton, 1993), simulant la circulation des eaux de la Manche, a été utilisé pour caractériser la dispersion larvaire de *Crepidula fornicata*. Ce modèle a été conçu pour l'étude de l'hydrodynamisme de la Manche. Il a ensuite été utilisé pour simuler les échanges de masses d'eau entre la Manche et la Mer du Nord (Salomon *et al.*, 1993) et la dissémination des substances particulières ou dissoutes (Salomon, 1990 ; Breton & Salomon, 1995 ; Guéguéniat *et al.*, 1995). Dans un dernier temps il a été employé pour comprendre la dispersion larvaire d'*Owenia fusiformis* (Thiébaud *et al.*, 1994 ; Ellien, 2001 ; Barnay *et al.*, 2003), de *Pectinaria koreni* (Ellien *et al.*, 2000) et d'*Ophiotrix fragilis* (Ellien, 2001 ; Lefebvre *et al.*, 2003) en Manche et notamment en baie de Seine orientale. Enfin, C. Ellien a paramétré le modèle avec les caractéristiques biologiques de *C. fornicata* dans le but d'obtenir des matrices d'échanges larvaires. Le modèle numérique est succinctement décrit dans l'encadré I.4.

▪ *Les paramètres du modèle*

Des émissions de larves, avec une durée de vie de 21 jours, compatible avec la durée de vie larvaire de *Crepidula fornicata*, ont été simulées à partir des 17 populations de cette étude.

➤ *Les points d'injection*

La localisation des points d'injection larvaire dans le modèle correspond aux mailles du modèle au sein desquelles sont situées les populations des différentes baies de la Manche présentées figure I.12 et tableau I.8. Par ailleurs, afin de prendre en compte une éventuelle entrée de larves en Manche à partir des populations de crépidules localisées en rade de Brest, une injection supplémentaire de larves a été réalisée en Mer d'Iroise, au large de Crozon.

En baie de Morlaix, les deux populations, très proches géographiquement, se trouvaient dans la même maille du modèle ; un seul point d'injection a donc été réalisé.

➤ *Les quantités de larves émises*

Dans cette étude la quantité de larves à émettre par population a été déduite de la fécondité des femelles et de la densité de femelles dans la population. La fécondation étant interne chez *C. fornicata* il est possible d'estimer la quantité de larves émises à partir du nombre d'œufs présents chez les femelles. Le nombre de larves émises par mètre carré a été calculé de la façon suivante :

$$\Omega = D \times (N_F / N) \times F$$

Ω = le nombre d'œufs émis par mètre carré

D = la densité de la population exprimée en nombre d'individus par mètre carré

N = nombre total d'individus

N_F = nombre de femelles

F = la fécondité moyenne des femelles

Chez *C. fornicata* la fécondité effective des femelles varie de 5000 à 10000 œufs par ponte (Joelle Richard, communication personnelle). La fécondité moyenne a donc été fixée à 7500 œufs par femelle. Le stock de femelles prêtes à pondre a été estimé à partir d'un ratio femelle : mâle de 0,67 : 1, proportion attendue chez cette espèce (Hoagland, 1978 ; Le Gall, 1980 ; les valeurs de sex-ratio chez *C. fornicata* seront discutées dans le chapitre III). En l'absence de données quantitatives précises sur les densités d'adultes pour les sites, autres que la Baie du Mont-St-Michel, j'ai pris le parti de fixer la densité de crépidules à 3400 ind.m⁻² dans chaque population, afin d'émettre une quantité non limitante de larves.

Une quantité de 1.10⁷ larves.m⁻² a donc été émise. La quantité émise par population, c'est à dire par maille de 1855,8 m², est calculée de la façon suivante: $\Omega_{pop} = \Omega \times 1855,8^2$

Ainsi, 3,44.10¹³ larves ont été émises par population.

➤ *Les conditions de marée*

Dans son étude de l'influence du couplage entre processus hydrodynamiques et biologiques chez trois espèces à cycle benthopélagique (*Pectinaria koreni*, *Owenia fusiformis* et *Ophiothrix fragilis*), à l'aide du même modèle 2D, Ellien (2001) a montré que les variations des conditions de marée au cours du cycle lunaire, n'avaient pas d'effet décelable sur les schémas de dispersion, qui se révèlent semblables à une situation de marée moyenne constante appliquée pendant toute la durée de la vie larvaire. Chez *C. fornicata*, la dispersion larvaire a donc été étudiée en condition de marée moyenne (coefficient = 70).

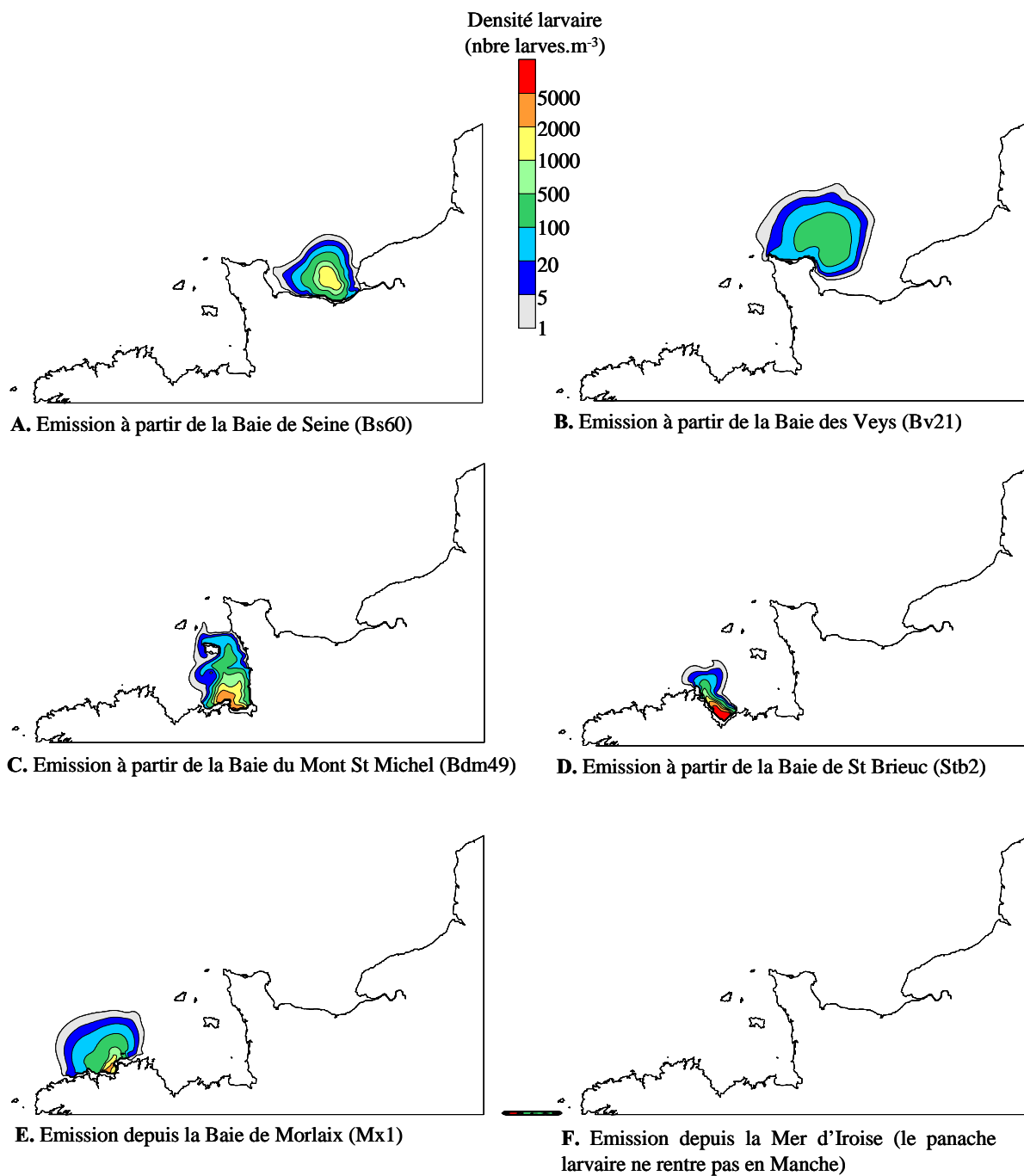


Figure I.15- Répartition simulée des larves de *Crepidula fornicata* après 21 jours de dispersion en condition de marée moyenne sans vent pour une émission à partir des différentes baies de la Manche et une émission en Mer d'Iroise.

➤ *Le vent*

Dans un premier temps, la dispersion larvaire a été étudiée en absence de vent. Puis, pour déterminer l'influence de la circulation induite par le vent, deux types de forçage météorologique ont été appliqués en condition de marée moyenne : des vents de sud-ouest (direction 225°) et de nord-est (direction 45 °) de vitesse moyenne (6m.s⁻¹) et constante pendant la durée de la simulation.

▪ Traitement et visualisation des données

Il est possible de visualiser le résultat d'une simulation à l'aide d'un logiciel de cartographie. Le logiciel Surfer® a permis la représentation des nuages larvaires par le tracé des isolignes de distribution (en nombre de larves.m⁻³).

Afin de déterminer si les échanges larvaires à la fin de la phase dispersive étaient plus importants entre les populations que l'autorecrutement au sein des populations, des échanges larvaires effectifs entre les populations ont été estimés, en prenant en compte le taux d'autorecrutement. Cette stratégie a été adoptée car, si l'autorecrutement dans deux populations est plus important que les flux de gènes entre ces populations, il maintient et accentue les différences génétiques entre les populations.

Les échanges larvaires effectifs ont donc été calculés de la façon suivante :

Soit deux populations A et B correspondant respectivement à deux mailles a et b du modèle,

$$E_{AB} = L_{a-b} + L_{b-a} - (L_a + L_b)$$

L_{a-b} = nombre de larves émises de a et se trouvant en b à la fin de la phase dispersive

L_{b-a} = nombre de larves émises de b et se trouvant en a à la fin de la phase dispersive

L_a = nombre de larves émises de a et restant en a

L_b = nombre de larves émises de b et restant en b

Des matrices d'échanges larvaires ont pu ainsi être construites pour chaque condition de vent et en absence de vent.

▪ Résultats

➤ *Les échanges larvaires entre la rade de Brest et les baies de la Manche*

Quelles que soient les conditions de vent testées, les matrices de dispersion (présentées dans l'annexe 7) mettent en évidence qu'aucune larve n'est échangée entre une population située en mer d'Iroise et toutes les populations situées dans les baies de la Manche.

La représentation graphique de simulation d'émission larvaire (Figure I.15) montre que le panache larvaire émis depuis la Mer d'Iroise ne rentre pas en Manche. De plus, une émission larvaire depuis une baie géographiquement proche de la rade de Brest (la baie de Morlaix, distante d'environ 120 Km en suivant le trait de côte) n'atteint pas la mer d'Iroise, que la simulation soit réalisée en absence de vent (Figure I.15.F) ou avec un vent de Sud-Ouest ou de Nord – Est (les représentations graphiques sont données en annexe 7.C).

➤ *Les échanges larvaires entre baies*

Les matrices de dispersion (annexe 7.A) montrent que, quelque soit les conditions de vents testées, aucun échange de larves entre les baies de la Manche n'est mis en évidence au cours d'un seul épisode d'émission larvaire, à une seule exception près : entre la Baie de Seine et la Baie des Veys, avec un vent de Nord-Est. Cette absence de connexion entre les baies au cours d'un épisode d'émission larvaire est illustrée par les représentations graphiques de simulation d'émission larvaire (Figure I.15 et annexe 7.A), montrant que les panaches larvaires n'atteignent pas les autres baies de l'analyse, excepté celui émis depuis la baie de Seine et atteignant la baie des Veys.

Les panaches larvaires peuvent néanmoins couvrir de grande surface. On remarque ainsi que le panache larvaire émis depuis le fond de la baie du Mont St Michel remonte très haut le long de la péninsule du Cotentin et que celui émis de la Baie des Veys passe au dessus de la péninsule du Cotentin. Une émission larvaire depuis une seule population située en fond de baie ne suffit donc pas à permettre la connexion entre deux baies. Le modèle montre néanmoins que le passage de larves au-dessus de la péninsule est possible. Celle-ci ne semble donc pas être une barrière stricte à la dispersion. Ce résultat semble être confirmé par les données génétiques. Par ailleurs, le panache larvaire, émis en Baie de Morlaix, balaye une large surface des côtes de Bretagne occidentale, rejoignant celui émis depuis la baie de St Brieuc. Ce résultat montre que la connexion par la phase larvaire est possible entre les deux baies après plusieurs épisodes d'émission larvaire ou après des émissions larvaires depuis des zones intermédiaires.

➤ *Les échanges larvaires au sein des baies ?*

Les matrices de dispersion mettent en évidence d'importants échanges larvaires au sein de chacune des baies étudiées dans cette étude. Ce résultat est illustré par la figure I.15. En effet, les densités larvaires les plus importantes, après trois semaines de dispersion larvaire, sont observées en fond de baie, en particulier dans la baie du Mont St Michel, la baie de StBrieuc

et la Baie de Morlaix. Il semble donc qu'au cours d'un seul épisode d'émission larvaire, une large proportion des larves émises en fond de baie reste à proximité de la population d'origine. Les taux de recrutement des larves, dans la maille d'où elle ont été émises, sont néanmoins très faibles, ils s'échelonnent entre 0% et 3,3 %.

I.2.2.6 Discussion

La structure génétique des populations marines dépend de l'interaction entre les traits d'histoire de vie des espèces et l'environnement (Johnson *et al.*, 1994). En général, les espèces à larves planctoniques montrent une faible structure génétique sur de grandes distances (e.g. Palumbi, 1992). Néanmoins, il existe de nombreuses limites aux flux de gènes telles que la disponibilité en habitat et les conditions hydrodynamiques locales qui créent de nombreuses opportunités de divergence génétique (Palumbi, 1994). Bien que de telles limites ne créent pas, en général, des barrières infranchissables au flux de gène, elles peuvent le restreindre dans certaines conditions et à certains moments. En particulier, de nombreuses études ont montré une augmentation de la partition génétique chez les espèces à cycle benthopélagique dans certains types d'environnements, tels que les estuaires et les baies (Johnson *et al.*, 1986 ; Ayvazian *et al.*, 1994).

Les données génétiques ont mis en évidence qu'il existe très peu de barrières aux flux de gènes chez la crépidule. En effet, une faible structure génétique a été observée à l'échelle des côtes de la Manche. L'isolement par la distance et les simulations de dispersion larvaire ont permis de montrer que cette homogénéité génétique trouvait son explication dans le potentiel à la dispersion naturelle de la crépidule, plus que par une action de l'homme. Si la dispersion entre les baies de la Manche était réalisée grâce à l'action de l'homme, aucun isolement par la distance n'aurait été mis en évidence, comme cela a été montré chez un autre mollusque introduit des bassins conchylicoles : *Ocenebrellus inornatus*. Chez cette espèce à développement direct, il a ainsi été montré que l'expansion le long des côtes Atlantique françaises (l'étude couvre 300 Km) était essentiellement due aux activités ostréicoles (Martel *et al.*, 2004b).

L'isolement par la distance a également mis en évidence que la distribution de *C. fornicata* n'est pas totalement continue le long de la côte. La localisation des populations essentiellement dans des baies, au sein desquelles une rétention de larves est observée au cours d'un seul épisode d'émission larvaire, est à l'origine d'une faible, mais significative, structure génétique sur une distance moyenne (500 Km). Chez des espèces côtières ayant des distributions continues, un isolement par la distance a également été observé, mais sur des

distances plus grandes ; par exemple un isolement génétique sur une distance comprise entre 2500 et 3000 Km a été mis en évidence chez le corail *Balanophyllia elegans* (Hellberg, 1994) et l'ormeau *Haliotis rubra* (Brown, 1991).

Contrairement aux attendus, la péninsule du Cotentin ne semble pas être une barrière majeure aux flux de gènes chez *C. fornicata*. Cette absence de différence génétique entre les populations de la Baie du Mont St Michel et de la Baie des Veys s'explique par une forte capacité de dispersion larvaire. En effet, les simulations d'échanges larvaires effectuées ont montré que le panache larvaire émis en une seule saison depuis une population de la Baie du Mont-St-Michel peut remonter très haut le long de la péninsule du Cotentin. La répétition de ces événements de diffusion larvaire sur quelques années, voire quelques dizaines d'années est alors compatible avec la très faible structure génétique observée entre le golfe Normano-breton et les baies des Veys et de Seine.

Seule la mer d'Iroise semble être une barrière aux flux de gène, au sens strict, chez cette espèce. L'isolement génétique significatif des populations de la rade de Brest est en accord avec les caractéristiques de cette rade, à savoir un environnement semi-fermé, propice à un isolement du nuage larvaire et, sur un plus long terme, un isolement génétique des populations mis en évidence par le faible nombre d'allèles observé dans les populations de la rade. De plus, les simulations de dispersion larvaire ont montré qu'une émission larvaire à l'extérieur de la rade, en mer d'Iroise, n'entre pas en Manche. Cette étude confirme ainsi l'hypothèse que la mer d'Iroise est une barrière biogéographique chez cette espèce comme le laissait supposer l'étude allozymique. Ces résultats sont en accord avec l'étude menée par Jolly *et al.* (2004) chez l'annélide polychète *Pectinaria koreni* qui a mis en évidence une importante divergence génétique entre les populations des côtes Atlantique et celles de la Manche.

I.2.2.7 Conclusion

En dépit de sa simplicité, le modèle utilisé ici a permis de prédire l'échelle et la direction de la dispersion des larves au cours d'un épisode d'émission larvaire et d'éclaircir les résultats de structure génétique. Un résultat qui rejoint celui de Gilg & Hilbish (2003) : leur analyse de la dispersion de larves de moules (*Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*) à l'aide de méthodes similaires (modèle de dispersion 2D et marqueur nucléaire) a montré que le modèle de circulation prédisait, avec une forte vraisemblance, les flux de gènes et l'isolement génétique créé par les barrières physiques à la circulation. Ces études soulignent donc le potentiel de telles approches couplant modélisation et génétique pour la compréhension des phénomènes de dispersion et de colonisation en milieu marin.

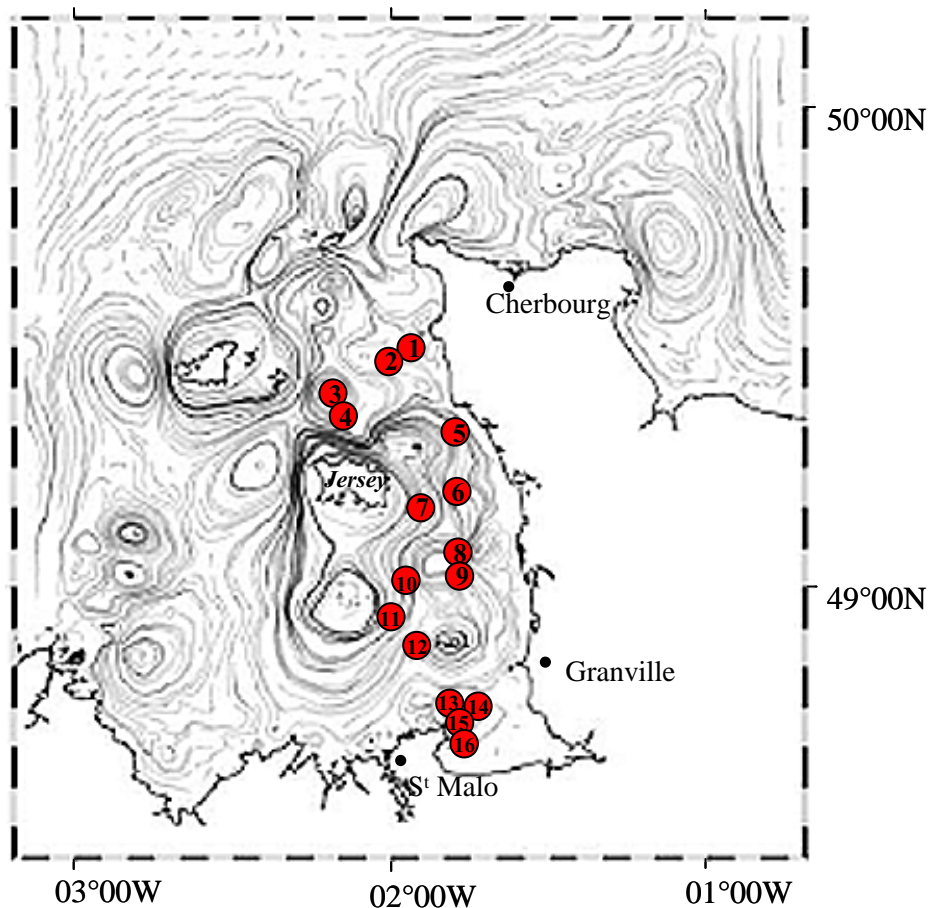


Figure I.16- Répartition géographique des différentes stations étudiées dans le Golfe Normano-Breton (Voir tableau I.14 pour la description des populations). Sur la carte sont représentées les lignes de courant résiduel pour un coefficient 45 sans vent.

Tableau I.12- Caractéristiques des stations échantillonnées dans le Golfe Normano – Breton. Le nombre précédant le nom des stations fait référence au numéro indiqué sur la carte de la figure I.16. Sont indiqués pour chaque population la profondeur à laquelle ont été échantillonnés les individus (Prof.), la densité (D), la densité de femelles estimée à partir d'une sex-ratio de 0,67 : 1 (D_F), l'estimation du nombre de larves émises par mètre carré (N_L) et le nombre d'individus analysés avec les locus microsatellites (N_{ind}).

Stations		Latitude N	Longitude W	Prof. (m)	D (ind.m ⁻²)	D_F (ind.m ⁻²)	N_L (larv.m ⁻²)	N_{ind}
1	GnmSo	49°28'85	01°58'00	21	20	8	$6,00.10^4$	20
2	GnmSn	49°27'50	02°00'50	27	21	8	$6,00.10^4$	21
3	GnmSj	49°22'62	02°10'45	44	28	11	$8,25.10^4$	50
4	GnmJe	49°20'10	02°08'00	33	112	45	$3,38.10^5$	29
5	GnmCa	49°19'00	01°48'00	16	320	128	$9,60.10^5$	53
6	GnmLd	49°11'05	01°47'90	19	61	24	$1,80.10^5$	46
7	GnmLb	49°10'24	01°53'93	17	800	320	$2,40.10^6$	46
8	GnmCg	49°05'05	01°48'00	24	150	60	$4,50.10^5$	53
9	GnmMe	49°03'05	01°47'85	13	52	21	$1,58.10^5$	48
10	GnmMb	49°01'95	01°57'00	17	46	18	$1,35.10^5$	52
11	GnmBa	48°57'00	02°01'00	15	23	9	$6,75.10^4$	23
12	GnmBd	48°52'55	01°54'92	18	24	10	$7,50.10^4$	24
13	Bdm24	48°45'95	01°50'10	26	2077	831	$6,23.10^6$	50
14	BdmBi	48°45'05	01°44'90	20	162	65	$4,88.10^5$	56
15	BdmRb	48°43'25	01°46'70	20	280	112	$8,40.10^5$	52
16	Bdm49	48°40'50	01°45'50	16	1832	733	$5,50.10^5$	49

Dans le cas de *C. fornicata* il serait intéressant d'étendre l'analyse à un modèle de dispersion larvaire plus « réaliste » permettant de réaliser ces modélisations sur plusieurs générations pour avoir une probabilité de passage entre les baies et intégrant deux autres types de facteurs :

- la répartition des larves dans la colonne d'eau (modèle 3D) ; Ellien (2001) a notamment montré à l'aide d'un modèle hydrodynamique 3D que les schémas de dispersion larvaire étaient fortement modifiés en fonction du cycle de marée (morte-eau/vive-eau/morte-eau ou vive-eau/morte-eau/vive-eau) qui modifiait l'intensité du mélange turbulent vertical et donc la répartition des larves dans la colonne d'eau.

- des séquences météorologiques réelles. En effet, l'étude d'Ellien (2001) a révélé que, d'une manière générale, les effets du vent sur la variabilité du transport larvaire dépendent de la fréquence des changements de direction et de vitesse.

I.2.3 Quid de l'influence des gyres à l'échelle d'une baie : le golfe normano-breton ?

L'étude menée précédemment à l'échelle inter-baies nous a montré que la dispersion larvaire pouvait expliquer une homogénéité génétique entre populations à moyenne échelle. De petites différences entre populations appartenant à la même baie ont pourtant été observées (par exemple Bv21 et Bv7 dans le tableau I.10). Une étude à méso-échelle visant à établir l'influence de l'hydrodynamisme, et en particulier des gyres, sur la dispersion de *C. fornicata* à l'échelle d'un bassin conchylicole a donc été conduite. Le Golfe Normano-Breton a été choisi pour cette étude car l'hydrodynamisme y est particulièrement bien connu (Salomon & Breton, 1991). Dans l'étude à l'échelle inter-baies, seules des populations situées en fond de baie ont été étudiées ne permettant pas d'étudier la continuité de la distribution de la crépidule entre baies contiguës. Un échantillonnage de la baie du Mont St Michel et de sa périphérie, réalisé le long de transects perpendiculaires aux gyres, a donc été effectué. Cette étude à méso-échelle va notamment permettre d'obtenir des valeurs relatives d'échanges larvaires (à l'aide du modèle présenté ci-dessus) après un seul épisode d'émission larvaire.

I.2.3.1 Echantillonnage et caractéristiques de populations

La zone choisie est le Golfe Normano-Breton où la présence des îles de Jersey, Guernesey et du plateau des Minquiers induit des structures tourbillonnaires pérennes (gyres) de forte

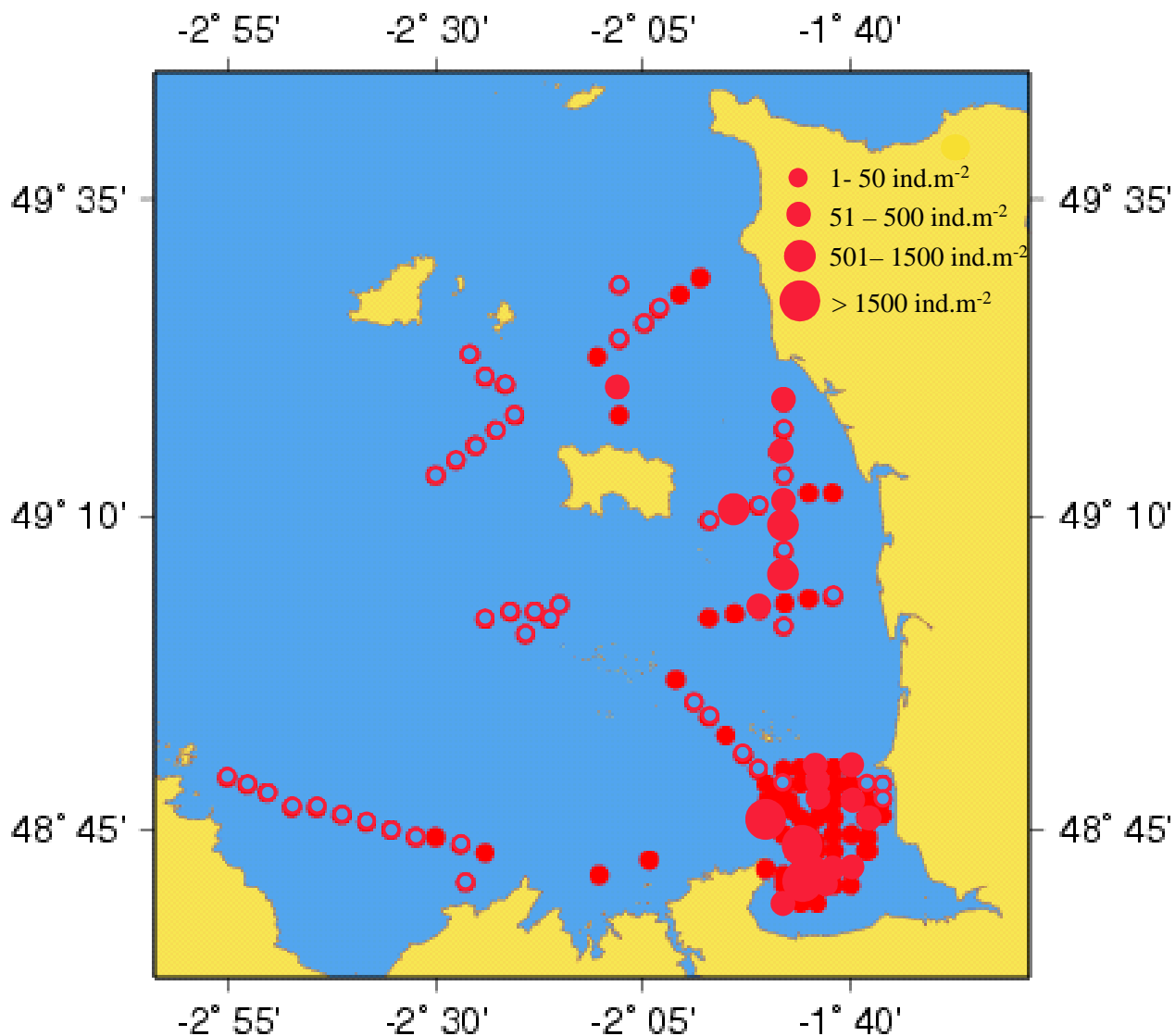


Figure I.17- Carte des densités estimées de *C. fornicata* en baie du Mont-St-Michel et dans le Golfe Normano-Breton d'après les prélèvements effectués au cours des missions océanographiques BENTHOMONT 1 et 2 réalisées en avril et mai 2002. Les cercles vides représentent les sites échantillonnés mais où aucune crépidule n'a été prélevée.

intensité (15 m.s^{-1}) et peu sensibles aux effets météorologiques (Salomon & Breton, 1991). Au Sud-est de ce Golfe, la baie du Mont-Saint-Michel (600 Km^2) communique avec la Manche par deux passes de part et d'autre de l'archipel des îles Chausey. Un échantillonnage spatialisé précis de populations adultes a été réalisé lors de la campagne BENTHOMONT organisée dans le cadre du PNEC-Site Atelier Baie du Mont-St-Michel aux mois d'avril et mai 2002. La figure I.16 et le tableau I.12 présentent la localisation géographique et les caractéristiques des 16 populations étudiées.

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'une benne Hamon ; 4 prélèvements ont été effectués en chacun de ces points sur une surface d'un quart de mètre carré et sur 10 cm de profondeur. Le nombre de chaînes de crépidules par prélèvement a été compté sur le bateau afin d'avoir une estimation de la densité (Tableau I.12 et Figure I.17). Le nombre d'individus a été extrapolé à partir d'un nombre moyen d'individus par chaîne calculé à partir de deux stations [Bdm24 (13) et Bdm49 (16)] pour lesquelles le nombre exact d'individus avait été compté pour un grand nombre de chaînes (164 chaînes, 9 ± 5 individus/chaîne)). Pour quatre stations (4, 5, 7 et 15), un seul prélèvement a été effectué, la densité pour 1 m^2 a donc été estimé en multipliant par 4 la valeur obtenue pour un prélèvement. Pour chaque station, un sous-échantillon de chaque prélèvement a été conservé dans l'alcool en vue d'analyses génétiques. Lorsque le nombre d'individus échantillonnés après quatre prélèvements à l'aide de la benne Hamon n'était pas suffisant pour des analyses génétiques (inférieur à 50 individus) un cinquième prélèvement ou un dragage sur la zone a été effectué, permettant ainsi d'obtenir un plus grand nombre d'individus (non pris en compte dans le calcul de la densité).

I.2.3.2 Analyses génétiques

I.2.3.2.a Variabilité génétique intra-population

Un important polymorphisme a été obtenu avec les 5 locus microsatellites utilisés dans cette partie puisque, pour les 672 individus analysés, 4, 25, 88, 62 et 18 allèles ont été respectivement mis en évidence aux locus CfCA2, CfCA4, CfGT9, CfGT14 et CfH7.

Les valeurs d'hétérozygotie observée et de diversité génique sont similaires pour les 16 populations (Tableau I.13). Les valeurs de H_o s'échelonnent entre 0,626 et 0,747 ; celle de H_e sont comprises entre 0,777 et 0,842. Les valeurs du nombre moyen d'allèles sont, quant à elles, relativement variables mais reflètent uniquement la taille de l'échantillon comme en témoignent les valeurs de richesse allélique (une mesure du nombre d'allèles indépendante de

Tableau I.13-Variabilité génétique au sein des populations du Golfe Normano-Breton

N_{ind} : nombre d'individus analysés ; N_{all} : nombre moyen d'allèles par locus ; A_r : richesse allélique calculée pour une taille minimale d'échantillon de 19 individus ; H_o : hétérozygotie observée ; H_e : diversité génique attendue à partir des fréquences observées ; \hat{f} : estimateur de F_{is} de Weir & Cockerham (1984), la probabilité associée est celle du test de Fisher (***, $P < 0,001$).

Populations	N_{ind}	N_{all}	A_r	H_o (écart type)	H_e (écart type)	\hat{f}
1	20	13,2	13,1	0,747 (0,219)	0,777 (0,255)	0,037***
3	21	14,8	14,2	0,718 (0,128)	0,816 (0,220)	0,125***
3	50	21,0	13,8	0,714 (0,208)	0,812 (0,208)	0,121***
4	29	17,8	14,5	0,703 (0,087)	0,811 (0,208)	0,135***
5	53	23,0	14,7	0,667 (0,122)	0,824 (0,197)	0,192***
6	46	20,0	13,8	0,652 (0,149)	0,826 (0,155)	0,211***
7	46	21,8	14,7	0,730 (0,176)	0,823 (0,199)	0,113
8	53	20,6	13,5	0,651 (0,145)	0,813 (0,190)	0,199***
9	48	20,2	14,0	0,692 (0,120)	0,838 (0,168)	0,175***
10	52	23,4	14,8	0,722 (0,143)	0,814 (0,187)	0,114***
11	23	16,2	14,6	0,626 (0,113)	0,826 (0,193)	0,246***
12	24	14,4	13,3	0,676 (0,108)	0,820 (0,185)	0,176***
13	50	20,6	14,2	0,731 (0,157)	0,812 (0,205)	0,102***
14	56	23,0	14,4	0,719 (0,176)	0,810 (0,229)	0,114***
15	52	23,0	14,8	0,684 (0,164)	0,804 (0,228)	0,152***
16	49	21,8	14,5	0,713 (0,118)	0,842 (0,179)	0,156***
Moyenne	672	38,6	14,6	0,697 (0,135)	0,819 (0,199)	0,149***

Tableau I.14- Estimation des valeurs de $\hat{\theta}$ par paire de populations du Golfe Normano-Breton. Test-G de différence de fréquences alléliques entre populations : ***, $P < 0,001$; **, $P < 0,01$; *, $P < 0,05$. Les valeurs soulignées correspondent aux test-G significatifs après une correction de Bonferroni séquentielle.

2	-0,002	-																
3	0,002	0,001	-															
4	0,001	-0,002	-0,003	-														
5	-0,002	-0,008	-0,001	-0,007	-													
6	0,009	0,002	<u>0,008***</u>	0,010**	0,003	-												
7	0,000	-0,004	-0,004	-0,005	-0,005	0,001	-											
8	-0,003	-0,002	0,001	0,002	-0,001	0,003*	-0,004	-										
9	0,006	-0,002	0,003*	0,003	-0,003	0,002*	-0,001	0,002*	-									
10	0,002	-0,004	0,003	0,000	-0,004	0,003*	-0,002	0,000	0,000	-								
11	-0,001	-0,007	-0,009	-0,005	-0,007	-0,002	-0,008	-0,003	-0,006	-0,004	-							
12	-0,006	-0,004	-0,004	-0,004	-0,007	0,000	-0,007	-0,004	-0,003	-0,002	-0,012	-						
13	-0,002	-0,001	0,001	-0,002	-0,002	0,003*	-0,002	0,000	0,002*	0,000	-0,006	-0,002	-					
14	0,000	0,000	-0,002	0,000	-0,002	<u>0,009***</u>	-0,001	0,002	0,003**	0,004	-0,004	-0,002	0,002*	-				
15	-0,002	-0,004	0,004	0,000	-0,001	0,007	-0,001	0,002	0,003	0,002	-0,001	-0,002	-0,001	0,003	-			
16	0,005	0,000	-0,003	0,000	-0,001	0,006**	-0,002	0,003	0,000	0,005	-0,008	-0,006	0,002	-0,002	0,006			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15				

la taille d'échantillon). Un écart à la structure génétique attendue sous l'équilibre de Hardy-Weinberg est constaté quelque soit la population considérée, excepté la population 7.

1.2.3.2.a Analyse de la structure génétique

La différenciation génétique globale est nulle ($\hat{\theta} = -0,0001$) et les niveaux de différenciation mesurés par $\hat{\theta}$ entre les populations sont très faibles indiquant une forte homogénéité génétique au sein du Golfe Normano-Breton (Tableau I.14). Seules 13 valeurs de $\hat{\theta}$ sont significatives sur 120 testées (6,7 %) et seules 2 valeurs restent significatives après une correction de Bonferroni séquentielle. Deux populations se différencient génétiquement des autres de manière significative : les populations 6 et 9 diffèrent respectivement de 8 populations (61,5 % des tests-G significatifs) et de 3 populations du Golfe (23,1 % des tests-G significatifs). La faible valeur de $\hat{\theta}$ entre les populations 13 (Bdm24) et 14 (BdmBi) est également significative, une différenciation génétique qui n'avait pas été mise en évidence avec seulement 4 locus (cf paragraphe I.2.2.4).

1.2.3.3 Adéquation des résultats de l'analyse génétique avec la modélisation de la dispersion larvaire de *Crepidula fornicata* dans le Golfe Normano-breton.

Comme dans le cas de l'étude à l'échelle des côtes de la Manche, le modèle hydrodynamique 2-D a été utilisé pour simuler la dispersion larvaire dans le Golfe.

1.2.3.3.a Simulations de la dispersion des larves de *Crepidula fornicata*

Méthode

Des émissions de larves avec une durée de vie de 21 jours ont été simulées à partir des 16 populations échantillonnées au sein du Golfe. La fécondité moyenne est fixée à 7500 œufs par femelle. Le stock de femelles prêtes à pondre est estimé à partir d'un ratio femelle : mâle de 0,67 : 1 et des données de densité présentées dans le tableau I.12 et la figure I.17. Le nombre de larves émises par mètre carré dans chaque population est donné dans le tableau 1.12.

Dans un premier temps, la dispersion larvaire a été étudiée en absence de vent et en condition de marée moyenne (coefficient = 70) puis, toujours en marée moyenne, avec des vents de sud-ouest (direction 225 °), de nord-est (direction 45 °) et de nord-ouest (direction 315 °) de vitesse moyenne ($6\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) et constante pendant la durée de la simulation.

Des matrices d'échanges larvaires ont été construites pour chaque condition de vent et en l'absence de vent. Ces matrices ont été comparées deux à deux par des tests de Mantel

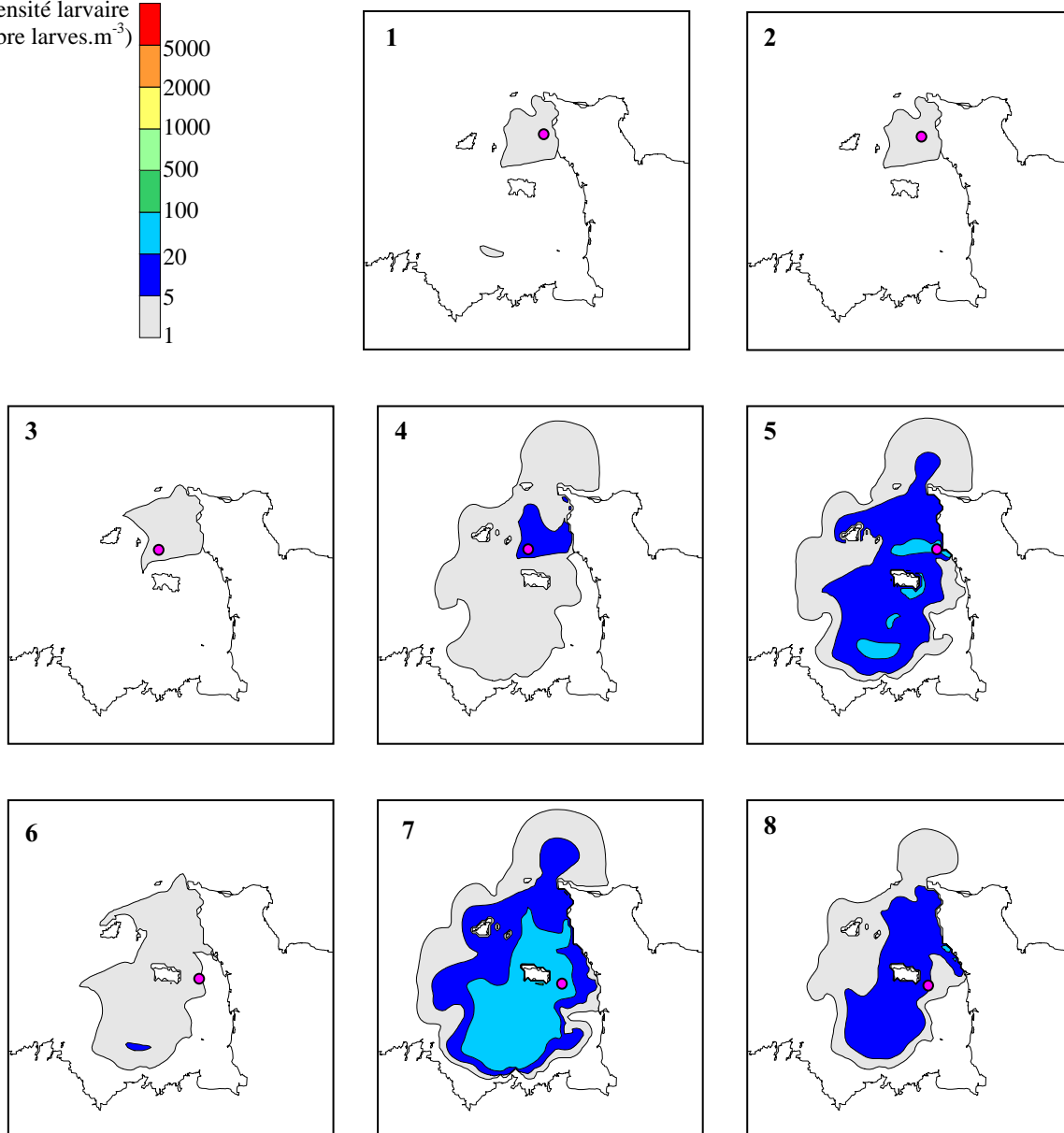
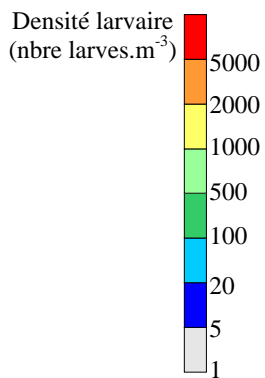


Figure 1.18A- Répartition simulée des larves de *Crepidula fornicata* après 21 jours de dispersion en condition de marée moyenne sans vent pour une émission à partir des stations 1 à 8 du Golfe Normano-Breton. Le point d'émission est représenté par ●

d'indépendance statistique afin d'évaluer si les échanges larvaires effectifs (estimés en prenant en compte l'autorecrutement) étaient fortement modifiés selon les conditions de vent.

▪ Résultats

Les tests de Mantel effectués sous Genepop V3.2 (1000 permutations) ont mis en évidence que les matrices de dispersion construites à partir des différentes conditions de vent sont étroitement corrélées entre elles ($P < 0,001$). Dans la suite de l'étude les analyses seront donc réalisées avec les données de dispersion en l'absence de vent.

La figure I.18 rassemble les images de la répartition simulée des larves de *C. fornicata* en fonction des seize points d'émission et de la densité de l'espèce dans chacun de ces sites en l'absence de vent. Peu de larves sont émises par les populations 1, 2 et 3 qui sont des populations de faible densité. Par conséquent, le panache larvaire, de très faible densité (< 5 larves.m⁻³), issu de ces trois populations reste cantonné au Nord du Golfe.

En revanche, un recouvrement plus important de la baie par le panache larvaire est observé lorsque les larves sont émises par les populations localisées au centre du Golfe (4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 et 12) ou le long des côtes (5). Néanmoins, le recouvrement est variable en fonction de la densité des populations. On remarque notamment que les populations 5 et 7, de densité importante (respectivement 320 ind.m⁻² et 800 ind.m⁻²), émettent un panache larvaire de densité maximale comprise entre 20 et 100 larves.m⁻³ qui remonte au-dessus de la péninsule du Cotentin mais qui ne rentre pas dans la baie du Mont-St-Michel.

Les populations à forte densité situées en fond de baie (13, 14, 15 et 16) présentent un panache larvaire moins étendu mais plus concentré. Ainsi, des densités maximales comprises entre 200 et 500 larves.m⁻³ sont observées à proximité du point d'émission de la population 16. Il semble donc que la dispersion larvaire soit moins diffuse pour les populations situées au fond d'une baie.

1.2.3.3.b Comparaison des données génétiques avec les résultats des simulations

Afin de comparer les données génétiques et les résultats des simulations, un test de Mantel effectué sous Genepop V3.2 (1000 permutations) a été conduit pour tester la corrélation entre la matrice de distance génétique et la matrice d'échanges larvaires en absence de vent. Aucune corrélation n'a été mise en évidence ($P = 0,583$).

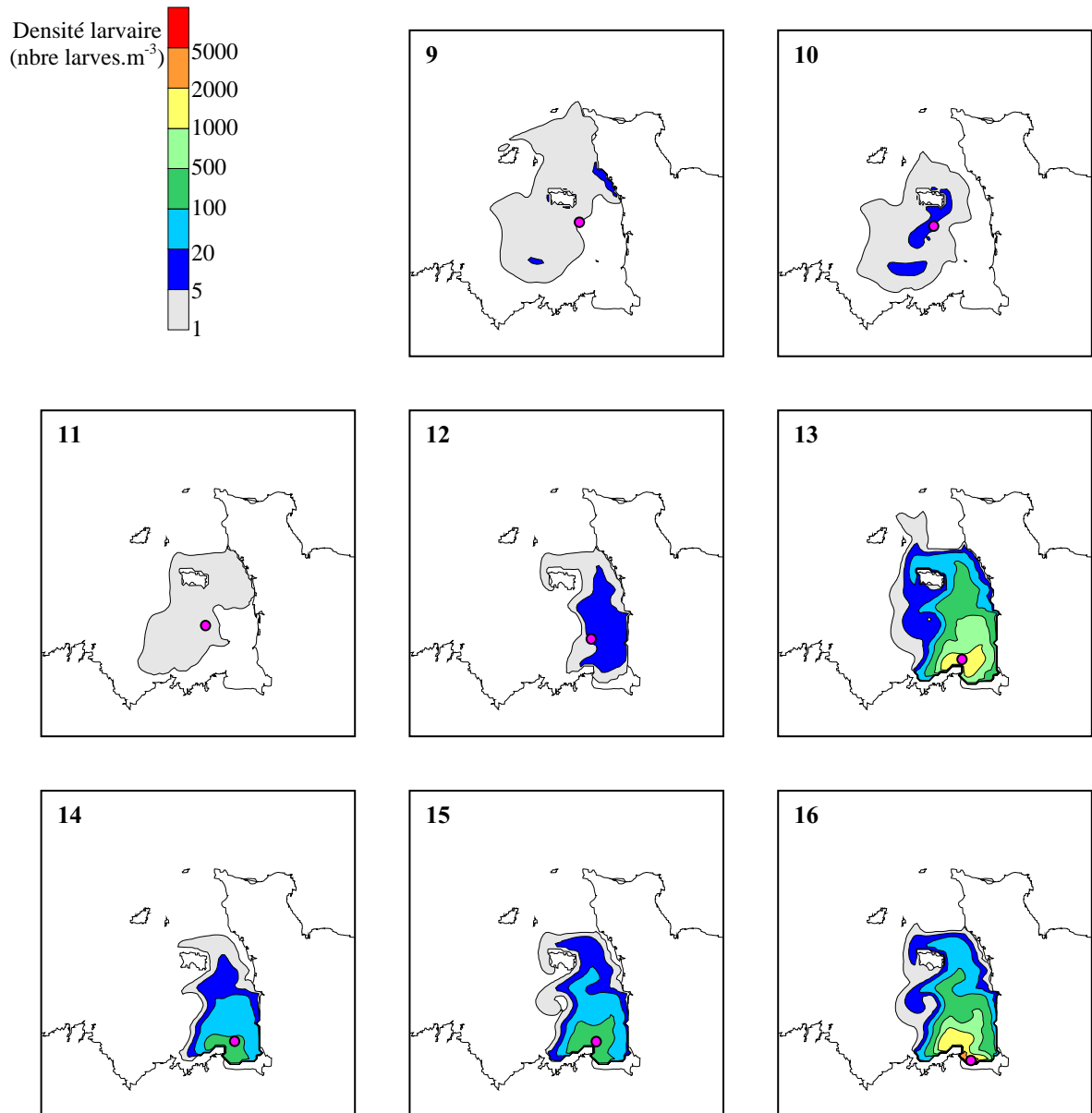


Figure 1.18B- Répartition simulée des larves de *Crepidula fornicata* après 21 jours de dispersion en condition de marée moyenne sans vent pour une émission à partir des stations 9 à 16 du Golfe Normano-Breton. Le point d'émission est représenté par ●

I.2.3.4 Discussion

Le résultat majeur de ces simulations est que la dispersion larvaire semble essentiellement dirigée du Sud vers le Nord du Golfe Normano-Breton. En effet, les populations en fond de baie émettent de fortes densités de larves vers le Nord alors qu'aucune larve émise depuis le centre ou le sud du golfe ne rentre dans la Baie du Mont-St-Michel. Il est très probable que cette dispersion selon un axe Sud-Nord depuis un bassin conchylicole où la crépidule a atteint d'importantes biomasses (20 kg.m⁻² calculée en poids frais total évaluée en 1997 en baie de Cancale ; Blanchard & Erhold, 1999) ait particulièrement favorisé la colonisation de tout le Golfe Normano-Breton.

En baie du Mont-St-Michel, *C. fornicata* a tout d'abord été implanté au niveau des parcs ostréicoles de la baie de Cancale suite à l'importation d'huîtres en 1970 (Blanchard, 1995) ; elle a ensuite colonisé une partie de la baie puis du Golfe Normano-Breton (Blanchard & Erhold, 1999). Un scénario selon lequel les populations de fond de baie, très peu structurées génétiquement mais présentant une forte diversité génétique, aient atteint des densités suffisamment importantes pour produire des panaches larvaires qui ont permis la colonisation du reste du Golfe expliquerait l'absence de structure génétique observée à l'échelle du Golfe en dépit de l'hydrodynamisme particulier lié à la présence de gyres.

La forte capacité à la dispersion de la crépidule lui a permis d'éviter les processus de saturation d'habitat en colonisant le reste du Golfe Normano-Breton. En effet, la forte densité atteinte près des parcs ostréicoles pourrait être à l'origine d'une compétition pour les ressources entre parents et juvéniles ou encore d'une saturation de l'habitat. Pechenik *et al.* (2004) ont notamment mis en évidence qu'en Baie de Cancale, les larves de crépidule pouvaient être ingérées par les adultes *C. fornicata* ou encore par les adultes d'huîtres *Ostrea edulis* et *Crassostrea gigas*. Il apparaît néanmoins que ce mécanisme n'est pas assez important pour limiter l'autorecrutement, même dans des zones où les adultes filtreurs sont en très forte concentration (Pechenik *et al.*, 2004).

Malgré la tendance générale montrant une forte homogénéité génétique à l'échelle du Golfe, certaines différences génétiques ont néanmoins été mises en évidence, notamment entre les populations 6 ou 9 et toutes les autres populations du Golfe. Ces différences génétiques ne sont pas attestées par les schémas d'échanges larvaires, tout du moins avec les tests de Mantel utilisés. Ceci est probablement lié aux limites, déjà évoquées, du modèle de simulation utilisé et, en particulier, au fait que les matrices larvaires ont été construites en faisant l'hypothèse que toutes les larves étaient émises au même moment dans toutes les populations, soit une hypothèse très restrictive. La position particulière des populations 6 et 9

pourrait par exemple s'expliquer par une asynchronie d'émission conduisant à un fort auto-recrutement local.

I.2.4 Conclusion

Les deux études sur la dispersion intra- et inter-baies ont permis de montrer que le potentiel de dispersion larvaire de la crépidule se traduit effectivement au niveau de la connectivité des populations. La durée de la phase larvaire se traduit en une dispersion larvaire importante qui elle-même se traduit en d'importants flux de gènes. Les échanges de gènes entre populations sont toutefois proches du modèle d'isolement génétique par la distance géographique lorsque l'on analyse des populations réparties entre différentes baies. Seule exception à cette règle de dispersion et de flux de gènes sur de grandes distances : les populations de la mer d'Iroise qui, conformément à ce qui a été observé chez *P. koreni* (Jolly *et al.*, 2004), sont génétiquement différenciées des populations de la Manche. La phase larvaire apparaît donc bien comme un élément déterminant qui, sur un très court terme (quelques dizaines d'années), a permis une colonisation rapide à moyenne échelle alors qu'à plus grande échelle (entre Manche et Atlantique, entre Atlantique et Méditerranée) l'action de l'homme a certainement été prépondérante.

En conclusion de ce chapitre, il apparaît donc qu'au cours du processus d'invasion, l'homme a joué un rôle majeur dans l'installation de *C. fornicata* au sein des différents bassins conchylicoles du littoral français alors que la phase d'expansion s'est ensuite essentiellement déroulée par l'intermédiaire de la phase larvaire et a été guidée par les conditions hydrodynamiques locales.

CHAPITRE II : LES MODALITES DE RECRUTEMENT LOCAL

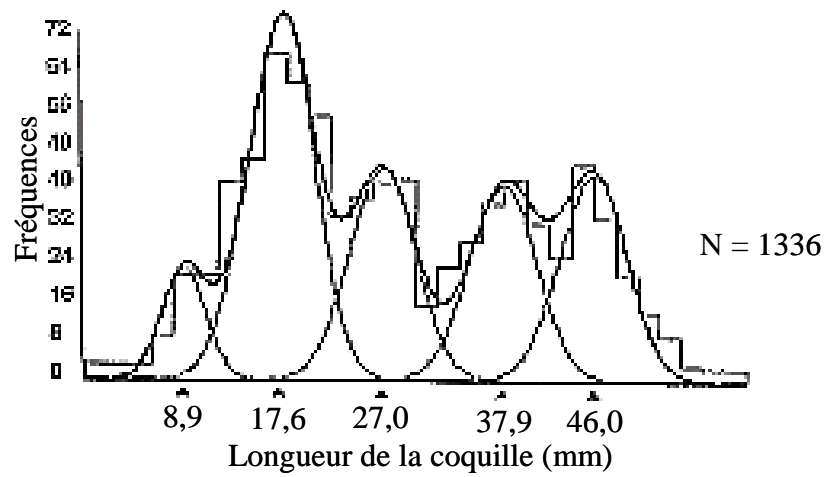


Figure II.1- Classes d'âge identifiées dans une population de l'aire native de *C. fornicata* (baie de Pleasant, Massachusetts, Etats-Unis ; Grady et al. 2001).

Le chapitre 1 a montré que les capacités de dispersion larvaire permettent d'expliquer une homogénéité génétique sur de grandes distances spatiales (à l'échelle d'une baie, voire de baies contiguës). Néanmoins, les approches utilisées dans ce premier chapitre ne permettaient pas d'expliquer :

- les différences ponctuelles observées (par exemple la population 6 qui se différencie de presque toutes les autres populations de la Baie du Mont-St-Michel, partie I.2), qui pourraient être liées à une asynchronie d'émission et/ou de recrutement larvaire.

- des déficits en hétérozygotes variables mais le plus souvent significatifs, déficits qui pourraient être dus à des effets de recrutement de groupes larvaires génétiquement différenciés au cours du temps, sachant que *Crepidula fornicata* est une espèce pérenne et que différentes classes d'âge se juxtaposent au sein d'une population (Figure II.1).

Pour aborder ces problèmes, l'étude de l'évolution temporelle de la variabilité génétique apparaissait comme une piste intéressante qui, cependant, impliquait également une bonne connaissance de la structure d'âge de la population. L'étude de la dynamique des changements génétiques est, en effet, un moyen de comprendre les mécanismes à l'origine de la structure spatiale observée (Lessios *et al.*, 1994 ; Larson & Julian, 1999 ; Lenfant & Planes, 2002 ; Palm *et al.*, 2003). C'est ainsi que plusieurs études ont couplé des approches de dynamique des populations à des approches de génétiques (Johnson & Black, 1984 ; Borsa *et al.*, 1991 ; Whitlock, 1992 ; Giles & Goudet, 1997 ; Charbonnel *et al.*, 2002b ; Lenfant & Planes, 2002).

Des études de la variation temporelle de fréquences alléliques ont notamment permis de montrer que l'hétérogénéité génétique à petite échelle spatiale observée chez certaines espèces à cycle benthopélagique était temporellement instable (Johnson & Black, 1982 ; Johnson & Black, 1984 ; Watts *et al.*, 1990 ; David *et al.*, 1997). La microstructure observée était donc liée à un recrutement de cohortes génétiquement variables au sein d'un site chaque année. Ce phénomène a été appelé « chaotic genetic patchiness » (Johnson & Black, 1982). Outre un recrutement d'individus provenant de populations génétiquement différenciées, Johnson & Black (1984) ont expliqué cette instabilité génétique par une sélection temporellement et spatialement variable des larves. Une hypothèse alternative est posée par Hedgecock (1994), pour qui cette hétérogénéité temporelle s'explique par une forte variance du succès reproducteur des individus. En raison du caractère aléatoire des processus hydrodynamiques affectant l'accouplement et la survie des pontes, une sorte de loterie s'établit au moment de la reproduction et du recrutement (« sweepstake hypothesis » ; Hedgecock, 1994).

Pour tester ces hypothèses, il est possible d'étudier directement la diversité et la structure génétique de groupes larvaires. De telles études ont été menées par Li & Hedgecock (1998) chez un invertébré marin (*Crassostrea gigas*) ou par Ruzzante *et al.* (1996) chez un poisson (*Gadus morhua*). La mise en œuvre d'une telle méthode peut néanmoins être problématique ; Li & Hedgecock (1988) ont notamment souligné la difficulté d'échantillonner un nombre suffisant de larves par groupe larvaire pour une analyse génétique. De plus, ces groupes de larves peuvent rencontrer des environnements hétérogènes et peuvent être sélectionnés différemment selon la variabilité des contraintes environnementales (Koehn & Williams, 1978 ; Kordos & Burton, 1993 ; Larson & Julian, 1999). Afin de prendre en compte les événements post-recrutement et de simplifier l'échantillonnage, deux autres approches peuvent être mises en œuvre pour étudier les processus génétiques temporels : (i) un échantillonnage séquentiel à long terme ou (ii) l'analyse de données génétiques en regard de la structure d'âge de la population, échantillonnée en un unique point dans le temps et l'espace. La plupart des études temporelles d'espèces marines sont basées sur la comparaison de fréquences alléliques de populations échantillonnées deux, trois ou quatre fois (Kordos & Burton, 1993 ; Flowers *et al.*, 2002 ; Bernal-Ramirez *et al.*, 2003 ; Gilg & Hilbish, 2003b) et seulement très peu d'études ont impliqué des études de plusieurs cohortes (mais voir Lenfant & Planes, 2002).

Ces approches, couplant un suivi temporel des populations, soit direct, soit au travers de l'étude de classes d'âge, et une analyse génétique, ont été utilisées au cours de cette thèse afin d'analyser certaines des modalités de recrutement chez *C. fornicata*. Deux types d'études ont été menées :

- une étude de la microstructure et de la dynamique de recrutement de deux populations d'une baie fortement colonisée, la Baie du Mont St Michel, à l'aide d'une analyse de cohortes.

- une étude de la dynamique d'installation de *C. fornicata* dans une baie récemment colonisée, la baie de Morlaix, à l'aide d'un suivi démographique.

Chez une espèce protandre et pérenne telle que *C. fornicata*, l'âge est fortement corrélé au sexe des individus (Ghiselin, 1969 ; Charnov, 1986). Une étude de la structure d'âge ne peut donc se faire sans s'intéresser à la structure sexuelle des populations. Plusieurs auteurs ont notamment montré que la sex-ratio pouvait donner des informations sur la dynamique de recrutement de cette espèce (Wilczynski, 1958 ; Hoagland, 1978 ; Le Gall, 1980). Bien que l'étude des modalités de changements de sexe et de reproduction feront l'objet du Chapitre III, une étude de la structure sexuelle des populations, couplée à l'analyse de la structure démographique, sera donc présentée dans ce chapitre.



Figure II.2- Tapis de *C. fornicata* à une profondeur de 3m dans la Baie de Cancale (Baie du Mont-St-Michel), mai 2001. Pour l'anecdote, on pourra également observer au centre de la photo une autre espèce invasive bien connue sur les côtes bretonnes, l'ascidie japonaise (*Styela clava*). Photo extraite de Pechenik *et al.* (2004).

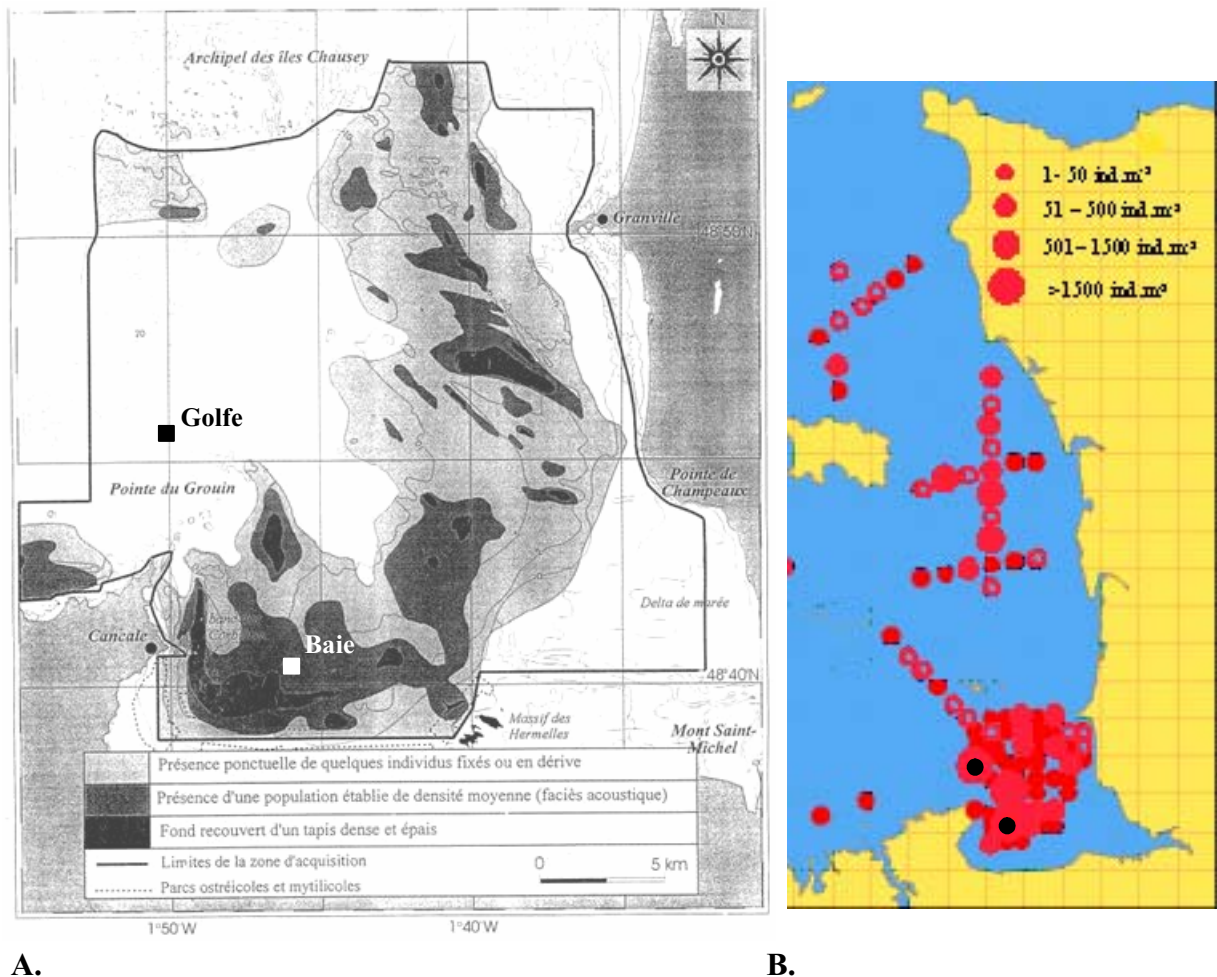


Figure II.3- Cartographie de *C. fornicata* dans la baie du Mont-St-Michel

A. Répartition des biocénoses de crépidules en 1997, d'après Blanchard & Ehrhold (1999), et position géographique des populations Baie et Golfe.

B. Densités estimées des populations de *C. fornicata* d'après les prélèvements effectués au cours des missions BENTHOMONT 1 et 2 (2002). Les points noirs représentent les populations Baie et Golfe. Les cercles vides représentent les sites sans crépidule.

II.1 MICROSTRUCTURE ET DYNAMIQUE DE RECRUTEMENT DANS UNE BAIE FORTEMENT COLONISEE*

* Une publication portant sur cette partie est en préparation et le manuscrit est présenté en annexe 10.C :

Dupont L., Bernas, D. & Viard, F. Age, sex and genetic structure in the exotic mollusk *Crepidula fornicata* : role of overlapping generations, protandry and larval dispersal.

Le but de cette étude est d'analyser la structure génétique de différentes classes d'âge afin d'avoir indirectement accès à des processus temporels responsables du maintien des populations locales de *C. fornicata*. Ce travail a été réalisé dans une baie où la biomasse en crépidules est particulièrement importante : la baie du Mont-St-Michel (Figure II.1), et pour laquelle la dispersion à grande échelle avait été analysée (cf partie I.2).

Les problèmes sur lesquels je me suis penchée sont essentiellement de deux ordres :

- obtenir des éléments de réflexion sur la dynamique de la population au travers d'une analyse des structures démographique et sexuelle ;
- émettre des hypothèses quant à l'origine des recrues par une analyse de la variation temporelle des fréquences alléliques des populations.

Deux personnes ont contribué à ce travail : Tiphaine Cariou (stage libre de Licence, été 2002) et Damien Bernas (stage de DEA, option Océanologie biologique, février-juin 2003).

II.1.1 Site et populations étudiées

Deux populations de la Baie du Mont-St-Michel, déjà présentées dans le chapitre 1, les populations 13 et 16 (Figure I.16), ont été choisies pour cette étude car ces deux stations se sont avérées particulièrement denses en crépidules (respectivement 2077 ind.m⁻² et 1832 ind.m⁻²). De tels effectifs permettent en effet de réaliser des analyses de structure démographiques statistiquement fiables. La population 16, qui sera appelée « Baie » dans la suite de cette étude, est localisée dans la baie de Cancale, un site que *C. fornicata* a rapidement envahi depuis son introduction (répertoriée dans les années 70), jusqu'à atteindre une biomasse de 20 Kg.m⁻² (en poids frais total) en 1997 (Blanchard & Ehrold, 1999). Le fort recouvrement de la Baie de Cancale par la crépidule (illustré par les figures II.2 et II.3) est largement expliqué par la proximité des parcs ostréicoles (nombreux supports, phytoplancton

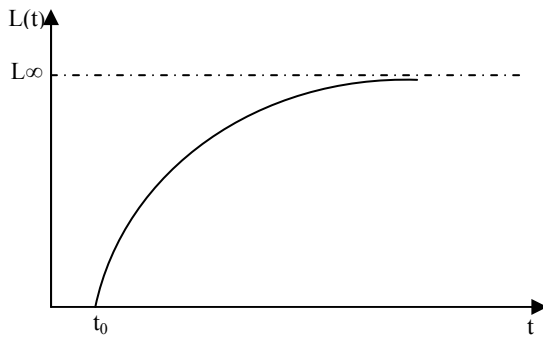


Figure II.4- Croissance linéaire selon le modèle de Von Bertalanffy. $L(t)$ est la taille à l'instant t . L_{∞} , la taille limite et t_0 , l'âge auquel $L = 0$ sont des paramètres mathématiques sans valeur biologique

ENCADRE II.1 : Détermination statistique de l'âge

La détermination statistique des classes d'âge consiste à analyser la distribution des fréquences de classes de taille.

- Dans la nature, les tailles des individus nés à la même époque (appartenant à la même classe d'âge) présentent une **distribution gaussienne** autour de la moyenne (ou mode). Chaque **classe d'âge** est encore nommée **cohorte**.

- Sur l'ensemble de la population on obtient théoriquement une **courbe polymodale** avec chaque mode correspondant à une cohorte.

LES TROIS ETAPES D'UNE ANALYSE DE COHORTE

(1) Distribution des fréquences de taille

Le nombre de classes (K), déterminé a priori pour la construction de l'histogramme, est un paramètre déterminant car s'il est trop élevé, la variabilité aléatoire est importante tandis qu'un faible nombre de classes entraîne une perte d'information. Il existe des estimateurs statistiques du nombre de classes tels que ceux définis par les formules empiriques de Yule et Sturge :

Pour N individus,

Yule : $K = 2.5\sqrt[4]{N}$ exemple avec $N = 1000$, $K = 14$

Sturge : $K = 1 + 3.3 \log N$ exemple avec $N = 1000$, $K = 11$

K peut également être choisi en fonction de trois critères (d'après Jollivet et al., 2000) :

- chaque classe de taille contient au moins cinq individus
- le nombre de classes vides adjacentes est minimisé
- le pas de classe doit être supérieur à l'erreur de mesure

A partir de K , le pas de classe est défini en fonction des tailles minimales et maximales dans l'échantillon.

(2) Lissage des histogrammes

Les histogrammes sont ensuite lissés selon la méthode de la moyenne mobile centrée d'ordre 3 (Frontier & Pichod-Viale, 1991). Chaque effectif N_i d'une classe de taille i est transformé selon :

$$N'_i = (N_{i-1} + 2N_i + N_{i+1})/4$$

(3) Décomposition modale

Il existe plusieurs méthodes de séparation des composantes gaussiennes :

- des méthodes graphiques : la méthode des maximums successifs (Gheno & Le Guen, 1968), la méthode de Harding (1949) et Cassie (1954) ou encore la méthode des différences logarithmiques de Bhattacharya (1967).
- Des méthodes statistiques basées sur la recherche du maximum de vraisemblance (Macdonald & Pitcher, 1979)
- Des méthodes par simulation (Badia & Do Chi, 1976).

dense), un substrat sablo-vaseux, un courant giratoire qui piège les larves en fond de Baie (cf partir II.2) et une faible profondeur (inférieure à 20 m ; Blanchard & Erhold, 1999). La population 13, appelée « Golfe » par la suite, est localisée au-dessus de la pointe du Grouin, un site récemment colonisé. En effet, en 1997, aucune crépidule n'est répertoriée sur ce site à fond rocheux et à fort hydrodynamisme (Figure II.3 ; Blanchard & Erhold, 1999).

II.1.2 Quelle est la structure démographique de *C. fornicata* dans les populations étudiées en Baie du Mont-St-Michel ?

II.1.2.1 Méthodes d'études

II.1.2.1.a Analyse de la structure démographique des populations

Cette étude est basée sur l'analyse de la structure d'âge des populations, déterminée grâce à la décomposition modale des distributions des fréquences de taille (corrélée à l'âge, comme illustré par la figure II.4) selon la méthode présentée dans l'encadré II.1.

- **Biométrie**

Comme chez la plupart des mollusques, la coquille de *C. fornicata* présente des stries de ralentissement de croissance hivernale ; le décompte de ces stries permet d'estimer l'âge des animaux (Le Gall, 1980). Cependant, les coquilles sont souvent endommagées par leur séjour dans l'eau de mer et de nombreuses stries accidentelles attribuées à des variations des conditions de milieu ou à un stress physiologique peuvent se mêler aux stries de croissance, rendant cette lecture de stries difficile. Des travaux antérieurs, dont celui de Le Gall (1980), ont mis en évidence une très forte corrélation entre l'âge des individus et la longueur curviligne des coquilles (Lc), qui correspond à l'axe de plus forte croissance de la coquille. Cette longueur est mesurée selon l'axe d'enroulement de la coquille, de l'umbo au bord de l'ouverture (Figure II.5). Cette longueur a été préférée à la longueur droite (Ld) qui se mesure le long du plus grand axe de la coquille car l'animal étant enroulé sur deux plans (Coum, 1979) et sa longueur droite dépendant de la taille de son support, deux individus de même âge peuvent avoir une longueur droite différente (Figure II.5).

La longueur curviligne des coquilles de l'ensemble des individus récoltés dans les deux stations (respectivement 844 et 1974 individus pour les stations Baie et Golfe) a été mesurée à l'aide d'un curvimètre (RunMate®). Afin de valider sur notre échantillon la corrélation entre

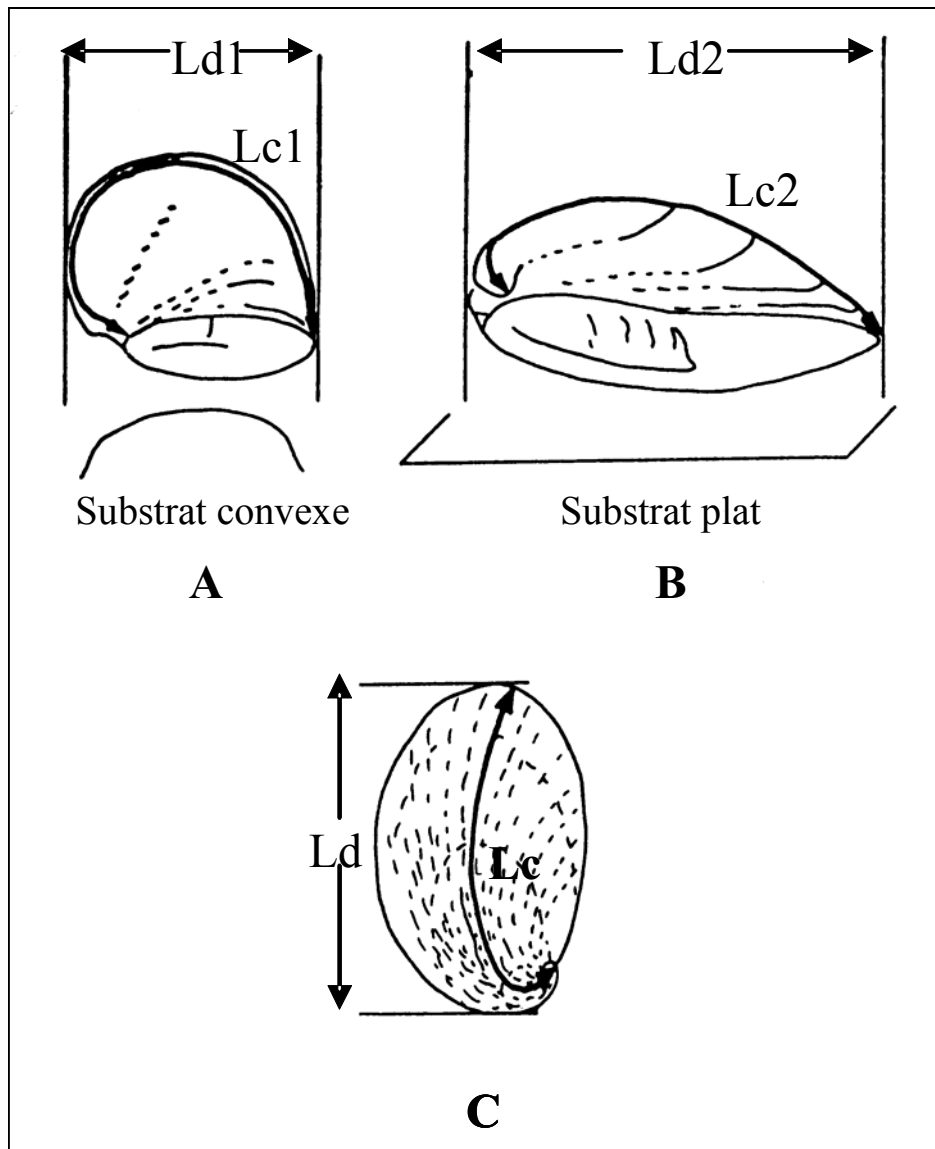


Figure II.5- Mesures de la longueur droite (Ld) et de la longueur curviligne (Lc) des coquilles de *C. fornicata*.

A-B, Influence de la forme du substrat sur les longueurs ($Ld1 \neq Ld2$; $Lc1 = Lc2$) ; C, vue de dessus (d'après Le Gall, 1980)

la taille et l'âge chez *C. fornicata*, les stries de croissance ont aussi été comptées sur un sous-échantillon. Une forte corrélation entre les nombres de stries et la longueur curviligne a été mise en évidence ($R = 0,95$, $P < 0,001$, $N = 106$ individus dans la population Baie et $R = 0,96$, $P < 0,001$, $N = 122$ pour la population Golfe).

- Analyse de cohorte

Pour chaque population un histogramme de distribution des fréquences de classes de taille a été construit afin de servir de base à une analyse de structure d'âge dont le principe est détaillé dans l'encadré II.1. Le pas de classe, défini selon la méthode de Jollivet *et al.* (2000) a été fixé à 5mm. Ainsi, 20 et 21 classes de taille, ont été respectivement déterminées dans les populations Baie et Golfe ; des nombres de classes de taille 1.5 à 2 fois plus élevés que ceux déterminés par les méthodes de Yule et de Sturge (Encadré II.1). Les histogrammes ont été lissés selon la méthode de la moyenne mobile centrée d'ordre 3 (Frontier & Pichod-Viale, 1991). La distribution des fréquences de taille de chaque population a été, dans un premier temps, comparée à une distribution normale avec un test de Shapiro-Wilk à l'aide du logiciel JMP ® 5.0.1a.

La décomposition modale des distributions de fréquences de taille a ensuite été réalisée en utilisant le logiciel MIX 2.3 (MacDonald & Pitcher, 1979 ; MacDonald & Green, 1986). Cette méthode itérative utilise un critère de maximum de vraisemblance pour donner le meilleur ajustement mathématique (testé à l'aide d'un Khi carré de conformité) entre une combinaison de distributions normales et la distribution observée. Pour la population Golfe, le nombre important d'individus immatures ($N_i = 1295$) ne permettait pas au programme de détecter d'autres modes dans la distribution de fréquences de taille, la décomposition modale a donc été réalisée après avoir enlevé les individus immatures de l'analyse.

La comparaison de modes homologues (i.e. les modes qui semblent à la même position dans la distribution de fréquences de taille) entre populations a été réalisée avec un test t de Student à l'aide du logiciel JMP ® 5.0.1a.

Dans l'optique de procéder à des analyses de structure sexuelle et des analyses génétiques au sein des cohortes, un sous-échantillonnage des individus mesurés a été réalisé en choisissant aléatoirement 60 à 83 individus de taille proche ($\pm 0,5$ cm) des modes respectifs de chacune des cohortes. La fin d'une distribution de fréquences de taille regroupe généralement plusieurs groupes d'âge car vers la fin de la vie de l'individu, la croissance ralentit et atteint souvent un plateau chez les vieux individus (Figure II.4). Par conséquent, les individus des quatre dernières classes de taille de chaque distribution ont également été

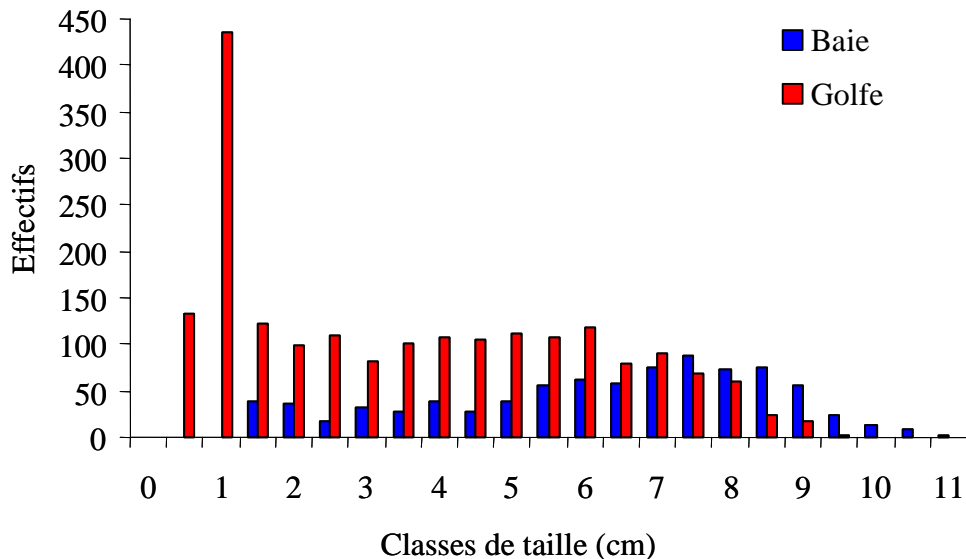


Figure II.6- Histogrammes de distribution des fréquences de taille des deux populations échantillonnées en baie du Mont-St-Michel au mois de mai 2002.

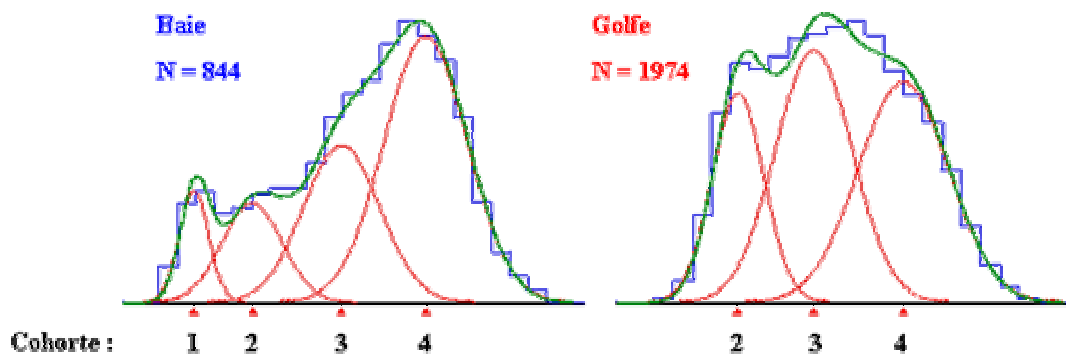


Figure II.7- Décomposition modale des distributions de fréquences de taille obtenue à l'aide du logiciel MIX 2.3.

L'histogramme de distribution des fréquences de taille apparaît en bleu ; la courbe polynomiale est indiquée en vert et les composantes gaussiennes de décomposition modale (représentant les cohortes) sont représentées en rouge. L'analyse de cohorte a été réalisée sans les immatures dans la population Golfe, la première cohorte n'est donc pas représentée ici. Les paramètres des différentes cohortes sont donnés dans le tableau II.1.

Tableau II.1- Paramètres des cohortes identifiées par la décomposition modale des distributions de fréquences de taille.

Population	Cohortes			
	1	2	3	4
Baie (N = 844)				
Proportion	0,08	0,13	0,28	0,51
Taille moyenne (cm)	1,46	3,02	5,45	7,73
Ecart-type (cm)	0,41	0,80	1,05	1,13
Golfe (N = 1974)				
Proportion	0,34*	0,14	0,26	0,26
Taille moyenne (cm)	0,80	2,18	4,16	6,49
Ecart-type (cm)	0,32	0,67	1,00	1,18

* Pour la population Golfe, les immatures ont été rajoutés pour calculer ces statistiques

sélectionnés (respectivement 47 et 73 individus pour les populations Golfe et Baie) et analysés pour rendre compte des événements les plus anciens survenus dans la population.

- Analyse de la structure sexuelle des populations

La sex-ratio peut être un indicateur de l'intensité du recrutement chez *C. fornicata*. En effet, une population de *C. fornicata* présentant un excès de mâles (généralement 60% de mâles et 40% de femelles, c'est-à-dire un ratio femelle : mâle de 0,67 : 1) est considérée dans la littérature comme une population ayant un bon recrutement annuel (Wilczynski, 1955). Réciproquement, un excès en femelles est le signe d'un vieillissement de la population.

Afin d'analyser l'évolution au cours du temps de la structure sexuelle dans les populations, le stade de maturité sexuelle (Figure i.7) a été déterminé pour chacun des individus à partir de la présence ou non de pénis, mais aussi de sa forme et de sa taille (Coe, 1938). Les jeunes individus, de taille inférieure à 1 cm, chez lesquels le pénis est absent ou à peine perceptible sont de jeunes mâles immatures. Les animaux avec un pénis bien visible et généralement de couleur noire sont des mâles. Les individus de taille normale présentant un pénis avorté sont des animaux en transition sexuelle. Lorsque le pénis a totalement disparu les individus sont femelles. La distribution des différents types sexuels est calculée pour chaque population et chaque cohorte. Des déviations par rapport à des ratios femelles : mâles de 1 : 1 et de 0,67 : 1 ont été testées à l'aide d'un test binomial d'après Wilson & Hardy, p.54 (2002).

II.1.2.2 Résultats

II.1.2.2.a La structure démographique des populations

La longueur curviligne des coquilles s'échelonne de 0,9 à 10,8 cm dans la population Baie et de 0,2 à 9,6 cm dans la population Golfe. Dans les deux populations, la distribution de fréquences de taille, présentée dans la figure II.6, est significativement différente d'une distribution normale ($P < 0,001$). La décomposition modale des histogrammes de fréquences de taille (Figure II.7) montre 4 modes pour la population Baie ($\chi^2 = 5,15$; ddl = 12 ; $P = 0,96$) et 3 modes, sans les immatures, dans la population Golfe ($\chi^2 = 4,97$; ddl = 14 ; $P = 0,99$). Lorsqu'on inclut les immatures, 4 cohortes sont également observées dans la population Golfe. Les caractéristiques de chaque composante de cette décomposition modale de la distribution de fréquences de taille sont détaillées dans le tableau II.1.

Les distributions de fréquences de taille sont significativement différentes entre les populations Baie et Golfe (test de Mann-Whitney, $W = 1666295$, $P < 0,001$). Les différences entre les modes homologues des deux populations sont significatives pour toutes les cohortes

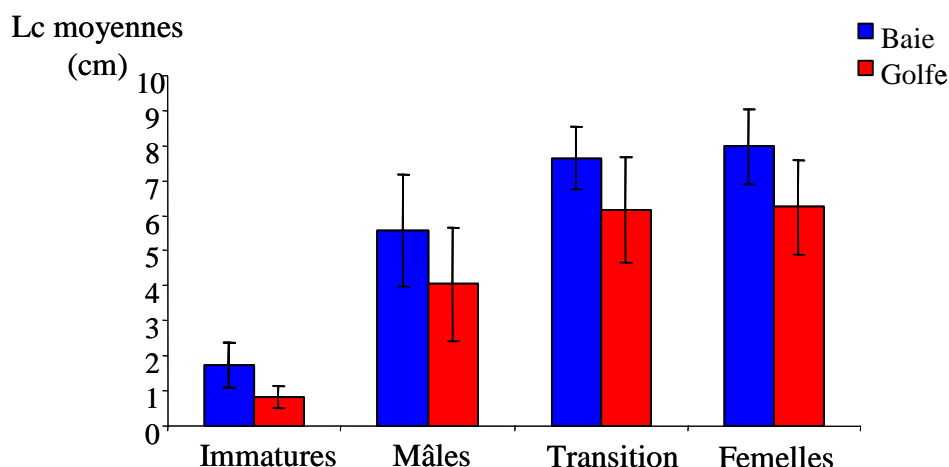


Figure II.8- Taille moyenne et écart-type des différents morphes sexuels par population

Tableau II.2- Pourcentage des morphes sexuels dans chaque cohorte (nombre d'individus de chaque sous-échantillon entre parenthèses)

Population		Cohortes				Individus âgés (queue de la distribution)
		1	2	3	4	
Baie (N = 376)		(77)	(60)	(83)	(83)	(73)
	I	100%	-	-	-	-
	M	-	98,3%	80,3%	45,0%	29,8%
	T	-	-	1,6%	8,3%	6,4%
	F	-	1,7%	18,1%	46,7%	63,8%
Golfe (N = 285)		(59)	(59)	(60)	(60)	(47)
	I	100%	-	-	-	-
	M	-	100%	94,1%	32,1%	16,9%
	T	-	-	1,2%	6,0%	1,3%
	F	-	-	4,7%	61,9%	81,8%

I, immatures; M, mâles; T, en transition; F, femelles.

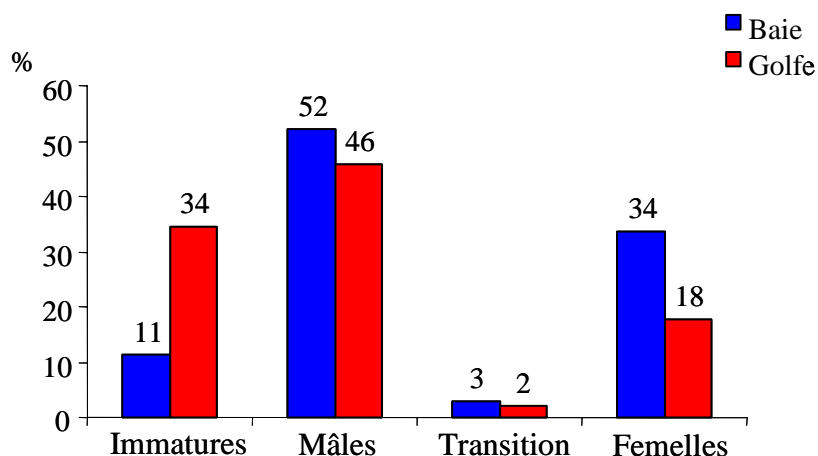


Figure II.9- Distribution des fréquences des morphes sexuels dans les populations.

(4 tests t de Student ; $P < 0,001$). La population Baie présente des tailles moyennes plus élevées que la population Golfe quelle que soit la cohorte considérée. Enfin, la cohorte la plus représentée est la quatrième (51%) dans la population Baie mais la première (immatures, 34%) dans la population Golfe (tableau II.1).

II.1.2.2.b La structure sexuelle des populations

Conformément aux attendus chez une espèce hermaphrodite protandre, les femelles présentent des tailles supérieures aux mâles (Figure II.8). Elles sont ainsi majoritairement présentes dans les cohortes les plus vieilles (Tableau II.2). Quelque soit le morphe considéré, les tailles des individus sont en moyenne plus élevées dans la population Baie que dans la population Golfe (Figure II.8, 4 tests t de Student, $P < 0,001$).

Les proportions relatives d'immatures, d'individus en transition, de mâles et de femelles sont significativement différentes entre les deux populations ($\chi^2 = 195$, ddl = 3, $P < 0,001$, Figure II.9). Ces différences sont, en partie, dues à un nombre plus important d'immatures dans la population Golfe mais le test reste significatif lorsque les immatures sont enlevés de l'analyse ($\chi^2 = 27$, ddl = 2, $P < 0,001$). Ces différences s'expliquent également par un nombre plus important de femelles dans la population Baie.

Les deux populations montrent une déviation significative par rapport à un ratio femelle : mâle de 1 : 1 ($P < 0,001$) en faveur des mâles. Seule la population Golfe montre une déviation significative par rapport à une sex-ratio de 0,67 : 1 ($N = 1253$; $N_{\text{femelle}} = 350$; $P < 0,001$) alors qu'aucune déviation n'est mise en évidence dans la population Baie ($N = 753$; $N_{\text{femelle}} = 295$; $P = 0,365$). Les ratios femelle : mâle au sein des cohortes 2, 3 et 4 ainsi que chez les vieux individus ont été comparés entre les populations à l'aide d'un test d'homogénéité. Le ratio n'est pas différent entre les populations pour la cohorte 2 ($\chi^2 = 1,20$; $P > 0,25$). Par contre il y a significativement plus de mâles dans la cohorte 3 de la population Golfe que dans la cohorte 3 de la population Baie ($\chi^2 = 6,67$; $P < 0,010$). A l'inverse il y a significativement moins de mâles dans la cohorte 4 et la classe de taille des vieux individus de la population Golfe que dans celles de la population Baie (respectivement $\chi^2 = 5,09$; $P < 0,025$ et $\chi^2 = 4,51$; $P < 0,050$).

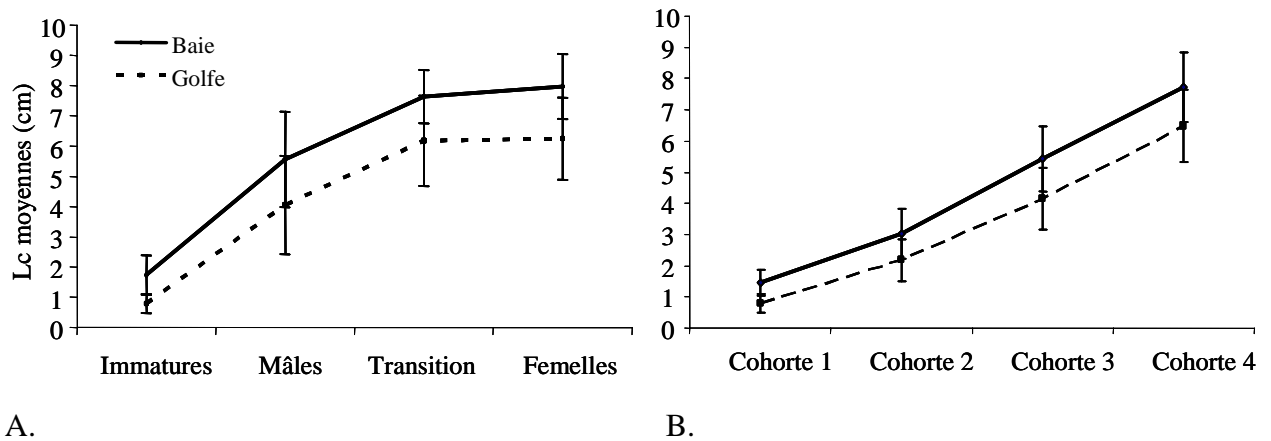


Figure II.10- Différence de taille moyenne entre les deux populations.
 A. Evolution de la taille moyenne par morphe et par population.
 B. Evolution de la taille moyenne par cohorte et par population.

II.1.2.2 Discussion

Quatre cohortes ont été mises en évidence dans les deux populations Baie et Golfe, un résultat en accord avec les travaux de Deslous-Paoli (1985) dans l'aire d'introduction (4 cohortes, Baie de Marennes-Oléron, France) et ceux de Grady *et al.* (2001) dans l'aire native (5 cohortes, Pleasant Bay, USA ; Figure II.1).

D'importantes différences de structures démographique et sexuelle entre les deux populations ont néanmoins été mises en évidence. La grande proportion d'immaturs dans la population Golfe (34% contre 11 % dans la population Baie) révèle notamment un recrutement particulièrement intense à ce site. Ce résultat est confirmé par une sex-ratio fortement biaisée en faveur des mâles dans cette population, indiquant que le fort recrutement répertorié en 2002 n'est pas un événement exceptionnel. L'arrivée massive de recrues à cet endroit de la baie pourrait expliquer la rapide expansion de cette population qui a atteint une densité exceptionnellement élevée sachant que la population n'était pas signalée en 1997. D'après les résultats de sex-ratio par cohorte, il apparaît que le changement de sexe est surtout initié entre la cohorte 2 et la cohorte 3 dans les 2 populations (les 1,7% de femelles dans la cohorte 2 de la population Baie correspondent à 3 cas marginaux sur 60 individus) et qu'un nombre important d'individus mâles sont encore présents parmi les individus âgés (respectivement 30% et 17% dans les populations Baie et Golfe). Les modalités du changement de sexe seront discutées plus en détail dans le chapitre III.

Un autre résultat important de cette étude est l'observation de différences significatives et systématiques entre les tailles moyennes par cohorte et par morphe sexuel dans les deux populations, sous l'hypothèse que les cohortes homologues des deux populations aient bien le même âge (Figure II.10). Le fait que la population Baie présente toujours des valeurs supérieures de taille moyenne suggère un taux de croissance plus important dans cette population, ce qui pourrait être expliqué par des conditions environnementales favorables aux organismes filtreurs dans le fond de la baie de Cancale (Blanchard & Erhold, 1999). L'hypothèse alternative, une asynchronie de recrutement, est peu probable car des femelles ovigères ont été observées dans les deux populations indiquant la même période de ponte. De plus, une étude de la distribution spatiale des larves de bivalves et de gastéropodes au sein de la baie du Mont St Michel a mis en évidence une présence de larves de crépidules en tous points de la baie (dont des points géographiquement proches des deux populations de cette étude) à une même date d'échantillonnage (du 14 au 17 juillet 2002 ; Muchembled, 2004). Afin de confirmer l'hypothèse de taux de croissance différentiel, une étude de dynamique de populations permettant un suivi de croissance dans les deux populations serait à envisager.

Tableau II.3: Diversité génétique et déficit en hétérozygotes dans les cohortes et les populations.

N, nombre d'individus. L'hétérozygotie observée et attendue (H_o et H_e) avec l'écart-type (σ), le nombre moyen d'allèles (N_{all}) et la richesse allélique (A_r) sont indiqués pour tous les locus. Pour chaque locus, le nombre total d'allèles (entre parenthèses) et l'estimateur de l'indice de fixation F_{is} (\hat{f}) sont indiqués avec la probabilité du test de Fisher : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

	N	$H_o \pm \sigma$	$H_e \pm \sigma$	N_{all}	A_r	\hat{f}						
						CfCA2 (4)	CfCA4 (20)	CfGT9 (85)	CfGT14 (59)	CfH7 (17)	Tous les locus	
Baie												
B1	58	0,772±0,193	0,822±0,214	23,0	20,9	0,046	0,021	0,143***	0,113	-0,037	0,062***	
B2	60	0,737±0,168	0,829±0,186	23,8	21,0	0,095	0,183**	0,166***	0,132***	-0,030	0,112***	
B3	77	0,680±0,189	0,812±0,228	23,2	19,8	0,068	0,216***	0,192***	0,287***	-0,004	0,164***	
B4	74	0,740±0,139	0,838±0,185	25,0	20,8	0,014	0,153*	0,164***	0,209***	-0,012	0,117***	
B5	63	0,719±0,114	0,824±0,190	24,0	21,1	-0,059	0,085	0,230***	0,251***	0,025	0,128***	
Sous-total	332	0,727±0,158	0,825±0,201	34,4	33,5	0,031	0,137***	0,180***	0,204***	-0,010	0,119***	
Golfe												
G1	58	0,750±0,167	0,833±0,174	22,0	20,3	0,123	0,127*	0,124***	0,122**	0,011	0,099***	
G2	56	0,725±0,163	0,825±0,187	22,6	20,5	0,117	0,118	0,160***	0,197***	0,010	0,124***	
G3	59	0,729±0,168	0,811±0,194	22,2	20,1	0,057	-0,030	0,277***	0,220***	-0,085	0,102***	
G4	58	0,679±0,180	0,806±0,225	23,2	21,3	0,112	0,013	0,330**	0,234***	0,034*	0,156***	
G5	47	0,736±0,176	0,804±0,234	19,8	19,4	-0,170	0,147**	0,135***	0,213***	-0,045	0,088***	
Sous-total	278	0,723±0,164	0,817±0,200	31,6	31,6	0,070	0,076	0,208***	0,196***	-0,015	0,115***	
Total	610	0,725±0,160	0,822±0,200	37	37	0,049	0,111***	0,193***	0,200***	-0,012	0,118***	

Grâce à l'analyse démographique différentes classes d'âge ont donc été identifiées dans les populations, ce qui m'a ensuite permis d'analyser l'évolution de la diversité génétique et la structure génétique entre classes d'âge dans ces deux populations.

II.1.3 Existe- t' il une variation temporelle de fréquences alléliques dans les populations de *C. fornicata* ?

II.1.3.1 Analyse génétique des cohortes et des populations

II.1.3.1.a Diversité génétique

Afin d'obtenir des données de fréquences alléliques sur des échantillons temporellement espacés, les sous-échantillons sélectionnés dans chaque cohorte ont été analysés à l'aide de cinq locus microsatellites : CfCA2, CfCA4, CfGT9, CfGT14 et CfH7 avec les protocoles et les méthodes explicités dans le chapitre I (les fréquences alléliques sont présentées dans l'annexe 6). Les statistiques descriptives sont présentées pour toutes les cohortes et toutes les populations dans le tableau II.3. Sur l'ensemble des deux populations la diversité génique moyenne est très élevée ($H_e = 0,822$). Quand on considère chaque cohorte et chaque population séparément, la diversité génique varie très peu (de 0,812 pour la cohorte 3 à 0,838 pour la cohorte 4 dans la population Baie ; de 0,804 pour la cohorte 5 à 0,833 pour la cohorte 1 dans la population Golfe). Au sein de chaque population les valeurs de diversité génique et de richesse allélique ne sont pas statistiquement différentes entre les cohortes (test-t appariés sur les locus, les valeurs de probabilités s'échelonnent respectivement de 0,078 à 0,987 et de 0,164 à 0,950).

L'hypothèse de « sweepstake » prédit qu'une cohorte récemment recrutée a une plus faible diversité génétique que le pool reproducteur potentiel (Hedgewood, 1994). Pour tester cette hypothèse, la diversité génétique des immatures de chaque population a été comparée, dans un premier temps, à la diversité génétique du pool reproducteur local (tous les adultes matures de la population) et, dans un deuxième temps, aux indices de diversité calculés sur l'ensemble des reproducteurs potentiels des populations Baie et Golfe. Deux indices ont été utilisés pour cette comparaison : la richesse allélique (A_r) et la diversité génique (H_e). Les résultats, présentés dans le tableau II.4, montrent qu'aucune diminution de diversité génétique n'a été mise en évidence entre les cohortes d'immatures et les adultes (8 tests t appariés ; les

Tableau II.4- Comparaison de diversité génétique entre les immatures et les adultes matures dans les deux populations. Les adultes ont été sous-échantillonnés (tirage aléatoire) pour que les tailles d'échantillonnage soient comparables.

Population		H_e	A_r
Baie	Immatures	$0,833 \pm 0,174$	22,0
	Adultes	$0,813 \pm 0,206$	22,8
Golfe	Immatures	$0,822 \pm 0,214$	22,8
	Adultes	$0,826 \pm 0,198$	23,1
Baie + Golfe	Adultes	$0,820 \pm 0,201$	23,3

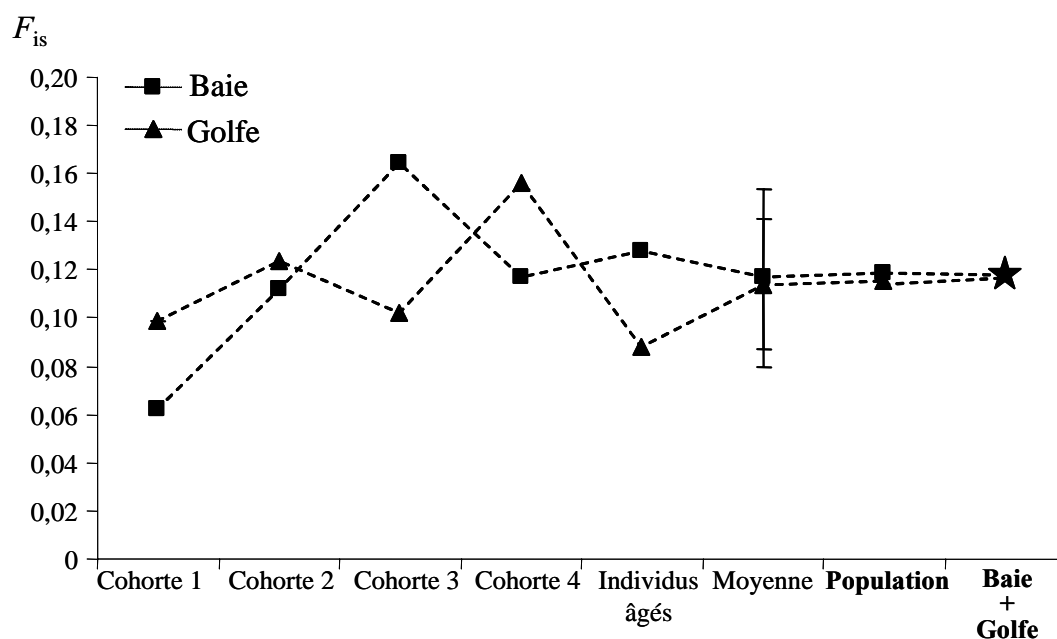


Figure II.11- Déficit en hétérozygotes multi-locus calculé dans chaque cohorte, dans les 2 populations et sur l'ensemble des individus des populations Baie et Golfe. Le F_{is} moyen par groupe d'âge (les 4 cohortes et les individus âgés) est également représenté (les barres d'erreur représentent les écarts-type).

valeurs de probabilités sont comprises entre 0,140 et 0,879). Pour vérifier que la taille d'échantillonnage n'avait pas d'effet sur ce résultat, la diversité génique calculée sur un sous-échantillon de 58 adultes par population (tirage aléatoire) a été comparée à celle des immatures ; le résultat reste inchangé.

II.1.3.1.b Déficit en hétérozygotes

Des déficits en hétérozygotes significatifs sont observés dans les populations ($\hat{f} = 0,119$ dans la population Baie et $\hat{f} = 0,115$ dans la population Golfe) et les cohortes. Toutes les cohortes montrent un écart significatif à la structure de Hardy-Weinberg dû à un déficit en hétérozygote (Tableau II.3). Des écarts significatifs s'observent à trois locus (CfCA4, CfGT9 et CfGT14).

Cinq explications sont possibles pour un tel résultat :

- Une dérive d'échantillonnage ; un tel effet peut avoir lieu lorsque le polymorphisme des locus est trop important par rapport au nombre d'individus échantillonnés. Dans cette étude le locus CfGT9 présente 85 allèles alors que la plus grande taille d'échantillon est de 77 individus ; cette hypothèse ne peut donc pas être rejetée.

- La consanguinité ; les 5 locus analysés ne montrent pas le même déficit en hétérozygote, ce qui exclue cette hypothèse.

- La sélection favorisant les homozygotes ; les microsatellites étant des marqueurs neutres cette explication n'est pas plausible.

- Un effet Wahlund ; cet effet correspond soit à l'échantillonnage d'une population qui regroupe des périodes de recrutement au cours desquelles se sont fixées des groupes d'individus génétiquement différenciées (effet Wahlund temporel), soit à l'échantillonnage d'une population qui regroupe des sous-populations génétiquement différenciées (effet Wahlund spatial). Un effet Wahlund temporel se traduit par une diminution du déficit en hétérozygote dans les subdivisions temporelles de l'échantillon (ici « cohortes ») par rapport à l'échantillon pris dans sa globalité (ici « population »). Un tel effet n'a pas été détecté dans cette étude (Tableau II.3 et Figure II.11). L'hypothèse d'un effet Wahlund spatial est peu probable car la différenciation génétique entre les deux populations étudiées est très faible (voir ci-dessous) et le fait de regrouper les deux populations n'augmente que légèrement le F_{is} (Figure II.11).

- La présence d'allèles nuls ; un effet fréquemment répertorié chez certaines espèces d'invertébrés marins (Foltz, 1986). Sur 610 individus étudiés, une absence d'amplification a

été observée pour 4 individus au locus CfGT9, 1 individu au locus CfGT14, ce qui suggère la présence d'homozygotes nuls à ces deux locus. Sous l'hypothèse (forte) de l'équilibre de Hardy-Weinberg dans chaque population, les fréquences d'allèles nuls sont alors égales à 10,6% et 9% au locus CfGT9 et 10% et 9% au locus CfGT14 pour les population Baie et Golfe respectivement (Brookfield, 1996). Comme l'hypothèse d'allèle nul ne peut pas être rejetée pour CfGT9 et CfGT14, toutes les analyses suivantes vont être réalisées avec et sans ces locus. Notons toutefois qu'aucun homozygote nul n'a été relevé au locus CfCA4 bien que des déficits en hétérozygotes significatifs aient été observés dans certaines cohortes ; ces déficits pourraient être dû à des allèles nuls rares, non présents à l'état homozygote et donc non détectés à l'état hétérozygote.

II.1.3.1.c Différenciation génétique entre populations

Un test global de différenciation génétique entre populations a révélé une faible bien que significative différence de distribution de fréquence allélique entre les deux populations [$\hat{\theta} = 0,001$, $P = 0,000$ (test exact), $P = 0,010$ (test G)]. On remarque que cette différence n'avait pas été mise en évidence dans le chapitre I mais moins d'individus avaient été analysés (ex : 50 individus pour la population Golfe, appelée 13 dans le chapitre I, contre 278 ici). Si on exclut CfGT9 et CfGT14 de l'analyse, la valeur de $\hat{\theta}$ ne change pas mais n'est plus significative (test exact, $P = 0,184$). Cependant, dans cette dernière analyse, seuls trois locus, qui plus est les moins polymorphes, sont considérés, diminuant ainsi fortement la puissance du test. Des différences significatives de distribution allélique sont toujours observées lorsque seul l'un des 2 locus CfGT9 ou CfGT14 est exclu de l'analyse [sans GT9, $\hat{\theta} = 0,001$, $P = 0,049$ (test exact) et sans GT14, $\hat{\theta} = 0,001$, $P = 0,000$ (test exact)].

Un examen précis des fréquences allélique a révélé que chaque population présente des allèles rares qui ne sont pas présents dans l'autre population (allèles privés). La population Baie montre plus d'allèles privés (27 sur 5 locus ; 2 à CfCA4, 13 à CfGT9, 11 à CfGT14 et 1 à CfH7) que la population Golfe (un total de 13, 5 à CfGT9, 7 à CfGT14 et 1 à CfH7). Ce résultat ne s'explique pas seulement par une différence de taille d'échantillon car on observe une richesse allélique légèrement plus importante dans la population Baie.

II.1.3.1.d différenciation génétique entre cohortes

Les résultats des tests exacts de différenciation allélique entre les cohortes sont présentés pour chaque population dans le tableau II.5. Pour la population Baie, une comparaison par

paire sur 10 est significative et reste significative même si CfGT9, CfGT14 ou les deux locus sont enlevés de l'analyse mais cette différence statistique ne reste pas significative après une correction de Bonferroni séquentielle (Holm, 1979 ; Rice, 1989). Dans la population Golfe une différence significative est observée pour deux comparaisons mais ne reste pas significative si CfGT9 est exclu de l'analyse ou après une correction de Bonferroni.

Au niveau inter-population 12 comparaisons de fréquence alléliques entre cohortes (sur 25) sont significatives. 4, 8 et 3 tests exacts restent significatifs quand CfGT9, CfGT14 et les deux locus respectivement sont exclus de l'analyse. Seul un test exact (entre cohorte B3 et G3) reste significatif après une correction de Bonferroni séquentielle. Ainsi, quasiment aucune différence génétique n'existe entre cohortes au sein des populations alors qu'une légère structure génétique est observée entre populations. Ce résultat est confirmé par une analyse hiérarchique de la variance des fréquences allélique (ARLEQUIN V2). Aucune différenciation génétique entre cohortes au sein d'un regroupement de cohortes (population) n'est mise en évidence ($F_{sc} = 0,001$; $P = 0,507$) alors que la différenciation génétique entre groupes (entre populations) est significative ($F_{ct} = 0,001$; $P = 0,042$)

II.1.3.2 Discussion

Dans cette étude, une légère différenciation génétique a été observée entre les populations en dépit de leur proximité géographique. Comme montrée chez de nombreuses autres espèces marines à phase larvaire planctonique (Johnson & Black, 1984 ; Borsa *et al.*, 1991 ; David *et al.*, 1997 ; Lenfant & Planes, 2002), la différenciation observée est très faible ($F_{st} = 0,001$) et aurait pu ne pas être détectée avec une plus petite taille d'échantillon (comme c'était d'ailleurs le cas dans le chapitre 1) et/ou des tests moins puissants (Waples, 1998).

Néanmoins, dans les deux populations étudiées, on note une très forte homogénéité génétique entre les classes d'âges identifiées suggérant que, chez *C. fornicata*, et contrairement à de nombreuses espèces marines, le modèle d'hétérogénéité génétique à petite échelle spatiale (ou « chaotic genetic patchiness » ; Johnson & Black, 1982) peut être rejeté. De plus, aucune diminution de diversité génétique n'est observée dans la cohorte d'immatrices par rapport aux adultes sexuellement matures, indiquant que la variance de succès reproducteur est limitée. Les résultats de cette étude vont donc à l'encontre du modèle de loterie au recrutement (« sweepstake recruitment ») proposé par Hedgecock (1994) chez différentes espèces d'invertébrés marins.

Ces résultats mettent en évidence que le groupe reproducteur contribuant au recrutement local est stable au cours du temps donc, ni la dérive génétique, ni la migration depuis des

Saisons de reproduction

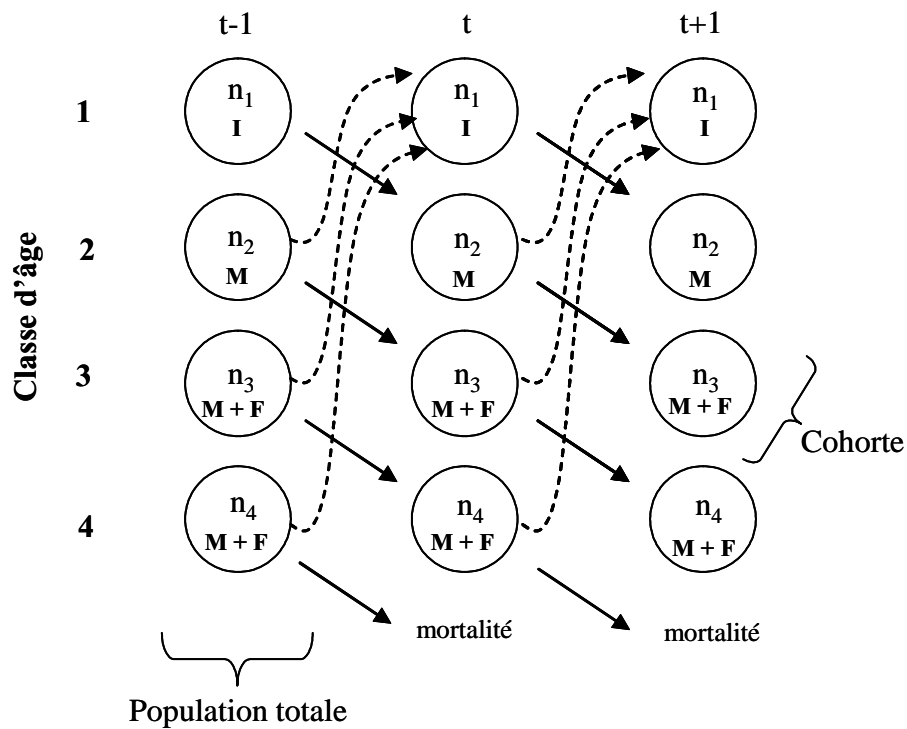


Figure II.12 : Représentation schématique d'une population structurée en âge avec des générations chevauchantes. Les cercles représentent les groupes d'âge de n_i individus (1 à 4) de sexe I (immature), M (mâle) et F (femelle) ; les traits continus représentent la survie des individus et les traits en pointillés la reproduction de chaque groupe d'âge. Les colonnes représentent la population totale et sa structure, les lignes sont les classes d'âges et les diagonales (de la gauche vers la droite) représentent les cohortes (i.e. les individus recrutés une même année). D'après Jorde & Ryman (1995) et Ryman (1997).

populations génétiquement divergentes, n'ont fortement altéré la composition génétique des populations sur la courte échelle de temps étudiée (i.e. quelques générations). L'homogénéité génétique temporelle, la forte diversité génétique chez les immatures et la quasi absence de déficit en hétérozygotes (sauf à deux locus pour lesquels ce déficit est expliqué par la présence d'allèles nuls et/ou une dérive d'échantillonnage) suggèrent que les groupes larvaires sont très diversifiés génétiquement. Une hypothèse qui pourrait être confirmée par une quantification directe de la diversité génétique dans les groupes larvaires (Ruzzante *et al.*, 1996 ; Li & Hedgecock, 1998).

L'absence de forte dérive génétique est probablement due à une grande taille efficace de populations maintenue au cours du temps grâce aux caractéristiques de cycle de vie et de reproduction de la crépidule. En effet, classiquement, une variance de succès reproducteur est notamment attendue chez des espèces à génération chevauchantes (Figure II.12) seulement lorsque quelques classes d'âges contribuent à la descendance (Jorde & Ryman, 1995 ; Ryman, 1997). Ce n'est pas le cas chez une espèce protandre où la reproduction de toutes, et entre toutes, les générations est favorisée, ce qui est le cas de *C. fornicata*. En effet, l'analyse de la structure sexuelle dans les différentes classes d'âge montre l'absence de femelles dans la cohorte 2 et un faible nombre de femelles dans la cohorte 3. Ceci implique que les mâles présents majoritairement dans ces cohortes se reproduisent avec les femelles présentes dans les cohortes 4 et 5. Selon Ryman (1997), et sous l'hypothèse de taille efficace similaire, une population où approximativement une égale proportion de jeunes est produite par chaque classe d'âge adulte montrera moins de variation génétique temporelle qu'une population où la reproduction implique uniquement des individus de certaines classes d'âge. Ainsi, indépendamment de la taille efficace, seul un faible niveau de variation allélique temporelle peut être attendu chez une telle espèce. En comparant deux espèces de poissons pélagiques avec différentes histoires de vie, Gaggiotti & Vetter (1999) ont montré que plus les générations sont chevauchantes, plus faible est l'impact des fluctuations environnementales sur le niveau de variabilité génétique maintenu par une population. Cet effet de stockage (« storage effect » ; Warner & Chesson, 1985) a été précédemment décrit par Ellner & Hairston (1994) et défini comme la capacité des organismes pérennes avec des générations très chevauchantes à maintenir la variabilité génétique dans un environnement qui fluctue au cours du temps. Ce modèle semble également pouvoir s'appliquer à *C. fornicata* du fait de l'optimisation du changement sexuel au cours de la vie de l'individu (Figure II.12).

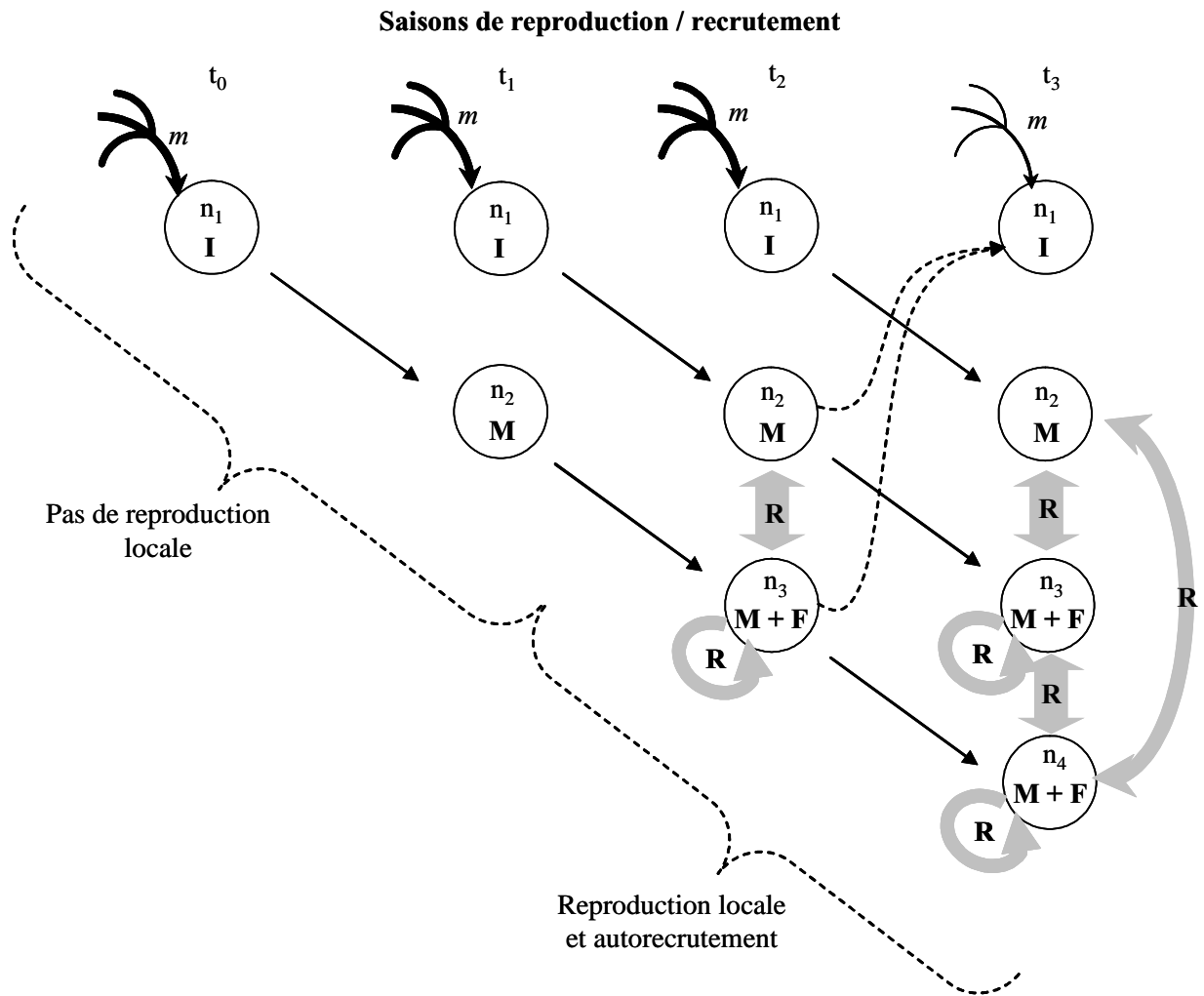


Figure II.13- Représentation schématique d'un scénario possible de colonisation d'un site par *C. fornicata* (d'après l'hypothèse d'Austerlitz et al. 2000). Les cercles représentent les groupes d'âge de n_i individus de sexe I (immature), M (mâle) et F (femelle). De t_0 à t_2 le recrutement se fait essentiellement grâce à l'arrivée de migrants m depuis différentes sources. Lors de la quatrième saison de recrutement, la reproduction locale (R) est possible car des mâles et des femelles sont présents dans la population. Le recrutement de larves issues de la reproduction locale, qui a lieu au sein et entre les groupes d'âge, est représenté par les traits en pointillés.

II.1.4 Conclusion

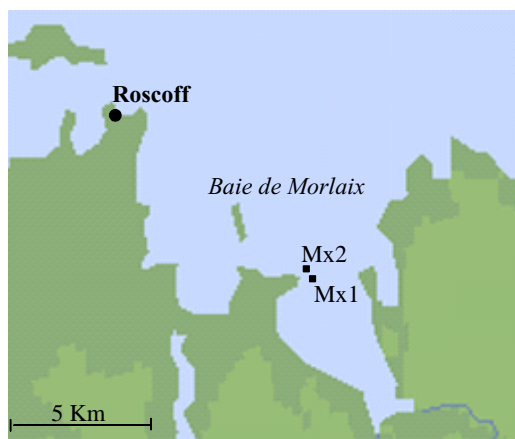
Cette étude a montré que les dynamiques d'expansion et de croissance varient entre les deux populations avec une expansion récente et importante dans la station Golfe. En dépit de ces différences, les deux populations présentent un nombre de cohortes identique, une densité similaire et un niveau de diversité génétique équivalent. Aucun effet fondateur n'a été observé dans la population la plus récemment colonisée (Golfe). Austerlitz *et al.* (2000) ont montré, pour des arbres, qu'une importante longévité associée à la présence de plusieurs classes d'âge, de générations chevauchantes et d'une longue phase juvénile peut réduire drastiquement les effets fondateurs, en permettant aux migrants d'arriver avant que les individus présents localement aient atteint leur maturité sexuelle et se soient reproduits. Un scénario similaire est probable durant la colonisation du site de la population Golfe par *Crepidula fornicata* (illustré figure II.13) : après l'établissement d'individus fondateurs, la taille de la population a augmenté les premières années grâce au recrutement de nouveaux migrants plutôt que grâce à la reproduction locale (peu de femelles dans la population, tous les nouveaux arrivants sont immatures ou mâles). Puis, une fois que les individus fondateurs ont effectué un changement de sexe, la reproduction devient possible impliquant toutes les cohortes composées de migrants successivement arrivés depuis des populations sources potentiellement différentes. Ce processus permet d'augmenter la diversité génétique globale d'une population nouvellement fondée et de diminuer les effets fondateurs.

II.2 DYNAMIQUE D'INSTALLATION DE LA CREPIDULE DANS UNE BAIE RECEMMENT COLONISEE

Les populations de la baie de Cancale analysées dans la première partie de ce chapitre, sont localisées dans une baie fortement colonisée par *Crepidula fornicata* où la biomasse en crépidules a atteint des valeurs records pour une baie française (Blanchard & Ehrhold, 1999). Un recrutement local efficace, associé à une forte dispersion à l'échelle du Golfe Normano-breton (cf partie I.2), contribue à alimenter les populations en recrues chaque année et favorise la colonisation du Golfe. Une question se pose alors : qu'en est-il dans une baie récemment colonisée ? Est – ce la reproduction locale ou la dispersion à grande distance qui détermine le maintien de la population au cours du temps ? Où se place la population dans le scénario présenté dans la figure II.13 : l'autorecrutement est-il déjà important ou décèle-t'on un apport extérieur de larves provenant, par exemple, d'une baie proche ou d'un transfert dû à l'homme ?

Afin de répondre à ces questions j'ai choisi de m'intéresser à l'installation de la crépidule en baie de Morlaix. Cette espèce a été observée sporadiquement dans cette baie depuis les années 60 et jusqu'à ces dernières années où sa présence a été plus fréquemment signalée, il ne semblait pas qu'elle se soit réellement établie. Les populations de crépidules de la baie de Morlaix offrent l'opportunité de suivre la dynamique de colonisation récente de l'espèce. De plus, la proximité géographique du site étudié a permis un suivi temporel des populations grâce à des échantillonnages réalisés régulièrement par l'équipe de plongeurs de la station biologique de Roscoff. Un suivi démographique réalisé sur 21 mois m'a permis d'analyser l'évolution de la structure d'âge, de l'état reproducteur des individus et du recrutement dans les populations. Une analyse génétique de la variation temporelle des fréquences alléliques a également été menée afin d'aborder la question de l'origine des recrues (autorecrutement ou apport extérieur).

Deux personnes ont contribué à ce travail : Dorothée Picaud (Stage de maîtrise de Biologie cellulaire et Physiologie, Université de Nantes, en avril puis de juillet à août 2003) et Hélène Collin (Stage de licence de biologie des organismes, Université de Pau et des Pays de l'Adour, de mars à mai 2004).



Echantillon	Date	N _D		N _G	
		Mx1	Mx2	Mx1	Mx2
Automne 1	01/10/2002	200	251	92	78
Hiver 1	06/02/2003	323	353	-	-
Printemps 1	04/06/2003	353	163	-	-
Automne 2	16/09/2003	413	492	85	89
Hiver 2	21/01/2004	223	274	-	-
Printemps 2	08/06/2004	-	408	-	-

Figure II.14- Localisation des deux populations. Dans le tableau sont indiqués : les dates d'échantillonnage, le nombre d'individus analysés pour l'étude démographique (N_D) et pour l'étude génétique (N_G)

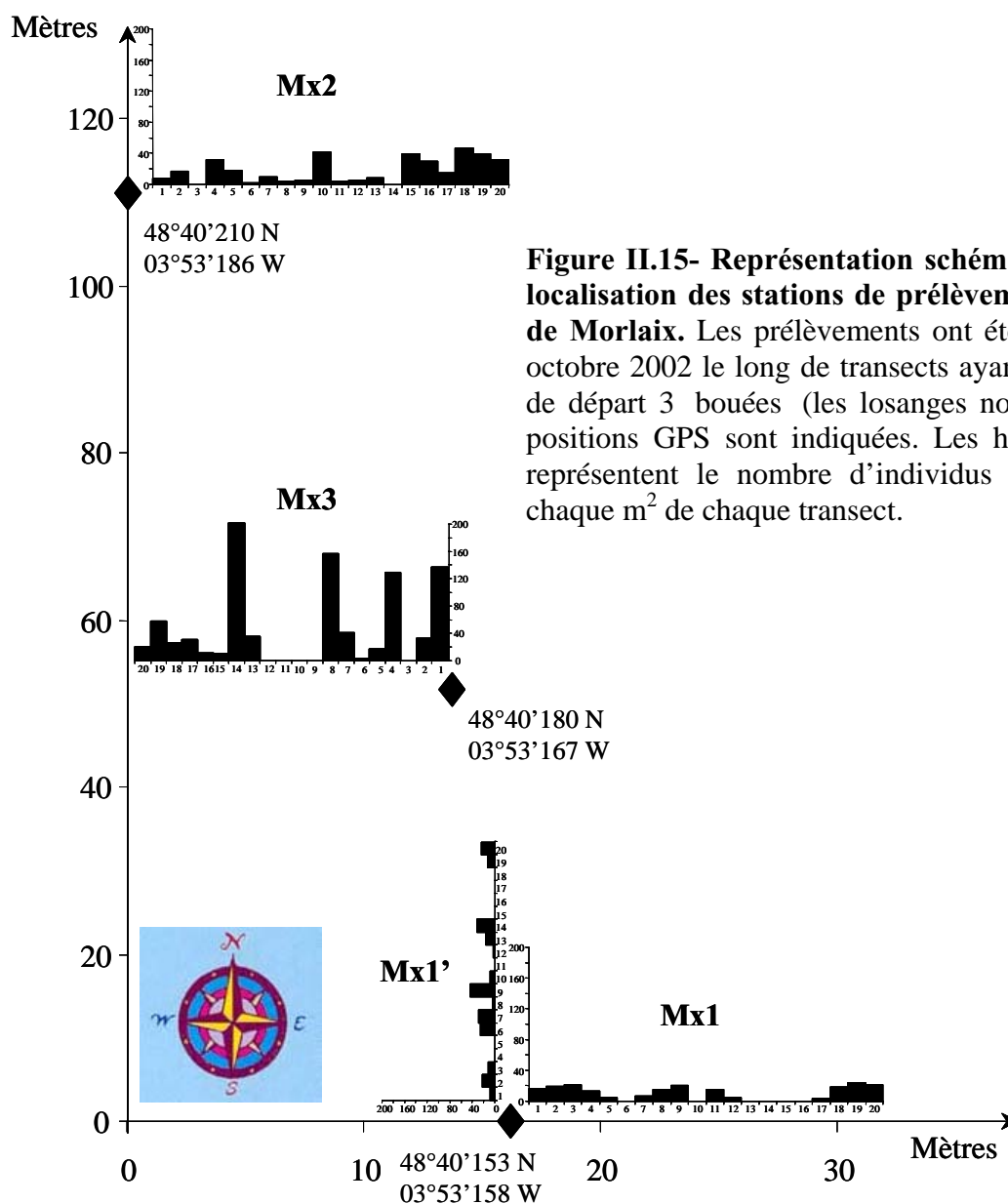


Figure II.15- Représentation schématique de la localisation des stations de prélèvement en baie de Morlaix. Les prélèvements ont été réalisés en octobre 2002 le long de transects ayant pour point de départ 3 bouées (les losanges noirs) dont les positions GPS sont indiquées. Les histogrammes représentent le nombre d'individus présents sur chaque m² de chaque transect.

II.2.1 Site d'étude et stratégie d'échantillonnage

En baie de Morlaix, des spécimens de *C. fornicata* sont signalés pour la première fois dans les années 60 (Blanchard, 1995). L'observation de la crépidule reste anecdotique dans la baie jusque dans les années 90 bien que Dauvin (1984) ait signalé sa présence près de Kerarmel dans les années 1980. Le site d'étude (Figure II.14) est situé sur un fond recouvert de sédiments biogènes (plus de 50% de débris d'algues calcaires auxquels s'ajoutent des coquilles, la granulométrie générale est celle d'un gravier ; Cabioch, 1968) à une profondeur de 10 à 15 mètres. Des dragages de coquille Saint-Jacques ont lieu chaque année sur cette zone en hiver (décembre et janvier).

Pour avoir une meilleure idée de la localisation spatiale et de la densité de *C. fornicata* sur ce site, quatre transects de 20 m ont été étudiés dans un premier temps. L'échantillonnage a été réalisé en plongée hyperbare par les étudiants du DU d'« écologie et de biologie sous-marine » de l'Université Rennes 1 en octobre 2002. Contrairement à la drague ou à la benne Hamon, ce mode d'échantillonnage permet d'avoir une information précise sur la position géographique des prélèvements ; c'est également l'assurance de ne pas endommager les chaînes ni détacher les juvéniles. Sur chaque mètre du transect tous les individus présents ont été prélevés sur une largeur de 1 mètre (la totalité du transect représente 20 m²) et conservés dans de l'alcool 96° en vue de comptages et d'analyses.

Le suivi temporel de la population de crépidule de la baie de Morlaix a ensuite été réalisé à l'aide d'un prélèvement effectué trois fois par an le long des deux transects les plus éloignés, Mx1 et Mx2. Ces échantillonnages ont été réalisés par les plongeurs de la station biologique de Roscoff. Les dates d'échantillonnage sont présentées dans la figure II.14. Sur chaque mètre de chaque transect un maximum de huit chaînes sont prélevées et conservées dans de l'alcool à 96°.

II.2.2 Densité et répartition des crépidules sur le site d'étude

La figure II.15 représente le nombre d'individus présents par mètre de chaque transect. La répartition des individus le long du transect n'est pas homogène, elle est en « tâches » avec une densité maximale de crépidules de 201 ind.m⁻² (station 14, transect Mx3). En moyenne, la densité obtenue sur l'ensemble des transects est de 21,3±34,5 ind. m⁻². Ce résultat peut être

comparé à celui obtenu en Baie du Mont-St-Michel, en notant toutefois que l'estimation de la densité a été réalisée selon deux méthodes différentes (échantillonnage par des plongeurs *versus* échantillonnage à la benne Hamon). En baie du Mont-St-Michel, la densité moyenne calculée sur l'ensemble des populations échantillonnées au cours des missions Benthomont et situées sous une droite allant de Cancale à Granville (fond de baie) est de $260 \pm 525 \text{ ind.m}^{-2}$ avec une densité maximale de 2080 ind.m^{-2} (la densité moyenne calculée sur l'ensemble des populations du Golfe Normano-Breton est de $200 \pm 442 \text{ ind.m}^{-2}$). Cette densité est dix fois plus élevée que celle obtenue en baie de Morlaix. La répartition y est également différente : en Baie de Cancale de véritables tapis de crépidules ont été décrits (Blanchard & Erhold, 1999) tandis que la distribution des individus en baie de Morlaix est plutôt clairsemée. Ce résultat pourrait témoigner de l'installation récente de *C. fornicata* dans la baie de Morlaix mais peut également s'expliquer par un faible recrutement ne permettant pas à la population de s'accroître. Ce dernier point a été étudié à l'aide d'une analyse de dynamique de population.

II.2.3 Quelle est la dynamique de recrutement en baie de Morlaix ?

Afin d'étudier la dynamique de recrutement de *C. fornicata* en baie de Morlaix, un suivi des populations a été réalisé entre les mois d'octobre 2002 et juin 2004. Sur l'ensemble de l'étude respectivement 1512 et 1533 individus ont été analysés aux points Mx1 et Mx2 précédemment étudiés et que nous appellerons « populations » Mx1 et Mx2 dans la suite de ce travail. Les effectifs de chaque échantillonnage sont précisés dans la figure II.14.

II.2.3.1 Les caractéristiques biologiques étudiées

Les méthodes utilisées sont identiques à celles décrites dans la partie II.1.

II.2.3.1.a La structure d'âge

Des histogrammes de distribution des fréquences de taille ont été obtenus dans les populations Mx1 et Mx2 pour chaque date d'échantillonnage (sauf au printemps 2004 pour Mx1, l'analyse étant en cours). La longueur curviligne (L_c) a été utilisée pour les mesures de taille, sauf pour l'échantillonnage du printemps 2004 de Mx2 où la longueur curviligne a été estimée à partir de la longueur droite (L_d ; mesurée avec un pied à coulisse) grâce à une droite de régression obtenue à partir de l'ensemble des mesures effectuées dans la population

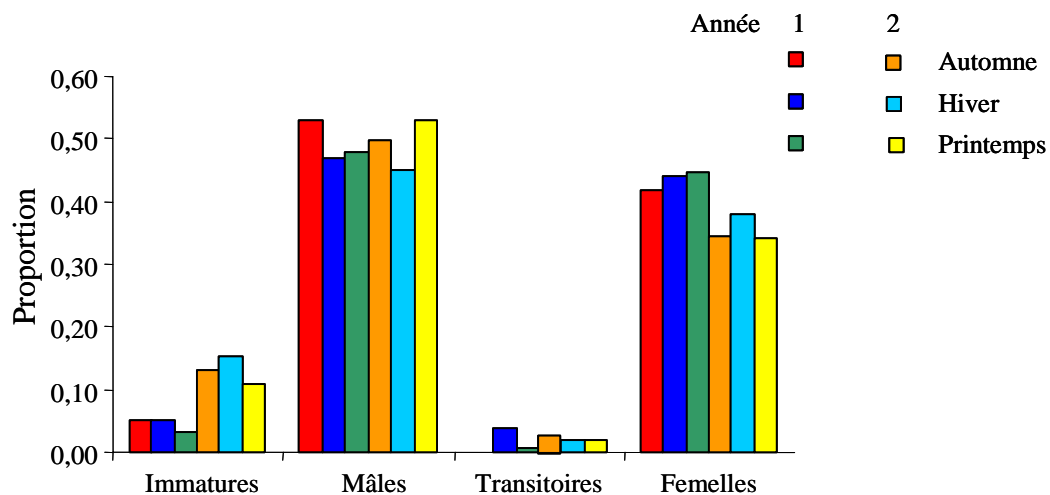


Figure II.16- Distribution des différents types sexuels par période d'échantillonnage dans la population Mx2.

Tableau II.6 Sex-ratio et probabilité du test binomial associé En gras les ratio femelle : mâle significativement différents d'une sex-ratio théorique de 1:1. Les ratio femelle : mâle significativement différents de 0,67 : 1 sont soulignés.

Pop.		Automne 1	Hiver 1	Printemps 1	Automne 2	Hiver 2	Printemps 2
Mx1	Ratio F : M	<u>0,84 : 1</u>	0,74 : 1	0,75 : 1	0,67 : 1	0,73 : 1	/
	P (ratio 1 : 1)	0,134	0,011	0,006	0,000	0,018	/
	P (ratio 0,67 : 1)	0,050	0,173	0,136	0,448	0,245	/
Mx2	Ratio F : M	0,79 : 1	<u>0,93 : 1</u>	<u>0,94 : 1</u>	0,69 : 1	<u>0,85 : 1</u>	0,63 : 1
	P (ratio 1 : 1)	0,040	0,288	0,375	0,000	0,117	0,000
	P (ratio 0,67 : 1)	0,090	0,001	0,015	0,348	0,032	0,484

considérée (sur tous les autres échantillonnages L_d avait été mesurée en parallèle de la longueur curviligne ; $N = 1524$; $R^2 = 0,881$, $L_c = 1,94 \cdot L_d - 0,25$; $P < 0,001$).

II.2.3.1.b La structure sexuelle

Les pourcentages relatifs des différents morphes sexuels ont été calculés pour chaque échantillonnage et les distributions des types sexuels ont été comparées à l'aide d'un test d'homogénéité afin d'étudier l'évolution de la sexualité dans les populations. La sex-ratio a été évaluée pour chaque population et chaque échantillonnage temporel. Des tests binomiaux ont été effectués afin de vérifier si la sex-ratio était significativement différente (1) d'une valeur de sex-ratio équilibrée de 1 :1 et (2) d'un ratio femelle : mâle de 0,67 : 1, ratio considéré comme typique d'une population de crépidule à bon recrutement annuel (Wilczynski, 1955)

II.2.3.1.c La maturité sexuelle et la fécondité

La fécondité moyenne de la population a été évaluée sommairement en comptabilisant le nombre de femelles ayant des pontes dans chaque échantillonnage (sauf celui de l'automne 2002). La taille de première maturité sexuelle, définie ici comme la taille des plus petites femelles (comme cela a été proposé par Blanchard *et al.*, 2001), a également été notée pour chaque échantillonnage.

II.2.3.2 Résultats - discussion

* Les résultats de l'étude de dynamique étant similaires pour Mx1 et Mx2, seules les figures illustrant les résultats dans la population Mx2 sont présentées en regard du texte, celles illustrant les résultats dans la population Mx1 sont présentées en Annexe 8.

Les distributions des différents types sexuels par période d'échantillonnage (Figure II.16 ainsi que les valeurs de sex-ratio (Tableau II.6) mettent en évidence que les populations de la Baie de Morlaix, une baie où la crépidule s'est récemment installée, ont une structure sexuelle similaire à celle observée dans une population plus ancienne (par exemple la population « Baie » étudiée dans la partie II.1). Comme attendu chez cette espèce (Collin, 1995), on observe un différentiel de taille entre individus mâles et femelles ; ces dernières étant de grande taille (donc supposées âgées), bien que les distributions de fréquences de taille des deux sexes se chevauchent (Figure II.17). Ce chevauchement souligne la progressivité du changement de sexe et l'ajustement de la sex-ratio au cours du temps. Les comparaisons de sex-ratio par rapport à une valeur théorique de 1 : 1 et à une valeur attendue de 0,67 : 1 ont

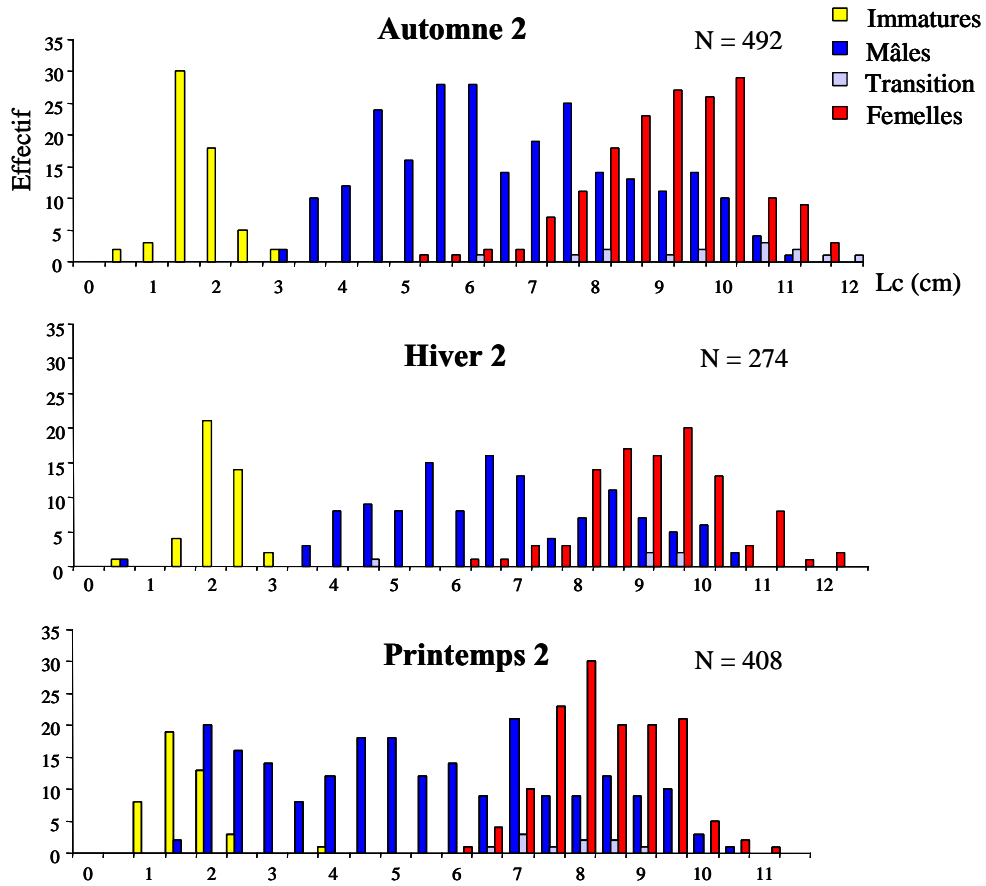


Figure II.17- Distribution des fréquences de taille par type sexuel dans la population Mx2 pour les trois échantillonnages de la deuxième année de suivi.

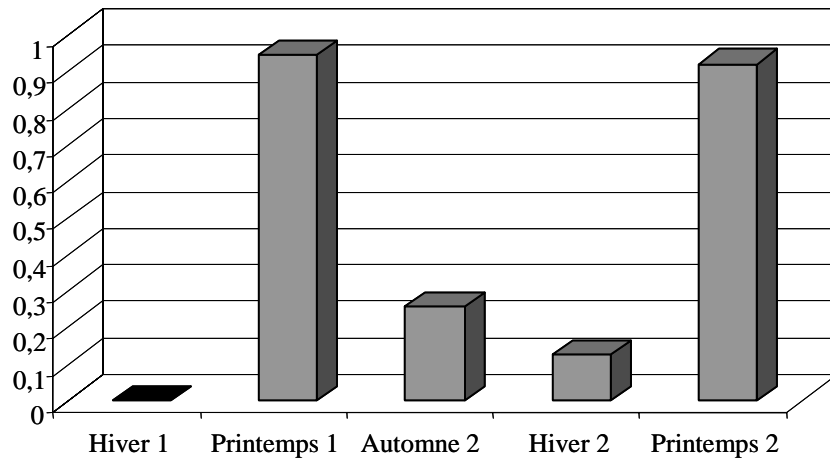


Figure II.18- Proportion de femelles ovigères dans la population Mx2 par période d'échantillonnage.

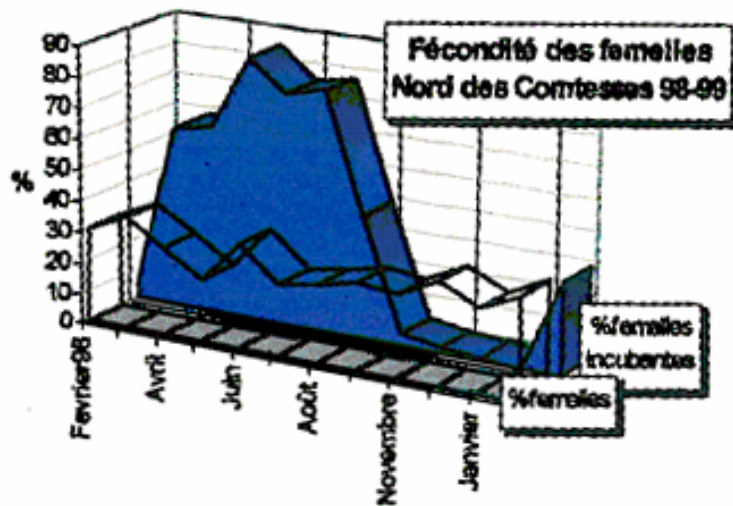


Figure II.19- Suivi de la fécondité des femelles dans une populations de la baie de StBrieuc d'après Blanchard *et al.* (2001).

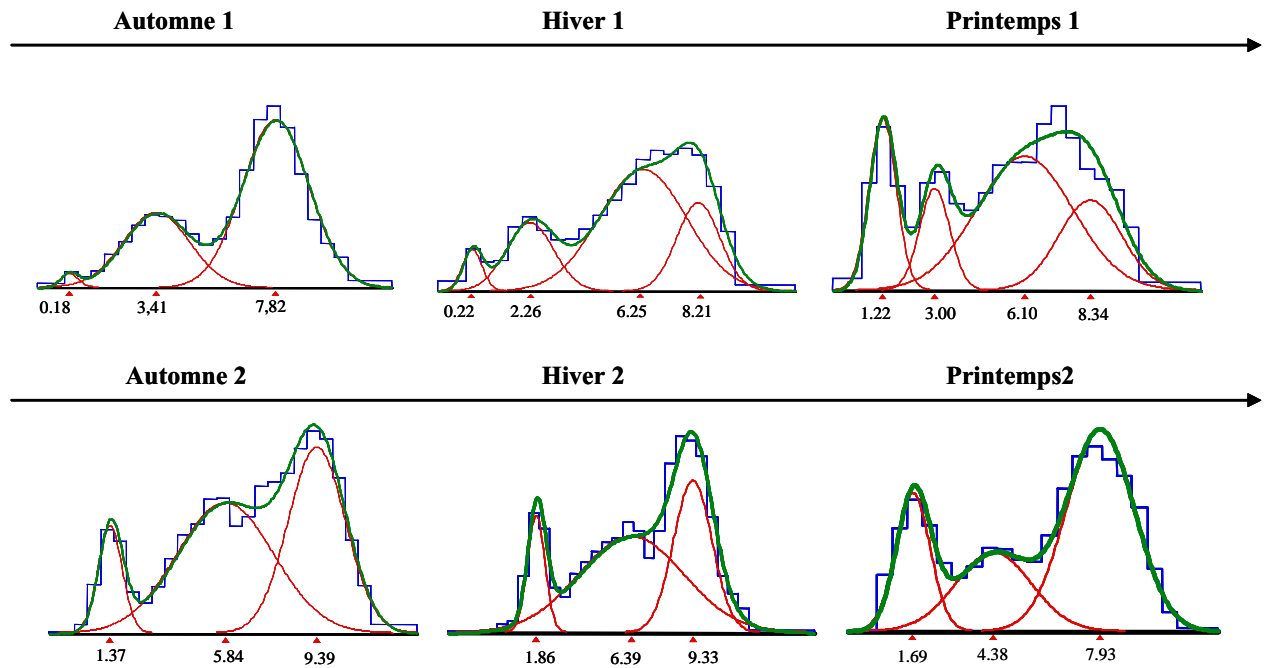


Figure II.20- Décomposition modale de distribution de fréquences de taille pour chaque échantillonnage temporel dans la population Mx2 (les modes sont indiqués en centimètres).

également permis de montrer cet ajustement (Tableau II.6). En automne 2, par exemple, la sex-ratio s'écarte d'une sex-ratio femelles : mâles équilibrée en faveur des mâles, un phénomène expliqué par Hoagland (1978) par la maturation sexuelle des immatures en jeunes mâles. Lors de l'hiver 2, le ratio de femelles augmente à nouveau. On remarque que la progression est différente entre les échantillons d'automne 1 et d'hiver 1 de Mx1. Cette différence peut s'expliquer par une différence de 15 jours entre les dates d'échantillonnages des deux années. Sous cette hypothèse, il semblerait que les changements de sexe modulant la sex-ratio globale aient lieu durant une courte période de temps (environ 15 jours). En hiver, la taille des plus petites femelles diminue (diminution de 36% et 28% respectivement de la taille de la plus petite femelle dans les populations Mx1 et Mx2 entre l'automne 1 et l'hiver 1), un résultat qui témoigne du changement de sexe des mâles en femelles. Les processus de changement de sexe seront discutés plus en détail dans le chapitre III.

Le suivi de la fécondité des femelles (mesurée uniquement sur la base de la présence de sacs ovigères ; figure II.18) met en évidence qu'une large majorité des femelles participent à la reproduction. La figure II.18 montre que la fécondité femelle est très variable au cours du temps avec plus de 90% de femelles ovigères au printemps. Ce résultat se rapproche des données existantes dans la littérature. En effet, Le Gall (1980) note qu'à Luc-sur-Mer (Manche) les premières pontes apparaissent en février, leur nombre augmente jusqu'à un maximum en juin et juillet puis décroît jusqu'en octobre. En baie de St Brieuc, Blanchard *et al.* (2001) ont noté que les pontes étaient étalées dans le temps avec un pic maximum en avril-mai (Figure II.19). En revanche deux pics sont identifiés par Coum (1979) en rade de Brest : un pic en avril et un pic en juin. La fréquence de nos échantillonnages (3 échantillons par an) ne permet pas de déterminer combien de pics de fécondité ont lieu au cours de l'année ni sur combien de temps le pic observé au printemps s'étale. Pour affiner cette étude et la comparer aux données de la littérature il conviendrait de réaliser des échantillonnages au moins mensuels.

Le résultat majeur de ce suivi de fécondité est la mise en évidence d'une forte reproduction locale, qui a lieu depuis au moins deux ans, et à laquelle la grande majorité des femelles participent. Les populations de la baie de Morlaix ont donc atteint un stade du processus de colonisation où le recrutement local est possible à partir des individus reproducteurs locaux (cf Figure II.13).

L'analyse de cohorte a permis d'obtenir des compléments d'information sur le recrutement, et indirectement sur la reproduction. La phase larvaire durant de deux à quatre semaines, le pic de recrutement correspondant à la forte proportion de femelles ovigères

Tableau II.7- Décomposition modale des distributions de fréquences de taille (Lc) dans la population Mx1 (A) et la population Mx2 (B) pour chaque date d'échantillonnage. Les valeurs de la statistique et de la probabilité d'ajustement entre la distribution observée et la décomposition modale (composantes gaussiennes) sont indiquées en gras.

A. Mx1		cohorte 1	cohorte 2	cohorte 3	cohorte 4	
Automne 1 N = 200	<i>Proportion</i>	0,04	0,30	0,57	0,09	p = 1,000
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	0,21	3,18	7,73	10,12	X² = 0,53
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,34	1,08	1,16	0,47	ddl = 12
Hiver 1 N = 323	<i>Proportion</i>	0,12	0,20	0,68		p = 0,999
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	0,55	3,64	6,95		X² = 1,55
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,86	0,86	1,28		ddl = 13
Printemps 1 N = 353	<i>Proportion</i>	0,10	0,32	0,58		p = 0,968
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	1,07	3,56	7,39		X² = 7,92
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,43	1,22	1,33		ddl = 17
Automne 2 N = 413	<i>Proportion</i>	0,22	0,25	0,53		p = 0,999
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	0,63	3,71	7,83		X² = 2,66
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,41	1,29	1,50		ddl = 16
Hiver 2 N = 223	<i>Proportion</i>	0,08	0,29	0,63		p = 0,993
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	1,59	4,73	8,53		X² = 4,84
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,52	1,21	1,43		ddl = 15

B. Mx2		cohorte 1	cohorte 2	cohorte 3	cohorte 4	
Automne 1 N = 251	<i>Proportion</i>	0,01	0,30	0,68		p = 0,999
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	0,18	3,41	7,82		X² = 2,61
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,32	1,23	1,23		ddl = 14
Hiver 1 N = 353	<i>Proportion</i>	0,04	0,18	0,57	0,21	p = 0,997
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	0,22	2,26	6,25	8,21	X² = 1,50
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,35	0,84	1,54	0,76	ddl = 9
Printemps 1 N = 163	<i>Proportion</i>	0,18	0,12	0,49	0,22	p = 0,997
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	1,22	3,00	6,10	8,34	X² = 1,55
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,47	0,92	1,65	1,08	ddl = 9
Automne 2 N = 492	<i>Proportion</i>	0,10	0,49	0,41		p = 0,999
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	1,37	5,84	9,39		X² = 2,90
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,47	1,87	1,11		ddl = 16
Hiver 2 N = 274	<i>Proportion</i>	0,11	0,56	0,33		p = 0,999
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	1,86	6,39	9,33		X² = 3,90
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,42	2,50	0,92		ddl = 17
Printemps 2 N = 408	<i>Proportion</i>	0,20	0,24	0,56		p = 0,842
	<i>Taille moyenne (cm)</i>	1,69	4,38	7,93		X² = 8,02
	<i>Ecart-type (cm)</i>	0,57	1,26	1,12		ddl = 13

observée (en juin) devrait donc avoir lieu en juillet. L'absence d'échantillon prélevé en été n'a pas permis d'identifier ce pic. Cependant, la décomposition modale des distributions de fréquences de taille (Figure II.20 & Tableau II.7) met en évidence la présence de plusieurs cohortes dans les deux populations (3 à 4) ce qui souligne que le recrutement est discontinu. Par ailleurs, la présence d'un fort taux de recrutement (sur les deux années et dans les deux populations), notamment en automne 2 en Mx1 où les immatures représentent 22% de la population indique une dynamique de recrutement active de *C. fornicata* en baie de Morlaix. De plus, la distribution des différents types sexuels par période d'échantillonnage (Figure II.17) révèle que les immatures sont en proportions plus importantes la deuxième année du suivi au détriment des femelles. Ainsi, une différence significative des distributions des types sexuels en faveur des immatures est observées entre l'Automne 1 et l'Automne 2 dans les deux populations ($P < 0,010$). Ce résultat s'explique par un recrutement plus intense la deuxième année contribuant au renouvellement des individus et au maintien des populations.

II.2.4 Quelle est l'origine des recrues en baie de Morlaix : autorecrutement ou apport extérieur ?

L'analyse de la structure sexuelle et de la structure d'âge a permis de montrer que les populations de *C. fornicata* en baie de Morlaix semblent bien installées et présentent un recrutement important. Cependant, cette analyse ne permet pas de savoir si les populations sont isolées ou si elles se maintiennent en partie grâce à des apports extérieurs de larves. Bien que la présence de sacs ovigères chez les femelles prouve qu'une reproduction locale a lieu et qu'un auto-recrutement est possible, cela n'exclut pas la possibilité d'un apport de migrants. Par exemple, les résultats obtenus pourraient être le fait d'un approvisionnement depuis des baies voisines colonisées depuis longtemps, comme la baie de St Briec, selon un modèle de type « source-puit » (i.e. modèle de métapopulation comprenant des populations ayant un taux de croissance négatif à faible densité et en absence d'immigration : les puits ; et des populations ayant un taux de croissance positif à faible densité : les sources ; Hanski & Simberloff, 1997) dans lequel la baie de Morlaix fonctionnerait comme un « puit », receveur de migrants depuis des populations « sources » localisées aux alentours. L'hypothèse d'un apport depuis la rade de Brest est peu probable du fait de l'isolement de cette rade comme l'ont montré les résultats de la partie I.2. Afin d'aborder cette question de l'origine des

Tableau II.8- Diversité génétique et déficit en hétérozygotes dans les cohortes et les populations étudiées en baie de Morlaix.

Sont indiqués : les effectifs analysés (N), les valeurs des estimateurs de l'hétérozygotie observée (H_o) et de l'hétérozygotie théorique non biaisée de Nei (H_e), le nombre moyen d'allèles (N_{all}) sur l'ensemble des locus. Pour chaque locus, le nombre total d'allèles (entre parenthèses) et l'estimateur de l'indice de fixation F_{is} (\hat{f}) sont indiqués avec la probabilité du test de Fisher : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$

Les déficits en hétérozygotes multi-locus sont calculés sur l'ensemble des 4 locus et en excluant CfGT14 (3 locus).

A. Année 1 (automne)

Pop	Coh.	N	$H_e \pm \sigma$	N_{all}	CfCA2 (4)	CfCA4 (19)	\hat{f}			
							CfGT14 (55)	CfH7 (16)	4 locus	3 locus
Mx1	1	32	0,812±0,193	14,3	-0,002	0,039	0,132**	-0,008	0,048***	0,011
	2	31	0,768±0,196	12,5	0,047	0,008	0,162**	0,077	0,083*	0,045
	3	29	0,779±0,195	13,0	-0,170	0,166*	0,121	0,267*	0,128**	0,130**
	Total	92	0,788±0,196	17,8	-0,046	0,075	0,141***	0,111	0,086***	0,061
Mx2	1	40	0,784±0,207	14,8	-0,028	0,253***	0,277***	-0,130	0,111***	0,036***
	2	38	0,795±0,186	15,0	0,155	0,131	0,319***	-0,010	0,150***	0,081
	Total	78	0,792±0,199	19,3	0,065	0,194**	0,299***	-0,063	0,133***	0,061***
TOTAL		170	0,790±0,197	21,7	0,006	0,129***	0,214***	0,028	0,107***	0,060

B. Année 2 (automne)

Pop	Coh.	N	$H_e \pm \sigma$	N_{all}	CfCA2 (4)	CfCA4 (19)	\hat{f}			
							CfGT14 (55)	CfH7 (16)	4 locus	3 locus
Mx1	1	31	0,789±0,179	12,4	0,391*	0,340***	0,354***	0,161*	0,302***	0,280***
	2	31	0,765±0,202	12,5	0,363*	0,164	0,358***	-0,028	0,200***	0,132
	3	23	0,795±0,167	12,3	0,249	0,145	0,272***	0,071	0,178***	0,143
	Total	85	0,782±0,601	18,0	0,331**	0,223***	0,337***	0,066	0,230***	0,185***
Mx2	1	32	0,769±0,193	11,3	-0,049	0,276**	0,199**	0,323**	0,214***	0,220***
	2	29	0,794±0,198	12,3	-0,359	0,242*	0,234***	0,124	0,108***	0,055*
	3	28	0,764±0,210	12,3	-0,026	-0,020	0,213***	0,099	0,085***	0,027
	Total	89	0,777±0,204	16,5	-0,155*	0,172**	0,221***	0,189**	0,139***	0,103***
TOTAL		174	0,780±0,195	20,2	0,096*	0,197***	0,277***	0,125*	0,184***	0,144***

recrues, une analyse de la variabilité temporelle des fréquences alléliques a été conduite en comparant, au sein de chacune des populations, des échantillons ayant une année d'écart (Automne 1 et 2) ainsi qu'en comparant plusieurs classes d'âge (les cohortes préalablement identifiées) au sein d'un même échantillon spatial et temporel.

II.2.4.1 Etude de la structure génétique

Afin d'étudier l'évolution génétique des deux populations au cours d'une année ainsi qu'entre cohortes au sein des populations, environ 32 individus par cohorte ont été sélectionnés au sein des échantillonnages d'automne 1 et 2 des deux populations (le nombre d'individus analysés est détaillé dans la figure II.14). Quatre locus microsatellites ont été utilisés pour cette étude ; CfCA2, CfCA4, CfGT14 et CfH7 avec les protocoles et les méthodes explicités dans le chapitre I.

II.2.4.1.a La diversité génétique est-elle stable au cours du temps ?

Le tableau II.8 montre que les indices de diversité génétique (H_e et N_{all}) varient peu entre les cohortes et d'une année sur l'autre. Un test t pour données appariées ne révèle pas de différence significative du nombre moyen d'allèles entre cohortes de chaque échantillonnage. A l'exception d'un seul cas (entre les cohortes 1 et 2 de l'échantillon d'année 2 de Mx2, $P = 0,008$), aucune variation significative de diversité génétique, H_e , n'a été mise en évidence entre les deux populations, ni entre les différents échantillonnages temporels au sein d'une même population.

II.2.4.1.b Quid des déficits en hétérozygotes ?

L'examen du test exact d'adéquation à l'équilibre de Hardy Weinberg pour l'ensemble des locus et pour l'ensemble des populations montre un écart significatif à la panmixie chaque année (Tableau II.8). Ce déficit est surtout, mais pas exclusivement, présent au locus CfGT14 pour lequel on peut supposer la présence d'allèles nuls (cf. partie II.1). Les tests d'adéquation aux proportions attendues à l'équilibre de Hardy-Weinberg restent significatifs dans de nombreux cas lorsque le calcul est fait avec 3 locus uniquement. Deux hypothèses sont testées : ces déficits s'expliquent par (i) un effet Wahlund temporel et (ii) par un effet Wahlund spatial.

- Un effet Wahlund temporel ?

Aucune diminution du déficit en hétérozygotes dans les cohortes par rapport à l'échantillon pris dans sa globalité (échantillonnage annuel) n'a été mis en évidence (Tableau II.8), que les analyses soient faites avec les 4 locus ou en enlevant le locus CfGT14.

Néanmoins, quelques valeurs significatives de différenciation entre cohortes au sein des échantillons annuels ont été mises en évidence (tests exacts de différence de fréquence allélique) dans la population Mx1 (entre les cohortes 1 et 2 de l'année 2, $P = 0,031$) et dans la population Mx2 (entre les cohortes 1 et 2 de l'année 1, $P = 0,001$ et entre les cohortes 1 et 3 de l'année 2, $P = 0,002$). L'hypothèse d'un mélange de cohortes différenciées génétiquement (un effet Wahlund temporel) ne peut donc pas être totalement exclue.

- Un effet Wahlund spatial ?

Aucune augmentation du déficit en hétérozygotes n'est observée lorsque l'on regroupe les populations Mx1 et Mx2 par rapport au déficit obtenu dans chaque population (Tableau II.8).

De plus, un test global de différence de distribution allélique entre les populations indique une absence de structure génétique entre les deux populations la première année (test exact, $P = 0,103$) et une différence significative ($P = 0,010$) associée à une faible valeur de $\hat{\theta}$ ($\hat{\theta} = 0,001$) la deuxième année. L'hypothèse d'un effet Wahlund spatial peut donc être exclue. Mx1 et Mx2 sont deux entités qui échangent librement des gènes et qu'on peut assimiler à une seule et même population d'un point de vue génétique.

II.2.4.2 Discussion

L'espèce *C. fornicata* a été observée sporadiquement depuis les années 60 dans la baie de Morlaix. Une hypothèse soulevée par ce constat était que les populations de la baie de Morlaix sont transitoires avec des phénomènes de recolonisation récurrents, comme cela a été observé chez des mollusques tropicaux d'eau douce tel que *Bulinus truncatus* (Viard *et al.*, 1997b) et *Biomphalaria pfeifferi* (Charbonnel *et al.*, 2002a) ou des annélides marines telles que *Pectinaria koreni* (Jolly *et al.*, 2003). Un tel processus ne peut pas être détecté avec une analyse seulement spatiale de la structure génétique alors qu'un suivi temporel de la variabilité génétique peut mettre en évidence des variations de diversité génétique, associées à des épisodes de recrutement d'individus provenant de sources génétiquement différenciées au cours du temps.

Sous l'hypothèse de phénomènes d'extinction/recolonisation, des goulets démographiques qui se traduisent par des effets de fondation caractérisés par de fortes diminutions de diversité

génétique, sont attendus. Contrairement à cet attendu, une forte diversité génétique, qui se maintient au cours du temps (elle est sensiblement identique quelles que soient les cohortes et années considérées), a été mise en évidence dans les populations de la Baie de Morlaix. La forte diversité génétique observée pourrait s'expliquer par l'installation dans cette baie d'un nombre initial important de migrants.

Nous nous sommes demandés si la majorité des larves qui recrutent dans cette baie proviennent de l'extérieur. Les résultats montrent qu'il ne semble pas y avoir un apport de nouveaux allèles depuis une population différenciée génétiquement, un résultat qui va à l'encontre d'un modèle de type « source-puit » où la « source » serait une population génétiquement différente. En revanche, l'arrivée de migrants depuis une population d'une baie génétiquement similaire est possible. Par exemple, l'arrivée de migrants depuis les populations de la baie de St Brieuc est probable car, d'une part, les populations de la baie de Morlaix et celles de la baie de St Brieuc ne sont pas différenciées génétiquement (cf chapitre I) et, d'autre part, les simulations de dispersion larvaire présentées dans le chapitre 1 ont montré que la dispersion d'une baie à une autre est possible. Cependant, aux vues de la grande stabilité de la composition génétique des populations, soulignant l'absence d'effets de dérive génétique au cours du temps, ainsi que de la présence d'individus femelles portant des œufs fécondés, il est plus probable que le recrutement en baie de Morlaix soit avant tout un autorecrutement.

D'après ces différents résultats il semble que les populations de la baie de Morlaix, malgré leur implantation plus récente, se comportent de la même façon que les populations de la baie du Mont-St-Michel étudiées dans la partie II.1. Dans ces deux baies, les populations se caractérisent par (i) une forte diversité génétique, (ii) une homogénéité génétique temporelle traduisant notamment une absence de variance de succès reproducteur et (iii) une absence de structure génétique au sein de la baie.

II.2.5 Conclusion

Cette étude combinant l'analyse des morphes sexuels, des structures d'âge et de la diversité génétique nous a permis d'appréhender plus finement le fonctionnement des populations de crépidules en Baie de Morlaix. Malgré l'installation récente de l'espèce, un fort taux de diversité génétique, un recrutement régulier dont un autorecrutement important ont été constatés dans les populations étudiées.

Ces résultats soulignent la rapidité avec laquelle les populations de *C. fornicata* semblent atteindre un équilibre démographique lors du processus de colonisation. Une constatation qui avait déjà été faite lors de la comparaison des structures démographique et génétique de la population Golfe (plus récente) et de la population Baie (plus ancienne) dans la partie II.1. Cet équilibre démographique ne pourrait pas être atteint si rapidement sans un système de reproduction particulièrement efficace. L'étude du comportement reproducteur de *C. fornicata* va faire l'objet du chapitre III.

**CHAPITRE III : UN SYSTEME DE
REPRODUCTION ORIGINAL**

Les organismes qui changent de sexe au cours de leur vie utilisent une variété de stratégies, ils peuvent être d'abord femelles puis mâles (protogynie), d'abord mâles puis femelles (protandrie) ou alternativement l'un et l'autre. Une question majeure abordée par la théorie de l'allocation du sexe est de savoir dans quel cas et pourquoi, au cours de l'évolution de ces espèces, l'hermaphrodisme séquentiel a été favorisé au détriment de la gonochorie (i.e. sexes séparés ; Charnov, 1982). La majorité des hermaphrodites séquentiels se trouvent dans l'embranchement des mollusques et la classe des poissons (Policansky, 1982). Sur les huit classes de mollusques, seuls les gastéropodes et les bivalves présentent des espèces qui changent de sexe et la plupart sont protandres (Wright, 1988). Parmi ces mollusques hermaphrodites protandres, *Crepidula fornicata* est un modèle de choix car facilement manipulable expérimentalement en phase adulte. La réversion sexuelle chez cette espèce a ainsi été fréquemment étudiée dans son aire de distribution naturelle (Coe, 1938 ; Hoagland, 1978 ; Wright, 1988 ; Collin, 1995).

Chez une espèce introduite, la protandrie a un intérêt particulier. En effet, la capacité de changer de sexe facilite la colonisation de nouveaux habitats car elle réduit les risques de ne pas trouver de partenaire du sexe opposé pour la reproduction. De plus, la formation de piles d'individus est une caractéristique favorisant la rencontre entre partenaires sexuels.

De façon plus générale, il convient de rappeler que la diversité et la structure génétique des populations est largement sous la dépendance des modalités du système de reproduction, qui détermine la façon dont les gènes sont transmis au cours des générations. Dans le chapitre I, nous avons montré l'efficacité de dispersion de *C. fornicata*, mais également la forte diversité génétique des populations traduisant une importante taille efficace (effets de dérive génétique limités), qui peut être mise en relation avec un nombre important de reproducteurs locaux et une sex-ratio équilibrée entre mâles et femelles. Dans le chapitre II, nous avons abordé plus étroitement cette relation entre sex-ratio et structure génétique au sein des populations, par une approche couplée démographie et génétique. Cette étude montrait comment le changement de sexe chez *C. fornicata* contribue à maintenir la diversité génétique des populations à l'échelle locale et à minimiser sa variation sur quelques générations. Dans ce dernier chapitre, j'ai donc choisi d'aborder quelques caractéristiques du système de reproduction de *C. fornicata* qui apparaît comme un élément moteur dans l'efficacité de l'installation de cette espèce localement, en m'intéressant plus particulièrement :

- à la taille au changement de sexe et à la sex-ratio à l'échelle des populations
- aux modalités de croisements entre individus au sein des chaînes de *C. fornicata*

III.1 THEORIE D'ALLOCATION DES RESSOURCES ET PROTANDRIE : SEX-RATIO ET TAILLE DES MORPHES SEXUELS CHEZ *C. FORNICATA**

* Cette partie repose sur des données acquises dans les études présentées dans les parties II et III.2

III.1.2 Introduction

L'évolution vers des systèmes d'hermaphroditisme séquentiel trouve une explication à travers la théorie d'allocation au sexe, et, plus exactement, à travers l'analyse du succès reproducteur relatif des mâles et des femelles. Cette explication repose largement sur le modèle d'avantage de taille (« size-advantage model »). Ce modèle, tout d'abord développé par Ghiselin (1969) puis repris par Leigh *et al.* (1976), Warner (1975) et Charnov (1982) prédit que, si le succès reproducteur d'un sexe augmente plus vite avec la taille (ou l'âge) que ne le fait l'autre sexe, le changement de sexe permet d'augmenter le potentiel reproducteur d'un individu. La sélection naturelle favorise alors en premier le sexe dont le succès reproducteur augmente le moins vite avec la taille (ou l'âge). Par exemple, si le succès reproducteur est indépendant de la taille chez les mâles mais s'il est plus important chez les grosses femelles que chez les petites, un changement de sexe de la fonction mâle vers la fonction femelle est attendu au cours de la vie de l'individu. Sous ce modèle, le changement de sexe est attendu pour une taille où le succès reproducteur des deux sexes est identique : au-dessus de cette taille le succès reproducteur des femelles est plus important et en-dessous de cette taille, c'est le succès reproducteur des mâles qui est plus grand. Cette théorie a notamment été utilisée par Warner (1975), Warner *et al.* (1975), Charnov (1982) et Policansky (1981) pour prédire la taille au changement de sexe chez les hermaphrodites séquentiels.

Néanmoins, le moment et la taille de changement de sexe sont souvent liés à un changement dans la composition du groupe social auquel appartient l'individu (Charnov & Bull, 1989 ; Charnov & Dawson, 1989 ; Buston, 2003 ; Munoz & Warner, 2003 ; Munoz & Warner, 2004), suggérant que la sélection naturelle est à l'origine d'une flexibilité des stratégies de changement de sexe qui dépendent également du contexte social. Par exemple, Buston (2003) a montré que, chez les poissons clown, *Amphiprion percula*, la taille et le taux de croissance des individus s'ajustent en fonction de leur position hiérarchique dans le groupe. Cette position détermine le moment où ils changent de sexe. Les poissons clown

vivent dans des anémones, en groupes composés d'un couple reproducteur et de 0 à 4 individus non-reproducteurs. Lorsqu'une femelle meurt, le mâle reproducteur se transforme en femelle reproductrice tandis qu'un des individus non reproducteurs se transforme en mâle reproducteur (Buston, 2003). Le maintien de différences de taille entre les dominants et les non-reproducteurs permet de résoudre les conflits évolutifs au sein du groupe.

Alors que de nombreuses études de contrôle social de changement de sexe chez les poissons ont révélé un large éventail de stratégies en réponse à l'environnement social local (Ross *et al.*, 1983 ; Warner & Swearer, 1991 ; Buston, 2003 ; Munoz & Warner, 2003), les règles gouvernant la réversion sexuelle chez les mollusques ont reçu moins d'attention (mais voir Hoagland, 1978 ; Wright, 1988 ; Collin, 1995 ; Warner *et al.*, 1996). Chez *C. fornicata*, il a été néanmoins mis en évidence que la réversion sexuelle est également sous l'influence de la composition du groupe auquel l'individu appartient (Coe, 1938) ; la durée de la phase mâle dépend notamment de la proximité de femelles. Ainsi, lorsqu'un juvénile arrive dans un habitat où ses conspécifiques sont absents, la transformation du morphe mâle vers le morphe femelle se fera quasiment dès que l'individu a atteint sa taille de maturité sexuelle (Wright, 1988). Hoagland (1978) a montré, par des expérimentations sur le terrain, que l'âge moyen et la taille de changement de sexe était 2 à 3 fois plus importants pour les mâles attachés à une femelle que pour les mâles isolés. De plus, lorsque expérimentalement, les femelles sont enlevées d'une chaîne, le mâle le plus à la base de la chaîne se transforme rapidement en femelle (Coe, 1938). Chaque chaîne de crépidule peut, ainsi, être vue comme un groupe reproducteur indépendant au sein duquel le changement de sexe peut avoir lieu en fonction de la sex-ratio locale, du nombre et de la taille des individus (Collin, 1995).

Afin de connaître la tendance générale des modalités de changement de sexe chez *C. fornicata* dans son aire d'introduction, j'ai choisi de m'intéresser, d'une part, à l'analyse de la sex-ratio et d'autre part, à la taille au changement de sexe dans les populations.

III.1.2 La sex-ratio dans les populations de *C. fornicata*

Les données de sex-ratio obtenues dans les populations de la baie du Mont-St-michel (cf paragraphe II.1), dans la population Mx2 (cf paragraphe II.2) et dans trois populations de la Rade de Brest (cf paragraphe III.2), ont été interprétées en regard de deux études mentionnant des données de sex-ratio dans des population naturelles de l'aire native de *C. fornicata* :

Tableau III.1 Sex-ratio (exprimée en pourcentage de mâles) et taille relative de changement de sexe dans des populations introduites de *C. fornicata* de la baie du Mont St-Michel (Baie et Golfe), de Morlaix (Mx2) et de la rade de Brest (Kéraliou, Roscanvel et Rozégat). La population Mx2 a été échantillonnée deux années de suite (Années 1 et 2). La valeur de probabilité des tests binomiaux utilisés pour comparer la sex-ratio observée avec une sex-ratio théorique de 1 :1 ($P_{1:1}$) et à une sex-ratio de 0,67 : 1 ($P_{0,67:1}$) sont indiqués. Apparaissent également dans le tableau : la taille à laquelle 50% des individus sont femelles (L_{50}), la taille maximale observée dans la population (L_{max}) et la taille relative au changement de sexe (L_{50}/L_{max}).

Population	Saison	N	Mâle	$P_{1:1}$	$P_{0,67:1}$	L_{50} (cm)	L_{max} (cm)	L_{50}/L_{max} (%)
Baie	Printemps	844	61 %	<0,001	0,365	8,0	10,8	74 %
Golfe	Printemps	1974	72 %	<0,001	<0,001	6,2	9,6	65 %
	Automne 1	251	56 %	0,040	0,090	8,0	10,9	73 %
Mx2	Hiver 1	353	52 %	0,288	0,001	7,6	10,0	76 %
	Printemps 1	163	52 %	0,375	0,015	7,6	10,3	74 %
	Automne 2	492	59 %	<0,001	0,348	9,4	11,9	79 %
	Hiver 2	274	54 %	0,117	0,032	9,3	12,3	76 %
	Printemps 2	408	61 %	<0,001	0,484	8,0	10,7	75 %
Kéraliou	Printemps	87	57 %	0,115	0,284	9,4	12,1	78 %
Roscanvel	Printemps	86	51 %	0,488	0,029	9,6	11,9	81 %
Rozégat	Printemps	112	59 %	<0,001	0,405	9,1	11,2	81 %

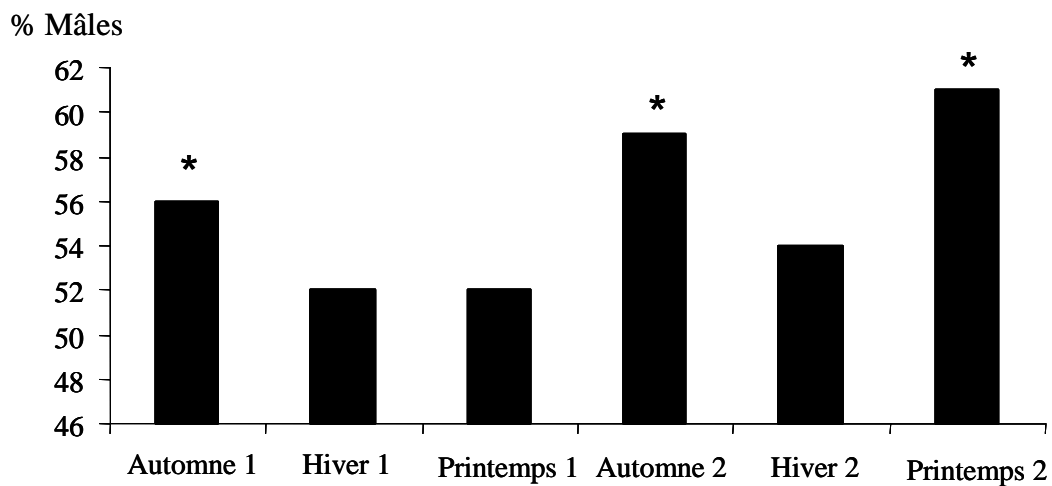


Figure III.1 Evolution saisonnière du pourcentage de mâles dans la population Mx2 de la baie de Morlaix (Années 1 et 2 de suivi). Les étoiles indiquent les saisons au cours desquelles la sex-ratio est significativement biaisée en faveur des mâles.

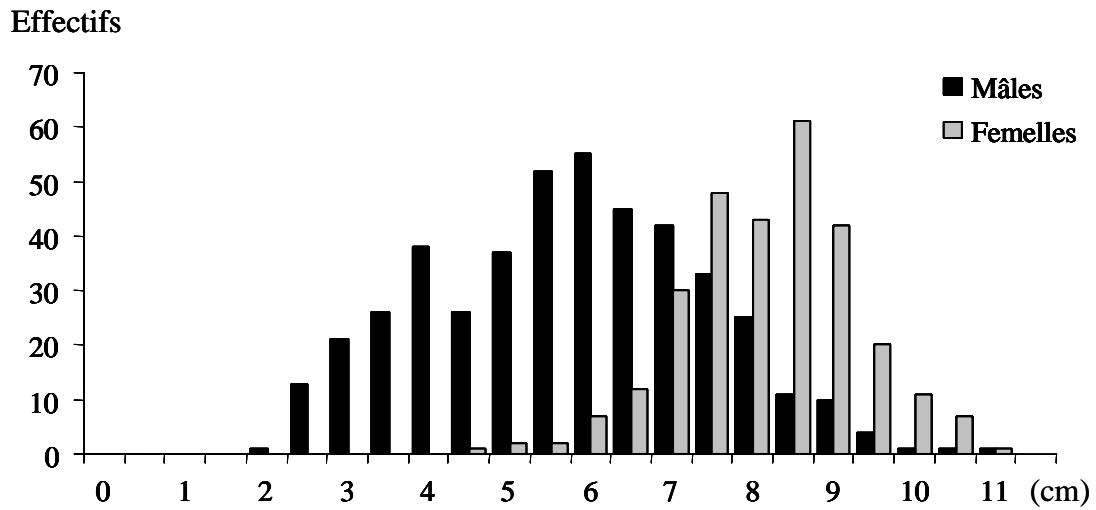
- Wilczynski (1955), a déterminé les valeurs moyennes suivantes : 54,6% de mâles, 6% d'individus en transition et 39,1% de femelles dans une population de Woods Hole (aire native, USA). Il souligne que ces pourcentages varient en fonction de facteurs externes (saisonnalité, densité, génétique) et avec l'âge de la population. D'après cet auteur, un fort pourcentage de femelles est le signe d'une population vieillissante et, à l'inverse, un fort pourcentage de mâles, le signe d'une population en pleine croissance. Lorsque la population présente un bon recrutement annuel, elle comporterait en moyenne 40% de femelles pour 60% de mâles (ratio femelle : mâle de 0,67 : 1 ; Wilczynski, 1955).

- Hoagland (1978) signale que la sex-ratio évolue au cours de l'année, avec un plus fort pourcentage de mâles au printemps, quand les nouveaux mâles rentrent dans la population, et en automne (sexualisation des premiers-nés de l'année).

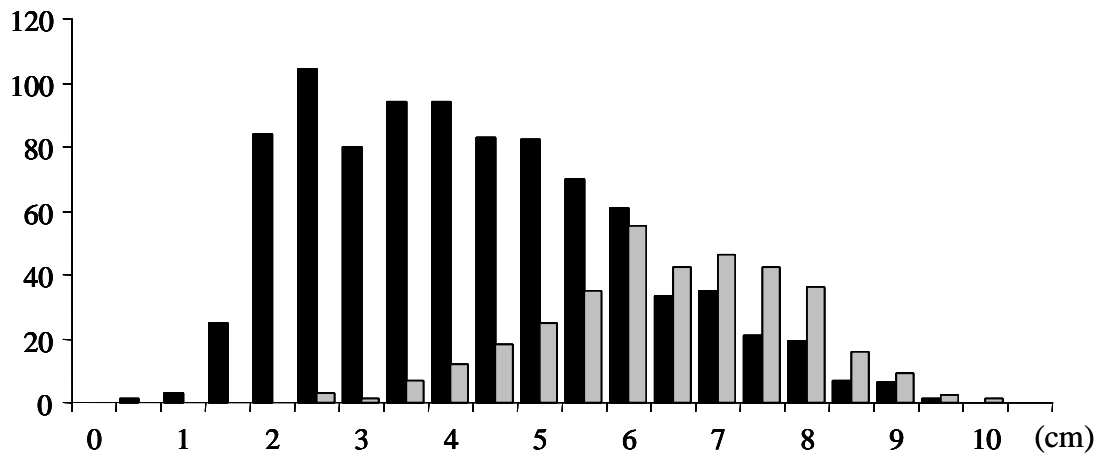
La sex-ratio des populations françaises que j'ai étudiée a été comparée à une sex-ratio de 0,67 : 1 à l'aide de d'un test binomial d'après Wilson & Hardy, p.54 (2002). Par ailleurs, l'échantillonnage temporel effectué en baie de Morlaix a permis de comparer l'évolution de la sex-ratio dans une population introduite avec les résultats de Hoagland (1978), obtenus dans des populations de l'aire d'origine.

La sex-ratio est biaisée en faveur des mâles dans la majorité des populations étudiées (Tableau III.1) ce qui confirme les données généralement observées dans les populations naturelles de *C. fornicata* (Wilczynski, 1955 ; Wilczynski, 1958 ; Coum, 1979 ; Le Gall, 1980). Une telle constatation a été faite chez presque tous les hermaphrodites protandres. En effet, d'après une revue de Charnov (1982), les mâles composent 50% à 75% des adultes reproducteurs d'une population chez les hermaphrodites protandres. Chez les espèces gonochoriques, la sélection favorise une sex-ratio globale de 1 : 1 dans le but d'égaliser la contribution des deux sexes à la descendance (Fisher, 1930). En revanche, chez les hermaphrodites séquentiels, la sélection favorise le changement de sexe des individus à un âge optimal qui maximisera leur potentiel reproducteur (Warner, 1975). Sous l'hypothèse que le succès reproducteur mâle est corrélé à la taille, bien que le gain soit moins important que sur la fonction femelle, on attend un biais de la sex-ratio en faveur des mâles chez les organismes protandres (Charnov, 1982). D'autres facteurs tels que la saisonnalité, la densité, des paramètres physiologiques ou encore des caractéristiques génétiques peuvent néanmoins expliquer ce biais.

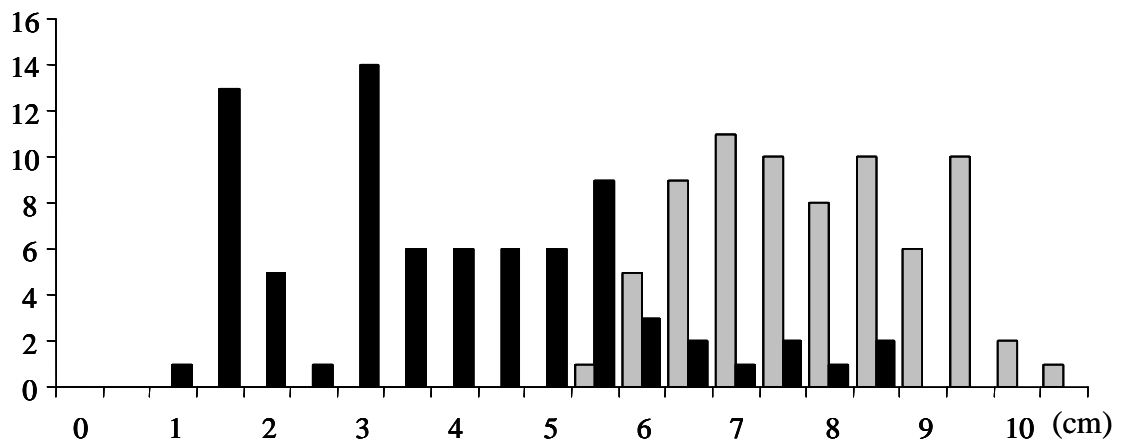
En baie du Mont-St-Michel, la population Baie présente une sex-ratio proche du ratio 0,67 : 1 généralement observé dans les populations naturelles de *C. fornicata* ayant un bon



A. Population Baie de la baie du Mont-St-Michel (Printemps)



B. Population Golfe de la baie du Mont-St-Michel (Printemps)



C. Population Mx2 de la baie de Morlaix (Printemps)

Figure III.2- Distribution des fréquences de taille des mâles et des femelles dans trois populations de l'aire d'introduction françaises de *C. fornicata*

recrutement annuel. La population Golfe présente un nombre encore plus important de mâles. Comme nous l'avons vu dans le chapitre II, la différence de sex-ratio entre les deux populations rend compte d'un recrutement particulièrement important dans la population Golfe. A l'opposé de cette situation, et à une même saison d'échantillonnage, la population Roscanvel de la rade de Brest, caractérisée par une absence de recrutement (cf paragraphe III.2), est celle qui présente le plus faible pourcentage de mâles. Comme cela a été indiqué par Wilczynski (1955), ce mauvais recrutement se traduit par une faible proportion de mâles dans la population. Le Gall (1980), a fait un constat similaire, en remarquant une forte augmentation de la proportion de femelles qui passe de 39,6% à 68,3% en l'espace de 6 ans dans une population de Luc-sur-Mer (Calvados), changement corrélé à un arrêt de recrutement dans la population.

Le suivi temporel (deux années de suivi appelées 1 et 2) des populations de la Baie de Morlaix (Mx1 et Mx2 ; cf. partie II.2) a également permis de montrer l'effet de la saison sur la proportion de mâles dans la population et ainsi, indirectement, l'effet du recrutement (Partie II et Figure III.1). La comparaison de la sex-ratio par rapport à une valeur théorique de 1 : 1 a notamment mis en évidence qu'en automne la sex-ratio s'écarte de l'équilibre théorique en faveur des mâles (un résultat obtenu dans les deux populations de la baie de Morlaix). Ce résultat rejoint celui de Hoagland (1978) et s'explique par l'entrée dans la population de nouveaux mâles sexualisés dans l'année. En hiver, la sex-ratio s'équilibre à nouveau. Un excès de mâles est observé au printemps 2 (et au printemps 1 de la population Mx1) signalant à nouveau une entrée de mâles dans la population.

Ces données confirment donc que la sex-ratio est étroitement corrélée au recrutement dans les populations de *C. fornicata*, y compris dans son aire d'introduction. Le recrutement apparaît comme un des facteurs déterminant le changement de sexe dans les populations de cette espèce. Dans un deuxième temps, j'ai donc cherché à identifier si la relation entre le taux de recrutement et la sex-ratio se traduit effectivement par une variation de la taille moyenne de changement de sexe selon les populations.

III.1.3 La taille de changement de sexe dans les populations de *C. fornicata*

Les études de distribution de taille, en fonction des morphes mâles et femelles, dans les populations de la Baie du Mont-St-Michel et de la Baie de Morlaix, présentées dans le

ENCADRE III.1 : Les paramètres du modèle d'allocation des ressources

La théorie d'allocation des ressources entre les fonctions sexuelles permet de prédire l'âge et la taille à laquelle les individus devraient changer de sexe à partir du jeu de paramètres décrit ci-dessous :

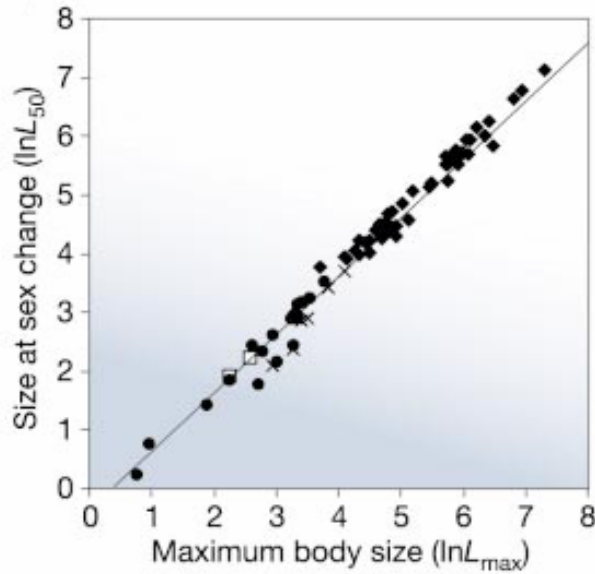
- k , le taux de croissance (coefficient du modèle de croissance de Bertalanffy)
- m , le taux de mortalité instantané des adultes
- α , l'âge de première reproduction
- δ , le coefficient reliant la fertilité mâle à la taille (la fertilité mâle est proportionnelle à L^δ , L étant la taille)

D'après ce modèle d'allocation, les populations/espèces présentant les mêmes valeurs de k/m , αm et δ sont censées:

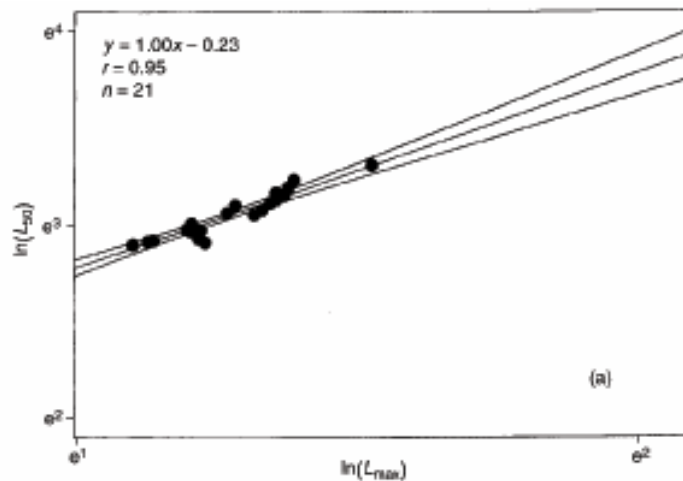
- (1) avoir la même taille au changement de sexe par rapport à la taille maximale (L_{50}/L_{\max})
- (2) avoir le même âge au changement de sexe/à l'âge de première reproduction (τ/α)
- (3) avoir la même sex-ratio efficace, défini comme la proportion de reproducteurs de sexe mâle

Plusieurs études ont montré que k/m et $\alpha \cdot m$ peuvent être invariant au sein et même entre taxons (références dans Allsop & West, 2003b). Par conséquent, pour un δ donné, on s'attend à une taille relative au changement de sexe également invariante.

D'après Allsop & West (2003a & 2003b) et Charnov & Skuladottir (2000)



A.



B.

Figure III.3- Taille au changement de sexe en fonction de la taille maximale

A. $\ln L_{50}$ versus $\ln L_{\max}$ au sein de 4 taxons du règne animal, figure issue de Allsop & West (2003a). Chaque signe représente un taxon différent : les astérisques, les échinodermes ; les cercles, les crustacés ; les losanges, les chordés et les croix, les mollusques. La taille relative de changement de sexe moyenne (L_{50}/L_{\max}) est 0,72 (IC 95% : 0,67-0,77), indiquant que les individus changent de sexe quand ils ont atteint 72% de leur taille maximale. La taille a été mesurée en millimètre avant la transformation logarithmique.

B. $\ln L_{50}$ versus $\ln L_{\max}$ au sein de 21 populations de la crevette *Pandalus borealis*, figure issue de Charnov & Skuladottir (2000). La taille relative au changement de sexe moyenne est 0,80. La taille correspond à la longueur de la carapace.

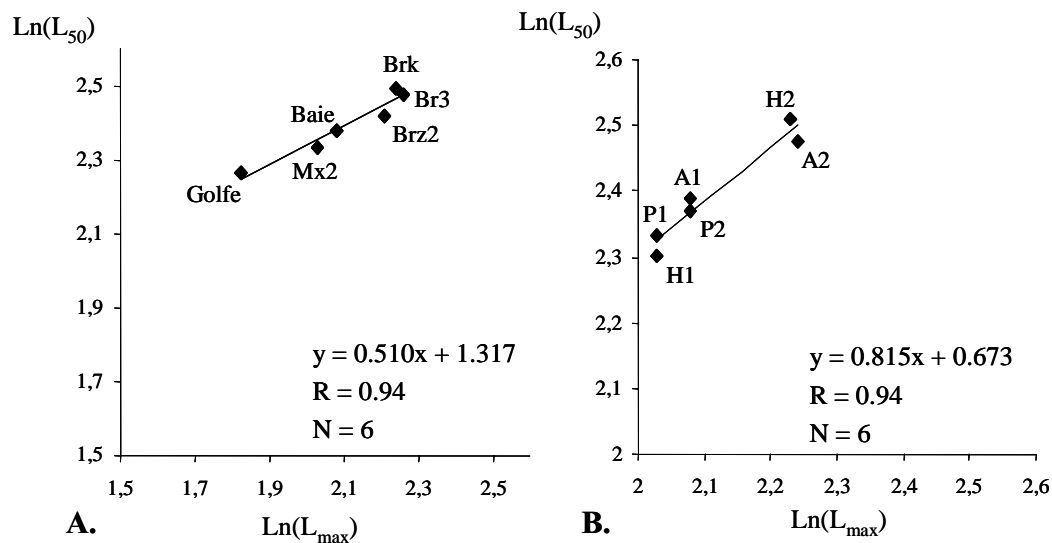


Figure III.4- Taille au changement de sexe en fonction de la taille maximale dans les populations étudiées de *C. fornicata*. La taille correspond à la longueur curviligne de la coquille mesurée en centimètres.

A. $\ln L_{50}$ versus $\ln L_{\max}$ dans les 6 populations du golfe Normano-Breton (Baie et Golfe), de la baie de Morlaix (Mx2) et de la rade de Brest [Kérialiou (Brk), Roscanvel (Br3) et Rozégat (Brz2)] échantillonnées au printemps.

B. $\ln L_{50}$ versus $\ln L_{\max}$ dans la population Mx2 échantillonnées deux années de suite en automne (A1 et A2), en hiver (H1 et H2) et au printemps (P1 et P2).

chapitre II, ont mis en évidence un chevauchement considérable des distributions de taille des mâles et des femelles (Figure III.2). Un tel chevauchement montre qu'il existe une variation considérable de la taille de changement de sexe chez les individus et va donc à l'encontre de l'hypothèse d'une taille optimale de changement de sexe, identique pour tous (Wright, 1989 ; Soong & Chen, 1991 ; Collin, 1995). De plus, il semblerait que tous les individus ne changent pas de sexe. En effet, dans les deux populations de la baie du Mont-St-Michel, un nombre important de vieux individus mâles a été observé (par exemple, 30% des individus de la dernière cohorte de la population Baie).

D'après le modèle d'allocation du sexe (dont les paramètres sont décrits dans l'encadré III.1), la taille au changement de sexe, par rapport à la taille maximale dans la population devrait être invariante dans les populations et/ou les espèces. Cette prédiction a été confirmée à l'échelle inter-spécifique par une étude de Allsop & West (2003) qui ont montré que la taille relative au changement de sexe était étonnamment constante parmi le règne animal (les groupes étudiés étaient les poissons, les échinodermes, les crustacés, les mollusques et les polychètes). 91 à 97 % de la variation de taille de changement de sexe entre les espèces s'expliqueraient par une règle simple : les individus changent de sexe quand ils ont atteints 72% de leur taille maximale (Figure III.3A). De la même manière, au niveau intra-spécifique, Charnov & Skuladottir (2000) ont montré, en étudiant 21 populations de la crevette hermaphrodite protandre *Pandalus borealis*, que les individus changeaient de sexe à une proportion constante de leur taille maximale (80% ; Figure III.3B)

Ainsi, bien que la taille de changement de sexe soit, sans doute, très variable selon les individus chez *C. fornicata*, il est intéressant de connaître la tendance globale dans les différentes populations. La taille de changement de sexe (L_{50} = taille à laquelle 50% des individus sont femelles) a été calculée dans les populations Baie et Golfe (paragraphe II.1), Mx2 (paragraphe II.2) et dans trois populations de la Rade de Brest (paragraphe III.2). La taille maximale observée dans la population (L_{max}) est utilisée pour calculer la taille relative au changement de sexe (L_{50}/L_{max}). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau III.1 et dans la figure III.4. La taille relative de changement de sexe calculée dans les populations s'échelonne de 65% à 81%. La figure III.4 montre que la corrélation est presque parfaite entre L_{50} et L_{max} (test de corrélation de Spearman entre L_{50} et L_{max} , $r = 0,94$, $P < 0,001$). L'examen des valeurs saisonnières dans la population de Morlaix (Mx2) conduit aux mêmes conclusions. Ainsi, les crépidules changent de sexe, en moyenne, lorsqu'elles ont atteint 75 % ($\pm 6\%$) de

leur taille maximale, une valeur très proche des 72% calculés sur 77 espèces par Allsop & West (2003).

La valeur la plus faible est observée dans la population Golfe où un recrutement intense et une sex-ratio fortement biaisée en faveur des mâles ont été mis en évidence (paragraphe II.1). Il semblerait qu'en moyenne, les individus changent de sexe plus tôt dans cette population où un apport important de mâles se fait chaque année. Le changement précoce de sexe permet ainsi d'équilibrer la sex-ratio. D'après la théorie d'allocation des ressources (Encadré III.1), les différentes hypothèses pour expliquer cette différence de taille relative au changement de sexe découlent d'une variabilité entre les populations : (i) de la relation entre l'âge de première reproduction et le taux de mortalité ($\alpha \cdot m$), (ii) du rapport entre le taux de croissance et le taux de mortalité ou encore (iii) de la relation entre le taux de fertilité mâle et la taille (δ).

III.1.4 Conclusion

Cette première partie a permis de montrer, d'une part, qu'à l'échelle de la population la sex-ratio est ajustée en fonction de l'arrivée de jeunes mâles dans la population et, d'autre part, que la taille relative au changement de sexe est relativement invariante dans les populations bien qu'elle semble être influencée par la sex-ratio locale. Ces résultats n'ont été obtenus qu'à l'échelle de la population ; afin d'affiner cette étude il aurait été intéressant de réaliser une étude de la sex-ratio au sein de chaque chaîne de crépidule, en intégrant dans l'analyse la taille des individus.

Dans la deuxième partie de ce chapitre, une étude des individus d'une même chaîne, de taille et de sexe connus, va permettre de clarifier les modalités de la reproduction au sein d'une chaîne donnée.

III.2 ANALYSES DE PATERNITE CHEZ *CREPIDULA FORNICATA*

III.2.1 Introduction

Nous avons rappelé dans le premier paragraphe de ce chapitre que, chez une espèce longévive telle que *C. fornicata*, la capacité à changer de sexe permet aux individus de maximiser leur potentiel reproducteur en jouant sur le moment auquel se fera la réversion sexuelle (Warner, 1975 ; Charnov, 1982). Les variations des conditions démographiques locales modifient cependant l'allocation des ressources entre les fonctions sexuelles en réponse à des situations sociales (i.e. détermination environnementale du sexe *sensu lato*, e.g. Charnov & Dawson, 1989). En particulier, l'avantage d'être mâle ou femelle pour un individu dépend de sa taille (son âge) par rapport à celle (celui) des autres individus, dans un groupe reproducteur local.

Dans leur étude sur des poissons protogynes, Munoz & Warner (2003) ont mis en lumière un autre paramètre pouvant réguler la réversion sexuelle. Ils ont montré que la compétition spermatique (liée à de multiples accouplements au cours d'une saison reproductrice avec des mâles différents) pouvait retarder le changement de sexe, car une intense compétition peut diminuer le succès reproducteur attendu chez les mâles.

Chez de nombreuses espèces, la fréquence des accouplements est difficile à observer directement dans la nature. De plus, la copulation peut ne pas se traduire efficacement en terme de descendants. Les comportements reproducteurs peuvent toutefois être déduits d'informations moléculaires sur la paternité (Avisé, 1994 p. 168 ; Keane *et al.*, 1997 ; Viard *et al.*, 1997a ; Knight *et al.*, 1998 ; Baker *et al.*, 1999 ; Boudry *et al.*, 2002 ; Kraaijeveld-Smit *et al.*, 2002 ; Angeloni *et al.*, 2003 ; Hoffman *et al.*, 2003). Parmi les nombreuses hypothèses expliquant pourquoi les femelles devraient s'accoupler avec plusieurs mâles (revue dans Chen & Baur, 1993 ; Olsson & Shine, 1997), l'hypothèse d'un avantage génétique est de plus en plus documentée. Des accouplements multiples, avec différents partenaires, peuvent être à l'origine de paternités multiples et ainsi, augmenter la variabilité génétique au sein d'une ponte (Chen & Baur, 1993 ; Tregenza & Wedell, 2000). Dans certains cas d'accouplements multiples, une compétition spermatique peut avoir lieu pour éviter le coût de la consanguinité (Charlesworth & Charlesworth, 1987). Sous cette dernière hypothèse, on s'attend à ce que les

descendants soient issus de croisements avec des mâles génétiquement différents des femelles qu'ils ont fertilisées.

Les accouplements multiples et le stockage de sperme, à l'origine de la compétition spermatique, ont été documentés chez de nombreuses espèces de mollusques (e.g. Baur, 1998) mais chez très peu d'espèces protandres, excepté *Crepidula fornicata*. Chez la crépidule, Hoagland (1978) a signalé la possibilité de paternités multiples et de stockage de sperme à partir d'observations de copulations multiples, dans un intervalle de temps limité, chez une femelle. Plus récemment, en se basant sur une simple procédure d'exclusion de paternité, effectuée à l'aide de données enzymatiques, Gaffney & McGee (1992) ont mis en évidence la possibilité de paternité multiple dans une population échantillonnée dans l'aire native (Delaware, Etats-Unis). Cependant, la faible puissance des marqueurs enzymatiques utilisés n'a pas permis de connaître la fréquence de ces paternités multiples dans la population.

Afin d'étudier le comportement reproducteur de *C. fornicata*, j'ai donc choisi de réaliser des analyses de paternité à l'aide de marqueurs microsatellites, marqueurs particulièrement adéquats pour ce type d'analyse en raison de leur fort polymorphisme (Jarne & Lagoda, 1996). De plus, basés sur une technique de PCR, ils permettent de travailler sur des larves. Les questions sur lesquelles j'ai choisi de me pencher sont :

- où se trouvent les pères (à l'intérieur ou à l'extérieur de la chaîne) ?
- quel est l'apparentement entre la mère et le(s) père(s) ?
- quelle est la fréquence des paternités multiples dans les populations ?
- un accouplement réussi est-il un facteur déclencheur du changement de sexe ?

Ces analyses ont été conduites en regard des caractéristiques de l'individu (taille, sexe, date d'échantillonnage et position dans la chaîne) et des populations (densité, recrutement, sex-ratio).

Ce travail a bénéficié d'une collaboration avec J. Richard (doctorat sous la direction d'Y.-M. Paulet et G. Thouzeau) de l'Université de Bretagne Occidentale, qui a permis la collecte des individus et l'obtention des larves en aquarium.

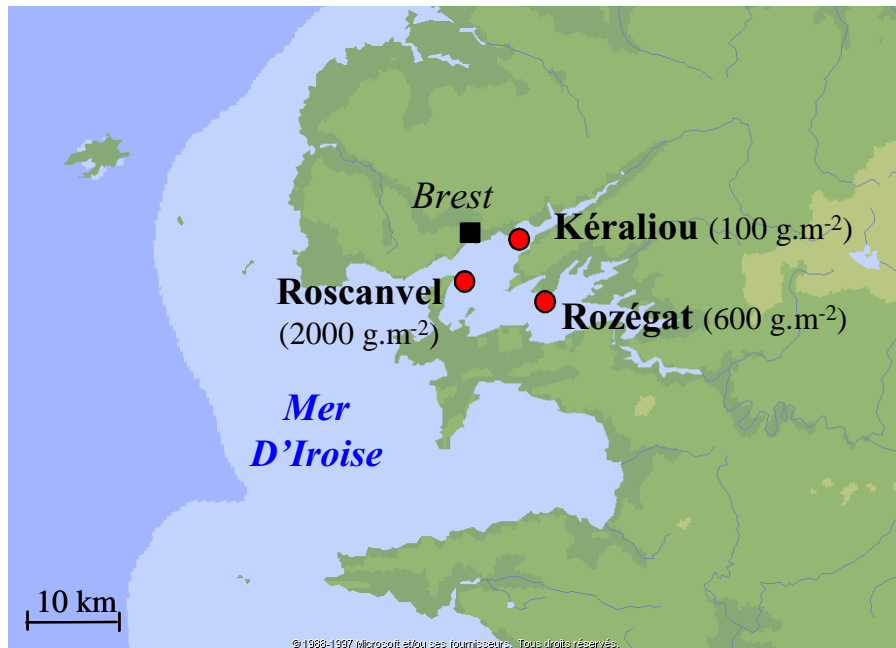


Figure III.5- Carte d'échantillonnage des populations de la rade de Brest au sein desquelles ont été réalisées des analyses de paternité. Les valeurs de densité de *C. fornicata* dans ces 3 populations sont indiquées entre parenthèses.

III.2.2 Matériel et méthodes

III.2.2.1 Echantillonnage des adultes et des larves

L'échantillonnage des adultes de *C. fornicata* a été réalisé par dragage au cours de la saison de reproduction, en juin 2003, dans trois populations de la rade de Brest (Figure III.5). En 1995, *C. fornicata* couvrait 61% du sédiment benthique de cette rade, soit l'équivalent d'une biomasse de 18500 tonnes (Chauvaud, 1998). Les trois populations, séparées par moins de 10 Km (Figure III.2), ont différentes densités (L. Guérin, données non publiées). Les populations de Kéraliou (48°22'328 N, 04°25'694 W), Rozégat (48°19'300 N, 04°31'700 W) et Roscanvel (48°19'810 N, 04°30'700 W) sont caractérisées respectivement par des densités de 100 g.m⁻², 600 g.m⁻² et 2000 g.m⁻². Ces populations ont été présentées dans le chapitre I, sous les appellations BrK (Kéraliou), Brz2 (Rozégat) et Br3 (Roscanvel).

Respectivement 11, 16 et 15 chaînes (soit 87, 112 et 86 adultes) ont été échantillonnées dans les populations de Kéraliou, Rozégat et Roscanvel. Le jour de l'échantillonnage, 5, 7 et 6 chaînes ont été démantelées et les femelles ovigères situées à la base de chacune des 18 chaînes ont été placées dans des récipients individuels contenant de l'eau de mer filtrée et renouvelée en continu. Les femelles sont restées dans ces récipients jusqu'à ce que les larves soient expulsées. Tous les autres individus de ces chaînes ont été conservés dans de l'alcool à 96°. Seules les femelles à la base des chaînes ont été sélectionnées pour cette analyse car des expérimentations préliminaires avaient mis en évidence un arrêt de la maturation des œufs lorsque d'autres femelles de la chaîne étaient utilisées. Après 31 jours, les 18 femelles et un échantillon de 239 larves étaient fixés dans de l'alcool en vue d'analyses génétique.

Pour chaque adulte, le morphe sexuel, la taille (la longueur curviligne) et la position dans la chaîne (numérotée depuis la base vers le sommet de la chaîne principal avec un code particulier pour les individus appartenant à une chaîne secondaire) ont été relevés.

III.2.2.2 Structure sexuelle et analyse de cohorte dans les populations

La proportion des différents morphes sexuels, le pourcentage de femelles ovigères et la sex-ratio (comparée à une sex-ratio de 1 : 1 par un test binomial) ont été calculés pour chaque population.

Une analyse de cohorte (cf. la partie II.1 pour le détail de la méthode) a été réalisée dans chaque population afin d'obtenir une indication sur la taille relative des mères et des pères potentiels par rapport à la population totale.

ENCADRE III.2 : Méthode de maximum de vraisemblance pour des analyses de paternité

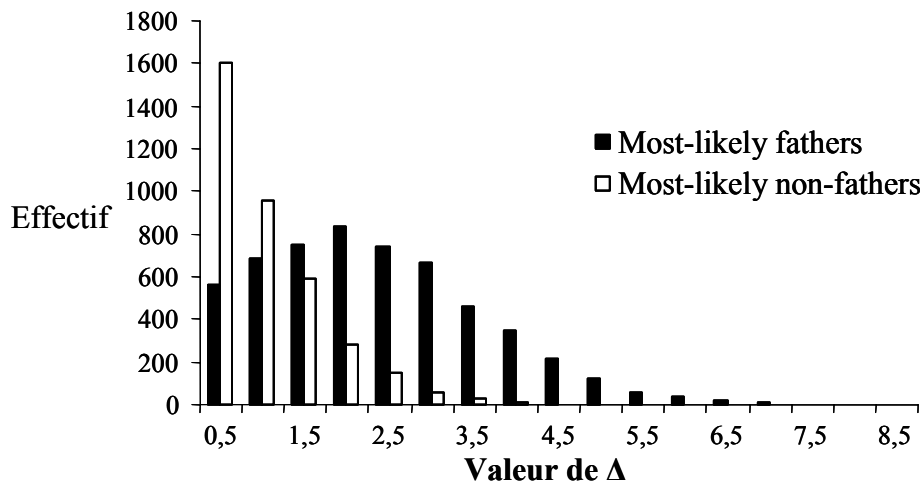
(développée dans le logiciel CERVUS ; Marshall *et al.*, 1998)

La philosophie des analyses de vraisemblance est de prendre les données comme point de départ et d'évaluer des hypothèses en fonction de ces données. Dans le contexte des analyses de paternité, les données sont les génotypes des descendants, de la mère et des pères candidats. Pour chaque père candidat, les hypothèses alternatives sont (1) le père candidat est le vrai père et (2) le père candidat n'est pas le vrai père. Le père le plus vraisemblable est désigné à partir de son « LOD score » (i.e. logarithme népérien du coefficient de vraisemblance). La différence entre les « LOD score » des deux pères les plus vraisemblables (ou Δ) sera d'autant plus forte que le père le plus vraisemblable est le vrai père.

La méthode développée par Marshall *et al.* (1998) offre en outre la possibilité d'associer un test statistique à ces assignations de paternité. Le logiciel CERVUS réalise en effet une simulation d'analyse de paternité en se basant sur les fréquences alléliques observées dans la population (les adultes). Pour chaque test de paternité simulé, le logiciel réalise les étapes suivantes :

- (1) il génère un génotype maternel et paternel, puis des génotypes de descendants de ce couple. Il génère également des génotypes de pères candidats non apparentés.
- (2) il calcule le « LOD score » de chaque père candidat et du vrai père
- (3) il trouve les deux pères les plus vraisemblables et calcule la différence de leur « LOD score » (Δ)

Enfin, à partir de ces simulations, le logiciel calcule la distribution des « LOD score » pour les individus qui étaient effectivement pères (« Most-likely fathers ») et pour les individus qui ne l'étaient pas (« Most-likely non-fathers »).



Histogramme des valeurs de Δ générées par simulation à partir d'un jeu de données d'une population de cerfs de l'île de Rum (Marshall *et al.* 1998)

En noir, le nombre de cas où le mâle le plus vraisemblable est bien le vrai père ; en blanc, le nombre de cas où le mâle plus vraisemblable n'est pas le vrai père.

La comparaison des deux distributions permet de définir une valeur minimum de Δ au-delà de laquelle le père potentiel pour lequel on a trouvé cette valeur peut être considéré comme le vrai père à 80% ou à 95%.

La taille des mâles et des femelles a été comparée au sein des populations à l'aide de tests-t de Student. Les valeurs de taille moyenne ont été comparées entre populations à l'aide d'analyses de variance réalisées avec le logiciel JMP®5.0.1a.

III.2.2.3 Génotypage des larves

L'ADN des larves a été extrait, de la même manière que pour les adultes, à l'aide du kit Nucleospin® Multi-96 Tissu Kit (MACHEREY-NAGEL). Au total 239 larves et 285 adultes ont été génotypés à 5 locus : CfCA2, CfCA4, CfCATGT, CfGT14 et CfH7. La seule modification apportée à l'amplification d'ADN de larves par rapport à celui des adultes est une phase de pré-amplification, avec les mêmes conditions de PCR, mais sans l'amorce marquée, avant la phase d'amplification finale. Afin d'éviter les erreurs de lecture de gel, chaque larve a été génotypée deux fois.

III.2.2.4 Analyses de paternité et d'apparentement

Une analyse de paternité a été effectuée pour (1) exclure les individus des chaînes maternelles qui ne sont pas les pères et (2) assigner sans ambiguïté les pères de la chaîne maternelle à une certaine proportion de larves.

Sur tout le jeu de données, une probabilité moyenne d'exclusion a été calculée pour chaque locus et sur l'ensemble des cinq locus en utilisant le logiciel d'analyse de paternité CERVUS V2.0 (Marshall *et al.*, 1998). Les analyses de paternité ont été réalisées à l'aide de la méthode de maximum de vraisemblance d'après Meagher (1986) et Marshall *et al.* (1998) avec le logiciel CERVUS, qui permet d'associer un test statistique à l'assignation par maximum de vraisemblance (voir encadré III.2).

Deux analyses successives ont été réalisées. La première avait pour but d'identifier les larves ayant pour père un mâle extérieur à la chaîne. Il s'agit là d'une procédure d'exclusion qui a été réalisée en considérant que seuls les individus de la chaîne étaient des pères potentiels. La deuxième analyse, réalisée en considérant que tous les individus de la population étaient des pères potentiels, a permis d'assigner sans ambiguïté des pères de la chaîne maternelle à une certaine proportion de larves. Cette stratégie avait pour but de limiter au maximum le risque d'accepter un mâle de la chaîne comme père, alors qu'il n'est pas le vrai père. Un seuil de confiance de 80% a été choisi pour ces analyses. La stratégie utilisée pour identifier les pères dans la chaîne, ainsi que les pères extérieurs à la chaîne est schématisée dans la figure III.5. Afin de mettre en évidence d'éventuels cas d'autofécondation, les deux types d'analyse ont été réalisés en ajoutant les mères aux pères candidats.

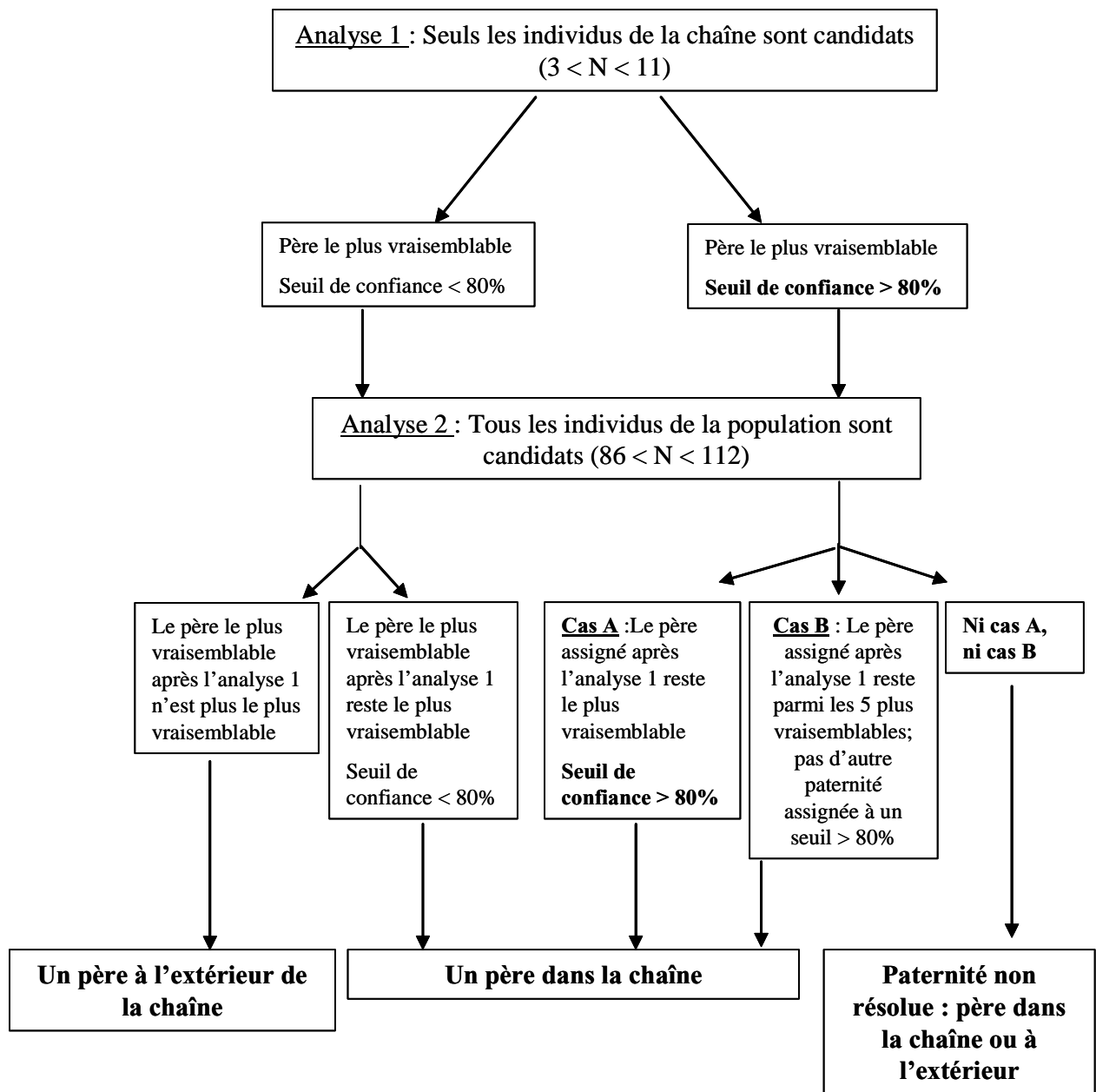


Figure III.6- Stratégie utilisée pour identifier les pères dans la chaîne et les pères extérieurs à la chaîne. Le père le plus vraisemblable correspond à l'individu ayant le LOD Score le plus élevé sur l'ensemble des pères potentiels. N correspond au nombre de pères candidats.

Pour tester l'hypothèse de reproduction préférentielle entre des individus génétiquement différents, un coefficient d'apparentement (R , Queller & Goodnight, 1989) a été calculé à l'aide du logiciel IDENTIX (Belkhir *et al.*, 2002). Des comparaisons de coefficient d'apparentement moyen entre la mère et les pères d'une part, et la mère et les non-pères d'autre part, ont été réalisées à l'aide de tests-t.

Afin de tester si le nombre de pères était significativement différent dans les trois populations un test de rang de Wilcoxon a été réalisé.

Afin de tester s'il existe une relation entre le nombre de pères et le nombre d'individus dans une chaîne donnée, un test non-paramétrique de corrélation a été réalisé en utilisant le logiciel JMP ® 5.0.1a.

Pour finir, la taille moyenne des pères assignés a été comparée à celles des mâles dans chaque population à l'aide de tests t de Student.

III.2.3 Résultats

III.2.3.1 Analyses de structure sexuelle et démographique dans les populations

Comme nous l'avons vu dans la première partie de ce chapitre, la sex-ratio est biaisée en faveur des mâles dans la population de Rozégat mais n'est pas statistiquement différente d'une sex-ratio de 1 : 1 dans les deux autres populations (Partie III.1, tableau III.1). Chaque population présente un faible pourcentage d'immaturs (1% à 8%) et un nombre important de femelles ovigères (Tableau III.2).

Les résultats des décompositions modales des histogrammes de fréquence de taille sont présentés dans le tableau III.2. Au sein des populations de Kéraliou et Rozégat, 4 modes ont été mis en évidence ($\chi^2 = 0,54$; ddl = 11 ; $P = 1,00$; et $\chi^2 = 0,54$; ddl = 8 ; $P = 1,00$; respectivement) alors que seulement 2 modes ont été observés dans la population de Roscanvel ($\chi^2 = 0,52$; ddl = 7 ; $P = 0,99$) avec une importante proportion de grands individus, indiquant l'absence de récent recrutement dans cette population.

Dans les trois populations, les mâles sont significativement plus petits que les femelles (test t, $P < 0,001$). La taille moyenne des femelles est significativement différente entre les trois populations (ANOVA, $P = 0,030$), en raison notamment d'une plus petite taille des femelles à Rozégat (Figure III.6). La taille moyenne des mâles est significativement différente dans les trois populations (ANOVA, $P < 0,001$) et augmente avec la densité.

Tableau III.2- Caractéristiques des populations étudiées. Pour chaque population de *C. fornicata* sont présentés dans le tableau : la densité, le nombre d'adultes étudiés, le nombre moyen d'individus par chaîne, le ratio femelle : mâle, le pourcentage de femelles ovigères dans l'échantillon et les résultats de l'analyse de décomposition modale effectuée à l'aide du logiciel MIX.

		Kéraliou	Rozégat	Roscanvel
Densité (g.m ⁻²)		100	600	2000
Nombre d'adultes		87	112	86
Nombre d'adultes par chaîne		8,64 ± 4,05	7,31 ± 1,86	6,86 ± 2,26
Sex-ratio		0,75:1	0,69:1	0,98:1
Femelles incubantes		81%	57%	77%
Analyse de cohorte	Nombre de cohortes	4	4	2
	Proportions	0,33 – 0,18 – 0,44 – 0,05	0,44 – 0,19 – 0,30 – 0,07	0,10 – 0,90
	Mode (cm)	3,40 – 6,36 – 8,86 – 11,25	4,52 – 7,02 – 9,12 – 10,76	6,58 – 9,32
	Ecart-type (cm)	1,29 – 0,67 – 1,24 – 0,79	1,36 – 0,65 – 0,61 – 0,52	0,51 – 1,02

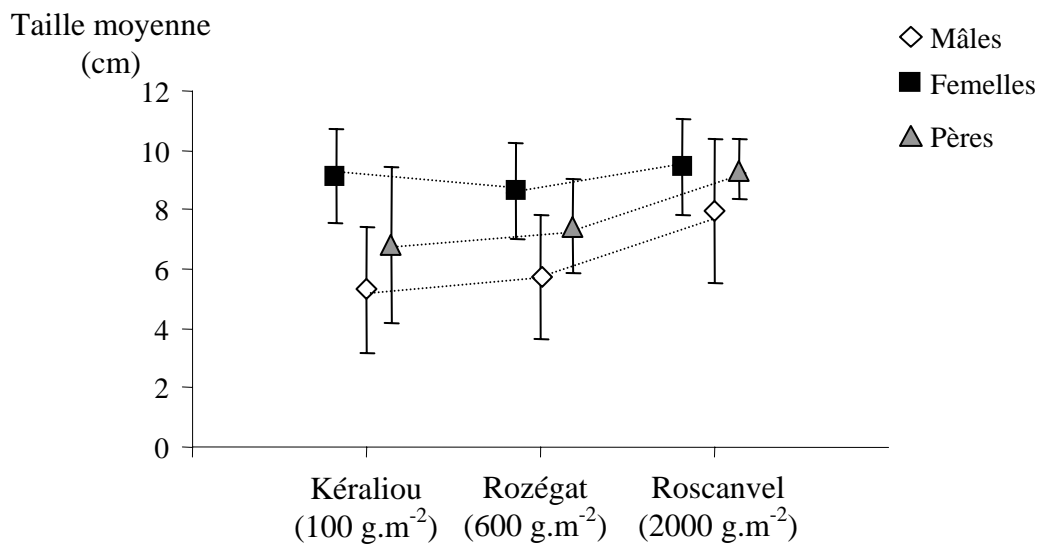


Figure III.7- Tailles moyennes des femelles (en noir), des mâles (en blanc) et des pères (en gris) avec les écarts-types indiqués par les barres d'erreur dans les trois populations classées par densité croissante.

III.2.3.2 Analyses de paternité et d'apparentement

La probabilité d'exclusion calculée sur les locus s'échelonne de 0,595 pour CfCA2 à 0,923 pour CfGT14. En raison de cet important polymorphisme, la probabilité d'exclusion multi-locus estimée sur les 285 individus adultes atteint 99,5%.

Les résultats des analyses de paternité sont présentés dans le tableau III.3 et synthétisés dans le tableau III.4 (les génotypes des larves, des mères et des individus des chaînes maternelles sont présentés dans l'annexe 9). 81%, 77% et 95% des larves ont été assignées sans ambiguïté à un père de la chaîne ou à un père extérieur à la chaîne. Parmi les larves assignées à un père de la chaîne, respectivement 75%, 64% et 64% des larves ont été assignées avec un seuil de confiance de 80% au terme de l'analyse 2 (cf. cas A, Figure III.6) dans les populations de Kéraliou, Rozégat et Roscanvel. Les cas de paternité multiple sont communs dans les pontes (Tableau III.4). Quatorze des 18 pontes analysées (78%) ont été fécondées par plus d'un mâle. Les paternités multiples semblent la règle à Rozégat où 100% des descendance présentent plusieurs pères (de 2 à 4). Le nombre moyen par population de père par ponte s'échelonne de 2 à 3. Le nombre de père par ponte n'est pas significativement différent selon les populations (test de rang de Wilcoxon, pondération par le nombre d'individus autres que la mère dans la chaîne, $P = 0,445$). Un maximum de 5 pères pour une ponte a été observé dans la population de Roscanvel. Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre les nombres d'individus dans la chaîne et le nombre de père par ponte (test de Spearman, $r = 0,080$, $P = 0,728$). Le pourcentage de paternité assignée à un père externe sur l'ensemble des paternités assignées s'échelonne de 1,4% à Roscanvel à 15,9% à Rozégat.

Sur l'ensemble de l'étude, soit l'assignation de 200 larves, la mère est apparue comme le père le plus vraisemblable dans 4 cas, tous dans la population de Rozégat. Pour l'une de ces 4 larves, la mère et la larve avaient un haplotype identique à un mâle de la chaîne déjà assigné comme père à d'autres larves de la ponte (coefficient d'apparentement élevé entre cet individu et la mère, $R = 0,305$), il est donc plus vraisemblable que cet individu soit le père. Dans les trois autres cas, la mère est apparue comme le père le plus vraisemblable mais cette assignation reposait sur 1 ou 2 « mismatch » (i.e. non-concordance entre les allèles de la descendance et ceux des parents), ce qui rend peu vraisemblable le fait que la mère soit le vrai père. Il est probable que le père réel n'ait pas été échantillonné.

L'apparentement moyen calculé entre toutes les paires d'individus, dans chacune des trois populations, est de -0,008, -0,010 et -0,009 à Rozégat, Kéraliou et Roscanvel respectivement. Ces trois valeurs ne sont pas statistiquement différentes. De même, on n'a noté aucune différence significative entre l'apparentement moyen entre la mère et les pères identifiés dans

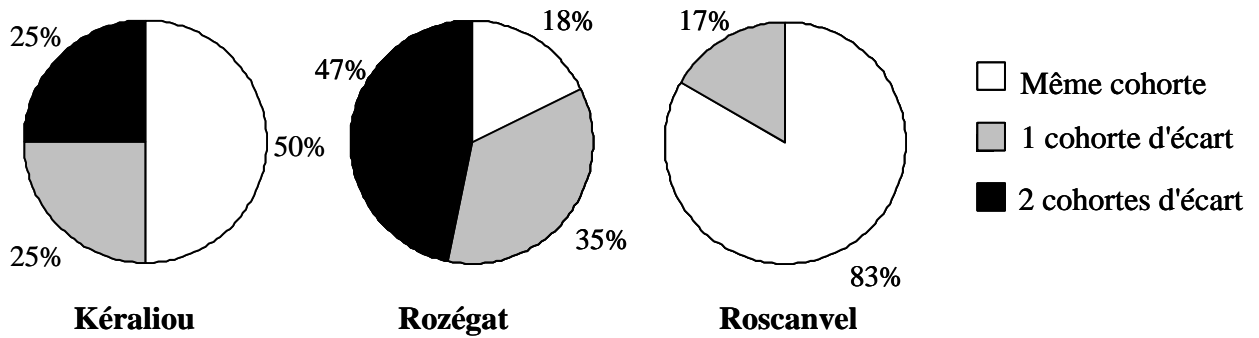


Figure III.8- Pourcentage d'évènements de reproduction entre individus de la même classe d'âge (blanc), séparés par 1 classe d'âge (hachuré) et séparés par 2 classes d'âge (noir). En général, les pères sont plus jeunes que les mères excepté un cas à Rozégat.

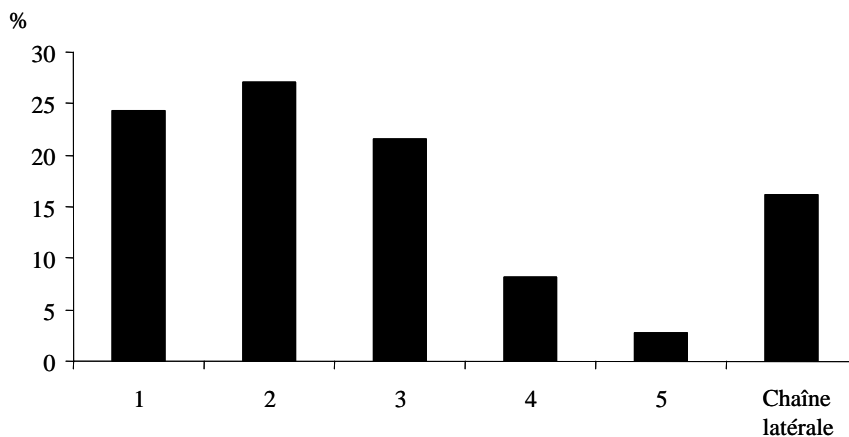


Figure III.9 Position des pères dans la chaîne maternelle. La position dans la chaîne principale est numérotée de 1 à 5 en partant de la base (0 étant la mère).

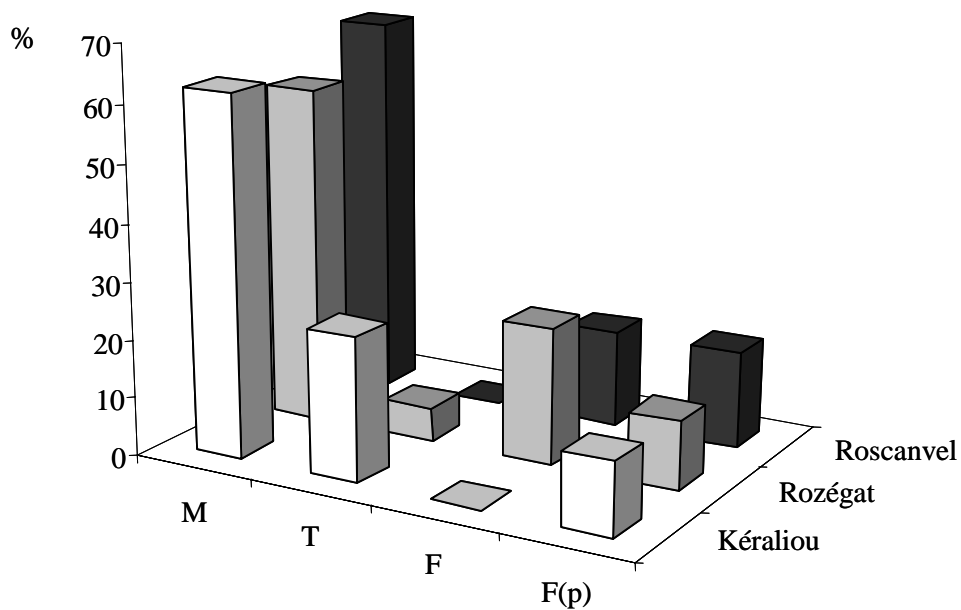


Figure III.10 Pourcentage des différents morphes sexuels parmi les individus identifiés comme étant des pères dans les chaînes maternelles M, mâles ; T ; individus en transition ; F, femelles et F(p), femelles avec des pontes).

Tableau III.3- Résultat des analyses de paternité réalisées par la méthode de maximum de vraisemblance dans les trois populations de la rade de Brest. Le nombre de pères potentiels dans la chaîne correspond au nombre d'individus dans la chaîne à l'exception de la mère. Le nombre total de pères (pères dans la chaîne et pères extérieurs) est un nombre minimum puisque évalué sur un sous-échantillon de 11 à 16 larves par ponte.

Population	Mères	Nombre de pères potentiels dans la chaîne	Nombre total de larves	Nombre de larves non assignées	Nombre de larves assignées à un père extérieur	Nombre de larves assignées à un père de la chaîne	Nombre de pères identifiés dans la chaîne	Nombre total de pères
Kéraliou	fK1	3	15	3	0	12	1	1
	fK3	11	11	3	1	7	1	2
	fK5	4	16	4	1	11	1	2
	fK9	5	15	0	0	15	2	2
	fK11	6	15	4	3	8	3	3
Total	5		72	14	5	53		
Rozégat	fZ1	8	14	1	0	13	3	3
	fZ2	3	16	6	2	8	2	3
	fZ3	6	12	5	1	6	3	4
	fZ4	5	11	1	1	9	2	3
	fZ8	9	12	1	0	11	4	4
	fZ9	9	13	6	6	1	1	2
	fZ12	6	12	1	1	10	2	3
Total	7		90	21	11	58		
Roscanvel	fR2	7	14	1	0	13	1	1
	fR3	5	15	0	0	15	1	1
	fR5	8	10	1	0	9	1	1
	fR8	3	11	0	0	11	3	3
	fR10	6	14	2	1	11	4	5
	fR11	5	13	0	0	13	2	2
Total	6		77	4	1	72		

Tableau III.4- Synthèse des analyses de paternité

Dans chaque population sont indiqués, le nombre de chaînes au sein desquelles la descendance d'une femelle a été analysée, le nombre moyen de larves par descendance analysée, le pourcentage de paternités non résolues sur l'ensemble des larves analysées, le pourcentage de larves assignées à un père de la chaîne et à un père extérieur, le pourcentage de descendance engendrées par plusieurs pères et le nombre moyen de pères identifiés par descendance (père extérieur et père dans la chaîne).

	Kéraliou	Rozégat	Roscanvel
Nombre de chaînes	5	7	6
Nombre de larves par ponte ($\pm \sigma$)	14,4 ($\pm 1,9$)	12,9 ($\pm 1,7$)	12,8 ($\pm 1,9$)
Paternité non résolue	19,4%	23,3%	5,2%
Paternité dans la chaîne	91,4%	84,1%	98,6%
Paternité à l'extérieur	8,6%	15,9%	1,4%
Paternité multiple	80%	100%	50%
Nombre de pères identifiés ($\pm \sigma$)	2,2 ($\pm 1,1$)	3,1 ($\pm 0,7$)	2,2 ($\pm 1,6$)

Tableau III.5 Caractéristiques des pères qui ont été identifiés dans les chaînes maternelles. Pour chaque père sont indiqués le pourcentage de larves ayant cet individu pour père, le sexe, la taille, la cohorte à laquelle il appartient, la position dans la chaîne : principale (numérotée de 1 à X- 0 étant la mère) ou latérale et le coefficient d'apparentement (*R*) calculé d'après Queller & Goodnight (1989). Pour chaque mère sont données la taille et, entre parenthèses, la cohorte à laquelle elle appartient.

Population	Mère	Père	% larves	Sexe	Taille (cm)	Cohorte	Position	<i>R</i>
Kéraliou	fK1 7,8 cm (3)	K1i3	100%	T	8,3	3	3	-0,475
	fK3 9,5 cm (3)	K3i9	100%	M	4,4	1	latérale	0,220
	fK5 10,6 cm (3)	K5i3	92%	M	2,4	1	latérale	0,200
	fK9 8,7 cm (3)	K9i2	53%	F(p)	6,8	2	2	-0,393
		K9i3	47%	M	5,8	2	3	-0,288
	fK11 11,1cm (3)	K11i1	63%	M	11,0	3	1	-0,299
		K11i3	12%	M	7,3	3	3	0,209
	K11i6	25%	T	8,4	3	latérale	-0,035	
Rozégat	fZ1 10,0 cm (3)	Z1i1	54%	T	10,9	4	1	0,006
		Z1i2	38%	F(p)	9,1	3	2	0,063
		Z1i8	8%	M	5,4	1	latérale	0,134
	fZ2 11,2 cm (4)	Z2i1	20%	F	6,9	2	1	0,392
		Z2i2	60%	M	6,1	2	2	-0,037
	fZ3 11,0 cm (4)	Z3i1	14%	F	8,9	3	1	0,054
		Z3i2	57%	M	7,1	2	2	0,175
		Z3i3	14%	F	7,5	2	3	0,125
	fZ4 9,6 cm (3)	Z4i4	80%	M	9,5	3	4	-0,162
		Z4i5	10%	F	6,2	1	latérale	-0,027
	fZ8 9,0 cm (3)	Z8i1	18%	M	7,2	2	1	0,410
		Z8i2	46%	M	7,5	2	2	-0,023
		Z8i3	27%	M	6,6	2	3	0,305
		Z8i4	9%	M	5,1	1	latérale	0,187
fZ9 10,3 cm (4)	Z9i2	14%	F(p)	8,5	3	2	-0,122	
fZ12 9,0 cm (3)	Z12i2	82%	M	8,4	3	1	0,326	
	Z12i3	9%	M	5,6	1	2	0,009	
Roscanvel	fR2 9,6 cm (2)	R2i1	100%	F	9,7	2	1	0,080
	fR3 9,7 cm (2)	R3i3	100%	M	8,9	2	3	0,458
	fR5 8,2 cm (2)	R5i2	100%	F(p)	10,3	2	2	-0,143
	fR8 9,1 cm (2)	R8i1	73%	F	11,4	2	1	0,167
		R8i2	18%	M	11,5	2	2	0,020
		R8i3	9%	M	9,3	2	3	0,193
	fR10 8,9 cm (2)	R10i1	17%	F(p)	9,8	2	1	-0,116
		R10i2	25%	M	9,2	2	2	-0,183
		R10i3	42%	M	10,0	2	3	-0,088
		R10i4	8%	M	8,7	2	4	0,102
	fR11 10,1 cm (2)	R11i4	23%	M	6,3	1	4	-0,097
R11i5		77%	M	6,5	1	5	-0,114	

la chaîne (respectivement -0,108, 0,107 et 0,023 dans les populations de Kéraliou, Rozégat et Roscanvel) et l'apparentement moyen entre la mère et les non-pères (test t ; $0,106 < P < 0,532$). A Rozégat, le degré d'apparentement moyen entre les mères et les pères est supérieur à l'apparentement moyen dans la population ($P = 0,026$) ; aucune différence significative n'a été montrée dans les deux autres populations (respectivement $P = 0,108$ et $P = 0,604$ à Kéraliou et Roscanvel).

III.2.3.3 Taille, position dans la chaîne et sexe des pères

Les caractéristiques des pères identifiés dans les chaînes maternelles sont présentées dans le tableau III.5. La taille moyenne des pères est significativement différente entre les trois population (ANOVA, $P = 0,010$), la figure III.7 montre que la taille moyenne des pères augmente avec la densité. Les pères identifiés dans les chaînes sont significativement plus grand que les mâles de la population à Rozégat au seuil de 5% (test t, $P = 0,002$) et dans les deux autres populations au seuil de 10% (test t, $P = 0,080$ pour les 2 populations).

La figure III.8 montre que des événements de reproduction ont lieu entre toutes les cohortes dans les populations de Kéraliou et de Rozégat, un résultat qui corrobore le scénario de colonisation présenté dans la partie II.1. Entre 18% à 50% des pères appartiennent néanmoins à la même classe d'âge que la femelle dans ces deux populations. En raison d'une absence de jeunes cohortes, quasiment tous les individus (83%) se reproduisent dans la même classe d'âge à Roscanvel. Chez la crépidule, la position dans la chaîne est généralement liée à l'âge des individus, les plus âgés se trouvant à la base et les plus jeunes au sommet. Bien que des mâles occupant toutes les positions dans la chaîne aient été identifiés comme des pères (Tableau III.5 et Figure III.9) une majorité des pères se trouvent parmi les individus les plus proches de la femelle. Respectivement 12,5%, 30% et 25% des pères identifiés dans la chaînes sont situés juste au-dessus de la femelle dans les populations de Kéraliou, Rozégat et Roscanvel (position 1). Toutes les fois où l'individu occupant cette position dans la chaîne n'a pas été identifié comme un père, il était de sexe femelle (au moment de l'échantillonnage). A Roscanvel un mâle séparé de la mère par 4 individus a réussi à la féconder. Trente-sept pourcent des pères appartiennent à une chaîne secondaire dans la population de Kéraliou et 18% à Rozégat ; ce sont en général les pères les plus petits (excepté K11i6, tableau III.5).

La figure III.10 montre que des individus identifiés comme des pères étaient, au moment de l'échantillonnage, des mâles en transition, des femelles ou encore des femelles avec ponte. De 59% à 67% des pères sont toujours mâles au moment de l'échantillonnage mais respectivement, 13% ; 35% et 33% se sont déjà transformés en femelles, certaines avec ponte,

au moment de l'échantillonnage dans les populations de Kéraliou, Rozégat et Roscanvel. Les individus qui ont changé de sexe sont généralement situés à la base de la chaîne principale ou d'une chaîne secondaire (Tableau III.5). La taille des individus qui sont restés mâles n'est pas significativement différente de la taille des individus qui ont changé de sexe (test t, respectivement $P = 0,430$; $P = 0,065$ et $P = 0,134$ dans les populations de Kéraliou, Rozégat et Roscanvel).

III.2.4 Discussion

Les locus microsatellites utilisés dans cette étude ont permis d'améliorer considérablement les analyses de paternité chez *Crepidula fornicata* par rapport aux méthodes allozymiques utilisées par Gaffney & McGee (1992). La valeur très élevée de probabilité d'exclusion des marqueurs (99,5%) a permis d'identifier les larves engendrées par des pères extérieurs à la chaîne (8,5%) et d'estimer les fréquences de multiple paternité chez *C. fornicata*. Cette étude a permis d'identifier en moyenne 2 à 3 pères sur un sous-échantillonnage de 11 à 16 larves par ponte avec un nombre maximum de 5 pères. Ces résultats ont permis de tester un certain nombre d'hypothèses au sujet du comportement reproducteur de *C. fornicata*, discutées dans les paragraphes suivant.

III.2.4.1 Le cas des petits mâles mobiles

Des études antérieures ont suggéré que des petits mâles mobiles pouvaient nager entre les chaînes et être à l'origine de la majorité des fertilisations (Coe, 1936 ; Coe, 1938 ; Wilczynski, 1955) alors que Collin (1995) a montré que le mouvement des petits mâles était peu fréquent. Dans l'étude de Gaffney & McGee (1992) une contribution paternelle par des individus non présents dans la chaîne a été suspectée. Cette étude montre clairement que la grande majorité des larves (92%) est engendrée par des individus de la chaîne se trouvant, la plupart des cas, parmi les trois individus situés au dessus de la femelle. Les pères des 8% restant peuvent être, soit des individus de la chaîne qui n'ont pas été prélevés (la pile a été cassée lors de l'échantillonnage à la drague), soit des mâles extérieurs qui sont rentrés en compétition avec les mâles de la chaîne pour la fécondation. Nous pouvons également remarquer que 16% des paternités au sein des chaînes ont été attribuées à des individus occupant une position latérale sur la chaîne. Le cas de ces individus est ambigu car ils sont

fixés à la chaîne mais ne sont pas intégrés à la structure hiérarchique de la pile. On ne peut donc pas exclure qu'ils soient capables de se déplacer et de changer de chaîne.

III.2.4.2 Quid de la compétition spermatique chez *C. fornicata* ?

L'existence d'une spermathèque chez *C. fornicata* a été mentionnée par différents auteurs (Hoagland, 1975 ; Le Gall, 1980) qui ont remarqué qu'un seul accouplement permettait la réalisation de plusieurs pontes successives au cours de l'année. Les analyses de paternité effectuées ici ont permis de mettre en évidence du stockage de sperme chez les femelles de *C. fornicata*. En effet, des contributions paternelles par des individus identifiés comme individu en transition, femelle et même femelle ovigère lors de l'échantillonnage ont été observées. Soit le sperme a été stocké chez la mère depuis la dernière période de reproduction, soit le changement de sexe et la fertilisation du père ont eu lieu lors de la même saison de reproduction. Coe (1938) a montré que la période de transformation sexuelle chez des individus isolés de *C. fornicata* dure 61 jours, mais peut être considérablement plus longue chez des mâles faisant partie d'une chaîne. Au sujet de la durée de vie embryonnaire, Chipperfield (1951) note que les premières larves pré-véligères apparaissent 14 jours après la fécondation et que l'expulsion des larves a généralement lieu au bout de 21-28 jours. Par conséquent, le temps nécessaire au changement de sexe, à la fertilisation et à la production de larves pré-véligères (stade supposé atteint par les œufs observés chez les pères) est au minimum de 75 jours, mais est sans doute plus long. Ainsi, la mère a stocké du sperme pendant une durée minimale de 54 jours avant qu'ait eu lieu la maturation des larves et l'expulsion (21 jours minimum). Sous l'hypothèse que le stockage de sperme est de courte durée, le changement de sexe serait donc rapide et aucune (ou alors très courte) période de latence en terme de reproduction n'aurait lieu après le changement de sexe.

Ce résultat souligne également qu'un individu peut avoir une descendance à la fois en tant que femelle et en tant que mâle au cours de la même saison de reproduction. Le succès reproducteur des individus est ainsi maximisé.

Lorsque des femelles stockent du sperme et se reproduisent avec plusieurs mâles au cours d'une période de reproduction, une compétition spermatique peut avoir lieu et être influencée par un certain nombre de facteurs tels que l'ordre dans lequel va se faire les inséminations, la taille des mâles et/ou la compatibilité génétique (Kraaijeveld-Smit *et al.*, 2002). Sur la base de nos résultats, obtenus sur une seule femelle par chaîne (l'effet de la taille des pères est étroitement lié à la position dans la chaîne) et sur des larves déjà arrivées à maturation (une mortalité des larves a pu avoir lieu dans les sacs ovigères) nous n'avons aucun moyen de

tester ces différentes hypothèses. Nous pouvons néanmoins remarquer qu'aucun événement de reproduction préférentielle avec un mâle génétiquement différent n'a été détecté. De plus, en acceptant du sperme de plusieurs mâles différents, le femelle minimise le risque d'accepter du sperme d'un mâle génétiquement incompatible et/ou apparenté (Birkhead, 1998).

III.2.4.3 Influence de la densité sur le comportement reproducteur

La densité peut avoir un rôle sur le nombre de paternités. Par exemple, Soucy & Travis (2003) ont montré, dans une population naturelle du poisson *Heterandria formosa*, que le nombre de père par ponte augmente avec la densité de la population. On observe une augmentation du nombre de pères par ponte entre la population de Kéraliou (densité de 100 g.m⁻²) et de Rozégat (600 g.m⁻²). Par contre, le nombre de père dans la population la plus dense (Roscanvel, densité = 2000 g.m⁻²) est identique à celui observé à Kéraliou. Sur la base de cette étude de seulement trois populations il est difficile de donner une réponse claire, d'autant plus que la population de Roscanvel présente des caractéristiques tout à fait particulières, avec une absence de recrutement récent conduisant à une faible proportion de mâles.

La densité peut également être un facteur important du changement de sexe (Wright, 1989). Dans l'aire d'origine de *C. fornicata*, Hoagland (1978) a montré que la proportion de mâles augmente avec la densité de la population. La même tendance a été observée entre Kéraliou et Rozégat mais pas à Roscanvel. Le signal de densité utilisé par les animaux n'est pas connu. Parmi les différentes possibilités on trouve : la fréquence des contacts, l'espace disponible pour se déplacer, l'apport en nourriture ou en encore une information phéromonale (Wright, 1989). Hoagland (1975) a proposé l'existence de phéromone masculinisante émise par les femelles chez la crépidule. Il serait alors possible qu'une forte concentration de cette phéromone dans le milieu, en raison par exemple d'une forte densité de population (et donc de femelles), retarde le changement de sexe dans la population. La présence de cette hormone dans le milieu pourrait expliquer le maintien d'un grand nombre d'individus âgés en phase mâle à Roscanvel. De plus, avec cette hypothèse, le taux d'hormone dans le milieu est fonction du nombre de femelles et dépend donc également de leur mortalité. Le changement de sexe des mâles se ferait donc en réponse à la mortalité des femelles.

III.2.5 Conclusion et perspectives

Les analyses de paternité réalisées chez *C. fornicata* dans le cadre de cette thèse ont donc permis de montrer que :

- la grande majorité des pères se trouvent dans la même chaîne que la mère
- les cas de paternités multiples (associés à du stockage de sperme) sont fréquents, la variabilité génétique au sein des pontes est ainsi maximisée
- des individus sont capables de se reproduire à la fois en tant que mâle et femelle au cours d'une même saison de reproduction, indiquant que le changement de sexe permet de maximiser efficacement le succès reproducteur des individus sur les deux fonctions sexuelles.

Une augmentation du nombre de pères par descendance a été observée entre deux populations de densité croissante, soulevant l'hypothèse que la densité de femelles est un facteur régulateur du changement de sexe dans les populations. Pour approfondir ce point il serait intéressant d'augmenter le nombre de populations étudiées afin d'avoir une gamme plus large de densités et surtout des répétitions de chaque densité.

Cette étude ne nous a pas permis de mesurer le succès reproducteur des mâles et des femelles. Etant donné que la grande majorité des événements de reproduction ont lieu au sein des chaînes, le succès reproducteur mâle est probablement lié au nombre de partenaires potentielles dans la chaîne et au nombre de mâles rentrant en compétition pour la fertilisation des femelles. Afin de tester cette hypothèse, il faudrait réaliser des analyses de paternité sur l'ensemble des femelles de la chaîne. Il est donc nécessaire de trouver un moyen d'isoler chaque femelle ovigère, même celles situées au milieu de la chaîne, tout en évitant qu'elles avortent par la suite. Le succès reproducteur femelle pourrait être étudié, en comparant la taille des femelles avec d'une part, le nombre de pontes annuelles par femelle et d'autre part, le nombre de larves par ponte.

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

C.1 SYNTHÈSE DES RESULTATS

Ce travail de thèse avait pour but d'étudier le processus de colonisation des côtes françaises par le gastéropode invasif *Crepidula fornicata* en s'intéressant plus particulièrement à deux caractéristiques de cette espèce : la phase larvaire et l'hermaphroditisme protandre. Trois étapes du cycle de vie de la crépidule ont été successivement abordées : (i) la dispersion des individus par la phase larvaire, (ii) le recrutement et (iii) la phase adulte au cours de laquelle a lieu le changement de sexe et la reproduction. Trois conclusions majeures émergent de cette étude :

(1) L'analyse de la distribution de la diversité génétique dans les populations françaises de *C. fornicata* a montré que celles-ci sont caractérisées par une forte diversité génétique (du même ordre que celle des populations de l'aire d'origine), associée à une faible structure génétique entre populations à différents niveaux hiérarchiques. Ce schéma n'est que très partiellement dû aux activités humaines. En confrontant ces résultats avec des modèles de dispersion larvaire et des modèles d'isolement génétique par la distance géographique, il apparaît, en général, que la phase larvaire est le vecteur prépondérant de la dispersion de cette espèce colonisatrice. Ceci est notamment illustré par la très faible différence génétique entre les populations de la baie de Seine et du Golfe Normano-Breton, séparées par la péninsule du Cotentin qui représentait pourtant une barrière potentielle (et conséquente) à la dispersion naturelle. Au niveau des côtes françaises, seule la mer d'Iroise, ou plus exactement la rade de Brest, apparaît jouer un rôle similaire à la péninsule de Floride dans l'aire d'origine de l'espèce, à savoir une barrière majeure au flux de gènes.

(2) L'analyse de la dynamique temporelle des populations dans différentes baies de l'aire d'introduction française a mis en évidence (i) des recrutements réguliers bien que discontinus dans le temps et (ii) une structure sexuelle au sein des populations favorisant la reproduction entre différentes classes de taille (ou d'âge), une caractéristique à l'origine d'un important brassage génétique à chaque saison de reproduction et qui se traduit par une homogénéité génétique entre les jeunes recrues et les adultes reproducteurs locaux. Ainsi, sur une courte échelle de temps (quelques générations), ni la dérive génétique, ni la migration depuis des populations génétiquement différentes n'altèrent fortement la composition génétique des populations de cette espèce pérenne. Ces résultats obtenus, aussi bien dans une population

implantée depuis longtemps (une trentaine d'année pour la population Baie) que dans des populations plus récentes (moins de 10 ans pour les population Golfe et de la baie de Morlaix) suggèrent que les populations sont caractérisées par une grande taille efficace et ce, quel que soit leur « âge ».

(3) Les données de sex-ratio obtenues au cours des différentes études réalisées au cours de ce travail confirment des données déjà existantes dans la littérature mais concernant essentiellement les populations de *C. fornicata* de l'aire native. La sex-ratio dans les populations de *C. fornicata* est modifiée transitoirement par l'arrivée d'immatures qui se transforment rapidement en jeunes mâles. Après cet événement, la sex-ratio s'équilibre à nouveau dans les populations, illustrant la capacité de cette espèce à moduler la sex-ratio locale. Bien que la taille au changement de sexe soit variable entre les individus au sein des populations, la taille moyenne au changement de sexe est relativement invariante dans les différentes populations. A une échelle d'étude plus fine (les chaînes), des analyses de paternité ont permis de montrer que les stratégies de reproduction développées chez cette espèce permettent, d'une part, de maximiser le succès reproducteur des individus sur les deux fonctions sexuelles grâce au changement de sexe (comme en témoigne notamment l'assignation de paternité à des femelles incubantes) et, d'autre part, de maximiser la variabilité génétique au sein des pontes.

Au terme de ce travail, et à la lumière de ces résultats, je vais à présent brièvement conclure sur les facteurs du succès de l'installation et de l'expansion géographique de *C. fornicata* le long des côtes de l'Atlantique et de la Manche.

C.2 LES CLEFS DU SUCCES DE LA COLONISATION

C.1.1 Une installation réussie dans les bassins conchylicoles français

Les invasions biologiques représentent un paradoxe : pourquoi les espèces exotiques, qui viennent d'une zone géographique éloignée et qui n'ont pas eu l'opportunité de s'adapter à l'environnement local sont capables de s'installer dans une nouvelle aire (l'aire d'introduction) et parfois, de déplacer des espèces natives qui se sont adaptées aux conditions

locales au cours de leur évolution (Sax & Brown, 2000). L'introduction d'un grand nombre de propagules (i.e unités assurant la dispersion des individus comme, par exemple, les graines ou les larves) accroît les chances d'installation d'une espèce exotique pour de nombreuses raisons ; d'une part, en augmentant les chances des nouveaux arrivants de trouver un habitat favorable (si les points d'arrivée sont variables) et de s'y reproduire (Williamson, 1996) et, d'autre part, en augmentant la variabilité génétique introduite. Au cours d'une invasion, la composition génétique de la population fondatrice a un effet direct sur sa capacité à répondre aux pressions de sélection, telles que les gradients environnementaux (par exemple la température de l'eau) ou les espèces résidentes (compétiteurs ou prédateurs), rencontrées dans le nouvel environnement (Lee, 2002). Le niveau de variabilité génétique dans les populations fondatrices est corrélé, d'une part, à la variabilité génétique présente dans la (ou les) population(s) source(s) et, d'autre part, au nombre de propagules (plus le nombre d'individus introduits est grand, plus la probabilité d'introduire des gènes différents augmente). Ce dernier point a été illustré par une étude récente de Kolbe *et al.* (2004) sur le lézard *Anolis sagrei*. Ces auteurs ont montré que huit introductions successives de ce lézard étaient à l'origine des populations introduites en Floride, ces récurrences d'introduction se traduisant par une diversité génétique très largement supérieure dans les populations introduites par rapport à celle des populations natives.

L'absence de trace d'effet fondateur dans les populations françaises suggère que la « pression en propagules », pour reprendre le terme proposé par Williamson (intensité et récurrence des introductions, p. 45, 1996) a été importante lors de l'introduction de *C. fornicata* en France. Les vecteurs d'introduction de la crépidule dans ou à proximité des bassins conchylicoles, que ce soit sous forme larvaire dans l'eau de ballasts ou sous forme de juvéniles ou d'adultes avec les huîtres, ont sans doute favorisé l'introduction d'un grand nombre d'individus. Une réussite de l'installation dès la première introduction est néanmoins peu probable. En effet, un phénomène fréquemment signalé dans la littérature sur les espèces exotiques est qu'une installation réussie fait souvent suite à de multiples échecs (Sax & Brown, 2000). Par exemple, le cerf européen *Cervus elaphus* L. a envahi une grande partie de la Nouvelle Zélande mais seulement après que 31 introductions aient échouées (Clarke, 1971). Ce phénomène est illustré dans la baie de Morlaix où la crépidule a été plusieurs fois introduite mais où elle ne s'est réellement implantée que récemment. Les importations massives d'huître japonaise *Crassostrea gigas* effectuées de 1971 à 1975 en France (Grizel & Heral, 1991) pourraient être à l'origine d'une récurrence des introductions qui a favorisé le succès de l'installation de *C. fornicata*.

Les récurrences d'introduction et l'introduction d'un nombre important d'individus depuis l'aire d'origine semblent être des caractéristiques communes à de nombreuses espèces exotiques introduites en France autour des bassins conchylicoles. Comme pour les populations françaises de *C. fornicata*, une forte diversité génétique, comparable à celle des populations de l'aire d'origine, a été récemment observée dans les populations introduites du bigorneau perceur asiatique *Ocenebrellus inornatus* (Martel *et al.*, 2004a) ou le gastéropode européen *Cyclope neritea* (Bachelet *et al.*, 2004). Il semble donc que le vecteur initial (transfert de naissains) ait été un vecteur particulièrement efficace pour l'introduction d'espèces exotiques en milieu marin à l'échelle inter-spécifique (nombre de taxons introduits, Gouletquer *et al.*, 2002) comme à l'échelle intra-spécifique (nombre de populations sources et d'individus introduits).

C. fornicata est une espèce rencontrée dans différents types d'habitats. Ainsi, nous avons étudié des populations occupant différents types de substrats : par exemple, un substrat biogène en baie de Morlaix, sablo-vaseux dans la population « Baie » ou encore caillouteux dans la population « Golfe ». Les densités sur ces différents substrats peuvent être très importantes (par exemple, 2000 ind.m⁻² pour Baie et Golfe) et atteintes rapidement. La réussite de l'espèce s'observe donc dans un large spectre d'habitats.

C. fornicata est une espèce tolérante vis-à-vis de différents facteurs environnementaux tels que la température ou la salinité (Blanchard, 1995). Cette caractéristique, associée à une récurrence d'introductions depuis des populations génétiquement diversifiées, explique sans doute l'adaptation rapide de cette espèce à des conditions environnementales variables.

C.1.2 Un processus de colonisation initié par l'homme mais qui se poursuit via la phase larvaire

Suite aux introductions initiales depuis les populations sources de l'aire d'origine, des introductions secondaires depuis un bassin conchylicole vers un autre ont eu lieu. Des transferts, liés aux activités aquacoles, entre Arcachon et les bassins conchylicoles de la Manche et de la Méditerranée ou encore entre les populations de Manche orientale et de la baie de Bourgneuf ont été mis en évidence dans le chapitre I. Ceci corrobore les propos de Wolff & Reise (2002) qui ont pointé l'impact de l'ostréiculture dans l'introduction secondaire d'espèces exotiques à l'échelle européenne depuis les années 1960. Bien que le processus d'invasion ait été accéléré par une dispersion saltatoire entre bassins conchylicoles, cette

étude a cependant mis en évidence qu'au cours de la colonisation du littoral, la dispersion naturelle, par diffusion, a ensuite été prédominante. La combinaison, dans les premières phases de l'invasion, de deux modes de dispersion a donc permis la colonisation de nouveaux habitats par un nombre important d'individus et des événements de colonisation multiples. L'association de ces deux modes de dispersion a été décrit chez d'autres espèces telles que la moule zébrée *Dreissena polymorpha*, un autre mollusque à cycle benthopélagique, à l'origine d'une colonisation spectaculaire en Europe de l'Ouest depuis la région Ponto-caspienne (Müller *et al.*, 2001).

L'exemple du Golfe Normano-breton montre que, depuis un foyer d'introduction (le fond de la baie de Cancale) initié par un facteur anthropique (l'ostréiculture), *C. fornicata* a colonisé l'ensemble du Golfe Normano-Breton (dans les habitats favorables) en moins de trente ans. Nos données montrent que cette rapidité d'expansion est en accord avec l'hypothèse d'une dispersion efficace par phase larvaire. D'après les cartes de densités (celle de Blanchard & Erhold, 1999 et celle réalisée à partir des données des missions Benthomont 1 & 2), une saturation de l'habitat par *C. fornicata* semble être atteinte en baie de Cancale où des densités maximales de 2000 ind.m⁻² ont été répertoriées. Dans ces conditions, la dispersion des larves vers des zones non colonisées est notamment un moyen d'éviter la compétition pour les ressources entre parents et descendants (Pechenik, 1999) ainsi que la prédation des larves par les adultes.

D'après Dethier *et al.* (2003), les organismes à cycle benthopélagique possédant une longue phase larvaire planctonique seraient de mauvais colonisateurs en raison d'un autorecrutement trop faible pour assurer l'équilibre démographique de la population. La survie des populations de ces espèces à fort potentiel de dispersion serait donc dépendante de la migration de recrues depuis des populations sources. Dans le cas de *C. fornicata*, les exemples des populations de la baie de Morlaix et de la baie du Mont-St-Michel (Baie et Golfe) suggèrent au contraire qu'après une phase de colonisation locale depuis des populations périphériques, la reproduction locale et l'autorecrutement représentent une part importante du renouvellement des populations de crépidules.

Deux étapes semblent structurer l'installation durable des populations de *C. fornicata* : (1) une installation initiale depuis des populations périphériques grâce à la dispersion larvaire et (2) une installation durable dépendant pour une part importante du recrutement de larves émises par les adultes reproducteurs locaux.

C.2.2 Taille démographique et taille efficace des populations

Le problème majeur auquel sont confrontées les espèces colonisatrices est l'extinction aléatoire de la population. L'extinction est inévitable lorsque les individus du groupe fondateur ne sont pas adaptés aux conditions environnementales de la région cible mais peut également avoir lieu malgré un environnement favorable. Le risque d'extinction dépend notamment de la taille de la population. Or, les populations des espèces colonisatrices sont généralement créées à partir d'un petit nombre de propagules. Elles encourent donc un risque élevé de disparaître durant les premières phases du processus. Une croissance rapide de la population, qui diminuera le temps durant lequel la probabilité d'extinction est la plus forte est un pré-requis pour assurer le succès de la colonisation (Safriel & Ritte, 1980). L'exemple de la baie de Morlaix a permis de montrer que, lors du processus de colonisation par *C. fornicata*, l'équilibre démographique est atteint très rapidement, diminuant ainsi les risques d'extinction de la population. Dans les populations de la baie du Mont-St-Michel et de la baie de Morlaix étudiées, l'équilibre démographique est associé à un équilibre génétique : aucun effet fondateur n'a été décelé dans les populations, quelque soit l'âge de la population (estimé à partir de la date de première observation de la crépidule). Des niveaux similaires de diversité génétique ont été observés dans la population Baie (qui existe depuis les années 70, d'après les données historiques), dans la population Golfe (encore non signalée en 1997) et dans la population de la baie de Morlaix (installée en fort effectif depuis moins de 10 ans). Ce schéma est étroitement lié au mode de reproduction de l'espèce.

Bien que le risque d'extinction aléatoire de la population diminue lorsque la taille de la population augmente, il ne disparaît pas complètement. Le deuxième pré-requis pour le succès de la colonisation est donc la capacité de l'espèce à maintenir une grande taille efficace dans la région colonisée (Safriel & Ritte, 1980). Différents résultats obtenus au cours de ce travail de thèse indiquent que les tailles efficaces des populations de crépidules sont particulièrement importantes, cela a notamment été montré par une forte diversité génétique associée à une absence de variance de succès reproducteur (pas de changement génétique temporel dû à la dérive génétique). Quelle que soit la densité de la population (très forte comme dans les populations Baie et Golfe ou moins importante comme dans les populations de la Baie de Morlaix), la taille efficace de la population semble se maintenir au cours du temps.

Le maintien d'une importante taille efficace dans les populations s'explique, d'une part, par la capacité de cette espèce à moduler sa sex-ratio, en réponse au recrutement et à la mortalité et, d'autre part, par une reproduction entre toutes les classes d'âge présentes dans la

population. De plus, Sugg & Chesser (1994) ont montré par simulations que les systèmes reproducteurs avec plus d'un mâle par femelle, comme cela a été mis en évidence par les analyses de paternité chez *C. fornicata*, sont à l'origine d'une taille efficace de population plus grande que celle attendue sous un régime polygyne ou monogame.

C.3 PERSPECTIVES

Au terme de ce travail de thèse, des éléments de réponse ont été apportés à différents problèmes relatifs au succès de la colonisation du littoral français de la Manche et de l'Atlantique par *Crepidula fornicata*. Cependant, les méthodologies utilisées n'ont pas permis de répondre à certaines questions qui ont émergées au cours des différentes études. Ces questions peuvent être regroupées en trois axes détaillés ci-dessous.

C.3.1 Les modèles de dispersion

L'utilisation du modèle hydrodynamique a mis en lumière l'intérêt du couplage entre la génétique des populations et la modélisation dans l'étude de la dispersion larvaire en milieu marin. Néanmoins, cette étude a également souligné les limites d'un modèle n'intégrant pas de simulations sur plusieurs générations. De plus, en raison de la complexité de l'environnement marin, qui se traduit probablement par des schémas particulièrement complexes de dispersion larvaire, il apparaît également indispensable d'intégrer dans les simulations les événements ayant lieu dans la colonne d'eau ainsi que des séquences météorologiques réelles. Un tel modèle plus « réaliste » permettrait notamment d'identifier les processus particuliers à l'origine de la différenciation génétique de certaines populations (par exemple la population Ld, cf. partie I.2) et d'affiner ainsi le schéma général observé, à savoir une forte homogénéité génétique sur une grande échelle géographique.

C.3.2 L'étude de la phase larvaire

Cette étude a soulevé deux questions au sujet du comportement des larves auxquelles nos données ne permettaient pas de répondre :

(1) Existe-t-il un comportement d'évitement de la compétition pour les ressources chez les larves ? En effet, un recrutement plus important a été observé dans la population Golfe, située à la périphérie de la baie du Mont-St-Michel que dans la population Baie, située au fond de la baie de Cancale, une zone presque entièrement colonisée par la crépidule. Ce résultat laisse supposer que les nuages larvaires recrutent préférentiellement en périphérie des zones fortement peuplées afin d'éviter notamment une compétition pour les ressources. Néanmoins, cette constatation soulève une question.

(2) Existe-t-il une asynchronie de recrutement à l'échelle d'une baie ? Nous avons montré une capacité de colonisation à grande échelle grâce aux larves de *C. fornicata* qui sont caractérisées par une longue durée de vie (2 à 4 semaines). Cependant, nos données suggèrent également un autorecruement important dans les populations. Ce résultat pourrait être mis en relation avec une attraction des larves par les adultes comme cela a été mis en évidence chez une autre espèce du genre : *Crepidula onyx* (Zhao & Qian, 2002). Ces deux éléments qui semblent, au premier abord, non congruents peuvent s'expliquer par des processus agissant à différentes échelles de temps et d'espace. En particulier, même si la colonisation a bien pour origine une migration depuis des populations périphériques, on peut penser qu'une fois une population installée, l'émission locale d'un grand nombre de larves va « suffire » au recrutement de nouveaux individus dans la population. Ce scénario est renforcé par une émission asynchrone de larves par les différentes populations.

Ces deux questions pourraient être abordées par une étude directe de la phase larvaire, par exemple par un suivi temporel des nuages larvaires dans différents points d'une baie et par une assignation des nuages larvaires aux populations de cette baie.

C.3.3 L'étude du déterminisme du sexe

Les facteurs à l'origine du déterminisme de changement de sexe restent encore obscurs. Il semble nécessaire de réaliser des expériences en laboratoire afin, d'une part, de confirmer par exemple l'existence d'une hormone masculinisante émise par les femelles et, d'autre part, de réaliser une étude fine de la taille au changement de sexe en intégrant dans l'analyse (i) la taille des individus constituant le groupe social et (ii) le fait que le mâle se soit ou non reproduit.

Les résultats obtenus à l'issue des analyses de paternités indiquent que le changement de sexe permet de maximiser efficacement le succès reproducteur sur les deux fonctions sexuelles. Il serait intéressant de mesurer le succès reproducteur des mâles et des femelles afin

de déterminer si ces paramètres régulent le changement de sexe. Les paternités multiples et le stockage de sperme montrés au cours de cette étude indiquent que de la compétition spermatique est possible chez cette espèce. Afin de valider cette hypothèse il faudrait quantifier la contribution de chacun des pères dans la descendance de la femelle, en analysant un nombre plus important de larves mais surtout en identifiant les larves issues des différents sacs ovigères. Par ailleurs, une approche expérimentale (croisements) permettrait de mettre en évidence un éventuel avantage à être le premier mâle à avoir fécondé la femelle mais également de voir si toutes les copulations se traduisent par une fécondation effective. Il serait intéressant de réaliser des études du comportement reproducteur en deux temps : tout d'abord en observant les copulations en laboratoire puis en réalisant des analyses de paternité.

Au cours de cette thèse, j'ai essayé de développer un travail basé sur différents angles d'approche (démographie, analyses de paternité et génétique des populations) et s'intéressant à différentes échelles spatiales. Ce travail m'a permis d'avoir une vue générale du processus de colonisation par *C. fornicata* à l'échelle des côtes de la Manche et de l'Atlantique. Ces processus généraux de l'invasion biologique par la crépidule pourraient maintenant servir de base de réflexion à une étude plus focalisée, notamment sur un nombre limité de sites d'études et s'intéressant à des processus à micro-échelle, tels que la structure génétique des groupes larvaires ou l'étude des modalités du changement de sexe au sein d'une population.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allsop DJ, West SA (2003) Changing sex at the same relative body size. *Nature* **425**, 783-784.
- Amsellen L, Noyer JL, Le Bourgeois T, Hossaert-Mckey M (2000) Comparison of genetic diversity of the invasive weed *Rubus alceifolius* Poir. (Rosaceae) in its native range and in areas of introduction, using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Molecular Ecology* **9**, 443-455.
- Angeloni L, Bradbury JW, Burton RS (2003) Multiple mating, paternity, and body size in a simultaneous hermaphrodite, *Amphysia californica*. *Behavioral Ecology* **14**, 554-560.
- Armonies W (2001) What an introduced species can tell us about the spatial extension of benthic populations. *Marine Ecology Progress Series* **209**, 289-294.
- Austerlitz F, Mariette S, Machon N, Gouyon PH, Godelle B (2000) Effects of colonization processes on genetic diversity: differences between annual plants and tree species. *Genetics* **154**, 1309-1321.
- Avise JC (1994) *Molecular Markers, Natural History & Evolution* Chapman & Hall.
- Avise JC (2000) *Phylogeography: the history and formation of species* Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Ayvazian SG, Johnson MP, McGlashan DJ (1994) High levels of genetic subdivision of marine and estuarine populations of the estuarine catfish *Cnidogobius macrocephalus* (Plotosidae) in southwestern Australia. *Marine Biology* **118**, 25-31.
- Bachelet G, Cazaux C, Gantès H, Labourg P-J (1980) Contribution à l'étude de la faune marine de la région d'Arcachon. *Bulletin du Centre d'Etude et de Recherche Scientifique de Biarritz* **13**, 45-64.
- Bachelet G, Simon-Bouhet B, Desclaux C, et al. (2004) Invasion of the eastern Bay of Biscay by the nassariid gastropod *Cylope neritea*: origin and effects on resident fauna. *Marine Ecology Progress Series* **276**, 147-159.
- Badia J, Do Chi T (1976) Etude cinétique de la structure des populations de *Squilla mantis* (Crustacea: Stomatopoda) par l'analyse factorielle des correspondances. *Journal of Experimental Marine Biology Ecology* **26**, 159-168.
- Bagley MJ, Geller J (2000) Microsatellite DNA analysis of native and invading populations of European green crabs *Marine Bioinvasions : Proceedings of the first national conference MIT Sea Grant College Program*, p. 241-243.
- Baker AJ, Moed A (1987) Rapid genetic differentiation and founder effect in colonizing populations of common mynas (*Acridotheres tristis*). *Evolution* **41**, 525-538.
- Baker HG (1965) Characteristics and modes of origin of weeds. In: *The genetics of colonizing species* (ed. Baker HG), pp. 147-169. Academic Press, New York.
- Baker RJ, Makova KD, Chesser RK (1999) Microsatellites indicate a high frequency of multiple paternity in *Apodemus* (Rodentia). *Molecular Ecology* **8**, 107-111.
- Barnay A-S, Ellien C, Gentil F, Thiébaud E (2003) A model study on variations in larval supply: are populations of the polychaete *Owenia fusiformis* in the English Channel open or closed? *Helgoland Marine Research* **56**, 229-237.
- Barton NH, Charlesworth B (1984) Genetic revolution, founder effects, and speciation. *Annual Review of Ecology and Systematic* **15**, 133-134.
- Baur B (1998) Sperm competition in molluscs. In: *Sperm competition and sexual selection* (eds. Birkhead TR, Moeller AP), pp. 255-305. Academic Press, London.
- Belkhir K, Borsa P, Goudet J, Chikhi L, Bonhomme F (2000) GENETIX 4.02, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Population, Interactions, CNRS UPR 9060, Université Montpellier II, Montpellier (France).
- Belkhir K, Castric V, Bonhomme F (2002) IDENTIX, a software to test for relatedness in a population using permutation methods. *Molecular Ecology Notes* **2**, 611-614.

- Benzie JAH (1994) Patterns of gene flow in the Great Barrier Reef and Coral Sea. In: *Genetics and evolution of aquatic organisms* (ed. Beaumont AR), pp. 67-79. Chapman and Hall.
- Berlocher SH (1984) Genetic changes coinciding with the colonization of California by the walnut husk fly, *Rhagoletis completa*. *Evolution* **38**, 906-918.
- Bernal-Ramirez JH, Adcock GJ, Hauser L, Carvalho GR, Smith PJ (2003) Temporal stability of genetic population structure in the New Zealand snapper, *Pagrus auratus*, and relationship to coastal currents. *Marine Biology* **142**, 567-574.
- Bhattacharya CG (1967) A simple method of resolution of a distribution into gaussian components. *Biometrics* **23**, 115-135.
- Birkhead TR (1998) Cryptic female choice: criteria for establishing female sperm choice. *Evolution* **52**, 1212-1218.
- Blanchard M (1995) Origine et état de la population de *Crepidula fornicata* (Gastropoda Prosobranchia) sur le littoral français. *Haliotis* **24**, 75-86.
- Blanchard M (1997) Spread of the slipper limpet *Crepidula fornicata* (L. 1758) in Europe. Current state and consequences. *Scientia Marina* **61**, 109-118.
- Blanchard M, Blanchet A, Gaffet J-D, Hamon D (2001) Dynamique de population de la crépidule (*Crepidula fornicata*) en baie de Saint-Brieuc (Manche-Ouest), p. 60. IFREMER-Direction de l'environnement et de l'aménagement du littoral, Brest.
- Blanchard M, Erhold A (1999) Cartographie et évaluation du stock de crépidules (*Crepidula fornicata* L.) en baie du Mont Saint-Michel. *Haliotis* **28**, 11-20.
- Bohn T, Sandlund OT, Amundsen P-A, Primicerio R (2004) Rapidly changing life history during invasion. *Oikos* **106**, 138-150.
- Bohonak AJ (1999) Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology* **74**, 23-45.
- Bohonak AJ, Davies N, Villablanca FX, Roderick GK (2001) Invasion genetic of New World medflies: testing alternative colonization scenarios. *Biological Invasions* **3**, 103-111.
- Boileau MG, Hebert PDN (1993) Genetics of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in populations from the Great Lakes region and Europe. In: *Zebra mussels : biology, impacts, and control* (eds. Nalepa TF, Schloesser DW), pp. 227-238. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- Bonizzoni M, Zheng L, Guglielmino CR, et al. (2001) Microsatellite analysis of medfly bioinfestations in California. *Molecular Ecology* **10**, 2515-2524.
- Borsa P, Jarne P, Belkhir K, Bonhomme F (1994) Genetic structure of the palourde *Ruditapes decussatus* L. in the Mediterranean. In: *Genetics and evolution of aquatic organisms* (ed. Beaumont AR), pp. 103-113. Chapman and Hall.
- Borsa P, Zainuri M, Delay B (1991) Heterozygote deficiency and population structure in the bivalve *Ruditapes decussatus*. *Heredity* **66**, 1-8.
- Boudouresque C-F, Ribera MA (1994) Les introductions d'espèces végétales et animales en milieu marin - conséquences écologiques et économiques et problèmes législatifs *First International Workshop on Caulerpa taxifolia*, p. 29-102.
- Boudry P, Collet B, Cornette F, Hervouet V, Bonhomme F (2002) High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. *Aquaculture* **204**, 283-296.
- Bowen BW, Grant WS (1997) Phylogeography of the sardines (*Sardinops* spp): assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones. *Evolution* **51**, 160-1610.

- Breton M, Salomon JC (1995) A 2D long term advection-dispersion model for the Channel and Southern North Sea. Part A : Validation through comparison with artificial radionuclides. *Journal of Marine Systems* **6**, 495-513.
- Brookfield (1996) A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* **5**, 453-455.
- Brown AHD, Burdon JJ (1987) Mating systems and colonizing success in plants. In: *Colonization, succession and stability* (eds. Gray AJ, Crawley MJ, Edwards PJ), pp. 115-131. Blackwell scientific publications, Oxford.
- Brown AHD, Marshall DR (1981) Evolutionary changes accompanying colonization in plants *Evolution today, proceedings of the second international congress of systematic and evolutionary biology*, p. 353-361.
- Brown LD (1991) Genetic variation and population structure in the blacklip abalone, *Haliotis rubra*. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **42**, 77-90.
- Burton RS (1997) Genetic evidence for long term persistence of marine invertebrate populations in an ephemeral environment. *Evolution* **51**, 993-998.
- Buston P (2003) Size and growth modification in clownfish. *Nature* **424**, 145-146.
- Byrne K, Nichols RA (1999) *Culex pipiens* in London Underground tunnels: differentiation between surface and subterranean populations. *Heredity* **82**, 7-15.
- Cabioch L (1968) Contribution à la connaissance des peuplements benthiques de la manche occidentale. *Cahiers de Biologie Marine* **10**, 493-720.
- Carey JR (1996) The future of the mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* invasion of California: a predictive framework. *Biological Conservation* **78**, 35-50.
- Cariguel M (1994) *Cartographie, évaluation et bilan trophique de la population de crépidules (Crepidula fornicata) en baie de Cancale* Mémoire de DESS, Université de Caen, p. 52.
- Carlton JT (1989) Man's role in changing the face of the ocean : biological invasions and implications for conservation of near-shore environments. *Conservation Biology* **3**, 265-273.
- Carlton JT (1992) Introduced marine and estuarine mollusks of North America : an end-of-the-20th-century perspective. *Journal of Shellfish Research* **11**, 489-505.
- Carlton JT (1996) Pattern, process, and prediction in marine invasion ecology. *Biological conservation* **78**, 97-106.
- Carlton JT (1999) Molluscan invasions in marine and estuarine communities. *Malacologia* **41**, 439-454.
- Carlton JT, Geller JB (1993) Ecological roulette : The global transport of nonindigenous marine organisms. *Science* **261**, 78-82.
- Carson HL (1987) Colonization and speciation. In: *Colonization, succession and stability* (eds. Gray AJ, Crawley MJ, Edwards PJ), pp. 187-206. Blackwell scientific publications, Oxford.
- Cassie RM (1954) Some uses of probability paper for the graphical analysis of polymodal frequency distributions. *Australian Journal of Marine Freshwater Research* **5**, 513-522.
- Charbonnel N, Angers B, Rasatavonjizay R, *et al.* (2002a) The influence of mating system, demography, parasites and colonization on the population structure of *Biomphalaria pfeifferi* in Madagascar. *Molecular Ecology* **11**, 2213-2228.
- Charbonnel N, Quesnoit M, Razatavonjizay R, Brémond P, Jarne P (2002b) A spatial and temporal approach to microevolutionary forces affecting population biology in the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi*. *The American Naturalist* **160**, 741-755.
- Charlesworth D, Charlesworth B (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**, 237-268.

- Charnov EL (1982) *The theory of Sex Allocation* Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Charnov EL (1993) *Life History Invariants* Oxford University Press, Oxford.
- Charnov EL, Bull JJ (1989) Non-fisherian sex ratios with sex change and environmental sex determination. *Nature* **338**, 148-150.
- Charnov EL, Dawson TE (1989) Environmental sex determination with overlapping generations. *The American Naturalist* **134**, 806-816.
- Charnov EL, Skuladottir U (2000) Dimensionless invariants for the optimal size (age) of sex change. *Evolutionary Ecology Research* **2**, 1067-1071.
- Chauvaud L (1998) *La coquille Saint-Jacques en Rade de Brest: un modèle biologique d'étude des réponses de la faune benthique aux fluctuations de l'environnement*, Université de Bretagne Occidentale, p. 265.
- Chen X, Baur B (1993) The effect of multiple mating on female reproductive success in the simultaneously hermaphroditic land snail *Arianta arbustorum*. *Canadian Journal of Zoology* **71**, 2431-2436.
- Chipperfield PNJ (1951) The breeding of *Crepidula fornicata* in the river Blackwater, Essex. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **30**, 49-71.
- Clarke CMH (1971) Liberations and dispersal of red deer in northern South Island districts. *New Zealand Journal of Forest Science* **1**, 194-207.
- Claxton WT, Boulding EG (1998) A new molecular technique for identifying field collections of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and quagga mussel (*Dreissena bugensis*) veliger larvae applied to eastern Lake Erie, Lake Ontario, and Lake Simcoe. *Canadian Journal of Zoology* **76**, 194-198.
- Coe WR (1936) Sexual phases in *Crepidula*. *The Journal of Experimental Zoology* **72**, 455-477.
- Coe WR (1938) Conditions influencing change of sex in mollusks of the genus *Crepidula*. *The Journal of Experimental Zoology* **77**, 401-424.
- Coe WR (1953) Influence of association, isolation, and nutrition on the sexuality of snails of the genus *Crepidula*. *The Journal of Experimental Zoology* **122**, 5-19.
- Cole HA (1952) The american slipper limpet (*Crepidula fornicata*) on Cornish beds. *Fishery Investigations* **17**, 1-13.
- Collin R (1995) Sex, size, and position: a test of models predicting size at sex change in the protandrous gastropod *Crepidula fornicata*. *The American Naturalist* **146**, 815-831.
- Collin R (2001) The effects of mode of development on phylogeography and population structure of North Atlantic *Crepidula* (Gastropoda : Calyptraeidae). *Molecular Ecology* **10**, 2249-2262.
- Cornuet J-M, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* **144**, 2001-2014.
- Coum A (1979) *La population de crépidules *Crepidula fornicata* (L. 1758) en rade de Brest. Ecologie et dynamique*, Université de Bretagne Occidentale, p. 134.
- Crouch W (1893) On the occurrence of *Crepidula fornicata* in Essex. *Proceedings of the Malacological Society of London* **1**, 19.
- Dauvin JC (1984) *Dynamique d'écosystèmes macrobenthiques des fonds sédimentaires de la baie de Morlaix et leur perturbation par les hydrocarbures de l'Amoco Cadiz*. Thèse Doctorat Etat, Sci. Nat., Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, p. 468p + annexes 193p.
- David P, Perdieu M-A, Pernot A-F, Jarne P (1997) Fine-grained spatial and temporal population structure in the marine bivalve *Spisula ovalis*. *Evolution* **51**, 1318-1322.

- Davies N, Villablanca FX, Roderick GK (1999a) Bioinvasions of the medfly *Ceratitis capitata*: source estimation using DNA sequences at multiple intron loci. *Genetics* **153**, 351-360.
- Davies N, Villablanca FX, Roderick GK (1999b) Determining the source of individuals: multilocus genotyping in nonequilibrium population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* **14**, 17-21.
- Davis MA, Thompson K (2000) Eight ways to be a colonizer; two ways to be an invader: a proposed nomenclature scheme for invasion ecology. *Bulletin of the Ecological Society of America* **81**, 226-230.
- De Montaudouin X, Labarraque D, Giraud K, Bachelet G (2001) Why does the introduced gastropod *Crepidula fornicata* fail to invade Arcachon Bay (France) ? *J. Mar. Biol. Ass. UK* **81**, 97-104.
- De Montaudouin X, Sauriau PG (1999) The proliferating gastropoda *Crepidula fornicata* may stimulate macrozoobenthic diversity. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **79**, 1069-1077.
- DeMontaudouin X, Audemard C, Labourg PJ (1999) Does the slipper limpet (*Crepidula fornicata*, L.) impair oyster growth and zoobenthos biodiversity? A revisited hypothesis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **235**, 105-124.
- Deslous-Paoli J-M (1985) *Crepidula Fornicata* L. (Gastropods) in the bay of Marennes-Oléron : population, dynamics and production. *Oceanologica acta* **8**, 453-460.
- Deslous-Paoli JM, Massé H (1982) Répartition géographique et structure de la population de *Crepidula fornicata* Linné, dans le bassin de Marennes-Oléron en 1981 et 1982, p. 9. Rapport CIEM, C.M. 1982/F25.
- Dethier MN, McDonald K, Strathmann RR (2003) Colonization and connectivity of habitat patches for coastal marine species distant from source populations. *Conservation Biology* **17**, 1024-1035.
- Duda TF (1994) Genetic population structure of the recently introduced Asian clam, *Potamocorbula amurensis*, in San Francisco Bay. *Marine Biology* **119**, 235-241.
- Dupouy H, Latrouite D (1979) Le développement de la crépidule sur le gisement de coquilles Saint-Jacques de la baie de Saint-Brieuc. *Sciences et Pêches* **292**, 13-22.
- Easteal S (1985) The ecological genetics of introduced populations of the giant toad, *Bufo marinus*. III. Geographical patterns of variation. *Evolution* **39**, 1065-1075.
- Eckert CG, Manicacci D, Barrett SCH (1996) Genetic drift and founder effect in native versus introduced populations of an invading plant, *Lythrum salicaria* (Lythraceae). *Evolution* **50**, 1512-1519.
- Ellien C (2001) *Modélisation du transport larvaire en Manche et conséquences sur le recrutement d'invertébré à cycle benthopélagique. Importance relative des processus biologiques et hydrodynamiques*. Thèse de Doctorat, Université Paris 6, p. 193.
- Ellien C, Thiebaut E, Barnay A-S, et al. (2000) The influence of variability in larval dispersal on the dynamics of a marine metapopulation in the eastern Channel. *Oceanologica acta* **23**, 423-442.
- Ellner S, Hairston Jr NG (1994) Role of overlapping generations in maintaining genetic variation in a fluctuating environment. *The American Naturalist* **143**, 403-417.
- Eno NC, Clark RA, Sanderson WG (1997) A review and directory of non-native marine species in British waters, *Joint Nature Conservation Committee* 153 pp.
- Erhold A, Blanchard M, Auffret J-P, Garlan T (1998) Conséquences de la prolifération de la crépidule (*Crepidula fornicata*) sur l'évolution sédimentaire de la baie du Mont-Saint-Michel (Manche, France). *Compte Rendu de l'Académie des Sciences de Paris. Sciences de la terre et des planètes* **327**, 583-588.

- Estoup A, Rousset F, Michalakis Y, *et al.* (1998) Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers : a case study investigating microgeographic differentiation in brown trout (*Salmo trutta*). *Molecular Ecology* **7**, 339-353.
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**, 479-491.
- Féral J (2002) How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity ? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **268**, 121-145.
- Fisher RA (1930) *The genetical theory of natural selection* Clarendon, Oxford.
- Flowers JM, Schroeter SC, Burton RS (2002) The recruitment sweepstakes has many winners: genetic evidence from the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Evolution* **56**, 1445-1453.
- Foltz DW (1986) Null alleles as a possible cause of heterozygote deficiency in the oyster *Crassostrea virginica* and other bivalves. *Evolution* **40**, 869-870.
- Frontier S, Pichod-Viale D (1991) *Ecosystèmes: structure, fonctionnement, évolution* Masson, Paris.
- Gaffney PM, McGee B (1992) Multiple paternity in *Crepidula fornicata* (Linnaeus). *The Veliger* **35**, 12-15.
- Gaggiotti OE, Vetter RD (1999) Effect of life history strategy, environmental variability, and overexploitation on the genetic diversity of pelagic fish populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **56**, 1376-1388.
- Gaines SD, Bertness MD (1992) Dispersal of juveniles and variable recruitment in sessile marine species. *Nature* **360**, 579-580.
- Gaines SD, Brown S, Roughgarden J (1985) Spatial variation in larval concentrations as a cause of spatial variation in settlement for the barnacle, *Balanus glandula*. *Oecologia* **67**, 267-272.
- Gasparich GE, Silva JG, Han HY, *et al.* (1997) population genetic structure of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) and implications for worldwide colonization patterns. *Annals of the Entomological Society of America* **90**, 790-796.
- Geller JB (1994) Marine biological invasions as models of dispersal: tracking secondary spread and introgressive gene flow. *calCOFI Rep.* **35**, 68-72.
- Geller JB, Walton ED, Grosholz ED, Ruiz GM (1997) Cryptic invasions of the crab *Carcinus* detected by molecular phylogeography. *Molecular Ecology* **6**, 901-906.
- Gheno Y, Le Guen JC (1968) Détermination de l'âge et croissance de *Sardinella eba* (Val.) dans la région de Pointe-Noire. *Cahiers de l' O.R.S.T.O.M., série Océanographie* **6**, 69-82.
- Ghiselin MT (1969) The evolution of hermaphroditism among animals. *The Quarterly Review of Biology* **44**, 189-208.
- Giles BE, Goudet J (1997) Genetic differentiation in *Silene Dioica* metapopulations: estimation of spatiotemporal effects in a successional plant species. *The American Naturalist* **149**, 507-526.
- Gilg MR, Hilbish TJ (2003a) The geography of marine larval dispersal: coupling genetics with fine-scale physical oceanography. *Ecology* **84**, 2989-2998.
- Gilg MR, Hilbish TJ (2003b) Spatio-temporal patterns in the genetic structure of recently settled blue mussels (*Mytilus* spp.) across a hybrid zone. *Marine Biology* **143**, 679-690.
- Gomez A, Adcock GJ, Lunt DH, Carvalho GR (2002) The interplay between colonization history and gene flow in passively dispersing zooplankton: microsatellite analysis of rotifer resting egg bank. *Journal of Evolutionary Biology* **15**, 158-171.

- Goodisman MAD, Matthews RW, Crozier RH (2001) Hierarchical genetic structure of the introduced wasp *Vespula germanica* in Australia. *Molecular Ecology* **10**, 1423-1432.
- Goudet J (1999) PCA-GEN, a program to perform a Principal Component Analysis (PCA) on genetic data. Available from <http://www.unil.ch/izea/software/PCA-GEN.html>.
- Gould HN (1952) Studies on sex on the hermaphrodite mollusc *Crepidula fornicata*. IV. Internal and external factors influencing growth and sex-change. *Journal of Experimental Zoology* **119**, 93-163.
- Gouletquer P, Bachelet G, Sauriau PG, Noel P (2002) Open Atlantic coast of Europe - A century of introduced species into French waters. In: *Invasive Aquatic Species of Europe* (eds. Leppäkoski E, Gollash S, Olenin S). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Grady SP, Rutecki D, Carmichael R, Valiela I (2001) Age structure of the Pleasant bay population of *Crepidula fornicata*: a possible tool for estimating horseshoe Crab age. *Biological Bulletin* **201**, 296-297.
- Grant WS, Cherry MI (1985) *Mytilus galloprovincialis* Lmk. in southern Africa. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **90**, 179-191.
- Gray AJ (1986) Do invading species have definable genetic characteristics ? *Philosophical Transaction of the Royal Society - London B* **314**, 655-674.
- Griffiths RW, Schloesser DW, Leach JH, Kovalak WP (1991) Distribution and dispersal of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in the Great Lakes region. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **48**, 1381-1388.
- Grizel H, Heral M (1991) Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Cons. int. Explor. Mer* **47**, 399-403.
- Guéguéniat P, Bailly du Bois P, Salomon J-C, Masson M, Cabioch L (1995) FLUXMANCHE raduitracers measurements: a contribution to the dynamics of the English Channel and North Sea. *Journal of Marine System* **6**, 483-494.
- Guinand B, Easteal S (1996) Multivariate patterns of genetic differentiation support complex colonization schemes in *Bufo marinus* populations. *Evolution* **50**, 944-951.
- Hamon D, Blanchard M (1994) Etat de la prolifération de la crépidule (*Crepidula fornicata*) en baie de St Brieuc, p. 29. IFREMER-del.
- Hanski IA, Simberloff D (1997) The metapopulation approach, its history, conceptual domain, and application to conservation. In: *Metapopulation biology- Ecology, genetics, and evolution* (eds. Hanski IA, Gilpin ME), pp. 5-26. Academic Press.
- Harding JF (1949) The use of probability paper for the graphical analysis of polymodal frequency distributions. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* **28**, 141-153.
- Hartl DL, Clark AG (1997) *Principles of population genetics* Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Hebert PDN, Muncaster BW, Mackie GL (1989) Ecological and genetic studies on *Dreissena polymorpha* (Pallas) : a new mollusc in the Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **46**, 1587-1591.
- Hedgecock D (1986) Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates ? *Bulletin of Marine Science* **39**, 550-564.
- Hedgecock D (1994) Does variance in reproductive success limit effective population sizes of marine organisms ? In: *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms* (ed. Beaumont AR), pp. 122-134. Chapman & Hall, London.
- Hellberg ME (1994) Relationships between inferred levels of gene flow and geographic distance in a philopatric coral *Balanophyllia elegans*. *Evolution* **48**, 1829-1854.
- Heller J (1993) Hermaphroditism in molluscs. *Biological Journal of the Linnean Society* **48**, 19-42.

- Herbert PDN, Muncaster BW, Mackie GL (1989) Ecological and genetic studies on *Dreissena polymorpha* (Pallas): a new mollusc in the Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **46**, 1587-1591.
- Highsmith RC (1985) Floating and algal rafting as potential dispersal mechanisms in brooding invertebrates. *Marine Ecology Progress Series* **25**, 169-179.
- Hill AE (1990) pelagic dispersal of Norway lobster *Nephrops norvegicus* larvae examined using an advection-diffusion-mortality model. *Marine Ecology Progress Series* **64**, 217-226.
- Hill AE (1991) Advection-diffusion-mortality solutions for investigating pelagic larval dispersal. *Marine Ecology Progress Series* **70**, 117-128.
- Hoagland KE (1975) *Reproductive strategies and evolution in the genus Crepidula (Gastropoda: Calyptraeidae)*, Harvard University.
- Hoagland KE (1978) Protandry and the evolution of environmentally-mediated sex change: a study of the mollusca. *Malacologia* **17**, 365-391.
- Hoagland KE (1984) Use of molecular genetics to distinguish species of the gastropod genus *Crepidula* (Prosobranchia: Calyptraeidae). *Malacologia* **25**, 607-628.
- Hoagland KE (1985) Genetic relationships between one british and several north american populations of *Crepidula fornicata* based on allozymes studies (Gastropoda: Calyptraeidae). *Journal of Molluscan Studies* **51**, 177-182.
- Hoffman JI, Boyd IL, Amos W (2003) Male reproductive strategy and importance of maternal status in the antarctic fur seal *Arctocephalus gazella*. *Evolution* **57**, 1917-1930.
- Holland BS (2000) Genetics of marine bioinvasions. *Hydrobiologia* **420**, 63-71.
- Holland BS (2001) Invasion without a bottleneck: microsatellite variation in natural and invasive populations of the brown mussel *Perna perna* (L). *Marine Biotechnology* **3**, 407-415.
- Holm S (1979) A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics* **6**, 65-70.
- Huenneke LF, Vitousek PM (1990) Seedling and clonal recruitment of the invasive tree *Psidium cattleianum*: implications for management of native Hawaiian forests. *Biological Conservation* **53**, 199-211.
- Hunt A, Ayre DJ (1989) Population structure in the sexually reproducing sea anemone *Oulactis muscosa*. *Marine Biology* **102**, 537-544.
- Husband BC, Barrett SCH (1991) Colonisation history and population genetic structure of *Eichornia paniculata* in Jamaica. *Heredity* **66**, 287-296.
- Jarne P, Lagoda J-L (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution* **11**, 424-429.
- Johannesson K (1988) The paradox of Rockall: why is a brooding gastropod (*Littorina saxatilis*) more widespread than one having a planktonic larval dispersal stage (*L. littorea*)? *Marine Biology* **99**, 507-513.
- Johannesson K, Rödström EV, Aase H (1989) Low genetic variability in Scandinavian populations of *Ostrea edulis* L. - possible causes and implications. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **128**, 177-190.
- Johnson LE, Carlton JT (1996) Post-establishment spread in large-scale invasions: dispersal mechanisms of the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Ecology* **77**, 1686-1690.
- Johnson LE, Padilla DK (1996) Geographic spread of exotic species : ecological lessons and opportunities from the invasion of the Zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Biological conservation* **78**, 23-33.
- Johnson MP, Allcock AL, Pye SE, Chambers SJ, Fitton DM (2001) The effects of dispersal mode on the spatial distribution patterns of intertidal molluscs. *Journal of Animal Ecology* **70**, 641-649.

- Johnson MP, Watts RJ, Black R (1994) High levels of genetic subdivision in peripherally isolated populations of the atherinid fish *Craterocephalus capreoli* in the Houtman Abrolhos Islands, Western Australia. *Marine Biology* **119**, 179-184.
- Johnson MS (1988) Founder effects and geographic variation in the land snail *Theba pisana*. *Heredity, Lond.* **61**, 133-142.
- Johnson MS, Black R (1982) Chaotic genetic patchiness in an intertidal limpet, *Siphonaria* sp. *Marine Biology* **70**, 157-164.
- Johnson MS, Black R (1984) Pattern beneath the chaos: the effect of recruitment on genetic patchiness in an intertidal limpet. *Evolution* **38**, 1371-1383.
- Johnson MS, Black R (1998) Effects of isolation by distance and geographical discontinuity on genetic subdivision of *Littoraria cingulata*. *Marine Biology* **132**, 295-303.
- Johnson MS, Creagh S, Moran M (1986) Genetic subdivision of stocks of snapper, *Chrysophrys unicolor*, in Shark Bay, Western Australia. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **37**, 337-345.
- Jollivet D, Empis A, Baker MC, *et al.* (2000) Reproductive biology, sexual dimorphism, and population structure of the deep sea hydrothermal vent scale-worm, *Branchiopolynoe seepensis* (Polychaeta : Polymoidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **80**, 55-68.
- Jolly MT, Jollivet D, Gentil F, Thiébaud E, Viard F (2004) Sharp genetic break between Atlantic and English Channel populations of the polychaete *Pectinaria koreni*, along the North coast of France. *Heredity*, Online publication 11/08/04.
- Jolly MT, Viard F, Weinmayr G, *et al.* (2003) Does the genetic structure of *Pectinaria koreni* (polychaeta: Pectinariidae) conform to a source-sink metapopulation model at the scale of the Baie de Seine ? *Helgoland Marine Research* **56**, 238-246.
- Jorde PE, Ryman N (1995) Temporal allele frequency change and estimation of effective size in populations with overlapping generations. *Genetics* **139**, 1077-1090.
- Jousson O, Pawlowski J, Zaninetti L, Meinesz A, Boudouresque CF (1998) Molecular evidence for the aquarium origin of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced to the mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series* **172**, 275-280.
- Jousson O, Pawlowski J, Zaninetti L, *et al.* (2000) Invasive alga reaches California. *Nature* **409**, 157-158.
- Keane B, Dittus WP, Melnick DJ (1997) Paternity assessment in wild groups of toque macaques *Macaca sinica* at Polonnaruwa, Sri Lanka using molecular markers. *Molecular Ecology* **6**, 267-282.
- Kelaher BP, Rouse GW (2003) the role of colonization in determining spatial patterns of *Proscoloplos bondi* sp. nov. (Orbiniidae: Annelida) in coralline algal turf. *Marine Biology* **143**, 909-917.
- Knight AJ, Hughes RN, Ward RD (1987) A striking example of the founder effect in the mollusc *Littorina saxatilis*. *Biological Journal of the Linnean Society* **32**, 417-426.
- Knight ME, Turner GF, Rico C, Van Oppen MJH, Hewitt GM (1998) Microsatellite paternity analysis on captive Lake Malawi cichlids supports reproductive isolation by direct mate choice. *Molecular Ecology* **7**, 1605-1610.
- Koehn RK, Williams GC (1978) Genetic differentiation without isolation in the american eel, *Anguilla rostrata*. II. Temporal stability of geographic patterns. *Evolution* **32**, 624-637.
- Kolbe JJ, Glor RE, Schettino LR, *et al.* (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* **431**, 177-181.
- Kordos LM, Burton RS (1993) Genetic differentiation of Texas Gulf Coast populations of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Marine Biology* **117**, 227-233.

- Kozloff EN (1974) *Keys to the marine invertebrates of Puget Sound, The San Juan archipelago and adjacent regions* Thesis, University of Washington, p. 226.
- Kraaijeveld-Smit FJL, Ward SJ, Temple-Smith PD, Paetkau D (2002) Factors influencing paternity success in *Antechinus agilis*: last-male sperm precedence, timing of mating and genetic compatibility. *Journal of Evolutionary Biology* **15**, 100-107.
- Larson RJ, Julian RM (1999) Spatial and temporal genetic patchiness in marine populations and their implications for fisheries management. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.* **40**, 94-99.
- Lazure P, Salomon J-C (1991) Etude par modèles mathématiques de la circulation marine entre Quiberon et Noirmoutier. *Oceanologica acta* **SP-N°11**, 93-99.
- Le Gall P (1980) *Etude expérimentale d'association en chaîne et de son influence sur la croissance et la sexualité chez la crépidule (Crepidula fornicata Linné 1758)* Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences de Caen, p. 250.
- Le Pape O, Guérault D, Désaunay Y (2004) Effect of an invasive mollusc, American slipper limpet *Crepidula fornicata*, on habitat suitability for juvenile common sole *Solea solea* in the Bay of Biscay. *Marine Ecology Progress Series* **277**, 107-115.
- Leblois R, Rousset F, Tikel D, Moritz C, Estoup A (2000) Absence of evidence for isolation by distance in an expanding cane toad (*Bufo marinus*) population: an individual-based analysis of microsatellite genotypes. *Molecular Ecology* **9**, 1905-1909.
- Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology and Evolution* **17**, 386-391.
- Lefebvre A, Ellien C, Davoult D, Thiébault E, Salomon JC (2003) Pelagic dispersal of the brittle-star *Ophiothrix fragilis* larvae in a megatidal area (English Channel, France) examined using an advection/diffusion model. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **57**, 421-433.
- Leigh EG, Charnov EL, Warner RR (1976) Sex ratio, sex change and natural selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the US* **73**, 3655-3660.
- Lenfant P, Planes S (2002) Temporal genetic changes between cohorts in a natural population of a marine fish, *Diplodus sargus*. *Biological Journal of the Linnean Society* **76**, 9-20.
- Lessios HA, Kessing BD, Robertson DR, Paulay G (1999) Phylogeography of the pantropical sea urchin *Eucidaris* in relation to land barriers and ocean currents. *Evolution* **53**, 806-817.
- Lessios HA, Weinberg JR, Starczak VR (1994) Temporal variation in populations of the marine isopod *Exirolana*: how stable are gene frequencies and morphology? *Evolution* **48**, 549-563.
- Li G, Hedgecock D (1998) Genetic heterogeneity, detected by PCR-SSCP, among samples of larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) supports the hypothesis of large variance in reproductive success. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55**, 1025-1033.
- Lubet P, Le Gall P (1972) Recherches préliminaires sur la structure des populations de *Crepidula fornicata*, mollusque gastéropode. *Bulletin de la Société Zoologique de France* **97**, 211-222.
- Luikart G, Cornuet JM (1997) Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* **12**, 228-237.
- Luikart G, Cornuet J-M, Allendorf FW (1998) Temporal changes in allele frequencies provide estimates of population bottleneck size. *Conservation Biology*.
- Mac Millan NF (1938) Early records of *Crepidula* in English waters. *Proceedings of the Malacological Society of London* **23**, 236.

- MacDonald PDM, Green PEJ (1986) Users's guide to program MIX: an interactive program for fitting mixtures of distributions. technical notes. Hamilton : Ichthus Data Systems.
- MacDonald PDM, Pitcher TJ (1979) Age-groups from size-frequency data: a versatile and efficient method of analysing distribution mixtures. *Journal of the Fish Resource Board of Canada* **36**, 987-1001.
- Mann R, Bureson EM, Baker PK (1991) The decline of the Virginia oyster fishery in Chesapeake Bay: considerations for introduction of a non-endemic species, *C. gigas* (Thnberg, 1793). *Journal of Shellfish Research* **10**, 379-388.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* **27**, 209-220.
- Marsden JE, Spidle A, May B (1995) Genetic similarity among zebra mussel populations within North America and Europe. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **52**, 836-847.
- Marsden JE, Spidle AP, May B (1996) Review of genetic studies of *Dreissena* spp. *American Zoologist* **36**, 259-270.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton JM (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* **7**, 639-655.
- Marteil L (1963) La crépidule (*Crepidula fornicata* L.) en France. *Sciences et Pêche* **121**, 1-6.
- Martel C, Viard F, Bourguet D, Garcia-Meunier P (2004a) invasion by the marine gastropod *Ocenebrellus inornatus* in France I. Scenario for the source of introduction. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **305**, 155-170.
- Martel C, Viard F, Bourguet D, Garcia-Meunier P (2004b) Invasion by the marine gastropod *Ocenebrellus inornatus* in France. II. Expansion along the Atlantic coast. *Marine Ecology Progress Series* **273**, 163-172.
- Marty R, Desroy N, Bureau S, Retière C (2003) Relationship between density and feeding frequency for reared larvae of the gastropod *Crepidula fornicata*. *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.* **83**, 499-500.
- Maruyama T, Fuerst PA (1984) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. I. Allele numbers when populations evolve from zero variability. *Genetics* **108**, 745-763.
- Maruyama T, Fuerst PA (1985) Population bottlenecks and non-equilibrium models in population genetics. III. Genic homozygosity in populations which experience periodic bottlenecks. *Genetics* **111**, 691-703.
- McDonald JH, Seed R, Koehn RK (1991) Allozyme and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres. *Marine Biology* **111**, 323-333.
- McQuaid CD, Phillips TE (2000) Limited wind-driven dispersal of intertidal mussel larvae: *in situ* evidence from the plankton and the spread of the invasive species *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Ecology Progress Series* **201**, 211-220.
- Meagher TR (1986) Analysis of paternity within a natural population of *Chamaelirium luteum*. 1. Identification of most-likely male parents. *The American Naturalist* **128**, 199-215.
- Meixner MD, Mcpheron BA, Silva JG, Gasparich GE, Sheppard WS (2002) The Mediterranean fruit fly in California: evidence for multiple introductions and persistent populations based on microsatellite and mitochondrial DNA variability. *Molecular Ecology* **11**, 891-899.
- Muchembled L (2004) Etude de la distribution spatiale des larves de mollusques en baie du Mont Saint-Michel, p. 30. Filière Biostages, Université Lille 1.
- Müller J, Wöll S, Fuchs U, Seitz A (2001) Genetic interchange of *Dreissena polymorpha* populations across a canal. *Heredity* **86**, 103-109.

- Müller JC, Griebeler EM (2002) Genetics on invasive species. In: *Invasive Aquatic Species of Europe* (eds. Leppäkoski E, Gollash S, Olenin S). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Munoz RC, Warner RR (2003) A new version of the size-advantage hypothesis for sex-change: incorporating sperm competition and size-fecundity skew. *The American Naturalist* **161**, 749-761.
- Munoz RC, Warner RR (2004) Testing a new version of the size-advantage hypothesis for sex change: sperm competition and size-skew effects in the bucktooth parrotfish, *Sparisoma radians*. *Behavioral Ecology* **15**, 129-136.
- Myers JH, Simberloff D, Kuris AM, Carey JR (2000) Eradication revisited: dealing with exotic species. *Trends in Ecology and Evolution* **15**, 316-320.
- Nathan R (2001) The challenges of studying dispersal. *Trends in Ecology & Evolution* **16**, 481-483.
- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics* Columbia University Press, New-York.
- Nei M, Kumar S (2000) *Molecular evolution and phylogenetics* Oxford University Press, Inc., New York.
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* **29**, 1-10.
- Nishida M, Lucas JS (1988) Genetic differences between geographic populations of the Crown-of-thorns starfish throughout the Pacific region. *Marine Biology* **98**, 359-368.
- Olsson M, Shine R (1997) Advantages of multiple matings to females: a test of the infertility hypothesis using lizards. *Evolution* **51**, 1684-1688.
- Orensanz JM, Schwindt E, Pastorino G, *et al.* (2002) No longer the pristine confines of the world ocean: a survey of exotic marine species in the southwestern Atlantic. *Biological Invasions* **4**, 115-143.
- Orton JH (1909) On the occurrence of protandric hermaphroditism in the mollusc *Crepidula fornicata*. *Proceedings of the Royal Society of London B*. **81**, 468-484.
- Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate : a simulation-based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology* **13**, 55-65.
- Palm S, Laikre L, Jorde PE, Ryman N (2003) Effective population size and temporal genetic change in stream resident brown trout (*Salmo trutta*, L.). *Conservation Genetics* **4**, 249-264.
- Palumbi SR (1992) Marine speciation on a small planet. *Trends in Ecology and Evolution* **7**, 114-118.
- Palumbi SR (1994) Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematic* **25**, 547-572.
- Palumbi SR (1995) Using genetics as an indirect estimator of larval dispersal. In: *Ecology of marine invertebrate larvae* (ed. McEdward LR), pp. 369-387. CRC Press, Boca Raton.
- Palumbi SR (1996) What can molecular genetics contribute to marine biogeography? An urchin's tale. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **203**, 75-92.
- Palumbi SR, Grabowsky G, Duda T, Geyer L, Tachino N (1997) Speciation and population genetic structure in tropical Pacific sea urchins. *Evolution* **51**, 1506-1517.
- Parsons PA (1987) Features of colonizing animals: phenotypes and genotypes. In: *Colonization, succession and stability* (eds. Gray AJ, Crawley MJ, Edwards PJ), pp. 133-154. Blackwell scientific publications, Oxford.
- Pasteur N, Pasteur G, Bonhomme F, Catalan J, Britton-Davidian J (1987) *Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines* Lavoisier, Paris.
- Pechenik JA (1999) On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Marine Ecology Progress Series* **177**, 269-297.

- Pechenik JA, Blanchard M, Rotjan R (2004) Susceptibility of larval *Crepidula fornicata* to predation by suspension-feeding adults. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **306**, 75-94.
- Pechenik JA, Gee CC (1993) Onset of metamorphic competence in larvae of the gastropod *Crepidula fornicata* (L.), judged by a natural and artificial cue. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **167**, 59-72.
- Pechenik JA, Gleason T, Daniels D, Champlin D (2001) Influence of larval exposure to salinity and cadmium stress on juvenile performance of two marine invertebrates (*Capitella* sp. I. and *Crepidula fornicata*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **264**, 101-114.
- Pechenik JA, Hammer K, Weise C (1996) The effect of starvation on acquisition of competence and post-metamorphic performance in the marine prosobranch gastropod *Crepidula fornicata* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **199**, 137-152.
- Pechenik JA, Jarrett JN, Rooney J (2002) Relationships between larval nutritional experience, larval growth rates, juvenile growth rates, and juvenile feeding rates in the prosobranch gastropod *Crepidula fornicata*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **280**, 63-78.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet J-M, al. e (soumis) GeneClass2 : a software for genetic assignment and firsts generation migrants detection.
- Policansky D (1981) Sex choice and the size advantage model in jack-in-the-pulpit (*Arisaema triphyllum*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the US* **78**, 1306-1308.
- Policansky D (1982) Sex change in plants and animals. *Annual Review of Ecology and Systematic* **13**, 471-495.
- Posada D, Crandall KA (2001) Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology and Evolution* **16**, 37-45.
- Queller DC, Goodnight KF (1989) Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution* **43**, 258-275.
- Race MS (1982) Competitive displacement and predation between introduced and native mud snails. *Oecologia* **54**, 337-347.
- Radosevich SR, Stubbs MM, Ghersa CM (2003) Plant invasions- processes and patterns. *Weed Science* **51**, 254-259.
- Rannala B, Mountain JL (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **94**, 9197-9201.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *The Journal of Heredity* **86**, 248-249.
- Reise K, Gollasch S, Wolff WJ (1999) Introduced marine species of the North Sea coasts. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* **52**, 219-234.
- Retière C (1980) *Contribution à la connaissance des peuplements benthiques du golfe normano-breton*. Thèse de doctorat, Université de Rennes, p. 431.
- Reznick DN, Ghalambor CK (2001) The population ecology of contemporary adaptations: what empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica* **112-113**, 183-198.
- Riccardi N, Giussani G, Margaritora F, Couchaud B (2004) Population dynamics of the pioneer population of *Daphnia parvula*, Fordyce durant l'invasion of Lake Candia (Norther Italy). *Journal of Limnology* **63**, 44-52.
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* **43**, 223-225.
- Ross HA (1983) Genetic differentiation of starling (*Sturnus vulgaris*: Aves) populations in New Zealand and Great Britain. *Journal of Zoology, London* **201**, 351-362.

- Ross RM, Losey GS, Diamond M (1983) Sex change in a coral reef fish: dependence on stimulation and inhibition on relative size. *Science* **221**, 574-575.
- Rousset F (2001) Inferences from spatial population genetics. In: *Handbook of Statistical Genetics* (eds. Balding D, Bishop M, Cannings C), pp. 239-269. Wiley.
- Ruiz GM, Carlton JT, Grosholz ED, Hines AH (1997) Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: mechanisms, extent, and consequences. *American Zoologist* **37**, 621-632.
- Ruzzante DE, Taggart CT, Cook D (1996) Spatial and temporal variation in the genetic composition of a larval cod (*Gadus morhua*) aggregation: cohort contribution and genetic stability. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **53**, 2695-2705.
- Ryman N (1997) Minimizing adverse effects of fish culture: understanding the genetics of populations with overlapping generations. *ICES Journal of Marine Science* **54**, 1149-1159.
- Saavedra C, Zapata C, Guerra A, Alvarez G (1993) Allozyme variation in European populations of the oyster *Ostrea edulis*. *Marine Biology* **115**, 85-95.
- Safriél UN, Ritte U (1980) Criteria for the identification of potential colonizers. *Biological Journal of the Linnean Society* **13**, 287-297.
- Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS, *et al.* (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematic* **32**, 305-332.
- Salomon J-C (1990) Role of instantaneous and long-term water movements on the recruitment and life of benthic fauna in the English Channel. *La mer* **28**, 211-217.
- Salomon JC, Breton M (1993) An atlas of long-term currents in the Channel. *Oceanologica acta* **16**, 439-448.
- Salomon J-C, Breton M (1991) Courants résiduels de marée dans la Manche. *Oceanologica acta* **SP-N°11**, 47-53.
- Salomon J-C, Breton M, Guéguéniat P (1993) Computed residual flow through the Dover Strait. *Oceanologica Acta* **16**, 449-455.
- Samadi S, Mavarez J, Delay B, Jarne P (1999) Microsatellite and morphological analysis of population structure in the parthenogenetic freshwater snail *Melanoides tuberculata*: insights into the creation of clonal variability. *Molecular Ecology* **8**, 1141-1143.
- Sarver SK, Foltz DW (1993) Genetic population structure of a species' complex of blue mussels (*Mytilus* spp.). *Marine Biology* **117**, 105-112.
- Sauriau P-G (1991) Spread of *Cyclope neritea* (Mollusca : Gastropoda) along the north-eastern Atlantic coasts in relation to oyster culture and to climatic fluctuations. *Marine Biology* **109**, 299-309.
- Sauriau PG, Pichockiseyfried C, Walker P, DeMontaudouin X (1998) *Crepidula fornicata* L. (Mollusca, Gastropoda) in the Marennes-Oléron Bay: side-scan sonar mapping of subtidal beds and stock assessment. *Oceanologica Acta* **21**, 353-362.
- Sax DF, Brown JH (2000) The paradox of invasion. *Global Ecology & Biogeography* **9**, 363-371.
- Scheltema RS (1986) On dispersal and planktonic larvae of benthic invertebrates: an eclectic overview and summary of problems. *Bulletin of Marine Science* **39**, 290-332.
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) Arlequin: a software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Lab, Dept of Anthropology, University of Geneva.
- Scribner KT, Arntzen JW, Burke T (1997) Effective number of breeding adults in *Bufo bufo* estimated from age-specific variation at minisatellite loci. *Molecular Ecology* **6**, 701-712.
- Seed R (1992) Systematics, evolution, and distribution of mussels belonging to the genus *Mytilus*: an overview. *American Malacological Bulletin* **9**, 123-137.

- Selander RK, Ochman H (1983) The genetic structure of populations as illustrated by molluscs. *Isosymes* **10**, 93-123.
- Shigesada N, Kawasaki K (1997) *Biological Invasions: Theory and Practice* Oxford University Press, Oxford.
- Sjotun K (1997) A new observation of *Crepidula fornicata* (Prosobranchia, Calyptraeidae) in western Norway. *Sarsia* **82**, 275-276.
- Slatkin M (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* **47**, 264-279.
- Sokal RR, Rohlf FJ (1995) *Biometry*, third edition edn. W. H. Freeman and Company, New York, USA.
- Soong K, Chen J-L (1991) Population structure and sex-change in the coral-inhabiting snail *Coralliophila violacea* at Hsiao-Liuchiu, Taiwan. *Marine Biology* **111**, 81-86.
- Soucy S, Travis J (2003) Multiple paternity and population genetic structure in natural populations of the poeciliid fish, *Heterandria formosa*. *Journal of Evolutionary Biology* **16**, 1328-1336.
- Stoner DS, Ben-Schlomo R, Rinkevich B, Weissman IL (2002) Genetic variability of *Botryllus schlosseri* invasions to the east and west coasts of the USA. *Marine Ecology Progress Series* **243**, 93-100.
- Strasser M (1999) *Mya arenaria* - an ancient invader of the North Sea coast. *Helgoländer Meeresunters* **52**, 309-324.
- Strathmann R (1974) The spread of sibling larvae of sedentary marine invertebrates. *The American Naturalist* **108**, 29-44.
- Strathmann R (1985) Feeding and nonfeeding larval development and life-history evolution in marine invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematic* **16**, 339-361.
- Sugg DW, Chesser RK (1994) Effective population sizes with multiple paternity. *Genetics* **137**, 1147-1155.
- Swofford DL, Selander RB (1989) BIOSYS-1 a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Swofford, D.L., Illinois.
- Thiébaud E, Dauvin J-C, Lagadeuc Y (1994) Horizontal distribution and retention of *Owenia fusiformis* larvae (Annelida: Polychaeta) in the Bay of Seine. *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.* **74**, 129-142.
- Thieltges DW, Strasser M, van Beusekom JEE, Reise K (2004) Too cold to prosper - winter mortality prevents population increase of the introduced American slipper limpet *Crepidula fornicata* in northern Europe. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **311**, 375-391.
- Thorson G (1950) Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biological Review* **25**, 1-45.
- Tie AD, Boulding EG, Naish K-A (2000) Polymorphic microsatellite DNA markers for the marine gastropod *Littorina subrotundata*. *Molecular Ecology* **9**, 108-109.
- Todd CD, Lambert WJ, Thorpe JP (1998) The genetic structure of intertidal populations of two species of nudibranch molluscs with planktotrophic and pelagic lecithotrophic larval stage : are pelagic larvae "for" dispersal ? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **228**, 1-28.
- Tregenza T, Wedell N (2000) Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage: Invited review. *Molecular Ecology* **9**, 1013-1027.
- Tremblay MJ, Loder JW, Werner FE, et al. (1994) Drift of sea scallop larvae *Placopecten magellanicus* on Georges Bank: a model study of the roles of mean advection, larval behavior and larval origin. *Deep Sea Research II* **41**, 7-49.

- Tremblay MJ, Sinclair M (1988) Planktonic sea scallop larvae (*Placopecten magellanicus*) in the Georges Bank region: broadscale distribution in relation to physical oceanography. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **49**, 1597-1615.
- Tsai M-L, Dai C-F (2001) Life history plasticity and reproductive strategy enabling the invasion of *Ligia exotica* (Crustacea: isopoda) from the littoral zone to an inland creek. *Marine Ecology Progress Series* **210**, 175-184.
- Tsutsui ND, Suarez AV, Holway DA, Case TJ (2000) Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **97**, 5948-5953.
- Tsutsui ND, Suarez AV, Holway DA, Case TJ (2001) Relationships among native and introduced populations of the Argentine ant (*Linepithema humile*) and the source of introduced populations. *Molecular Ecology* **10**, 2151-2161.
- Vermeij GJ (1996) An agenda for invasion biology. *Biological Conservation* **78**, 3-9.
- Viard F (1996) *Autofécondation et migration en population subdivisées : apport des marqueurs microsatellites chez le gastéropode Bulinus truncatus* Thèse de Doctorat, Université Montpellier II, p. 87.
- Viard F, Brémond P, Labbo R, et al. (1996) Microsatellites and the genetics of highly selfing populations in the freshwater snail *Bulinus truncatus*. *Genetics* **142**, 1237-1247.
- Viard F, Doums C, Jarne P (1997a) Selfing, sexual polymorphism and microsatellites in the hermaphroditic freshwater snail *Bulinus truncatus*. *Proceedings of the Royal Society of London B* **264**, 39-44.
- Viard F, Justy F, Jarne P (1997b) Population dynamics inferred from temporal variations at microsatellite loci in the selfing snail *Bulinus truncatus*. *Genetics* **146**, 973-982.
- Villablanca FX, Roderick GK, Palumbi SR (1998) Invasion genetics of the mediterranean fruit fly: variation in multiple nuclear introns. *Molecular Ecology* **7**, 547-560.
- Vitousek PM, D'Antonio CM, Loope LL, Westbrooks R (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist*. **84**, 218-228.
- Waples RS (1998) Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity* **89**, 438-450.
- Warner RR (1975) The adaptive significance of sequential hermaphroditism in animals. *The American Naturalist* **109**, 61-82.
- Warner RR, Chesson PL (1985) Coexistence mediated by recruitment fluctuations: a field guide to the storage effect. *The American Naturalist* **125**, 769-787.
- Warner RR, Robertson DR, Leigh EG, Jr (1975) Sex change and sexual selection. *Science* **196**, 633-638.
- Warner RR, Swearer S (1991) Social control of sex change in the bluehead wrasse, *Thalassoma bifasciatum* (Pisces: Labridae). *Biological Bulletin* **181**, 199-201.
- Warner RW, Fitch DL, Standish JD (1996) Social control of sex change in the shelf limpet, *Crepidula norrisiarum* : size-specific responses to local group composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **204**, 155-167.
- Watts RJ, Johnson MS, Black R (1990) Effects of recruitment on genetic patchiness in the urchin *Echinometra mathaei* in Western Australia. *Marine Biology* **105**, 145-151.
- Weinmayr G (1999) *Apports des marqueurs microsatellites à l'étude de la dispersion réelle en Manche d'espèces d'annélides polychètes à cycle benthopélagique* Thèse de Doctorat, Université Paris 6, p. 179.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358-1370.
- White RG, Hill AE, Jones DA (1988) Distribution of *Nephrops norvegicus* (L.) larvae in the western Irish Sea: an exemple of advective control on recruitment. *Journal of Plankton Research* **10**, 735-747.

- Whitlock MC (1992) Nonequilibrium population structure in forked fungus beetles: extinction, colonization, and the genetic variance among populations. *The American Naturalist* **139**, 952-970.
- Whitlock MC, McCauley DE (1999) Indirect measures of gene flow and migration: $F_{st} = 1/(4Nm+1)$. *Heredity* **82**, 117-125.
- Whittier JM, Limpus D (1996) Reproductive patterns of a biologically invasive species: the brown tree snake (*Boiga irregularis*) in eastern Australia. *Journal of Zoology - London* **238**, 591-597.
- Wilczynski JZ (1955) On sex behaviour and sex determination in *Crepidula fornicata*. *Biological Bulletin* **109**, 353-354.
- Wilczynski JZ (1958) On sex behaviour and sex determination in *Crepidula fornicata* L. *Publ. Univ. Liban.* **4**, 5-31.
- Williamson M (1996) *Biological invasions* Chapman & Hall, London.
- Williamson M, Fitter A (1996) The varying success of invaders. *Ecology* **77**, 1661-1666.
- Wilson AB, Naish K-A, Boulding EG (1999) Multiple dispersal strategies of the invasive quagga mussel (*Dreissena bugensis*) as revealed by microsatellite analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **56**, 2248-2261.
- Wilson K, Hardy ICW (2002) Statistical analysis of sex ratios: an introduction. In: *Sex ratios. Concepts and research methods* (ed. Hardy ICW), pp. 48-92. University Press, Cambridge.
- Wolff WJ, Reise K (2002) Oyster imports as a vector for the introduction of alien species into northern and western european coastal waters. In: *Invasive aquatic species of Europe. Distribution, impacts and management* (ed. Olenin S), pp. 193-205. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London.
- Worcester SE (1994) Adult rafting versus larval swimming: dispersal and recruitment of a botryllid ascidian on eelgrass. *Marine Biology* **121**, 309-317.
- Wright S (1921) Systems of mating. *Genetics* **6**, 111-178.
- Wright S (1940) Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist* **74**, 232-248.
- Wright S (1943) Isolation by distance. *Genetics* **28**, 114-138.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* **15**, 323-354.
- Wright WG (1988) Sex change in the Mollusca. *Trends in Ecology and Evolution* **3**, 137-140.
- Wright WG (1989) Intraspecific density mediates sex-change in the territorial patellacean limpet *Lottia gigantea*. *Marine Biology* **100**, 353-364.
- Zhao B, Qian P (2002) Larval settlement and metamorphosis in the slipper limpet *Crepidula onyx* (Sowerby) in response to conspecific cues and the cues from biofilm. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **269**, 39-51.
- Zibrowius H (1991) Ongoing modification of the Mediterranean marine fauna and flora by the establishment of exotic species. *Mesogee* **51**, 83-107.
- Zouros E, Foltz DW (1984) Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia* **25**, 583-591.

ANNEXES

ANNEXE 1

Inventaire des espèces invasives des bassins conchylicoles de la Manche et de l'Atlantique

Référence :

Gouletquer P, Bachelet G, Sauriau PG, Noel P (2002) Open Atlantic coast of Europe - A century of introduced species into French waters. In: *Invasive Aquatic Species of Europe* (eds. Leppäkoski E, Gollash S, Olenin S). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Introduced marine and brackish water species on the Atlantic and Channel coasts of France, Spain and Portugal. Origin: (N,S,W,E)A = Atlantic (NEA = North-East Atlantic outside the present area), C = cryptogenic species, IO = Indian Ocean, IP = Indo-Pacific, MED = Mediterranean, (N,S,W,E)P = Pacific, PC = Ponto-Caspian area. First record: Date = year of the first record, or probable time of introduction, in the area; Location = place of the first record in the area; * = first record in European waters (excl. Mediterranean). Mechanism of introduction: BW = ships' ballast water, COI = accidental release with commercial oyster industry, HP = hatchery production, IR = intentional release, P = parasite introduced with its host, PR = private release, SF = ships' fouling. Present status: established (E) or not established (NE) in the wild.

Taxa/species	Origin	First record (Date / Location)	Mechanism of introduction	Present status
<i>Ascetospora</i>				
<i>Bonamia ostreae</i> Pichot et al., 1979	NEP	*1978-79/Brittany	P (oyster)	E
<i>Haplosporidium nelsoni</i> Couch et al., 1966	NWP, then NEP?	*1970's ? 1993	P (oyster)	E?
<i>Bacillariophyta</i>				
<i>Coscinodiscus wailesii</i> Gran & Angst, 1931	NEP, NWP	1978/N Bay of Biscay and Normandy	BW or COI	E
<i>Odontella sinensis</i> (Grev.) Grunow, 1884	IP, NWP	≤ 1930	BW	E
<i>Pleurosigma planctonicum</i> Simonsen, 1974	IO?	*1966/Ouessant island (W Brittany)	BW	E
<i>Dinoflagellata</i>				
<i>Alexandrium leei</i> Balech, 1985	NWP	*1995/Douarnenez (W Brittany)	BW	E?
<i>A. minutum</i> Halim, 1960	SWP	*1985/NW Brittany	BW	E
<i>Gymnodinium catenatum</i> Graham, 1943	NWP	*1976/Galicia	BW	E
<i>G. cf. nagasakiense</i> Adachi & Fukuyo, 1979	NP	≤ 1976/NW Brittany	BW?	E
<i>Raphidophyta</i>				
<i>Fibrocapsa japonica</i> Toriumi & Takano, 1975	NWP	1991/Brittany	BW?	E
<i>Chlorophyta</i>				
<i>Codium fragile</i> (Suringar) Hariot, 1889 ssp. <i>tomentosoides</i> (van Goor) Silva, 1955	NWP	1946/Glénan islands & Concarneau (SW Brittany)	?	E
<i>Phaeophyta</i>				
<i>Colpomenia peregrina</i> (Sauvageau) Hamel, 1937	NEP	*1905/Vannes (S Brittany) and St- Vaast (Normandy)	COI	E
<i>Macrocytis pyrifera</i> (Linnaeus) C. Agardh, 1820	SEP	*1972/Roscoff (N Brittany)	IR	NE
<i>Sargassum muticum</i> (Yendo) Fensholt, 1955	NWP	1976/Barfleur (Normandy)	COI	E
<i>Undaria pinnatifida</i> (Harvey) Suringar, 1873	NWP, then MED	*1983/Rance estuary and Ouessant island (N & W Brittany)	COI, then IR	E
<i>Rhodophyta</i>				
<i>Anotrichium furcellatum</i> (J. Agardh) Baldock, 1976	NP, then MED	*≤ 1922/Channel	?	E
<i>Antithamnion densum</i> (Suhr) Howe, 1914	NP	*1960s/Brittany	?	E
<i>Antithamnionella spirographidis</i> (Schiffner) Wollaston, 1968	NP	?	COI or SF	E
<i>A. ternifolia</i> (J.D. Hooker & Harvey) Lyle, 1922	SP	1910	SF	E
<i>Asparagopsis armata</i> Harvey, 1855	SWP	*1925/Guéthary (SE Biscay)	COI or SF	E
<i>Bonnemaisonia hamifera</i> Hariot, 1891	NWP	1898/Cherbourg (Normandy)	SF	E
<i>Caulacanthus ustulatus</i> (Turner) Kützting, 1843	NWP (also known from NEA)	*1986/Roscoff (N Brittany)	COI	E
<i>Dasyisiphonia</i> sp.	NWP	*1990/Galicia	COI	E
<i>Grateloupia doryphora</i> (Montagne) Howe, 1914	NP	1989/Lorient (S Brittany)	COI	E
<i>G. luxurians</i> A. Gepp & E. Gepp, 1906	IP	1990/Galicia	COI	E
<i>Hypnea muciformis</i> (Wulfen) Lamouroux, 1813	NEA	*1900s/St-Vaast (Normandy)	COI	NE

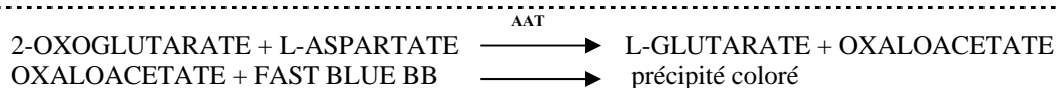
<i>Laurencia brongniartii</i> J. Agardh, 1841	NWP	*1989/Brest (W Brittany)	COI	E
<i>Lomentaria hakodatensis</i> (Yendo, 1920)	NWP	*1984/Roscoff (N Brittany)	COI	E
<i>Pikea californica</i> Harvey, 1853	NEP, NWP	1991/Galicia	SF (flying boat)	E
<i>Pleonosporium caribaeum</i> (Børgesen) Norris, 1985	IP, NWA	*1967/Brest (W Brittany)	?	E
<i>Polysiphonia harveyi</i> Bailey, 1848	NWA	1980s/Roscoff (N Brittany)	COI?	E
Magnoliophyta				
<i>Spartina alterniflora</i> Loiseleur-Deslongchamps, 1807	NWA	<1960/Brest (Brittany), Hossegor and Hendaye (SE Biscay)	?	E
<i>Spartina anglica</i> C.E. Hubbard, 1968	NEA	1894	?	E
<i>Spartina x townsendii</i> H. & J. Groves, 1881	NEA	1906/Brevends (Normandy)	IR?	E
<i>Spartina versicolor</i> Fabre, 1850	NWA	1901/Arcachon Bay (SE Biscay)	?	E
Cnidaria: Anthozoa				
<i>Aiptasia pulchella</i> Carlgren, 1943	NWP	*1973-74/Bourgneuf Bay and Le Croisic (NE Biscay)	COI	NE?
<i>Diadumene cincta</i> Stephenson, 1925	NP	1963/Ré island (E Biscay)	BW or SF	E
<i>Haliplanella lineata</i> (Verrill, 1869)	NWP	End of 19 th century + 1970s/Bay of Biscay	COI and/or SF	E
Cnidaria: Hydrozoa				
<i>Blackfordia virginica</i> Mayer, 1910	C	*1971/Loire estuary (NE Biscay)	BW or SF	NE?
<i>Cordylophora caspia</i> (Pallas, 1771)	PC	< 1901/Loire estuary (NE Biscay)	SF	E
<i>Gonionemus vertens</i> (Gosse, 1853)	NWP	19 th century/Portugal	BW or COI or SF	E
<i>Maeotias marginata</i> (Modeer, 1791)	PC	*1971/Loire estuary (NE Biscay)	BW or SF	NE?
<i>Nemopsis bachei</i> Agassiz, 1849	NWA	1953/Gironde estuary (E Biscay)	BW or SF	E
Platyhelminthes				
<i>Pseudodactylogyrus anguillae</i> (Yin & Sproston, 1948)	NWP	1984/South of France	P (eel)	E
<i>Pseudostylochus ostreophagus</i> (Hyman, 1955)	NWP	*1970s	P (oyster)	?
Bryozoa				
<i>Victoriella pavidia</i> Saville Kent, 1870	C	1960s/Arcachon Bay (SE Biscay)	?	E?
<i>Watersipora aterrima</i> (Ortmann, 1890)	NP	*1983/Arcachon Bay (SE Biscay)	COI	E?
Nematoda				
<i>Anguillicola crassus</i> Kuwahara, Niimi & Itagaki, 1974	NWP	1980s	P (eel)	E
Annelida: Polychaeta				
<i>Boccardia semibranchiata</i> Guérin, 1990	MED	*1999/Arcachon Bay (SE Biscay)	COI	E
<i>Ficopomatus enigmaticus</i> (Fauvel, 1923)	SWP	*1921/Caen (Normandy)	SF	E
<i>Hydroides dianthus</i> (Verrill, 1873)	NWA	*≤ 1927/Ré island (E Biscay)	BW or COI or SF	E
<i>H. ezoensis</i> Okuda, 1934	NWP	*1973-74/Bourgneuf Bay and Le Croisic (NE Biscay)	COI	NE
<i>Streblospio benedicti</i> Webster, 1879	NWA	*1982/Loire estuary (NE Biscay)	SF	E
Mollusca: Gastropoda				
<i>Corambe obscura</i> (Verrill, 1870)	NWA	1973/Fouras (E Biscay)	SF	E?
<i>Crepidula fornicata</i> (Linnaeus, 1758)	NWA	1949/Brest (W Brittany) and Hermanville (Normandy)	SF and COI	E
<i>Cyclope neritea</i> (Linnaeus, 1758)	MED, NEA	*1976/Arcachon Bay (SE Biscay)	COI	E
<i>Gibbula albida</i> (Gmelin, 1791)	MED	*1986/Arcachon Bay (SE Biscay)	COI	E

<i>Ocenebrellus inornatus</i> (Récluz, 1851)	NWP	*1995/Marennes-Oléron (E Biscay)	COI	E
<i>Potamopyrgus antipodarum</i> (Gray, 1843)	SWP	?	Freshwater barrels	E
<i>Rapana venosa</i> (Valenciennes, 1846)	NWP, then MED	*1998/Morbihan Gulf (NE Biscay)	PR	E?
<i>Urosalpinx cinerea</i> (Say, 1822)	NWA	1960s/Arcachon Bay (SE Biscay)	COI	NE
Mollusca: Bivalvia				
<i>Anomia chinensis</i> Philippi, 1849	NWP	*1973-74/Bourgneuf Bay and Le Croisic (NE Biscay)	COI	NE?
<i>Corbicula fluminalis</i> (Müller, 1774) + <i>C. fluminea</i> (Müller, 1774)	NWP	*1980 Dordogne river (SW France) and Tagus estuary (SW Portugal)	?	E
<i>Crassostrea angulata</i> (Lamarck, 1819)	NEA	*1866/Arcachon Bay (SE Biscay)	IR	E, then extinct
<i>C. gigas</i> (Thunberg, 1793)	NWP, then NEP	*1966/Marennes-Oléron (E Biscay)	IR	E
<i>C. rhizophorae</i> (Guilding, 1828)	SWA	*1976/Gironde estuary and La Tremblade (E Biscay)	IR (+ HP)	NE
<i>C. rivularis</i> (Gould, 1861)	NWP, IP, then NWA	*1994/La Tremblade (E Biscay)	HP	NE
<i>C. sikamea</i> (Amemiya, 1928)	NWP	*1994/La Tremblade (E Biscay)	HP	NE
<i>C. virginica</i> (Gmelin, 1791)	NWA	*1861/Arcachon Bay (SE Biscay)	IR	NE
<i>Ensis directus</i> (Conrad, 1843)	NWA	1991/North Sea coast	BW	E
<i>Mercenaria mercenaria</i> Linnaeus, 1758	NWA	1861/Arcachon Bay (SE Biscay), Seudre estuary (E Biscay), St Vaast (Normandy)	IR	NE
		1936-39/Morbihan Gulf (S Brittany)	IR	E
<i>Mya arenaria</i> (Linnaeus, 1758)	NWA	13 th -17 th centuries	IR?	E
<i>Ostrea angasi</i> Sowerby, 1871	SWP	*1985/Crach and Etel (S Brittany)	IR	NE
<i>O. denselamellosa</i> Lischke, 1869	NWP	*1982/Barfleur (Normandy)	HP	NE
<i>O. puelchana</i> d'Orbigny, 1846	SWA	*1989/Arcachon Bay (SE Biscay)	IR	NE
<i>Patinopecten yessoensis</i> (Jay, 1856)	NWP	1986-88/Brest (W Brittany)	IR	NE?
<i>Tapes philippinarum</i> Adams & Reeve, 1850	NWP, then NEP	*1973-74/Brittany-Normandy	IR	E
<i>Tiostrea chilensis</i> (Philippi, 1845)	SEP	1981-82/Morbihan Gulf (S Brittany)	IR	NE
Crustacea: Copepoda				
<i>Acartia tonsa</i> Dana, 1849	IP, NWA	1927/Caen (Normandy)	BW	E
<i>Eurytemora pacifica</i> Sato, 1913	NWP	*1985/Charente estuary (E Biscay)	BW or COI	E?
<i>Myicola ostreae</i> Hoshina & Sugiura, 1953	NWP	*1972/Marennes-Oléron, Gironde estuary and Arcachon Bay (E Biscay)	P (oyster)	E
<i>Mytilicola intestinalis</i> Steuer, 1902	MED	1949/Ailly (Normandy)	P (mussel)	E
<i>M. orientalis</i> Mori, 1935	NWP	*1977/Arcachon Bay (SE Biscay)	P (oyster)	E
<i>Pseudomyicola spinosus</i> (Raffaele & Monticelli, 1885)	MED	*1963/Arcachon Bay (SE Biscay)	P (mussel)	?
Crustacea: Cirripedia				
<i>Balanus albicostatus</i> Pilsbry, 1916	NWP	*1973-74/Bourgneuf Bay and Le Croisic (NE Biscay)	COI	NE?
<i>B. amphitrite amphitrite</i> Darwin, 1854	IO, SWP	*1934/San	BW or SF	E

<i>B. eburneus</i> Gould, 1841	NWA	Sebastian (SE Biscay) < 1940/La Rochelle (E Biscay)	BW or SF	E
<i>B. improvisus</i> Darwin, 1854	NWA	< 1872/between Charente and Capbreton (SE Biscay)	BW or SF	E
<i>Austrominius (Elminius) modestus</i> Darwin, 1854	SWP	≤ 1953/N and S Brittany	BW or SF	E
<i>Megabalanus tintinnabulum</i> (Linnaeus, 1758)	?	?/Loire Atlantique (NE Biscay)	BW or SF	NE?
<i>Solidobalanus fallax</i> (Broch, 1927)	?	?/Houat island (NE Biscay)	BW or SF	NE?
Crustacea: Mysidacea				
<i>Diamysis bahirensis</i> (G.O. Sars, 1877)	MED	*1995/Ria de Aveiro (NW Portugal)	BW	E
Crustacea: Isopoda				
<i>Synidotea laevidorsalis</i> (Miers, 1881)	NWP	*≤ 1975/Gironde estuary (SE Biscay)	BW or COI or SF	E
Crustacea: Amphipoda				
<i>Corophium sextonae</i> Crawford, 1937	SWP	1936/Rance estuary (N. Brittany)	SF	E
Crustacea: Decapoda				
<i>Brachynotus sexdentatus</i> (Risso, 1827)	MED	1997/La Rochelle (E Biscay)	?	NE?
<i>Callinectes sapidus</i> Rathbun, 1896	NWA	*1901/Rochefort (E Biscay)	?	NE
<i>Eriocheir sinensis</i> H. Milne-Edwards, 1853	NWP	1930s/Boulogne (E Channel)	BW	E
<i>Hemigrapsus penicillatus</i> (De Haan, 1835)	NWP	*1994/La Rochelle (E Biscay)	BW or COI	E
<i>H. sanguineus</i> (De Haan, 1835)	NWP	*1999/Le Havre (Normandy)	BW or SF	E?
<i>Macromedaeus voeltzkowi</i> (Lenz, 1905)	IO	*1910/St Vaast (Normandy)	SF	NE
<i>Marsupenaeus (Penaeus) japonicus</i> (Bate, 1888)	IP	*1980/Noirmoutier (NE Biscay)	HP	NE
<i>Parapilumnus maldardi</i> (De Man, 1913)	IP	*1910/St Vaast (Normandy)	SF	NE
<i>Rhithropanopeus harrisi</i> (Gould, 1841)	NWA	1955-56/Tancarville, Caen (Normandy) and Gironde estuary (SE Biscay)	BW or SF	E
Chordata: Tunicata				
<i>Molgula manhattensis</i> De Kay, 1841	NWA?	1840's (N. Brittany)	SF?	E
<i>Perophora japonica</i> Oka, 1927	NWP	*1982/Lézardrieux (N Brittany) and St-Vaast (Normandy)	COI	E
<i>Styela clava</i> Herdman, 1881	NWP	1968/Dieppe (Normandy)	BW or COI or SF	E
Chordata : Osteichthyes				
<i>Acipenser baeri</i> Brandt, 1869	NWP	*1999 Gironde estuary (SE Biscay)	Escape from HP	?

ANNEXE 2
Techniques de révélation des marqueurs
allozymiques

Aspartate-Amino-Transférase



- Tampon Tris A 80ml
- Acide Cetoglutarique 100mg
- Acide L-Aspartique 200mg
- Pyridoxal-5-phosphate 10mg

Incuber à 37°C 15 min

Ajouter :

- FAST BLUE BB 100mg

Incuber dans l'obscurité 30 min à 37°C

Estérase



- Phosphate B 100ml
- α + β Naphtyl 2% acétone 6ml

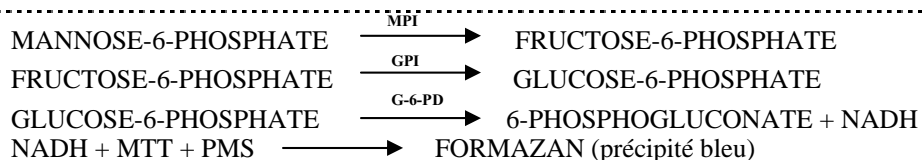
Incuber à température ambiante 15 min

Ajouter :

- FAST GARNETT GBC 100mg

Incuber 15 min

Mannose-Phosphate-Isomérase



- Tampon Tris A 10ml
- D-mannose-6-phosphate 20mg
- Pyruvate 20mg
- NAD 1% H₂O 1ml
- NADP 1% H₂O 0,5ml

Avant emploi ajouter :

- Glucose-phosphate-isomérase (10 UI) 6 μ l
- Glucose-6-phosphate-déshydrogénase (17UI) 6 μ l
- MTT 1% H₂O 1ml
- PMS 1% H₂O 0,25ml
- Agarose 1,5% Tris A 10ml

Incuber 30-60min à 37°C à l'obscurité

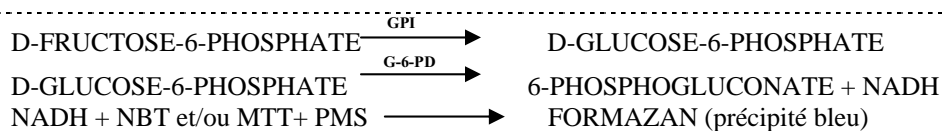
Malate-déshydrogénase – NAD dépendante



- Tampon Tris A	10ml
- Acide Malique 2M (pH7)	5ml
- MgCl ₂ (0,5M)	1ml
- NAD 1% H ₂ O	1ml
Avant emploi ajouter :	
- NBT 1% H ₂ O	1ml
- PMS 1% H ₂ O	0,5ml
- MTT 1% H ₂ O	1ml
- Agarose 1,5% Tris A	10m

Incuber 30-60min à 37°C à l'obscurité

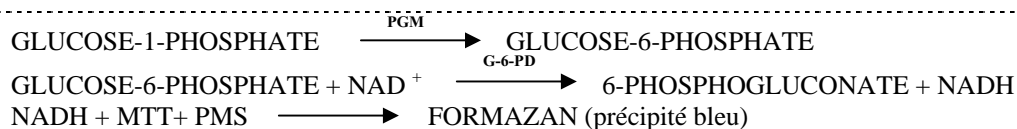
Phosphogluco-isomérase



- Tampon Tris A	10ml
- MgCl ₂ (0,5M)	1ml
- Fructose-6-phosphate	10mg
- NAD 1% H ₂ O	1ml
- NADP 1% H ₂ O	0,5ml
Avant emploi ajouter :	
- Glucose-6-phosphate-déshydrogénase (17UI)	6µl
- PMS 1% H ₂ O	0,5ml
- PMS 1% H ₂ O	0,5ml
- MTT 1% H ₂ O	0,5ml
- Agarose 1,5% Tris A	10ml

Incuber 30-60min à 37°C à l'obscurité

Phosphoglucomutase



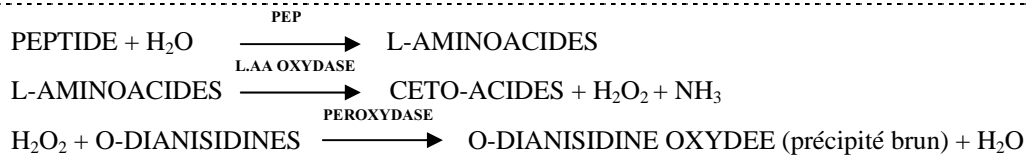
- Tampon Tris A	10ml
- MgCl ₂ (0,5M)	1ml
- Glucose-1-phosphate	300mg
- NAD 1% H ₂ O	1ml

Avant emploi ajouter :

- | | |
|---|-------|
| - Glucose-6-phosphate-déshydrogénase (17UI) | 6µl |
| - PMS 1% H ₂ O | 0,5ml |
| - PMS 1% H ₂ O | 0,5ml |
| - MTT 1% H ₂ O | 0,5ml |
| - Agarose 1,5% Tris A | 10ml |

Incuber 30-60min à 37°C à l'obscurité

Peptidase



Solution de peroxydase (90min avant emploi) :

- | | |
|---|-------|
| - Horseradish Acetone Powder (à broyer) | 100mg |
| - Acetone | 0,5ml |
| - Tampon Phosphate E | 15ml |

Agiter pendant 1 h

Avant emploi :

- | | |
|-----------------------------|------|
| - Peptide | 10mg |
| - O-dianisidine | 5mg |
| - L.Amino-Acide Oxydase | 5mg |
| - Solution de perixydase | |
| - MnCl ₂ (0,25M) | 1ml |
| - Agarose 1,5% Phosphate E | 15ml |

Incuber 30-60 min à l'obscurité à 37°C

ANNEXE 3

Marqueurs enzymatiques : fréquences alléliques

Fréquences alléliques et diversité génétique dans les populations françaises et la population américaine de *Crepidula fornicata* analysées à l'aide des marqueurs enzymatiques (Logiciel Pop100gene ; Piry & Bouget, 1999).

LOCUS		Gravelines	Port en Bessin	Cancalle	St Brieuc	Bréhat	Morlaix	Brest	Quiberon	Bourgneuf	Fouras	Arcachon	Sète	Fairhaven (USA)	Moyenne
Aat		Allele													
2N		98	100	100	100	72	148	100	100	96	98	98	102	100	
Nall		1	2	2	1	1	4	2	3	2	3	1	4	2	
	080	0	0	0	0	0	0,020	0	0	0	0	0	0,020	0,020	2,154
	090	0	0	0	0	0	0,007	0,020	0,030	0,031	0,010	0	0,020	0	
	100	1,000	0,990	0,980	1,000	1,000	0,966	0,980	0,940	0,969	0,980	1,000	0,951	0,980	
	110	0	0,010	0,020	0	0	0,007	0	0,030	0	0,010	0	0,010	0	
Ho		0,000	0,020	0,040	0,000	0,000	0,068	0,040	0,120	0,063	0,041	0,000	0,098	0,040	0,041
He		0,000	0,020	0,040	0,000	0,000	0,066	0,040	0,116	0,061	0,041	0,000	0,096	0,040	0,040
Est1															
2N		98	100	100	100	72	148	100	100	100	100	100	102	100	
Nall		1	2	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1,308
	100	1,000	0,990	0,990	1,000	0,986	1,000	1,000	1,000	1,000	0,990	1,000	1,000	1,000	
	110	0	0,010	0,010	0	0,014	0	0	0	0	0,010	0	0	0	
Ho		0,000	0,020	0,020	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,000	0,007
He		0,000	0,020	0,020	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,000	0,007
Leu-tyr															
2N		88	90	96	100	72	146	100	96	92	94	86	92	98	
Nall		3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2,846
	090	0,023	0,011	0	0,020	0,056	0,027	0,040	0,021	0,022	0,032	0	0,033	0,031	
	100	0,545	0,589	0,979	0,870	0,875	0,938	0,910	0,844	0,728	0,830	0,860	0,804	0,724	
	110	0,432	0,400	0,021	0,110	0,069	0,034	0,050	0,135	0,250	0,138	0,140	0,163	0,245	
Ho		0,568	0,400	0,042	0,220	0,083	0,123	0,140	0,313	0,413	0,340	0,233	0,217	0,388	0,268
He		0,521	0,499	0,041	0,233	0,230	0,118	0,169	0,272	0,411	0,294	0,243	0,329	0,418	0,291
Pgi															
2N		96	100	100	100	72	146	100	100	100	100	98	102	98	
Nall		5	3	4	3	3	4	4	3	3	3	3	4	4	3,538
	080	0,021	0	0,020	0	0	0,014	0,010	0	0	0	0	0,020	0,010	
	090	0,083	0,070	0,100	0,100	0,083	0,068	0,050	0,090	0,050	0,050	0,051	0,059	0,071	
	100	0,688	0,720	0,590	0,600	0,611	0,651	0,720	0,540	0,710	0,660	0,724	0,647	0,684	
	110	0,198	0,210	0,290	0,300	0,306	0,267	0,220	0,370	0,240	0,290	0,224	0,275	0,235	
	120	0,010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ho		0,458	0,420	0,540	0,460	0,611	0,466	0,360	0,460	0,440	0,480	0,408	0,471	0,551	0,471
He		0,486	0,437	0,563	0,545	0,534	0,504	0,435	0,569	0,440	0,483	0,426	0,507	0,477	0,493
Mpi															
2N		98	98	96	98	70	148	100	100	100	98	98	102	98	
Nall		4	3	4	4	2	3	2	4	5	4	4	4	4	3,615
	080	0	0	0	0	0	0	0	0,010	0,020	0,020	0	0,020	0,061	
	090	0,010	0	0,010	0,020	0	0	0	0,040	0,020	0,010	0,010	0,010	0,020	
	100	0,949	0,949	0,875	0,929	0,957	0,959	0,990	0,980	0,880	0,949	0,908	0,902	0,776	
	110	0,020	0,041	0,063	0,031	0,043	0,020	0	0,050	0,060	0	0,061	0,069	0,143	
	120	0,020	0,010	0,052	0,020	0	0,020	0,010	0	0,020	0,020	0,020	0	0	
Ho		0,102	0,102	0,208	0,102	0,029	0,081	0,020	0,200	0,200	0,061	0,184	0,157	0,408	0,143
He		0,100	0,099	0,230	0,137	0,083	0,079	0,020	0,188	0,223	0,100	0,173	0,183	0,378	0,153

Mdh1

2N	100	100	100	72	148	100	100	100	100	98	100	102	100
Nall	3	4	4	2	3	3	4	4	3	5	4	4	2
080	0,140	0,160	0,040	0,069	0,162	0,1140	0,070	0,080	0,140	0,051	0,080	0,020	0,060
090	0	0,030	0,060	0	0	0	0,020	0,010	0	0,031	0,020	0,029	0
100	0,830	0,780	0,890	0,931	0,784	0,780	0,780	0,800	0,780	0,796	0,863	0,863	0,940
110	0,030	0,030	0,010	0	0,054	0,080	0,130	0,110	0,080	0,112	0,041	0,088	0
120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,010	0	0	0
Ho	0,220	0,360	0,220	0,139	0,297	0,400	0,340	0,300	0,400	0,327	0,245	0,235	0,080
He	0,594	0,368	0,205	0,131	0,359	0,369	0,373	0,345	0,387	0,354	0,249	0,249	0,114
3.538													

Mdh2

2N	100	100	100	70	148	100	100	100	100	98	100	102	100
Nall	1	3	3	3	3	2	1	1	2	2	2	1	1
090	0	0,010	0,940	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	1,000	1,000	0,929	0,926	0,990	0,990	1,000	1,000	0,970	0,990	1,000	1,000	1,000
110	0	0,50	0,029	0,027	0,010	0	0	0	0,030	0,010	0	0	0
120	0	0	0	0,043	0,047	0	0	0	0	0	0	0	0
Ho	0,000	0,080	0,143	0,143	0,068	0,020	0,000	0,000	0,020	0,020	0,000	0,000	0,030
He	0,040	0,115	0,137	0,141	0,141	0,020	0,000	0,000	0,059	0,020	0,000	0,000	0,041

Pgm

2N	100	100	100	72	146	100	98	100	98	100	102	100
Nall	4	5	4	4	5	3	4	4	5	4	4	4
080	0	0,010	0	0,028	0,062	0	0	0	0,010	0	0	0
090	0,173	0,167	0,170	0,167	0,171	0,240	0,071	0,100	0,082	0,153	0,108	0,140
100	0,673	0,667	0,650	0,681	0,603	0,590	0,704	0,680	0,714	0,612	0,735	0,580
110	0,133	0,146	0,140	0,125	0,130	0,170	0,214	0,160	0,184	0,204	0,078	0,110
120	0,020	0,010	0,040	0	0,034	0	0,010	0,060	0,010	0,031	0,078	0,170
Ho	0,490	0,500	0,520	0,500	0,575	0,620	0,367	0,420	0,490	0,510	0,471	0,560
He	0,503	0,512	0,533	0,500	0,590	0,571	0,458	0,503	0,454	0,565	0,440	0,609
4.154												

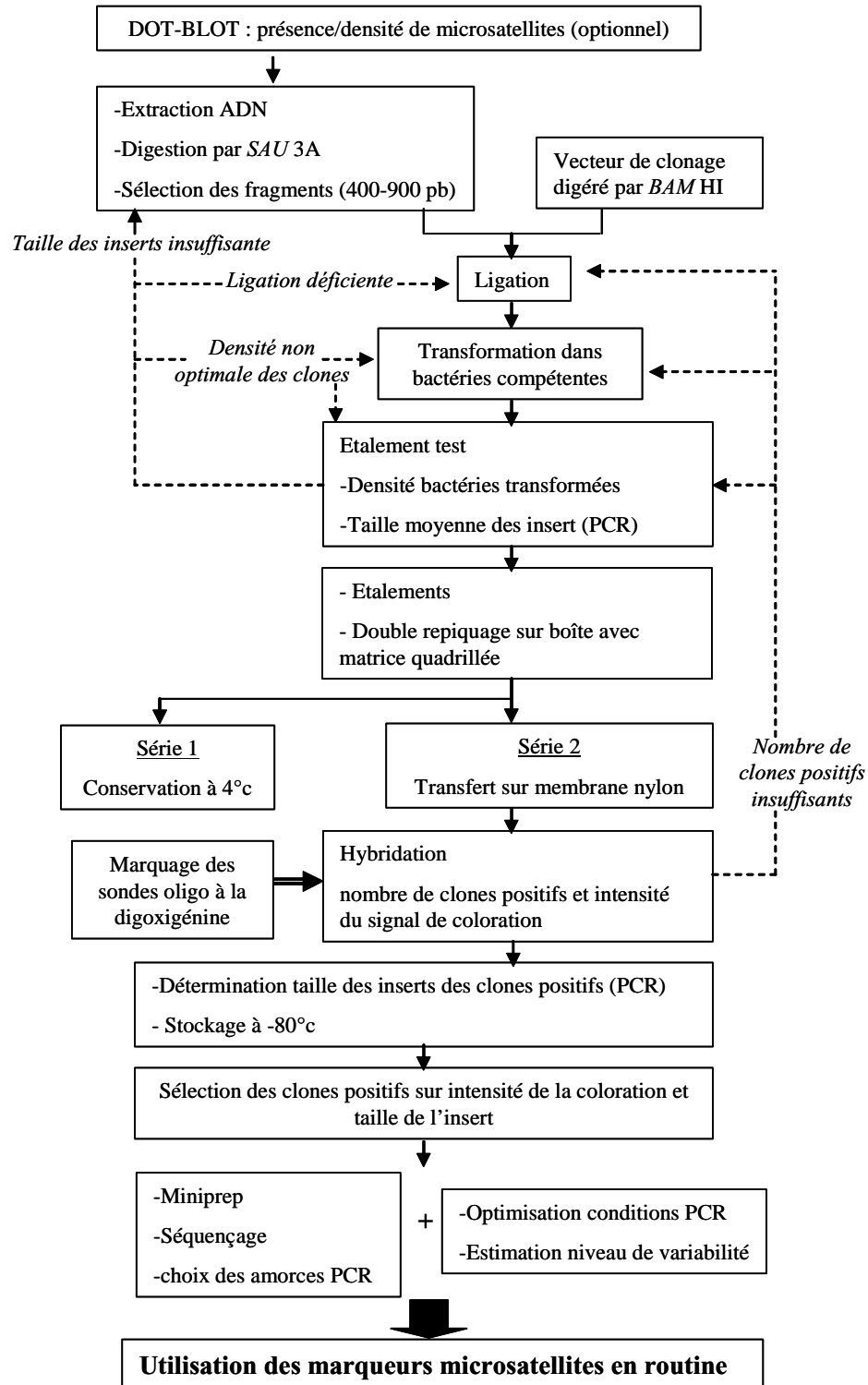
MULTILOCUS

Nall moyen	2,625	2,875	2,875	2,500	3,250	2,500	2,875	2,875	3,250	2,625	3,125	2,625
(écart-type)	(0,916)	(1,414)	(1,246)	(0,926)	(1,165)	(0,926)	(1,246)	(1,458)	(1,035)	(1,302)	(1,356)	(1,302)
Ho moyen	0,195	0,214	0,200	0,192	0,210	0,200	0,225	0,229	0,217	0,200	0,206	0,253
(écart-type)	(0,183)	(0,225)	(0,198)	(0,232)	(0,212)	(0,232)	(0,173)	(0,190)	(0,206)	(0,191)	(0,185)	(0,247)
He moyen	0,224	0,222	0,221	0,205	0,232	0,203	0,247	0,248	0,230	0,207	0,225	0,255
(écart-type)	(0,238)	(0,232)	(0,213)	(0,205)	(0,222)	(0,225)	(0,210)	(0,206)	(0,196)	(0,207)	(0,192)	(0,243)

ANNEXE 4

Développement de marqueurs microsatellites à partir d'une banque non enrichie.

Annexe 4A. Diagramme synoptique des différentes étapes relatives au développement de marqueurs microsatellites (d'après le protocole d'Estoup & Martin disponible à l'adresse :<http://www.inapg.inra.fr/dsa/microsat/microsat.htm>.)



Annexe 4B. Développement de marqueurs microsatellites chez *C. fornicata*

(seules les méthodes qui diffèrent de celles conseillées dans le protocole d'Estoup & Martin disponible à l'adresse : <http://www.inapg.inra.fr/dsa/microsat/microsat.htm> sont détaillées).

1. Etapes préliminaires :

- **vérification par DOT-BLOT de la présence de microsatellites chez *C. fornicata***

>résultat positif

- **extraction d'ADN pour le clonage**

ADN extrait d'un individu de *C. fornicata* provenant de la baie de Morlaix (France), à partir de tissus frais (un morceau de tête), selon une méthode classique d'extraction d'ADN génomique au phénol/chloroforme.

2. Constitution de la banque :

- **Digestion de l'ADN extrait**

L'ADN génomique est digéré par l'enzyme de restriction *Sau3A* (Q-Biogene) qui est compatible avec le site de clonage BamHI du plasmide Puc18 qui sera utilisé ensuite pour le clonage

- **Récupération des fragments d'ADN entre 400 et 900 pb**

Sur un mini-gel d'agarose (1,7 %) ont été mis à migrer (100V pendant 40 min) : 50µl d'ADN digéré (5 à 10 µg) mélangé avec 5,5 µl d'Orange G ; 300 ng du marqueur type MIII et 300 ng d'un marqueur type échelle de 100 pb

Récupération sous UV du morceau d'agarose contenant les fragments d'ADN, de taille comprise entre 400 et 900 pb

Etape de décrochage de l'ADN réalisée à l'aide du kit « QUIAEX® II Gel Extraction System » (QUIAGEN).

- **Etape de ligation**

Utilisation du plasmide Puc 18 pré-digéré par BamHI (Q-Biogene) et du « Klira™ RapidLigation Kit » (Q-Biogene)

- **Etape de transformation**

Utilisation des bactéries (*E. Coli*) compétentes JM-109 (Promega)

> 300 clones blancs, contenant donc un insert, ont été obtenus

- **Repiquage des clones sur matrice quadrillée**

Chaque clone blanc a été repiqué en atmosphère stérile sur une matrice quadrillée (100 emplacements au dos d'une boîte de pétri) avec milieu LB solide et Ampicilline.

3. Criblage de la banque :

- **Transfert de l'ADN des clones sur membrane**

L'ADN des clones est transféré sur des membranes de Nylon (N+, Amersham-N Nylon, 0,45µ, 82 mm) de la taille des boîtes de pétri qui sont ensuite récupérées sur des feuilles de papier Whatman 3M sec.

- **Etape de criblage**

Réalisée avec un mélange de sondes préalablement marquées à la digoxygénine à l'aide du « Oligonucleotide Tailing Kit » (Boehringer Mannheim) : (CTAT)₆ + (TGTA)₆ + (CCA)₅ + (CCT)₅ + (AC)₈

> 63 clones positifs (hybridation d'une sonde) ont été obtenus

- **Estimation de la taille des inserts**

PCR sur clone avec les amorces universelles BS1.

Pour 1 réaction (volume total 25 µl) : 2,5 µl Buffer 10X, 0,5 µl dNTP (2,5mM), 0,5 µl BS1 sens (5 µM), 0,5 µl BS1 anti-sens (5µM), 0,25 µl TaqPoly mérase (5u/µl ; Thermoprime Plus DNA Polymerase, ABgene®), 18,75 µl d'eau et 2 µl de suspension contenant le clone.

4. Séquençage :

- **Miniprep – purification des clones positifs**

Utilisation du « Quiaprep Spin Miniprep Kit™ » (QUIAGEN)

- **Séquençage des inserts**

Utilisation du « ABI PRISM Dye Primer Cycle Sequencing Core Kit™ » (Applied Biosystems) et des amorces M13 sens et anti-sens marquées par une molécule fluorescente (IRD700™ et IRD800™ ; MWG)

- **Migration des séquences sur gel d'acrylamide et choix des amorces**

Migration sur gel à 6,0 %'acrylamide dans un séquenceur de type LI-COR (ScienceTec, model 4200™)

> *Des amorces ont été choisi pour 22 clones, sur les 54 contenant un motif microsatellite, à l'aide du logiciel PRIMER3 (http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html).*

ANNEXE 5
Conditions d'amplification et de migration des
locus microsatellites de *C. fornicata*

Annexe 5A. Réactions de PCR

Locus CfCA2

Produit	Volume (µl) pour 1 ind.	[C] finale ou quantité	[C] de la solution mère
Tampon	1,35	0,9x	10x
BSA	0,15	0,1 µg/µl	10 mg/ml
dNTP	0,60	0,4 mM	2,5 mM chaque
MgCl ₂	1,20	2,0 mM	25,0 mM
Amorce sens marquée*	0,45	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce sens non marquée	0,30	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce anti-sens	0,75	0,250 pM/µl	5,0 pM/µl
Taq Thermoprime Plus ABgene®	0,08	0,4 unités	5 unités/µl
H ₂ O	8,63		
ADN (dilution au centième)	1,50		
Volume réactionnel	15,0		

* Les amorces sens sont marquées avec une molécule fluorescente IRD700™ ou IRD800™ (MWG)

Locus CfCA4

Produit	Volume (µl) pour 1 ind.	[C] finale ou quantité	[C] de la solution mère
Tampon 1	1,10	0,73x	10x
BSA	0,15	0,1 µg/µl	10 mg/ml
dNTP	0,50	0,75 mM	2,5 mM chaque
Amorce sens marquée	0,45	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce sens non marquée	0,30	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce anti-sens	0,75	0,250 pM/µl	5,0 pM/µl
Hi-Fidelity Extensor PCR Kit ABgene®	0,08	0,4 unités	5 unités/µl
H ₂ O	10,42		
ADN (dilution au centième)	1,00		
Volume réactionnel	15,0		

Locus CfCATGT

Produit	Volume (µl) pour 1 ind.	[C] finale ou quantité	[C] de la solution mère
Tampon	1,35	0,9x	10x
BSA	1,50	1 µg/µl	10 mg/ml
dNTP	0,60	0,4 mM	2,5 mM chaque
MgCl ₂	0,80	1,5 mM	25,0 mM
Amorce sens marquée	0,45	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce sens non marquée	0,30	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce anti-sens	0,75	0,250 pM/µl	5,0 pM/µl
Taq Thermoprime Plus ABgene®	0,08	0,4 unités	5 unités/µl
H ₂ O	7,18		
ADN (dilution au centième)	2,00		
Volume réactionnel	15,0		

Locus CfGT9

Produit	Volume (µl) pour 1 ind.	[C] finale ou quantité	[C] de la solution mère
Tampon	1,35	0,9x	10x
BSA	2,25	1,5 µg/µl	10 mg/ml
dNTP	0,60	0,4 mM	2,5 mM chaque
MgCl ₂	0,80	1,5 mM	25,0 mM
Amorce sens marquée	0,45	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce sens non marquée	0,30	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce anti-sens	0,75	0,250 pM/µl	5,0 pM/µl
Taq Thermoprime Plus ABgene®	0,10	0,5 unités	5 unités/µl
H ₂ O	7,40		
ADN (dilution au centième)	1,00		
Volume réactionnel	15,0		

Locus CfGT14

Produit	Volume (µl) pour 1 ind.	[C] finale ou quantité	[C] de la solution mère
Tampon	1,35	0,9x	10x
BSA	0,75	0,5 µg/µl	10 mg/ml
dNTP	0,60	0,4 mM	2,5 mM chaque
MgCl ₂	0,60	1,0 mM	25,0 mM
Amorce sens marquée	0,45	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce sens non marquée	0,30	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce anti-sens	0,75	0,250 pM/µl	5,0 pM/µl
Taq Thermoprime Plus ABgene®	0,08	0,4 unités	5 unités/µl
H ₂ O	8,13		
ADN (dilution au centième)	2,00		
Volume réactionnel	15,0		

Locus CfH7

Produit	Volume (µl) pour 1 ind.	[C] finale ou quantité	[C] de la solution mère
Tampon	1,35	0,9x	10x
BSA	0,75	0,5 µg/µl	10 mg/ml
dNTP	0,60	0,4 mM	2,5 mM chaque
MgCl ₂	0,80	1,5 mM	25,0 mM
Amorce sens marquée	0,45	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce sens non marquée	0,30	0,125 pM/µl	5,0 pM/µl
Amorce anti-sens	0,75	0,250 pM/µl	5,0 pM/µl
Taq Thermoprime Plus ABgene®	0,08	0,4 unités	5 unités/µl
H ₂ O	8,43		
ADN (dilution au centième)	1,50		
Volume réactionnel	15,0		

Annexe 5B. Programmes d'amplification

Programme de base pour tous les locus sauf CfH7 :

Dénaturation initiale : 3 minutes à 94°C

Cycles (le nombre de cycles varie selon les locus) :

94°C – 35 secondes

Température d'appariement – 40 secondes

72°C – 45 secondes

Elongation finale : 12 minutes à 72°C

Température d'appariement (Ta) et nombre de cycles par locus :

	CfCA2	CfCA4	CfCATGT	CfGT9	CfGT14
Ta (°C)	55	58	58	56	57
Nbre cycles	40	32	35	37	35

Programme pour CfH7 :

Dénaturation initiale : 3 minutes à 94°C

Cycles :

- 7 cycles

94°C – 35 secondes

60°C - 1°C par cycle – 40secondes

72°C – 50 secondes

- 23 cycles

94°C – 35 secondes

54°C – 40secondes

72°C – 50 secondes

Elongation finale : 12 minutes à 72°C

Cas particulier des larves :

Réaliser une pré-amplification

- en utilisant le même protocole de réaction de PCR que pour les adultes mais sans l'amorce marquée (à remplacer par de l'amorce non marquée)

- en utilisant le même programme d'amplification que pour les adultes mais avec le nombre de cycles indiqués ci-dessous :

	CfCA2	CfCA4	CfCATGT	CfGT14	CfH7
Nbre cycles	23	18	20	21	8 + 11

Réaliser ensuite une amplification classique

En remplaçant l'ADN par le produit de pré-amplification lors de la réaction de PCR

Annexe 5C. Migration et visualisation

- Ajouter 10 µl de solution STOP-Congo Red ⁽¹⁾ par réaction
- Dénaturer 3 minutes à 94°C
- Charger 0,5 à 1 µl par puit d'un gel d'acrylamide 6,0 % ⁽²⁾

Faire migrer dans du TBE 1X à 1200 V et 30 W pendant 45 minutes à 2 heures selon la taille du fragment dans un séquenceur de type LI-COR (ScienceTec, model 4200™)

⁽¹⁾ Solution STOP-Congo Red (Compatible IRD 700/800) :

Solution stock de Congo Red : 25 mg de Congo Red / ml de solution EDTA 0,125M

Solution de travail : Ajouter 80µl de Rouge Stock à 950 µl de formamide déionisée

⁽²⁾ Gel d'Acrylamide 6% pour un volume de 30 ml

Urée (7M) – 12,6 g

Long Ranger® 50% (Cambrex) – 3,6 ml

TBE 10X – 3 ml

H2O – Qsp

Filtration

APS – 200µl

Temed – 20µl

ANNEXE 6
Marqueurs microsatellites : fréquences alléliques

CH7

(N)	Bs60	Bs62	Bv159	Bv7	Bv21	Bdm24	BdmBi	BdmRb	Bdm49	SB2	SB104	SB1	Mx1	Mx2	Br3	Brz2	BrK
	40	36	25	37	39	47	56	49	47	30	32	29	90	78	86	111	86
70	0.038	0.069	0.000	0.081	0.039	0.000	0.063	0.031	0.011	0.033	0.047	0.052	0.022	0.032	0.017	0.027	0.041
74	0.113	0.125	0.080	0.297	0.103	0.160	0.125	0.163	0.149	0.133	0.078	0.224	0.133	0.141	0.198	0.225	0.157
78	0.050	0.125	0.120	0.054	0.077	0.149	0.161	0.153	0.181	0.067	0.172	0.190	0.133	0.135	0.145	0.122	0.140
82	0.063	0.028	0.080	0.000	0.090	0.032	0.063	0.041	0.021	0.067	0.063	0.000	0.033	0.019	0.000	0.000	0.000
86	0.075	0.042	0.080	0.027	0.051	0.021	0.009	0.010	0.032	0.067	0.031	0.017	0.028	0.026	0.000	0.014	0.006
89	0.013	0.014	0.000	0.014	0.000	0.032	0.018	0.010	0.000	0.000	0.000	0.017	0.006	0.006	0.000	0.000	0.000
90	0.088	0.056	0.080	0.108	0.115	0.106	0.116	0.133	0.106	0.117	0.078	0.035	0.117	0.096	0.047	0.032	0.041
94	0.263	0.208	0.140	0.081	0.167	0.106	0.116	0.092	0.117	0.117	0.094	0.155	0.139	0.160	0.087	0.054	0.093
98	0.063	0.083	0.100	0.122	0.128	0.138	0.152	0.051	0.170	0.133	0.203	0.103	0.133	0.135	0.273	0.293	0.326
102	0.138	0.083	0.200	0.162	0.154	0.170	0.107	0.194	0.138	0.200	0.172	0.172	0.200	0.173	0.198	0.216	0.192
106	0.038	0.069	0.080	0.027	0.039	0.043	0.045	0.071	0.021	0.017	0.000	0.017	0.033	0.019	0.029	0.018	0.006
110	0.025	0.028	0.020	0.000	0.039	0.021	0.009	0.041	0.043	0.017	0.063	0.000	0.017	0.039	0.000	0.000	0.000
114	0.013	0.014	0.000	0.014	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021	0.017	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000
118	0.000	0.042	0.020	0.000	0.000	0.011	0.018	0.010	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000
130	0.025	0.014	0.000	0.014	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000
162	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
He	0.883	0.906	0.901	0.852	0.899	0.886	0.895	0.883	0.881	0.897	0.881	0.859	0.875	0.881	0.820	0.801	0.806
Ho	0.800	0.917	0.760	0.784	0.974	0.936	0.821	0.857	0.809	0.833	0.875	0.897	0.778	0.936	0.837	0.865	0.779

	GmmSO	GmmSh	GmmSj	GmmIe	GmmCa	GmmLd	GmmLb	GmmCg	GmmMe	GmmMb	GmmBa	GmmBd	Bdm24	BdmBi	BdmRb	
He	0.947	0.963	0.928	0.958	0.960	0.946	0.951	0.952	0.953	0.961	0.942	0.946	0.952	0.951	0.954	0.950
Ho	0.800	0.619	0.771	0.690	0.577	0.696	0.822	0.519	0.667	0.789	0.609	0.667	0.780	0.714	0.712	0.755
(N)	20	21	50	29	51	46	45	53	48	51	23	24	47	56	49	47
70	0.025	0.095	0.030	0.017	0.029	0.033	0.033	0.028	0.063	0.020	0.022	0.021	0.000	0.063	0.031	0.011
74	0.175	0.119	0.150	0.207	0.137	0.033	0.100	0.076	0.156	0.128	0.130	0.146	0.160	0.125	0.163	0.149
78	0.150	0.191	0.190	0.086	0.157	0.228	0.167	0.217	0.167	0.186	0.196	0.188	0.149	0.161	0.153	0.181
82	0.050	0.024	0.040	0.052	0.059	0.044	0.033	0.009	0.010	0.020	0.022	0.021	0.032	0.063	0.041	0.021
86	0.025	0.048	0.020	0.035	0.029	0.054	0.033	0.038	0.031	0.020	0.022	0.021	0.021	0.009	0.010	0.032
89	0.000	0.000	0.020	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.032	0.018	0.010	0.000
90	0.175	0.119	0.070	0.035	0.128	0.141	0.100	0.151	0.156	0.118	0.130	0.083	0.106	0.116	0.133	0.085
94	0.075	0.048	0.150	0.121	0.088	0.087	0.144	0.113	0.146	0.118	0.174	0.125	0.106	0.116	0.092	0.117
98	0.150	0.024	0.130	0.121	0.088	0.141	0.122	0.113	0.052	0.029	0.130	0.167	0.138	0.152	0.051	0.170
102	0.150	0.238	0.150	0.259	0.226	0.174	0.211	0.198	0.146	0.265	0.152	0.208	0.170	0.107	0.194	0.138
106	0.000	0.048	0.000	0.017	0.020	0.044	0.022	0.019	0.042	0.049	0.022	0.021	0.043	0.045	0.071	0.021
110	0.025	0.024	0.020	0.052	0.000	0.022	0.011	0.038	0.021	0.020	0.000	0.000	0.021	0.009	0.041	0.043
114	0.000	0.024	0.010	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021
118	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.011	0.018	0.010	0.011
122	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
130	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000
154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
162	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
He	0.883	0.882	0.879	0.860	0.876	0.870	0.877	0.864	0.880	0.855	0.874	0.866	0.886	0.895	0.883	0.881
Ho	0.950	0.857	0.900	0.724	0.824	0.826	0.911	0.887	0.875	0.843	0.739	0.792	0.936	0.821	0.857	0.809

202	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,011
203	0,026	0,017	0,033	0,041	0,056	0,044	0,009	0,042	0,009	0,011
204	0,017	0,017	0,000	0,027	0,024	0,000	0,009	0,017	0,026	0,022
205	0,052	0,058	0,033	0,047	0,024	0,026	0,036	0,059	0,105	0,087
206	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
207	0,026	0,025	0,052	0,054	0,087	0,026	0,018	0,051	0,053	0,033
208	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
209	0,121	0,092	0,104	0,101	0,095	0,105	0,089	0,068	0,053	0,152
210	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,011
211	0,103	0,042	0,104	0,068	0,095	0,035	0,036	0,093	0,070	0,033
212	0,009	0,033	0,007	0,034	0,024	0,009	0,027	0,034	0,018	0,044
213	0,026	0,083	0,020	0,081	0,048	0,079	0,071	0,042	0,044	0,087
214	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	0,000	0,000	0,000
215	0,078	0,083	0,117	0,068	0,087	0,097	0,098	0,110	0,097	0,130
216	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
217	0,086	0,050	0,084	0,047	0,071	0,053	0,071	0,042	0,044	0,065
218	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,009	0,000
219	0,000	0,050	0,058	0,054	0,048	0,053	0,027	0,051	0,044	0,054
220	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000
221	0,026	0,067	0,039	0,034	0,024	0,035	0,107	0,051	0,053	0,033
222	0,043	0,000	0,026	0,000	0,008	0,018	0,018	0,000	0,000	0,000
223	0,017	0,033	0,033	0,020	0,008	0,035	0,036	0,042	0,026	0,033
224	0,000	0,000	0,020	0,027	0,000	0,009	0,027	0,000	0,018	0,000
225	0,009	0,008	0,013	0,020	0,016	0,044	0,018	0,017	0,018	0,011
226	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000
227	0,043	0,017	0,013	0,007	0,008	0,000	0,009	0,000	0,026	0,033
228	0,000	0,000	0,007	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000
229	0,052	0,058	0,026	0,061	0,024	0,009	0,009	0,068	0,026	0,011
230	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
231	0,026	0,008	0,026	0,034	0,024	0,018	0,009	0,009	0,026	0,000
233	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,025	0,009	0,000
235	0,009	0,000	0,013	0,007	0,008	0,026	0,000	0,009	0,026	0,000
237	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000
239	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	0,009	0,000
241	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,011
243	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000
245	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000
261	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
265	0,000	0,000	0,007	0,000	0,000	0,009	0,009	0,000	0,000	0,000
He	0,951	0,959	0,945	0,956	0,952	0,958	0,954	0,954	0,960	0,937
Ho	0,845	0,833	0,675	0,757	0,714	0,842	0,768	0,746	0,737	0,739

CII7

	B1	B2	B3	B4	B5	G1	G2	G3	G4	G5
(N)	57	60	75	74	62	58	55	59	58	43
70	0,044	0,033	0,053	0,041	0,024	0,009	0,055	0,017	0,017	0,012
74	0,149	0,075	0,120	0,115	0,089	0,172	0,146	0,093	0,172	0,128
78	0,184	0,200	0,167	0,142	0,186	0,121	0,173	0,203	0,129	0,151
82	0,026	0,025	0,040	0,014	0,024	0,043	0,036	0,042	0,035	0,035
86	0,026	0,050	0,040	0,034	0,040	0,043	0,018	0,034	0,026	0,023
89	0,018	0,000	0,007	0,007	0,008	0,035	0,018	0,017	0,009	0,035
90	0,123	0,108	0,107	0,101	0,129	0,103	0,091	0,127	0,086	0,105
94	0,079	0,092	0,113	0,142	0,169	0,095	0,091	0,127	0,155	0,186
98	0,132	0,108	0,147	0,074	0,121	0,129	0,109	0,085	0,147	0,081
102	0,167	0,258	0,147	0,250	0,153	0,172	0,200	0,136	0,172	0,151
106	0,026	0,017	0,027	0,054	0,024	0,043	0,046	0,042	0,017	0,035
110	0,026	0,008	0,013	0,020	0,032	0,035	0,009	0,059	0,035	0,035
114	0,000	0,025	0,007	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000
118	0,000	0,000	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,012
130	0,000	0,000	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,012
154	0,000	0,000	0,000	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
162	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000
He	0,880	0,858	0,889	0,868	0,877	0,889	0,881	0,891	0,875	0,890
Ho	0,912	0,883	0,893	0,878	0,855	0,879	0,873	0,966	0,845	0,930

218	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019
219	0,063	0,032	0,035	0,017	0,017	0,050	0,088	0,149	0,063	0,074	0,037
220	0,000	0,000	0,000	0,035	0,069	0,050	0,025	0,014	0,000	0,000	0,000
221	0,047	0,081	0,017	0,069	0,069	0,000	0,050	0,014	0,000	0,074	0,000
222	0,000	0,000	0,017	0,017	0,000	0,025	0,000	0,014	0,016	0,000	0,019
223	0,016	0,016	0,017	0,017	0,035	0,000	0,025	0,041	0,000	0,037	0,093
224	0,000	0,000	0,017	0,000	0,017	0,000	0,038	0,014	0,031	0,019	0,019
225	0,000	0,032	0,086	0,017	0,052	0,025	0,013	0,041	0,000	0,000	0,056
226	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000	0,019
227	0,000	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,014	0,016	0,000	0,000
228	0,000	0,000	0,000	0,017	0,017	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
229	0,031	0,016	0,000	0,017	0,017	0,025	0,013	0,014	0,000	0,019	0,019
230	0,000	0,000	0,000	0,035	0,000	0,000	0,025	0,000	0,031	0,000	0,019
231	0,047	0,000	0,000	0,052	0,017	0,050	0,050	0,000	0,016	0,037	0,037
232	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,014	0,000	0,019	0,000
233	0,031	0,000	0,017	0,000	0,000	0,025	0,013	0,027	0,000	0,037	0,019
235	0,016	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
239	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
241	0,016	0,000	0,000	0,017	0,035	0,000	0,013	0,027	0,000	0,000	0,000
243	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,019	0,000
He	0,970	0,960	0,940	0,955	0,960	0,955	0,965	0,948	0,934	0,962	0,937
Ho	0,844	0,807	0,828	0,621	0,621	0,700	0,700	0,649	0,750	0,741	0,741

CH7

(N)	31	30	29	31	31	23	40	38	31	27	25
70	0,032	0,000	0,035	0,065	0,032	0,000	0,038	0,026	0,000	0,019	0,080
74	0,081	0,200	0,121	0,097	0,177	0,109	0,138	0,145	0,177	0,222	0,120
78	0,113	0,117	0,172	0,097	0,097	0,109	0,113	0,158	0,081	0,093	0,100
82	0,032	0,017	0,052	0,000	0,000	0,044	0,025	0,013	0,016	0,019	0,060
86	0,016	0,050	0,017	0,000	0,032	0,022	0,000	0,053	0,000	0,074	0,040
89	0,016	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000
90	0,161	0,083	0,103	0,113	0,129	0,174	0,063	0,132	0,081	0,130	0,160
94	0,210	0,083	0,121	0,226	0,129	0,109	0,125	0,197	0,210	0,093	0,080
98	0,081	0,150	0,172	0,145	0,161	0,217	0,188	0,079	0,210	0,130	0,120
102	0,226	0,233	0,138	0,129	0,177	0,109	0,238	0,105	0,161	0,148	0,220
106	0,016	0,033	0,052	0,032	0,016	0,044	0,013	0,026	0,016	0,019	0,000
110	0,016	0,017	0,017	0,081	0,000	0,022	0,038	0,040	0,032	0,037	0,020
114	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,044	0,000	0,013	0,016	0,019	0,000
118	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000
130	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
134	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
He	0,864	0,866	0,890	0,882	0,879	0,888	0,864	0,886	0,854	0,886	0,887
Ho	0,871	0,800	0,655	0,742	0,903	0,826	0,975	0,895	0,581	0,778	0,800

ANNEXE 7
Matrices d'échanges larvaires et
représentations des nuages larvaires

Annexe 7A. Analyse Inter-baies

Bs, baie de Seine; Bv, baie des Veys; Bdm, baie du Mont-St-Michel, Stb, baie de St Brieuç, Mx, baie de Mortlaix, Br, Rade de Brest. En gras les valeurs positives.

7A.1- Matrice d'échanges larvaires en condition de marée moyenne et en absence de vent

Bs62	2,34E+09																	
Bv159	-1,04E+11	-1,23E+11																
Bv7	-1,02E+11	-1,21E+11	-7,42E+07															
Bv21	-1,02E+11	-1,22E+11	1,14E+09	2,92E+08														
Bdm24	-2,69E+11	-2,90E+11	-1,71E+11	-1,68E+11	-1,67E+11													
BdmBi	-3,15E+11	-3,35E+11	-2,16E+11	-2,13E+11	5,99E+09													
BdmRb	-2,38E+11	-2,59E+11	-1,40E+11	-1,37E+11	5,01E+10	4,06E+10												
Bdm49	-2,16E+11	-2,37E+11	-1,18E+11	-1,15E+11	3,88E+10	2,20E+10	-2,35E+10											
Stb2	-1,23E+12	-1,25E+12	-1,13E+12	-1,13E+12	-1,30E+12	-1,34E+12	-1,26E+12	-1,24E+12										
Stb104	-1,17E+11	-1,38E+11	-1,87E+10	-1,59E+10	-1,83E+11	-2,28E+11	-1,52E+11	-1,30E+11	-8,05E+11									
Stb1	-1,40E+11	-1,61E+11	-4,20E+10	-3,92E+10	-2,06E+11	-2,52E+11	-1,75E+11	-1,53E+11	-1,03E+12	3,43E+11								
Mx1	-1,20E+11	-1,40E+11	-2,14E+10	-1,85E+10	-1,80E+10	-2,31E+11	-1,54E+11	-1,32E+11	-1,15E+12	-3,34E+10	-5,67E+10							
Br	-1,02E+11	-1,22E+11	-3,34E+09	-4,57E+08	-1,51E+07	-1,67E+11	-2,13E+11	-1,14E+11	-1,13E+12	-1,54E+10	-3,87E+10	-1,80E+10						

7A.2- Matrice d'échanges larvaires en condition de marée moyenne avec un vent de Sud-ouest

Bs62	3,98E+09																	
Bv159	-1,25E+11	-1,38E+11																
Bv7	-1,16E+11	-1,29E+11	1,96E+09															
Bv21	-1,13E+11	-1,27E+11	1,52E+10	4,12E+09														
Bdm24	-2,65E+11	-2,79E+11	-1,66E+11	-1,56E+11	-1,54E+11													
BdmBi	-3,42E+11	-3,56E+11	-2,43E+11	-2,33E+11	-2,31E+11	4,38E+11												
BdmRb	-3,19E+11	-3,33E+11	-2,19E+11	-2,10E+11	-2,08E+11	1,52E+10	3,01E+10											
Bdm49	-3,55E+11	-3,68E+11	-2,55E+11	-2,46E+11	-2,43E+11	-5,43E+10	-3,40E+10	-3,89E+10										
Stb2	-9,79E+11	-9,93E+11	-8,79E+11	-8,70E+11	-8,68E+11	-1,02E+12	-1,10E+12	-1,07E+12	-1,11E+12									
Stb104	-1,78E+11	-1,92E+11	-7,83E+10	-6,91E+10	-6,67E+10	-2,19E+11	-2,96E+11	-2,73E+11	-3,08E+11	-6,93E+11								
Stb1	-1,36E+11	-1,49E+11	-3,60E+10	-2,68E+10	-2,44E+10	-1,77E+11	-2,54E+11	-2,30E+11	-2,66E+11	-8,35E+11	2,87E+11							
Mx1	-1,18E+11	-1,32E+11	-1,85E+10	-9,32E+09	-6,96E+09	-2,36E+11	-2,36E+11	-2,13E+11	-2,48E+11	-8,73E+11	-7,18E+10	-2,95E+10						
Br	-1,12E+11	-1,26E+11	-1,25E+10	-3,29E+09	-9,34E+08	-1,53E+11	-2,30E+11	-2,07E+11	-2,42E+11	-8,67E+11	-6,58E+10	-2,35E+10	-6,05E+09					

7A.3- Matrice d'échanges larvaires en condition de marée moyenne avec un vent de Nord-est

Bs62	2,85E+09																		
Bv159	3,36E+10	4,74E+10																	
Bv7	2,00E+10	3,52E+10	-6,32E+07																
Bv21	-1,20E+09	-3,49E+09	-8,34E+07	3,45E+06															
Bdm24	-1,61E+11	-1,63E+11	-1,60E+11	-1,59E+11	-1,59E+11														
BdmBi	-2,09E+11	-2,12E+11	-2,08E+11	-2,08E+11	-2,08E+11	4,22E+11													
BdmRb	-1,08E+11	-1,10E+11	-1,06E+11	-1,06E+11	-1,06E+11	2,91E+10													
Bdm49	-4,55E+10	-4,83E+10	-4,44E+10	-4,41E+10	-4,41E+10	5,47E+10	2,16E+10	-3,63E+09											
Stb2	-2,01E+11	-2,04E+11	-2,00E+11	-2,00E+11	-2,00E+11	-3,59E+11	-4,08E+11	-3,06E+11	-2,44E+11										
Stb104	-3,87E+09	-6,66E+09	-2,75E+09	-2,45E+09	-2,43E+09	-1,62E+11	-2,10E+11	-1,09E+11	-4,65E+10	1,32E+11									
Stb1	-3,38E+10	-3,66E+10	-3,27E+10	-3,24E+10	-3,24E+10	-1,92E+11	-2,40E+11	-1,38E+11	-7,64E+10	1,53E+11	2,38E+11								
Mx1	-2,80E+10	-3,08E+10	-2,69E+10	-2,66E+10	-2,66E+10	-2,34E+11	-2,34E+11	-1,33E+11	-7,06E+10	-2,26E+11	-2,90E+10	-5,89E+10							
Br	-1,44E+09	-4,23E+09	-3,21E+08	-1,86E+07	-3,03E+05	-1,59E+11	-2,08E+11	-1,06E+11	-4,41E+10	-2,00E+11	-2,43E+09	-3,24E+10	-2,66E+10						
Bs60	Bs62	Bv159	Bv7	Bv21	Bdm24	BdmBi	BdmRb	Bdm49	Stb2	Stb104	Stb1	Mx1							

7B.3- Matrice d'échanges larvaires en condition de marée moyenne avec un vent de Nord-est

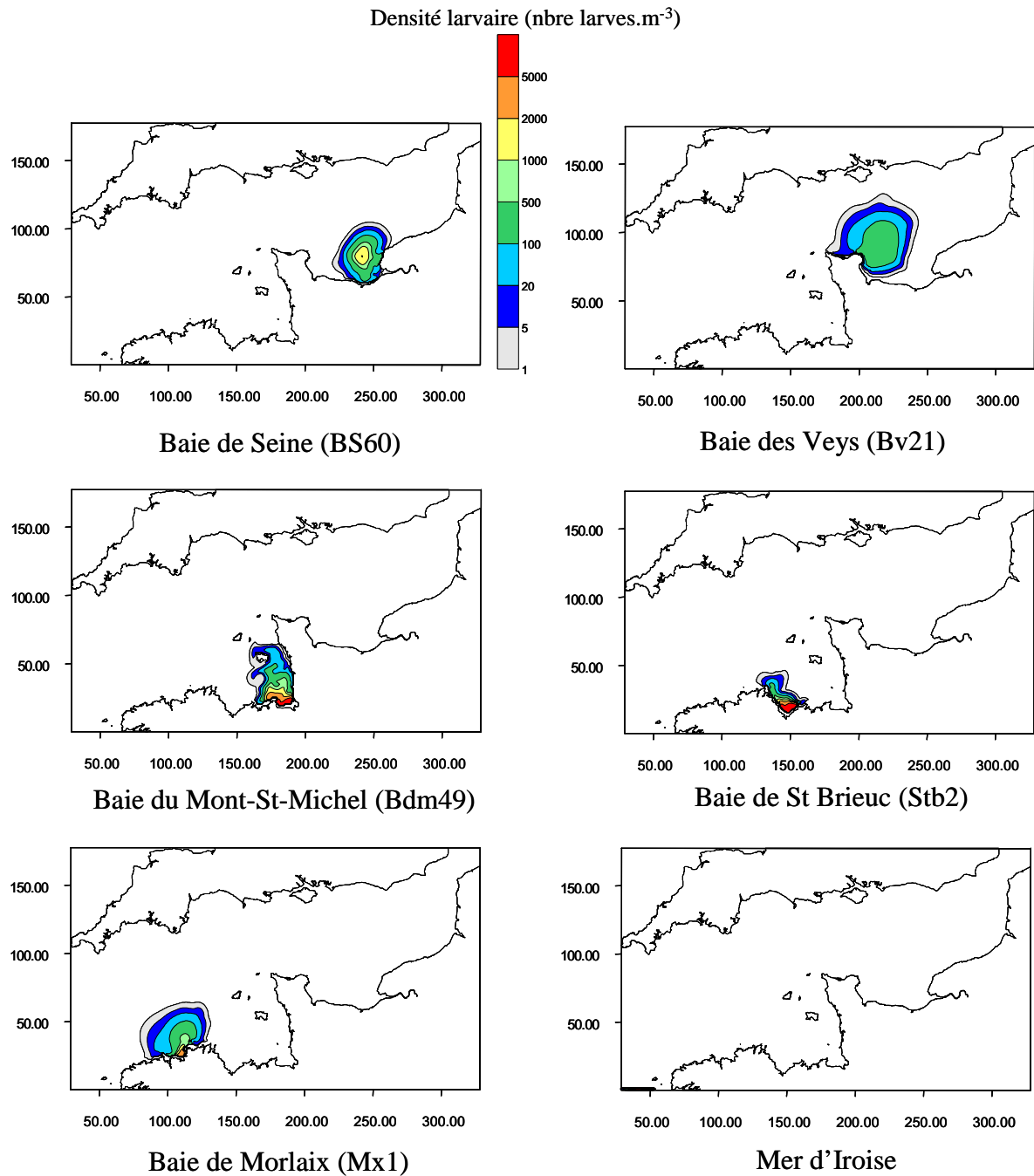
2	1,63E+06																					
3	-1,04E+08	-8,81E+07																				
4	-1,70E+08	-1,38E+08	2,00E+08																			
5	2,22E+08	3,42E+08	1,33E+09	6,78E+08																		
6	-2,32E+07	-1,89E+07	-9,95E+07	-3,03E+08	-1,98E+08																	
7	-4,14E+09	-4,00E+09	-2,54E+09	-2,88E+09	-3,45E+09	-3,30E+09																
8	2,12E+08	2,70E+08	4,32E+08	2,42E+08	9,02E+08	1,41E+08	-3,50E+09															
9	2,32E+07	3,19E+07	-1,11E+08	-2,85E+08	1,51E+08	5,92E+07	-3,74E+09	-3,51E+07														
10	-3,08E+08	-3,18E+08	-5,39E+08	-6,23E+08	2,86E+08	-8,48E+06	-3,52E+08	8,23E+07	-9,96E+07													
11	-2,09E+08	-2,32E+08	-5,29E+08	-6,11E+08	1,62E+08	1,30E+08	-1,69E+09	9,75E+07	-1,19E+08													
12	-5,40E+08	-5,56E+08	-8,48E+08	-9,83E+08	-6,54E+08	-1,26E+08	-3,69E+09	-1,57E+08	-9,42E+07	-5,71E+08	-4,72E+08											
13	-9,96E+10	-9,97E+10	-9,98E+10	-9,94E+10	-9,89E+10	-9,11E+10	-9,41E+10	-8,95E+10	-8,89E+10	-9,61E+10	-9,83E+10	-5,73E+10										
14	-1,03E+10	-1,03E+10	-1,06E+10	-1,08E+10	-1,08E+10	-1,08E+10	-1,48E+10	-1,00E+10	-9,82E+09	-1,02E+10	-7,04E+09	9,87E+09										
15	-9,02E+09	-9,04E+09	-9,32E+09	-9,53E+09	-9,51E+09	-8,04E+09	-1,26E+10	-8,01E+09	-7,79E+09	-8,60E+09	-8,81E+09	-2,16E+09	-8,68E+08	2,77E+09								
16	-2,43E+10	-2,43E+10	-2,46E+10	-2,46E+10	-2,45E+10	-1,98E+10	-2,11E+10	-1,90E+10	-1,84E+10	-2,09E+10	-2,26E+10	1,97E+10	2,48E+10	4,65E+10	2,08E+10							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15								

7B.4- Matrice d'échanges larvaires en condition de marée moyenne avec un vent de Nord-ouest

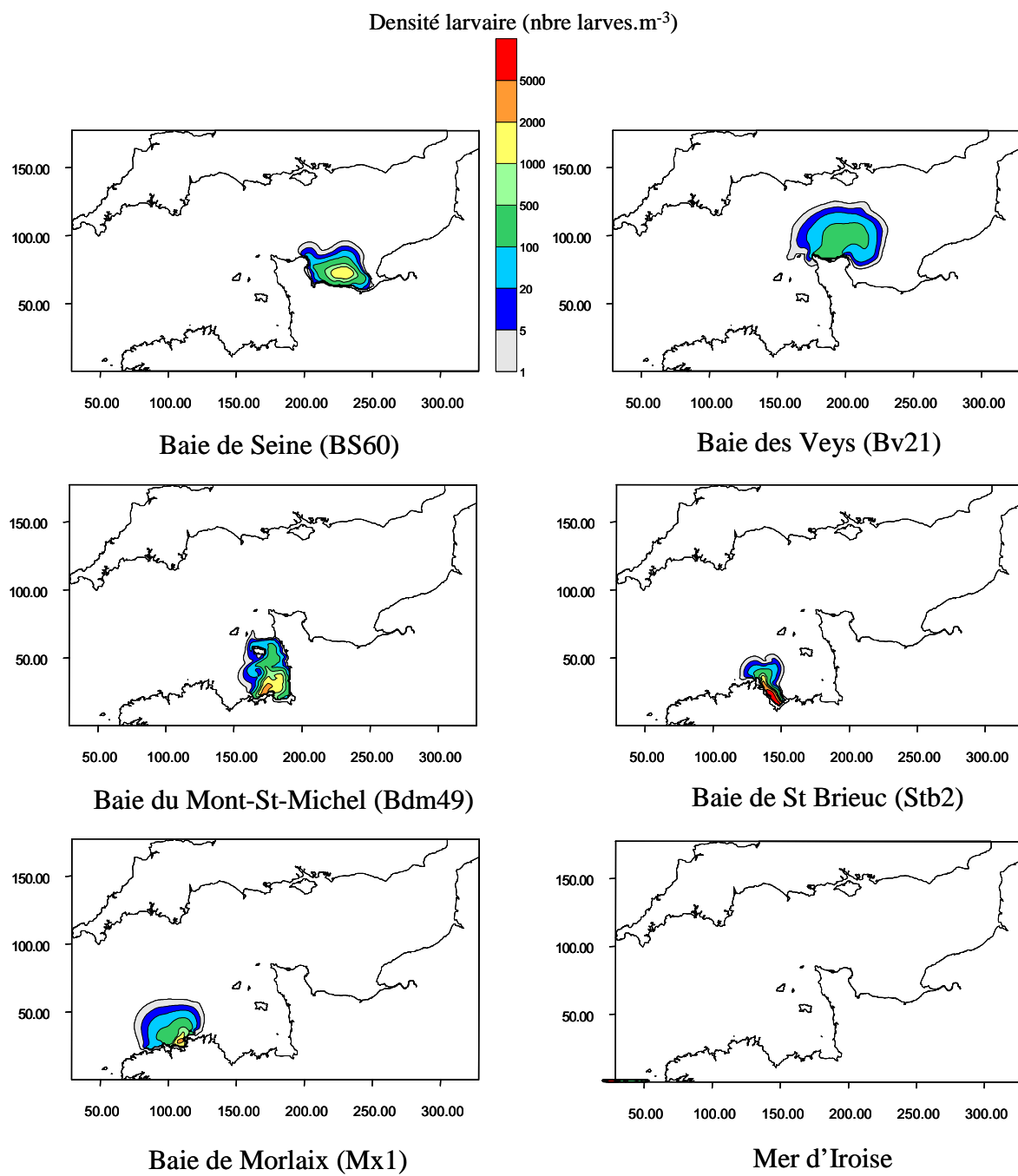
2	2,00E+06																					
3	-1,01E+08	-8,59E+07																				
4	-1,61E+08	-1,28E+08	2,12E+08																			
5	1,56E+08	2,95E+08	1,38E+09	7,15E+08																		
6	-9,67E+06	-9,02E+05	-5,80E+07	-2,57E+08	-3,67E+08																	
7	-4,25E+09	-4,09E+09	-2,44E+09	-2,83E+09	-3,94E+09	-3,59E+09																
8	2,74E+08	3,42E+08	5,23E+08	3,37E+08	6,43E+08	1,47E+08	-3,71E+09															
9	4,23E+07	5,48E+07	-8,20E+07	-2,41E+08	-4,93E+07	6,54E+07	3,24E+07	-3,85E+09														
10	-3,24E+08	-3,33E+08	-5,43E+08	-6,19E+08	1,00E+08	-2,41E+07	-4,59E+08	9,57E+07	-9,80E+07													
11	-2,09E+08	-2,32E+08	-5,23E+08	-5,92E+08	-2,69E+07	1,27E+08	-2,02E+09	3,35E+08	-1,33E+08													
12	-5,60E+08	-5,76E+08	-8,64E+08	-9,99E+08	-9,12E+08	-1,89E+08	-4,18E+09	-2,05E+08	-6,17E+08	-4,99E+08												
13	-9,85E+10	-9,85E+10	-9,86E+10	-9,78E+10	-9,77E+10	-8,90E+10	-9,17E+10	-8,68E+10	-9,46E+10	-9,68E+10	-4,93E+10											
14	-8,80E+09	-8,82E+09	-9,11E+09	-9,34E+09	-9,52E+09	-8,43E+09	-1,34E+10	-8,43E+09	-8,24E+09	-8,76E+09	-8,71E+09	-2,34E+09										
15	-6,77E+09	-6,79E+09	-7,07E+09	-7,23E+09	-7,41E+09	-5,67E+09	-1,03E+10	-5,52E+09	-5,29E+09	-6,32E+09	-6,52E+09	-2,04E+10	1,63E+09									
16	-7,06E+10	-7,07E+10	-7,09E+10	-7,09E+10	-7,11E+10	-6,68E+10	-6,85E+10	-6,57E+10	-6,50E+10	-6,78E+10	-2,87E+10	-3,84E+10	-1,87E+10	-2,34E+10								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15								

Annexe 7C. Répartition simulée des larves de *C. fornicata* en Manche après 21 jours de dispersion en condition de marée moyenne et 2 conditions de vent pour une émission à partir des différentes baies de la Manche et une émission en Mer d'Iroise

7C.1 Vent de Sud-Ouest ($6m.s^{-1}$)

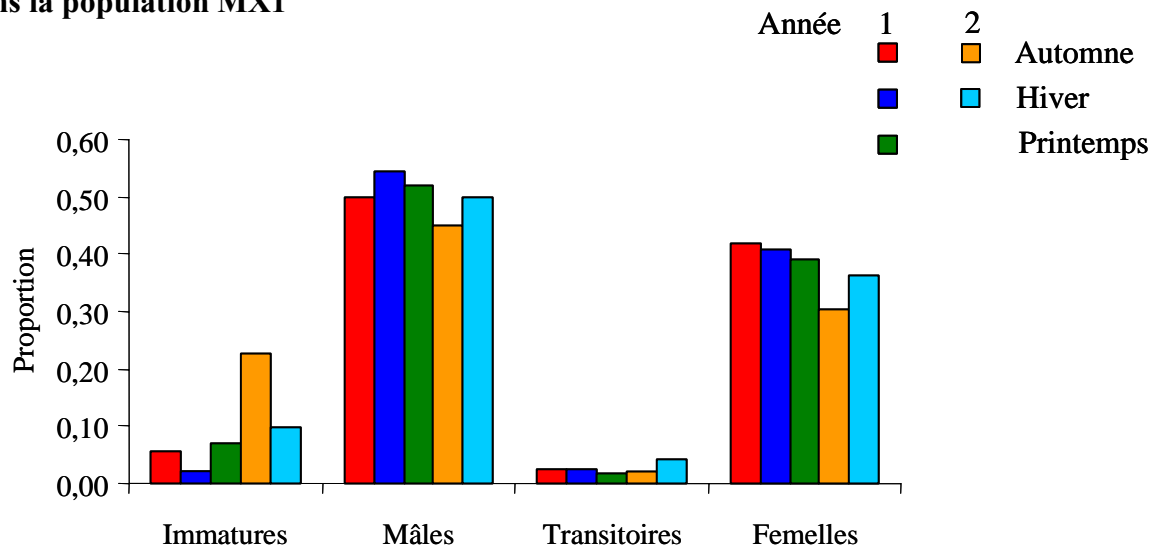


7C.1 Vent de Nord-Est ($6\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)

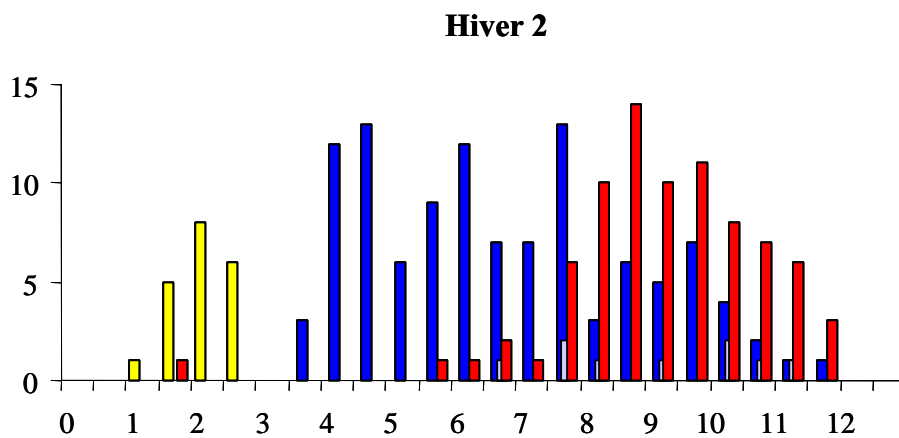
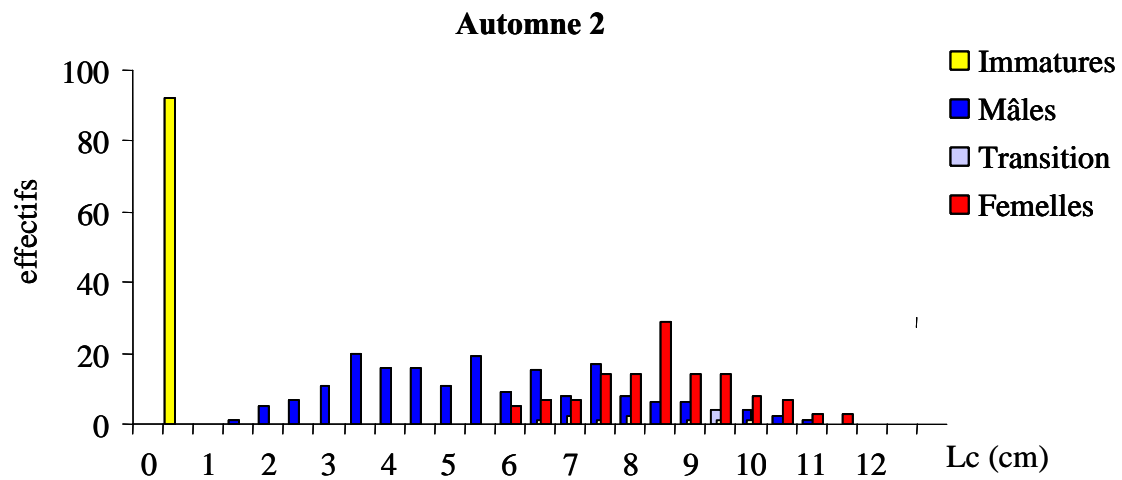


ANNEXE 8
Structure sexuelle et structure d'âge dans la
population Mx1

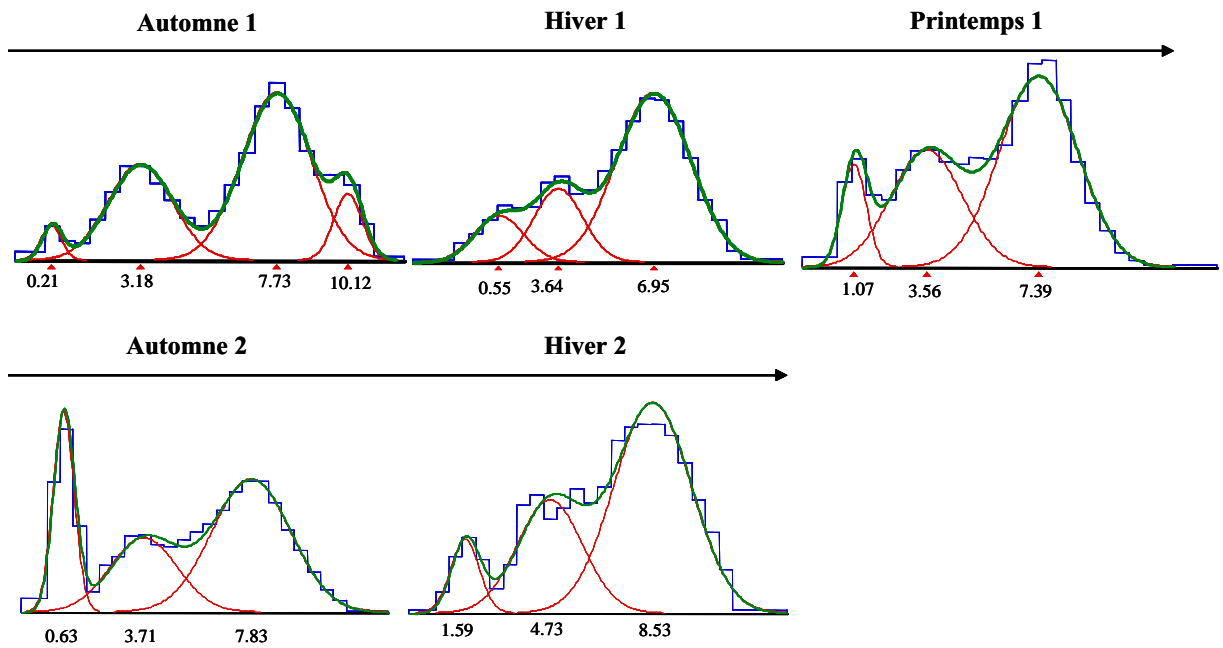
ANNEXE 8.A Distribution des différents types sexuels par période d'échantillonnage dans la population MX1



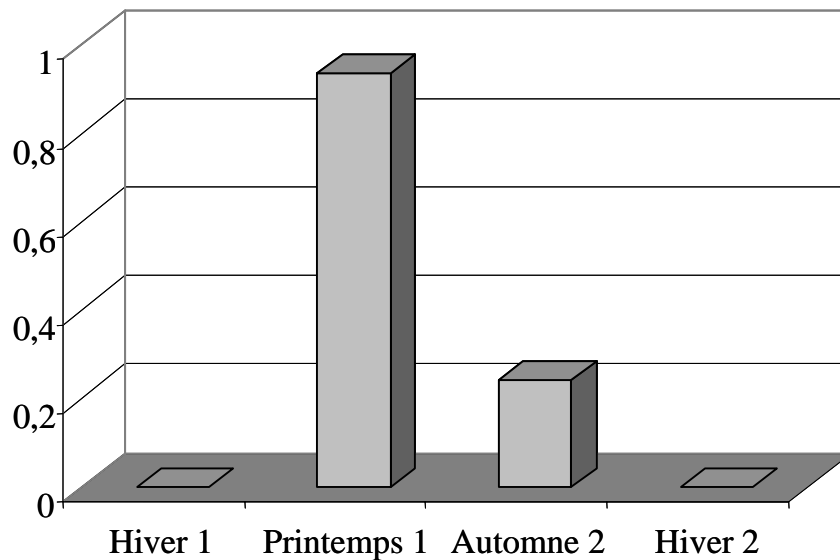
ANNEXE 8.B Distribution de fréquences de taille par type sexuel dans la population Mx1 pour les deux échantillonnages de la deuxième année de suivi



ANNEXE 8.C Décomposition modale de distribution de fréquences de taille pour chaque échantillonnage temporel dans la population Mx1. La valeur des modes est exprimée en centimètres



ANNEXE 8.D Proportion des femelles ovigères dans la population Mx1 par période d'échantillonnage.



ANNEXE 9

Analyses de paternité : génotypes des mères, des larves et des individus des chaînes

		CfCA2	CfCA4	CfCATGT	CfGT14	CfH7
Mère	fZ12	181182	128130	173173	211211	098102
Larves	z12L1	179181	130130	173173	219219	098098
	z12L3	179181	128130	173173	211219	098102
	z12L4	182182	128128	173173	211229	098102
	z12L5	179181	128130	165165	211219	098102
	z12L7	181182	130130	165165	229229	098098
	z12L8	181182	128128	165165	211219	098102
	z12L9	179182	128130	165165	211229	098102
	z12L10	179182	128128	165173	219219	098098
	z12L11	179181	130130	165173	211219	098102
	z12L12	179181	130130	165165	211229	098098
	z12L13	179182	128130	165165	211229	098098
	z12L14	179182	128130	165165	219219	098098
Ind. Chaîne	z12i1	181182	130135	168171	207211	074098
	z12i2	179182	128130	165173	219229	098098
	z12i3	179179	130130	168173	224224	094098
	z12i4	179179	130130	163163	186219	074078
	z12i5	179179	129129	192192	207219	098102
	z12i6	179182	128128	188188	181213	086098

ANNEXE 10
Articles publiés ou en cours de préparation

ANNEXE 10.A

High genetic diversity and ephemeral drift effects in a successful introduced mollusc (*Crepidula fornicata* : Gastropoda)

L. Dupont, D. Jollivet, F. Viard

Publié dans Marine Ecology Progress Series, 253, 183-195 (2003)

ANNEXE 10.B

**Isolation and characterization of highly polymorphic
microsatellite markers from the marine invasive species
Crepidula fornicata (Gastropoda : Calyptraeidae)**

L. Dupont & F. Viard

Publié dans Molecular Ecology Notes, 3, 498-500 (2003)

ANNEXE 10.C

Age, sex and genetic structure in the exotic mollusk *Crepidula fornicata*: role of overlapping generations, protandry and larval dispersal.

Dupont L., Bernas, D. & Viard, F.

Article en cours de préparation

Résumé

Le système de reproduction et les capacités de dispersion seraient des éléments prépondérants dans les processus d'expansion géographique des espèces. En raison du succès de la colonisation dans son aire d'introduction européenne, suite à son arrivée accidentelle à la fin du 19^{ème} siècle, *Crepidula fornicata* est un modèle pertinent pour l'étude du processus d'expansion chez un mollusque exotique. Cette espèce hermaphrodite protandre, possédant une phase larvaire d'une durée de deux à quatre semaines a envahi la majeure partie des bassins conchylicoles français de la Manche et de l'Atlantique.

Au cours de cette thèse, une approche s'appuyant sur des études empiriques de biologie et de génétique des populations a été utilisée, afin d'étudier trois facteurs pouvant expliquer la prolifération de *C. fornicata* sur le littoral : (i) les vecteurs de la dispersion (vecteurs anthropiques vs dispersion naturelle), (ii) les modalités de recrutement local et (iii) la distribution des morphes sexuels dans les populations et le comportement reproducteur.

Bien que les activités humaines aient eu un rôle prédominant lors de l'installation initiale de cette espèce en favorisant notamment la récurrence des introductions, l'étude des flux de gènes, à l'aide de 8 locus enzymatiques et 5 locus microsatellites, à l'échelle (i) des côtes françaises, (ii) de la Manche et (iii) du Golfe Normano-Breton indique que l'expansion de la crépidule sur le littoral s'explique surtout par la dispersion larvaire. L'analyse de la dynamique temporelle de quatre populations situées en baie du Mont-St-Michel et en baie de Morlaix a mis en évidence que la répartition des mâles et des femelles dans les différentes classes d'âge favorise la reproduction entre les générations, un processus se traduisant par une homogénéité génétique entre les juvéniles et les adultes reproducteurs locaux. Des analyses de paternité sur des larves, à l'aide de 5 locus microsatellites, démontrent un fort taux de paternité multiple chez cette espèce, contribuant à maintenir une forte diversité génétique dans les populations. Globalement, les résultats de ces travaux montrent que la récurrence d'introduction, la dispersion à longue distance, la distribution des morphes sexuels dans la population et une reproduction locale efficace, associés à la tolérance écologique de cette espèce, expliquent le succès de l'installation de *C. fornicata* sur une large part des côtes de l'Atlantique et de la Manche.

Mots-clés : espèce exotique, dispersion larvaire, diversité génétique, recrutement, hermaphroditisme protandre, sex-ratio

Abstract

The reproductive system and the dispersal ability may be two key factors in the geographical spread of a species. Given the successful colonisation of its introduced European range, following its accidental introduction at the end of the 19th century, *Crepidula fornicata* is an excellent model for the study of expansion of an exotic mollusc. This protandrous hermaphrodite having a long larval phase (two to four weeks) has invaded numerous bays along the Channel and Atlantic coasts where oyster farming is practiced.

Empirical approaches of population biology and genetics were used to study three factors that could explain the proliferation of *C. fornicata* along European coasts: (i) dispersal vectors (human vectors vs natural dispersal) (ii) recruitment patterns and (iii) the distribution of sexual morphs within populations and reproductive behaviour.

Although human activities are responsible of the initial establishment of the species due to recurrent introductions, the study of gene flow, using 8 allozymes and 5 microsatellite loci, at the scale of (i) French coasts, (ii) Channel coasts and (iii) Norman-Breton Gulf demonstrates that the range expansion of the slipper limpet is, in majority, explained by larval dispersal. Analysis of the temporal dynamics of four populations of the Bay of Mont-St-Michel and the Bay of Morlaix show that the distribution of males and females in the different age classes promotes reproduction between generations, homogenising genetic and allelic diversity among juveniles and reproductive adults. Paternity analysis on larvae, carried out with 5 microsatellite loci, show high frequency of multiple paternity in this species, a pattern that maintains a high genetic diversity within populations. Taken together, these results show that successive introductions, long distance dispersal, the distribution of sexual morphs within populations and efficient local reproduction, linked to the environmental plasticity of this species, explain the successful establishment of *C. fornicata* in Atlantic and Channel coasts.

Key Words: exotic species, larval dispersal, genetic diversity, recruitment, protandrous hermaphroditism, sex-ratio