



HAL
open science

Biodiversité des peuplements hydrothermaux de la dorsale Est-Pacifique : influence des traits d'histoire de vie des organismes et de l'environnement géophysique et physico-chimique

Marjolaine Matabos

► To cite this version:

Marjolaine Matabos. Biodiversité des peuplements hydrothermaux de la dorsale Est-Pacifique : influence des traits d'histoire de vie des organismes et de l'environnement géophysique et physico-chimique. Biodiversité. Paris 6, 2007. Français. NNT: . tel-01117647

HAL Id: tel-01117647

<https://hal.sorbonne-universite.fr/tel-01117647v1>

Submitted on 17 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 PIERRE ET MARIE CURIE**

Spécialité
Océanographie Biologique

Présentée par

Mlle Marjolaine MATABOS

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE

"Biodiversité des peuplements hydrothermaux de la dorsale du Pacifique oriental : influence des traits d'histoire de vie des organismes et de l'environnement géophysique et physico-chimique"

Soutenue le 17 décembre 2007

Devant le jury composé de

Dr Sarah SAMADI, IRD	(Rapporteur)
Dr Daniel DESBRUYERES, Ifremer	(Rapporteur)
Pr François LALLIER, Université Pierre et Marie Curie	(Président du jury)
Dr Pierre CHEVALDONNE, CNRS - Station Marine d'Endoume	(Examinateur)
Dr Didier JOLLIVET, CNRS - Station Biologique de Roscoff	(Examinateur)
Dr Anders WAREN, Swedish Museum of Natural History	(Examinateur)
Dr Eric THIEBAUT, Université Pierre et Marie Curie	(Directeur de thèse)

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait jamais pu aboutir sans l'aide et le soutien, sur tous les plans, de nombreuses personnes que je tiens à remercier chaleureusement.

Tout d'abord, je voudrais exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance envers mon directeur de thèse, Eric Thiébaud. Merci Eric de m'avoir accordé ta confiance durant ces trois années, pour ton soutien et ton encadrement sans faille durant toute cette aventure malgré un emploi du temps très chargé.

Un grand merci à Guy Boucher et Sylvie Dufour pour m'avoir accueillie au sein de leur unité au Muséum National d'Histoire Naturelle.

Je remercie tous les membres du jury, mes rapporteurs le Dr Daniel Desbruyères et le Dr Sarah Samadi ainsi que tous les examinateurs, François Lallier, Didier Jollivet, Pierre Chevaldonné et Anders Warén, qui ont accepté de lire ce manuscrit et de se déplacer pour venir m'écouter.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Didier pour m'avoir initiée aux techniques de biologie moléculaire et aux analyses en génétique. Un grand merci pour ta disponibilité, ton aide et tous tes conseils précieux durant ces trois années.

Je voudrais remercier également tous ceux qui m'ont accueillie dans le cadre de mon travail : François Bonhomme et toute l'équipe du laboratoire de Sète où j'ai pu effectuer une partie de mon travail moléculaire ; l'IFREMER de Brest et tout particulièrement Patrick Briand pour son accueil et son aide ; Anders Warén et l'équipe du département de 'zoologie des invertébrés' du Muséum d'Histoire Naturelle de Stockholm pour leur accueil chaleureux ; Rudo Von Cosel au Muséum National d'Histoire Naturelle pour m'avoir frayer une petite place dans son bureau ou plutôt son « musée » le temps d'une journée ; Paul Tyler et Sophie Pendlebury du National Oceanographic Center à Southampton pour m'avoir initiée aux techniques histologiques.

Je tiens également à remercier Madeleine Martin et Sophie Berland du Muséum National d'Histoire Naturelle pour leur coup de main sur les techniques histologiques.

Merci à toute l'équipe du BOME avec qui j'ai partagé ces trois dernières années : Jadwiga, Tarik, Laurent, Aline, Caroline, Hervé, Jocelyne, Aude, Mathieu, Marc, Delphine et... Céline ! Ma petite Céline, merci pour ta présence, nos longues discussions et ton écoute. Merci à Anne-Laure pour son soutien durant la phase finale, même à distance...

Un grand merci aux équipes EGPM et Benthos qui m'ont accueillie durant mes fréquents séjours à la Station Biologique de Roscoff et je tiens particulièrement à

remercier Dominique Davoult pour m'avoir reçue dans l'équipe d'Ecologie Benthique.

Merci à Sophie d'avoir partager avec moi un petit bout de cette aventure, merci pour ton aide et ta patience dans la dernière ligne droite et surtout de m'avoir réconcilier avec les manip de biologie moléculaire. Merci à Sabrina, Marie, Claire, Gauthier, Sophie et Vincent pour avoir corrigé ce manuscrit, merci à Manue pour la reliure et pour m'avoir supportée et accompagnée durant les dernières heures...

...et bien sur tous les autres copains qui ont agrémenté mes soirées roscovites : François, Baptiste, Céline, Aurélie, Guillaume, Daphné, Régis et tout ceux que j'oublie....

J'embrasse particulièrement très fort Jihane et Sakina qui me suivent depuis un petit bout de temps, merci les filles pour votre soutien et votre altruisme !

Merci à tous les artistes de Paname pour les concerts régénérateurs qui m'ont permis de me vider la tête aux bonnes occasions, les apéros, les pétanques, les « grandes bouffes » et tout le reste : Clem, Enzo, Julien, Flo, Ponpon, Tomtom, Hugotine, Jules, Patti, Scalpel, JC, Zombi, Chloé, Nini, Clara, Raph, Carla, Yann, Anthonin, Fabien et tous les autres dégénérés... Merci d'avoir été là! Petit clin d'œil aux calamars qui ont cruellement manqué de répétitions ces derniers mois, j'espère que vous comprendrez quand vous verrez l'aboutissement de tous mes efforts !

Spéciale dédicace aux deux zoulous avec qui j'ai habité durant toutes ces années parisiennes : mon grand frère, Beru, et Michou, ainsi que Bagouze et Moumoune. Merci d'avoir été présents et de m'avoir supportée dans les coups durs, dans les moments heureux, quand j'étais triste... et surtout stressée...

Merci à toute ma famille, ma sœur, Estelle, mes grands parents et tout les autres. Je voudrais témoigner toute ma reconnaissance et tout mon amour à mes parents qui m'ont toujours soutenue dans mes projets et sans qui je ne serais jamais arrivée jusqu'ici.

Enfin, j'embrasse très fort ma petite araignée, ces derniers mois étaient difficiles mais ça y est j'ai réussi...

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
1. Les caractéristiques du milieu hydrothermal	1
2. Le concept de biodiversité : définition et échelles	6
3. La biodiversité dans le milieu hydrothermal	10
4. Les objectifs de la thèse	16
CHAPITRE 1 : Phylogéographie du vétérogastéropode <i>Lepetodrilus elevatus</i> le long de la dorsale Est Pacifique (EPR)	18
1.1. Introduction	18
1.2. Matériel et méthodes	21
1.2.1. Echantillonnage et sites d'étude	21
1.2.2. Méthodes allozymiques	22
1.2.3. ADN nucléaire	23
1.2.4. Traitement des données	24
1.2.5. Séquençage de l'ADN mitochondrial	28
1.2.6. Traitement des données phylogénétiques	29
1.2.7. Analyses morphométriques	31
1.3. Résultats	33
1.3.1. Diversité génétique, écarts à l'équilibre de Hardy-Weinberg et clines alléliques	33
1.3.2. Mise en évidence d'espèces cryptiques chez <i>Lepetodrilus elevatus</i>	35
1.3.3. Analyses démographiques au sein de chaque clade	38
1.3.4. Analyse du COI sur d'autres espèces de gastéropodes	40
1.4. Discussion	41
1.4.1. Evidance de la présence d'espèces cryptiques	41
1.4.2. Spéciation allopatrique vs. spéciation sympatrique	45
1.4.3. Evolution démographique de chaque clade	48
1.5. Conclusion	49
CHAPITRE 2 : Biodiversité des communautés macrobenthiques associées aux moulières de la dorsale Sud Est Pacifique	51
2.1. Introduction	51
2.2. Matériel et méthodes	54
2.2.1. Echantillonnage et traitement des échantillons	54
2.2.2. Analyse des données	56
2.3. Résultats	62
2.3.1. Description des sites	62
2.3.2. Structure démographique de <i>Bathymodiolus thermophilus</i>	65
2.3.3. Diversité et composition faunistique	66
2.3.4. Distribution spatiale des espèces de gastéropodes le long de l'EPR sud	68
2.3.5. Analyses multivariées	70
2.3.6. Diversité fonctionnelle	72
2.4. Discussion	72
2.5. Conclusion	80
PLANCHES 1-3 : Gastéropodes hydrothermaux de la dorsale du Pacifique oriental	
CHAPITRE 3 : Structure génétique de <i>Lepetodrilus elevatus</i> à méso-échelle : Recherche de marqueurs polymorphes	82
3.1. Introduction	82

3.2. Matériel et méthodes	85
3.2.1. Echantillonnage et sites d'étude	85
3.2.2. Mise au point des marqueurs nucléaires	85
3.2.3. Génotypage des individus	86
3.2.4. Analyses	87
3.3. Résultats	89
3.3.1. Diversité génétique et écarts à l'équilibre de Hardy-Weinberg	90
3.3.2. Différenciation génétique entre populations	91
3.4. Discussion	92
3.4.1. Diversité génétique et écarts à l'équilibre de Hardy-Weinberg	94
3.4.2. Hybridation entre espèces et introgression d'allèles	95
3.4.3. Absence de différenciation génétique entre les populations.	97
3.5. Conclusion	98

CHAPITRE 4 : Influence de l'environnement physico-chimique sur la structure des communautés de gastéropodes de la dorsale Est Pacifique (13°N EPR)..... 100

4.1. Introduction	100
4.2. Matériel et méthodes	104
4.2.1. Sites d'étude et échantillonnage	104
4.2.2. Analyses chimiques et modèle géochimique	106
4.2.3. Analyse de la structure des assemblages de gastéropodes	107
4.2.4. Relations entre assemblages faunistiques et environnement.....	108
4.2.5. Structure démographique des 4 principales espèces de gastéropodes.....	110
4.2.6. Biologie reproductive des 4 principales espèces de gastéropodes	111
4.3. Résultats	112
4.3.1. Environnement physico-chimique.....	112
4.3.2. Analyse des assemblages de gastéropodes	115
4.3.2.1. Composition faunistique	115
4.3.2.2. Structure des assemblages faunistiques.....	116
4.3.2.3. Relation avec l'environnement.....	117
4.3.3. Structure démographique des 4 principales espèces de gastéropodes.....	118
4.3.3.1. <i>Lepetodrilus elevatus</i>	118
4.3.3.2. Les Peltospiridés	119
4.3.4. Biologie reproductive des 4 principales espèces échantillonnées	119
4.3.4.1. <i>Lepetodrilus elevatus</i>	119
4.3.4.2. Les Peltospiridés	121
4.4. Discussion	123
4.4.1. Environnement physico-chimique et structure de la communauté	123
4.4.2. Biologie de populations des 4 principales espèces de gastéropodes.....	130
4.5. Conclusion	134

DISCUSSION GENERALE -CONCLUSION - PERSPECTIVES..... 136

1. De l'échelle globale à l'échelle régionale	136
2. L'échelle locale	140
3. Limites et perspectives	142

Références bibliographiques **146**

Liste des Tableaux

Liste des Figures

ANNEXES

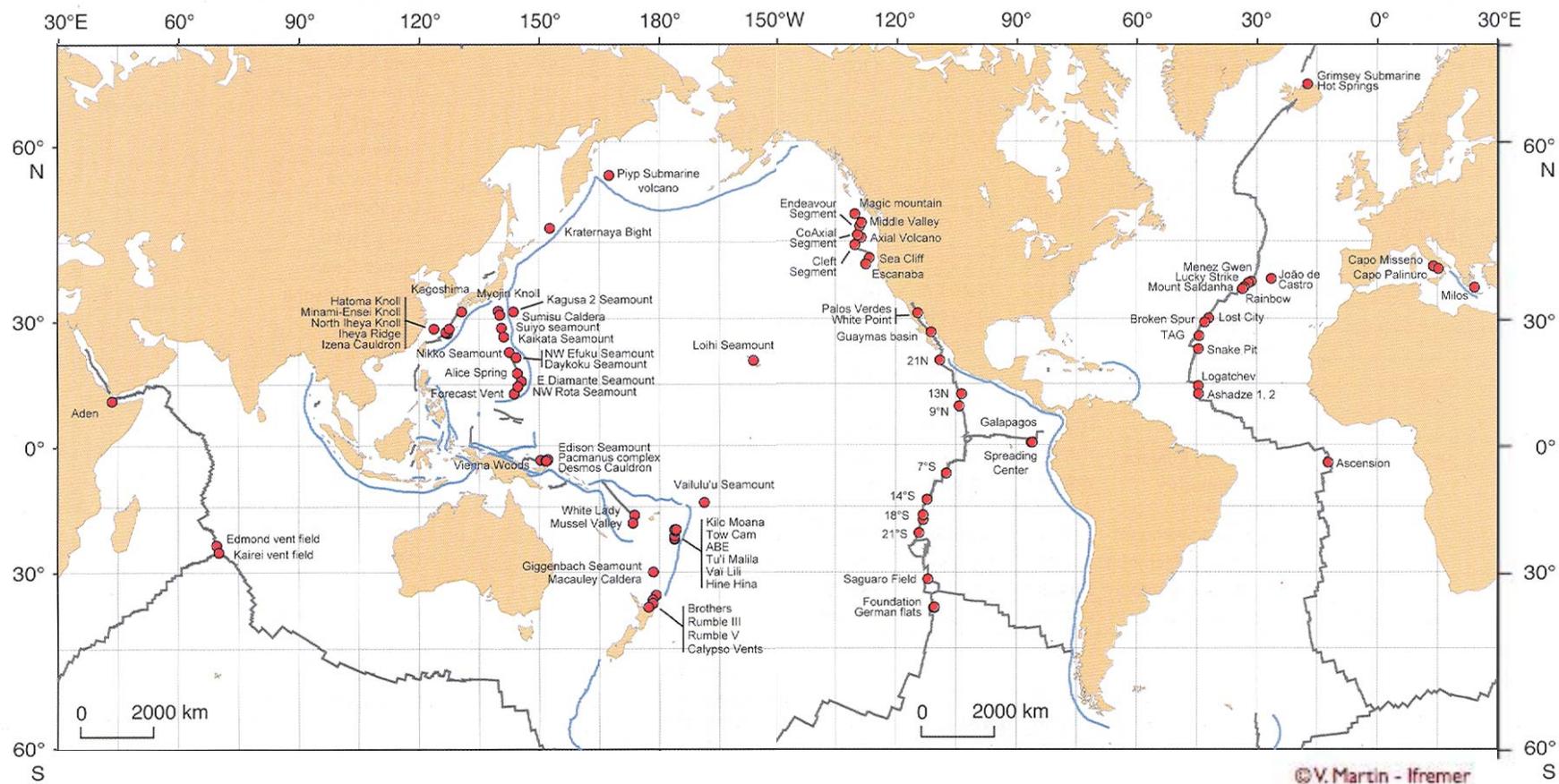


Figure i.1. Répartition des sites hydrothermiques actifs le long des dorsales médio-océaniques, dans les bassins arrière arc et au niveau de quelques monts sous-marins (d'après Desbruyères *et al.* 2006b).

INTRODUCTION



INTRODUCTION

1. Les caractéristiques du milieu hydrothermal

La découverte des sources hydrothermales remonte à l'année 1977, suite à une plongée effectuée à bord du submersible américain *Alvin* sur la dorsale des Galápagos (Lonsdale 1977). Alors que des anomalies dans le bilan thermique au niveau des dorsales médio-océaniques avaient amené les géologues à supposer l'existence d'une circulation hydrothermale (Lister 1972, Talwani *et al.* 1971), la nature et la densité de la faune associée étaient cependant totalement inattendues. Dans les années qui ont suivi, la découverte de nouveaux sites hydrothermaux hébergeant une faune hydrothermale spécifique, a permis de mettre en évidence une répartition de ces écosystèmes le long des dorsales médio-océaniques actives, dans les bassins arrière-arc et sur certains monts sous-marins volcaniques (voir Tyler *et al.* 2003 pour une revue) (Figure i.1). Au début des années 80, des sites ont été découverts le long de la dorsale Est Pacifique à 21°N (RISE project group 1980, Hessler *et al.* 1985), à 13°N (Desbruyères *et al.* 1982, Hekinian *et al.* 1983), à 17°-19°S (Renard *et al.* 1985) et à 9°50'N (Haymon *et al.* 1991), et dans le nord-est Pacifique le long des segments de dorsale Juan de Fuca (CASM 1985, Tunnicliffe *et al.* 1985), Explorer (Tunnicliffe *et al.* 1986) et Gorda (Rona *et al.* 1990). Au milieu des années 80, des sites hydrothermaux ont également été recensés dans les bassins arrière-arc du Pacifique ouest (i.e. bassin de Manus, bassin des Mariannes, bassin des Fidji, bassin de Lau et bassin d'Okinawa) (Both *et al.* 1986, Desbruyères *et al.* 1994, Tyler *et al.* 2003), sur certains monts sous-marins hors axes dans le Pacifique (Karl *et al.* 1989 ; Williams & Dobbs 1995) et le long de la dorsale médio-atlantique (Rona *et al.* 1986). Plus récemment, des sites ont également été décrits le long de la dorsale centrale indienne (Hashimoto *et al.* 2001, Van Dover *et al.* 2001) (Figure i.1). Il reste vraisemblablement de nombreux sites à découvrir le long de dorsales déjà largement connues comme la dorsale du Pacifique oriental ou la dorsale médio-atlantique, mais aussi le long de dorsales peu ou pas explorées comme la dorsale du Chili, la dorsale Pacifique-Antarctique, la dorsale Cayman dans la mer des Caraïbes ou la dorsale Jan Mayen en Arctique, et enfin dans certains bassins arrière-arc comme le bassin d'Andaman dans l'océan Indien ou l'arc de Scotia au sud-ouest de l'océan Atlantique (Van Dover *et al.* 2002, Tyler *et al.* 2003, Desbruyères *et al.* 2006b).

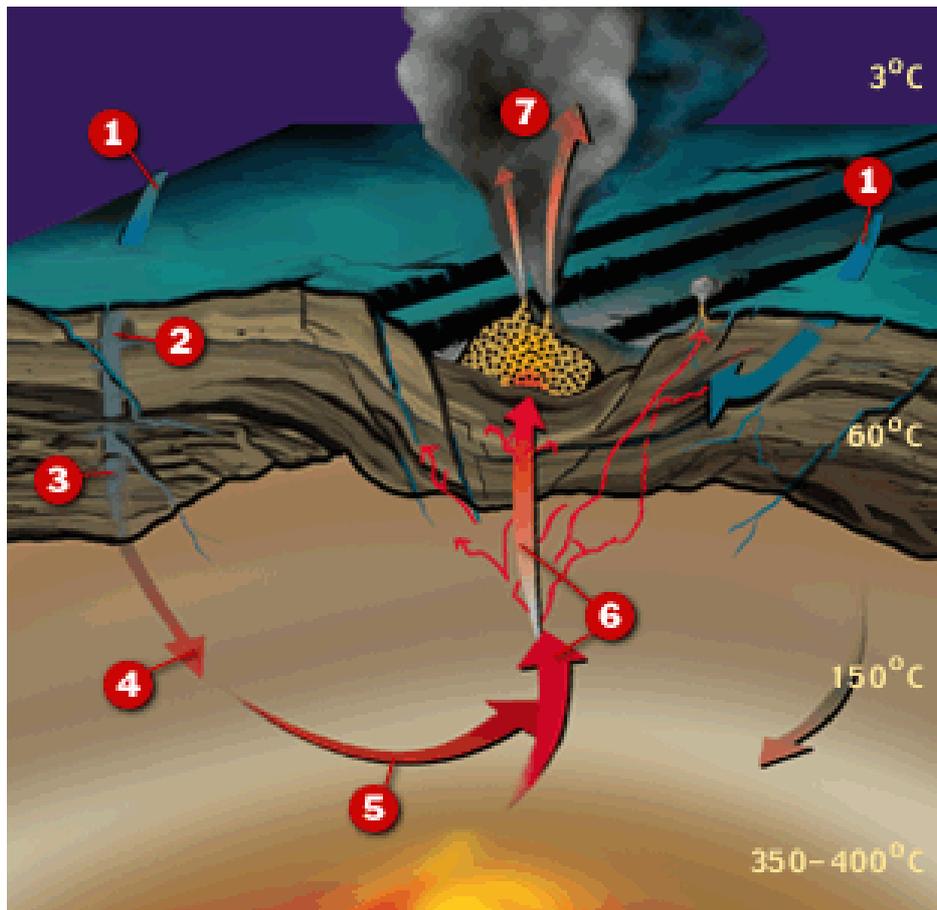


Figure i.2. Représentation schématique de la circulation hydrothermale au niveau d'une dorsale océanique. (1) pénétration de l'eau de mer dans les crevasses et les fissures ; (2) l'eau de mer perd sa charge en potassium (K^+) et en oxygène (O_2) au contact de la roche chaude ; (3) le fluide altéré perd sa charge en calcium (Ca^{2+}), magnésium (Mg^{2+}) et sulfates (SO_4^{2-}) ; (4) enrichissement du fluide en sodium (Na^+), Calcium (Ca^{2+}) et potassium (K^+) ; (5) la zone de température maximale est atteinte, le cuivre (Cu^{2+}), le zinc (Zn^{2+}), le fer (Fe^{2+}) et les sulfures (H_2S) sont dissous dans le fluide ; (6) remontée du fluide chargé en métaux dissous ; (7) mélange du fluide pur avec l'eau de mer ambiante. (extrait du site web de la Woods Hole Oceanographic Institution, <http://www.divediscover.whoi-edu/vents>).

La découverte de cet écosystème a été primordiale d'un point de vue biologique dans la mesure où son fonctionnement est dépendant d'un mécanisme jusqu'alors considéré comme marginal pour la synthèse de matière organique, la chimiosynthèse (Corliss *et al.* 1979). La circulation hydrothermale est directement liée au budget magmatique alloué aux croûtes océaniques le long des dorsales médio-océaniques ou à celui des bassins arrière-arc. Ces derniers se forment derrière des arcs insulaires, le long de marges actives où une ancienne plaque océanique plonge sous une plaque continentale en retrait. La tension qu'exerce la plaque en subduction génère une zone d'extension qui peut s'ouvrir de telle sorte que le magma va remonter en surface et créer un phénomène d'accrétion similaire à celui rencontré le long des dorsales.

L'eau de mer pénètre dans le système hydrothermal *via* des crevasses et des fissures creusées sur les flancs de la dorsale. Au contact de la roche chaude (~150°C à 200°C), l'eau de mer perd sa charge en calcium (Ca^{2+}), magnésium (Mg^{2+}) et sulfates (SO_4^{2-}) par précipitation de sulfate de calcium et de minéraux riches en magnésium (Figure i.2). A partir de certaines température et pression du manteau, le lessivage du basalte chaud entraîne un enrichissement du fluide en H^+ , en éléments réduits (fer ferreux, sulfures, méthane) et en divers métaux lourds (e.g. manganèse, silicium, cadmium, cuivre, zinc...). Le fluide acquiert également une forte radioactivité naturelle. Lors de sa remontée dans la croûte par ascension adiabatique, le fluide se décharge dans l'océan et forme des édifices par précipitation d'éléments minéraux au contact de l'eau de mer (Lalou 1991). Ces édifices présentent des formes variées en fonction de l'intensité de l'émission et de la composition du fluide. Lorsque le fluide émis est chaud (350°C), anoxique et acide (pH de 2-3), son mélange instantané avec l'eau de mer conduit à la formation de fumeurs noirs par précipitation de sulfures polymétalliques et de sulfate de calcium (anhydrite, CaSO_4) (Alt 1995, Hannington *et al.* 1995). Lorsque le fluide se mélange avec de l'eau de mer lors de sa remontée, provoquant une précipitation partielle des métaux dans le réseau de crevasses et de fissures, des fumeurs blancs se forment par précipitation de silicate, d'anhydrite et de sulfate de baryum (baryte, BaSO_4) (Hannington *et al.* 1995). Un dernier grand type de manifestation hydrothermale correspond à des diffusions de faible température qui se produisent lorsque les fluides chauds subissent une dilution en sub-surface ou lorsque l'eau de mer ne pénètre pas assez profondément dans la croûte océanique. Dans ce dernier cas, l'eau de mer est simplement réchauffée au contact du basalte chaud et ne subit pas de modification complète de sa composition chimique. Le fluide peut diffuser lentement sur de grandes étendues à travers les surfaces poreuses des structures minérales ou directement *via* les crevasses et les fissures à

des températures inférieures à 50°C (Alt 1995, Hannington *et al.* 1995). Ce type d'émissions correspond à 90% de la chaleur véhiculée au niveau des systèmes hydrothermaux (Alt 1995).

Le mélange progressif du fluide hydrothermal, hautement toxique pour la plupart des organismes métazoaires, et de l'eau de mer conduit à la mise en place d'un gradient spatial des conditions physico-chimiques, sur des échelles comprises entre quelques centimètres et quelques mètres, le long duquel les organismes vont se distribuer en fonction de leur tolérance physiologique (Shank *et al.* 1998, Luther *et al.* 2001, Bates *et al.* 2005). Les fortes concentrations en sulfures dissous contenues dans le fluide hydrothermal constituent l'un des ingrédients essentiels permettant la vie autour des édifices hydrothermaux. L'oxydation des composés réduits par une partie du peuplement microbien (bactéries sulfo-oxydantes ou méthanotrophes) fournit l'énergie nécessaire à la fixation du carbone, à l'instar de l'énergie solaire dans les systèmes photosynthétiques. Ces bactéries chimioautotrophes, libres ou symbiontes, sont à la base d'un réseau trophique qui se caractérise par de larges biomasses d'invertébrés inféodés à cet écosystème. Les espèces d'invertébrés vivant en symbiose avec des bactéries chimioautotrophes, épi- ou endosymbiotiques (Cavanaugh *et al.* 1981, Childress & Fisher 1992) constituent entre 50% et 70% de la biomasse totale associée aux peuplements hydrothermaux (Sarrazin & Juniper 1999). Ces espèces tels que les bivalves mytilidés ou les siboglinidés sont pour la plupart de grande taille et peuvent être qualifiées d'espèces ingénieurs. Leur structure tridimensionnelle, ainsi que leur impact sur l'environnement physico-chimique avoisinant, offrent un habitat complexe qui pourra être colonisé par d'autres espèces (Shank *et al.* 1998, Sarrazin & Juniper 1999).

La fréquence, la distribution et la durée de vie des sites hydrothermaux sont liées à la vitesse d'expansion du plancher océanique, c'est à dire au taux d'accrétion des dorsales médio-océaniques. La dynamique spatio-temporelle des habitats sera ainsi gouvernée par des événements volcaniques et tectoniques. Suite à l'étude de 69 sites hydrothermaux répartis en six groupes géographiques entre 17°S et 19°S le long de la dorsale du Pacifique oriental, Fouquet *et al.* (1994) ont proposé un schéma de succession temporelle des manifestations hydrothermales. A la suite d'un épisode volcanique d'émissions de laves, les circuits hydrothermaux le long desquels l'eau de mer s'infiltré et est réchauffée par les laves en cours de refroidissement, sont courts, peu profonds et instables ; il en résulte la formation de grandes surfaces de diffusion d'eau moirée. Lorsque l'activité volcanique diminue, un graben axial accompagné de failles et de fissures se forme ; les zones de diffusions laissent place à des édifices sulfurés dont l'activité hydrothermale est alors contrôlée par les failles du graben.

En l'absence d'un nouvel épisode de volcanisme effusif, cette activité diminue progressivement et peut s'arrêter (Fouquet *et al.* 1994) entraînant une disparition de la faune associée (Shank *et al.* 1998).

La différence entre les dorsales rapides, telle que la dorsale Est Pacifique, et les dorsales lentes, telle que la dorsale médio-atlantique, réside dans la profondeur et le nombre de chambres magmatiques sous-jacentes, ces dernières étant responsable d'évènements volcaniques plus ou moins fréquents (Alt 1995). Le long des dorsales rapides, les émissions de fluide de haute température sont confinées sur une zone étroite au-dessus de la chambre magmatique et l'hydrothermalisme est souvent associé à des activités volcaniques récentes (Alt 1995, Fornari & Embley 1995). A l'inverse, l'activité hydrothermale associée aux dorsales lentes est principalement gouvernée par des évènements tectoniques responsables de la fissuration de la croûte océanique, à l'origine de la formation de failles et de crevasses par lesquelles l'eau de mer va pénétrer (Alt 1995). Les émissions sont donc principalement localisées à l'intersection des failles perpendiculaires et parallèles à l'axe de la dorsale, et forment des structures complexes et stables dans le temps (Alt 1995, Fornari & Embley 1995). Les dorsales à taux d'expansion intermédiaire (Juan de Fuca, dorsale des Galápagos) présentent un large spectre de types d'édifices hydrothermaux, allant d'un hydrothermalisme de type volcanique, à faible durée de vie, jusqu'à des structures massives et complexes à longue durée de vie liées à un hydrothermalisme de type tectonique (Fornari & Embley 1995).

Les sites hydrothermaux sont caractérisés par une distribution fragmentaire le long des dorsales et une durée de vie éphémère. Le long des dorsales rapides, la durée de vie des sites n'excède pas en général 100 ans et l'activité hydrothermale se déplace progressivement le long de la dorsale (Lalou *et al.* 1993a). A l'inverse, le long des dorsales lentes, l'activité hydrothermale est plus stable dans le temps à une échelle régionale même si la durée de vie d'un site est localement du même ordre de grandeur que pour les dorsales rapides (Lalou *et al.* 1993b). L'occurrence de changements environnementaux stochastiques va ainsi entraîner la création et la disparition d'habitats en relation avec la fréquence des évènements géodynamiques. A ces longues échelles temporelles de variations de l'activité hydrothermale, s'ajoutent de fortes fluctuations de température et de conditions chimiques sur une échelle de temps allant de quelques secondes à plusieurs heures (Johnson *et al.* 1988, Chevalloné *et al.* 1991, Le Bris *et al.* 2003). La variabilité spatio-temporelle des conditions environnementales des sites hydrothermaux s'intègre ainsi le long d'un continuum d'échelles de temps et d'espace.

Si les écosystèmes hydrothermaux possèdent à l'échelle du globe des similarités écologiques (réseau trophique basé sur la chimiosynthèse, forte biomasse associée à quelques espèces hébergeant des bactéries symbiotiques), ils présentent, entre grands bassins océaniques, des différences de composition faunistique particulièrement visibles au niveau de la mégafaune. Dans le Pacifique oriental, les communautés faunistiques sont principalement dominées par des annélides polychètes des familles des alvinellidés et des siboglinidés¹, et par des mollusques bivalves des familles des mytilidés et des vésicomidés (Desbruyères *et al.* 1982, Hessler *et al.* 1985, Fustec *et al.* 1987, Tunnicliffe 1991). Le long de la dorsale médio-atlantique, ce sont des crevettes des genres *Chorocaris* et *Rimicaris* qui dominent les communautés en association avec des bivalves mytilidés alors que les polychètes alvinellidés et siboglinidés sont totalement absents (Rona *et al.* 1986, Gebruk *et al.* 1997, Desbruyères *et al.* 2000). Les communautés associées aux sites des bassins arrière-arc du Pacifique ouest sont dominées principalement par des mollusques gastéropodes de la famille des provannidés (*Alviniconcha* spp., *Ifremeria nautilei*), des bivalves des familles des mytilidés et des vésicomidés, et des crustacés cirripèdes (Both *et al.* 1986, Tunnicliffe *et al.* 1998, Desbruyères *et al.* 2006a). Sur les sites de la dorsale indienne, les communautés présentent une composition faunistique intermédiaire entre celle décrite le long de la dorsale médio-atlantique et celle rencontrée dans les bassins arrière-arc, avec une dominance de crevettes des genres *Rimicaris* et *Chorocaris*, des bivalves mytilidés et des gastéropodes du genre *Alviniconcha* (Van Dover *et al.* 2001).

La dorsale du Pacifique oriental (EPR)² (cf. figure 1.1) sur laquelle va porter le présent travail peut être subdivisée en 3 portions : le bassin de Guaymas dans le Golfe de Californie, l'EPR nord, entre 21°N et l'Equateur, avec un taux d'accrétion moyen d'environ 11 cm.an⁻¹ (Fornari & Embley 1995), et l'EPR sud, entre l'Equateur et 30°S, avec des taux d'expansion pouvant atteindre 16 cm.an⁻¹ (Naar & Hey 1989). Il s'agit donc d'une dorsale qui peut être qualifiée de dorsale rapide à ultra-rapide. Seul le bassin de Guaymas présente un statut particulier avec un très faible taux d'accrétion ; il constitue ainsi un vaste bassin sédimentaire au niveau duquel le fluide traverse une épaisse couche de sédiment (Lonsdale & Becker 1985).

¹ Les siboglinidés correspondent à une famille de polychètes hautement spécialisée comprenant les vestimentifères et les pogonophores. Rouse G.W. 2001. A cladistic analysis of Siboglinidae Caullery, 1914 (Polychaeta, Annelida): formerly the phyla Pogonophora and Vestimentifera. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 132:55-80.. Dans le cadre de cette thèse, nous privilégierons le terme de siboglinidés.

² La dorsale du Pacifique oriental, en anglais East Pacific Rise, sera le plus souvent appelée dans ce document par son abréviation anglo-saxonne 'EPR'.

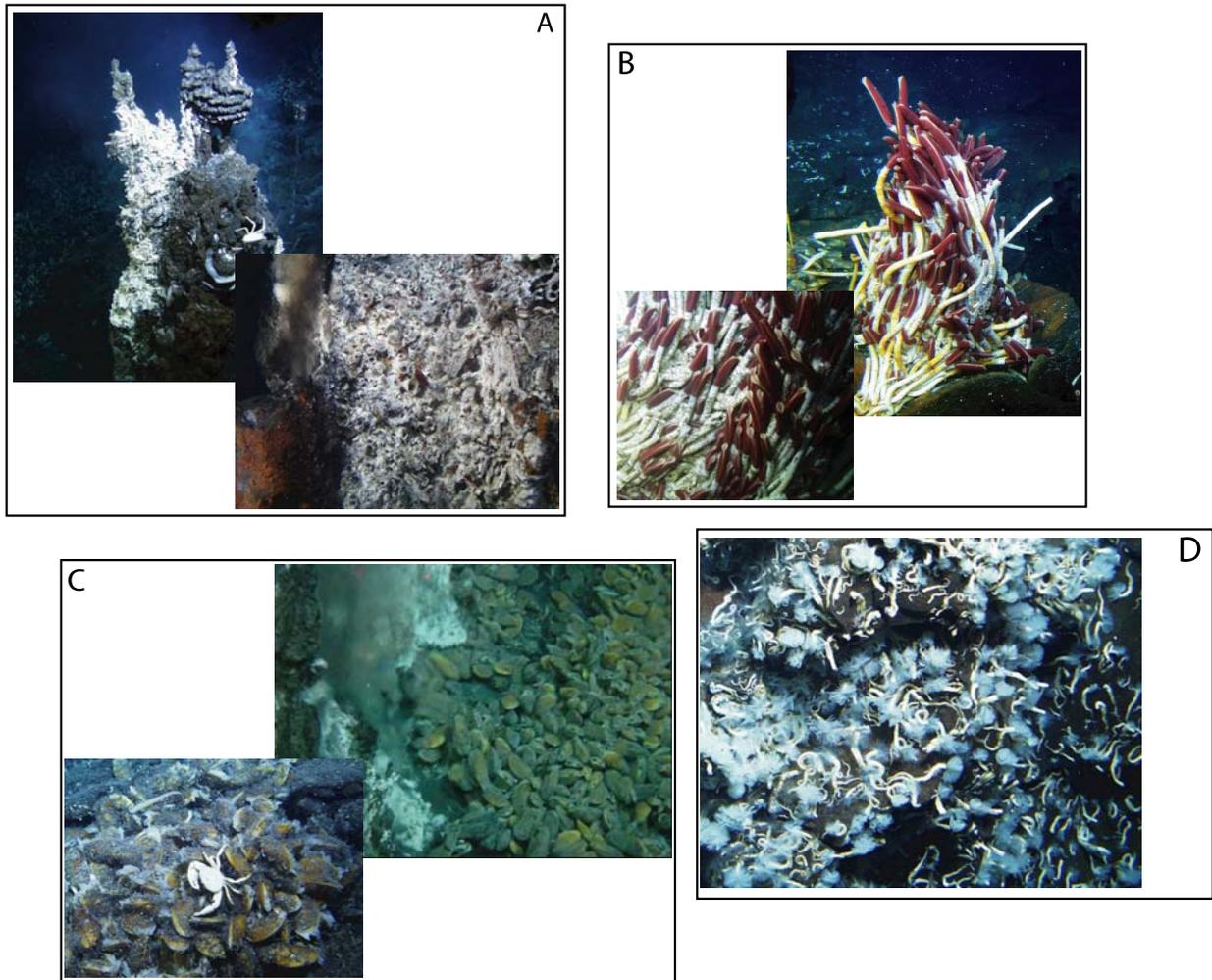


Figure i.3. Illustrations des 4 principales communautés identifiées en fonction de leur mégafaune le long du gradient de mélange entre le fluide et l'eau de mer au niveau de la dorsale du Pacifique oriental (EPR). A : communauté à *Alvinella pompejana* ; B : communauté à Siboglinidés (*Riftia pachyptila*) ; C : communautés à bivalves (*Bathymodiolus thermophilus*) ; D : communauté à serpulidés (© IFREMER).

Au niveau de l'EPR nord qui a été l'objet de nombreuses études descriptives depuis la découverte des sources hydrothermales, quatre communautés mégafaunistiques ont été identifiées le long du gradient de mélange entre le fluide et l'eau de mer (Figure i.3 ; Fustec *et al.* 1987, Jollivet 1996, Shank *et al.* 1998, Mills *et al.* 2007) ;

- (1) les communautés à alvinellidés (*Alvinella pompejana*, *A. caudata* et *Paralvinella grasslei*) présentes le long des parois des fumeurs blancs et noirs et dans les zones de forte diffusion ; les températures excèdent généralement 30°C, le pH est acide et les teneurs en sulfures peuvent atteindre 12 mmol.kg⁻¹ ;
- (2) les communautés dominées par les siboglinidés (*Riftia pachyptila*, *Tevnia jerichonana* et *Oasisia alvinae*) dans les zones de diffusion active; la température est généralement inférieure à 30°C, le pH est légèrement acide et les concentrations en sulfures sont voisines de 0,2-0,3 mmol.kg⁻¹ ;
- (3) les communautés caractérisées par les bivalves *Bathymodiolus thermophilus* et *Calyptogena magnifica* dans les zones de diffusion les plus anciennes ; la température est en général inférieure à 7°C, le pH est proche de la neutralité et les concentrations en sulfures dans l'eau sont aux alentours de 0,15 mmol.kg⁻¹ ;
- (4) les communautés à serpulidés présentes à la périphérie des sites hydrothermaux dans une eau aux caractéristiques proches de l'eau de mer environnante ; la température est voisine de 2°C.

2. Le concept de biodiversité : définition et échelles

La définition adoptée dans l'article 2 de la « Convention sur la Diversité Biologique » établie lors de la conférence des Nations Unies sur l'environnement et le développement, qui s'est tenue à Rio de Janeiro en 1992 définit la biodiversité selon les termes suivants : « "Biological diversity" means the variability among living organisms from all sources including, *inter alia*, terrestrial, marine and other aquatic ecosystems and the ecological complexes of which they are part; this includes diversity within species, between species and of ecosystems ». En d'autres termes, la biodiversité correspond à la variabilité existante parmi les organismes vivants et les systèmes écologiques auxquels ils appartiennent. Elle peut être appréhendée à trois niveaux hiérarchiques d'organisation du vivant (Harper & Hawksworth 1994, May 1994) : la diversité au sein d'une espèce (i.e. diversité génétique), la diversité entre les espèces (i.e. diversité spécifique) et la diversité des communautés (i.e. diversité des écosystèmes).

La diversité génétique est un aspect de la biodiversité dont l'étude a connu une forte progression ces dernières années avec le développement des techniques de la biologie moléculaire. Le gène représente la plus petite unité du vivant et constitue le substrat sur lequel vont agir les processus évolutifs, qu'ils soient dirigés (sélection naturelle) ou aléatoires (dérive génétique). La mutation et la recombinaison sont les forces évolutives à l'origine de la variabilité génétique entre les individus d'une population ou de plusieurs populations. Si cette variabilité est responsable des événements de spéciation sur le long terme, elle permet, à court terme, aux organismes de répondre aux fluctuations de l'environnement ou de faire face aux attaques de pathogènes. La migration ou la dispersion sont au contraire les processus qui favorisent l'homogénéité génétique entre les populations. Différents types d'études permettent d'appréhender ces différentes facettes de la diversité génétique. D'une part, l'étude des flux de gènes fournit une mesure de l'intensité des échanges efficaces d'individus entre les populations d'une espèce donnée : elle offre ainsi une mesure indirecte des modalités de dispersion des organismes, et renseigne sur l'existence de processus de spéciation en présence d'une barrière physique ou comportementale à la migration. D'autre part, l'étude de différents marqueurs moléculaires soumis à sélection et s'exprimant dans des environnements hétérogènes, permet de mettre en évidence les mécanismes adaptatifs des organismes à des conditions environnementales données.

La diversité spécifique est le niveau d'organisation le plus communément utilisé dans les études écologiques, l'espèce demeurant l'unité de base de la classification des êtres vivants même si cette notion est encore largement débattue aujourd'hui (Mayden 1997, Samadi & Barberousse 2006). S'appuyant sur la richesse spécifique comme mesure élémentaire de la diversité spécifique, Whittaker (1960, 1972) a proposé de la subdiviser en quatre composantes selon l'échelle spatiale d'observation: les diversités α , β , γ et ϵ . La diversité α caractérise la diversité locale et se mesure comme le nombre d'espèces présentes dans plusieurs échantillons d'un habitat donné. Les diversités γ et ϵ sont des mesures à plus grande échelle de la diversité et correspondent au nombre total d'espèces présentes respectivement dans un paysage ou une région incluant plusieurs habitats. Ces différentes mesures sont fortement dépendantes de l'effort d'échantillonnage et de l'aire géographique considérée en raison des problèmes de définition en milieu marin de la notion d'habitat ou de paysage (Gray 2000). De telles difficultés sont par ailleurs exacerbées dans le milieu hydrothermal en raison des forts gradients environnementaux à petite échelle. Dans le cadre de cette étude, le terme 'diversité α ' sera réservé à la diversité d'un échantillon réalisé en un

site alors que le terme de diversité γ sera utilisé à une échelle régionale. La diversité β est une mesure sans unité du taux de renouvellement des espèces le long d'un gradient environnemental.

La diversité spécifique ne tient pas compte du rôle fonctionnel des espèces dans leur environnement et des relations qu'elles entretiennent entre elles au sein d'une communauté (Schluter & Ricklefs 1993). Or, les espèces ne sont pas distribuées uniformément à la surface de la planète mais constituent plutôt des assemblages d'espèces présentes dans certaines localités pour des raisons historiques (i.e. en relation à des événements géographiques passés), causales (i.e. les espèces sont plus ou moins adaptées à certaines conditions environnementales) ou fonctionnelles (i.e. rôle des espèces et interactions qu'elles entretiennent entre elles). La communauté représente alors un ensemble local d'espèces fonctionnellement interdépendantes (Bisby 1995) et l'intégration du rôle des facteurs environnementaux sur la communauté définit une unité appelée « écosystème » (Tansley 1935 dans Bisby 1995). Intégrer la diversité des écosystèmes dans la mesure de la biodiversité contribue à fournir une approche plus fonctionnelle de la richesse du vivant.

Différents facteurs, biotiques ou abiotiques, agissant à différentes échelles spatiales et temporelles, jouent un rôle déterminant dans la mise en place et la distribution de la biodiversité. Historiquement, une place importante a été accordée aux interactions biotiques en relation avec les caractéristiques de l'environnement pour rendre compte de la distribution locale et régionale de la biodiversité. Dans la théorie dite de la stabilité temporelle, Sanders (1968) oppose ainsi des communautés contrôlées par l'environnement physique ('physically controlled') et peu diversifiées à des communautés biologiquement accommodées ('biologically accommodated') et diversifiées. Ainsi, dans un milieu soumis à de fortes fluctuations des conditions environnementales (par exemple la zone intertidale), il est attendu que les interactions biotiques soient peu développées et que seul un petit nombre d'espèces soit adapté à de telles conditions. A l'inverse, dans un milieu stable, la compétition a conduit les différentes espèces à s'adapter les unes aux autres afin d'éviter l'exclusion par compétition et a entraîné en conséquence une forte spécialisation. Pour sa part, Huston (1999) résume l'effet de l'environnement sur la richesse spécifique des communautés locales en fonction de deux variables : (1) la production qui régule le taux de croissance des populations et donc l'intensité de la compétition et (2) la fréquence des perturbations environnementales. Une certaine hétérogénéité des conditions environnementales peut permettre le maintien d'une espèce qui serait exclue par compétition sous des conditions plus stables (Huston 1999).

D'autres facteurs ont été depuis évoqués pour rendre compte des gradients de distribution de la biodiversité à l'échelle globale : (1) la relation énergie-diversité, (2) la relation aire-espèces ou (3) la règle de Rapoport liée à l'étendue des habitats des espèces (Roy *et al.* 1998, Gaston 2000).

Les processus affectant la biodiversité sont variables en fonction de l'échelle considérée et la détermination de la contribution relative des processus régionaux et locaux sur la distribution des espèces est un élément clé à la compréhension de la distribution de la biodiversité. Selon une échelle temporelle, on peut distinguer les processus évolutifs à long terme, liés à des événements géophysiques et climatiques passés (tectonique, glaciation, volcanisme) et les processus écologiques à court terme (perturbation, productivité, interactions entre espèces). Les processus évolutifs influencent principalement la diversité régionale tandis que les processus écologiques opèrent majoritairement à une échelle locale. Cependant, les processus locaux peuvent cacher les effets des processus régionaux s'il existe une forte hétérogénéité de l'habitat. En d'autres termes, l'échantillonnage en différentes localités peut révéler une forte richesse spécifique régionale si seuls différents microhabitats non représentatifs à grande échelle ont été échantillonnés (Izsak & Price 2001). A l'opposé, si en plusieurs localités d'une région, seul des habitats relativement similaires sont échantillonnés, alors l'importance des facteurs locaux est occulté par une impression d'homogénéité à l'échelle de la région. Il est donc important de mesurer la biodiversité à une échelle cohérente en fonction des processus que l'on veut tester (Huston 1999).

Plusieurs théories ont été développées afin de déterminer les coexistences locales des espèces et leur lien avec le pool régional d'espèces (Gaston 2000). La théorie de la saturation suggère que dans un milieu où les interactions biotiques sont importantes, la diversité locale atteint un certain seuil indépendant du pool régional d'espèce (Schluter & Ricklefs 1993). Toutefois, dans la majorité des cas, en accord avec la théorie de l'enrichissement régional, les facteurs locaux ont peu d'importance et les espèces sont indépendamment distribuées en fonction des contraintes de l'habitat. Dans ce cas, il existe une relation linéaire entre le pool local et le pool régional d'espèces. Bien que largement testées dans le milieu terrestre, ces différentes théories ont été peu vérifiées en milieu marin, et encore moins en milieu hydrothermal, en grande partie en raison d'un manque criant de données aux échelles spatiales adéquates (Tsurimi 2003).

Le programme Census of Marine Life (CoML), réseau international de chercheurs répartis dans plus de 70 pays, se propose de pallier à ce manque grâce à un inventaire de la biodiversité marine. S'appuyant sur la mise en place d'une base de données géoréférencées

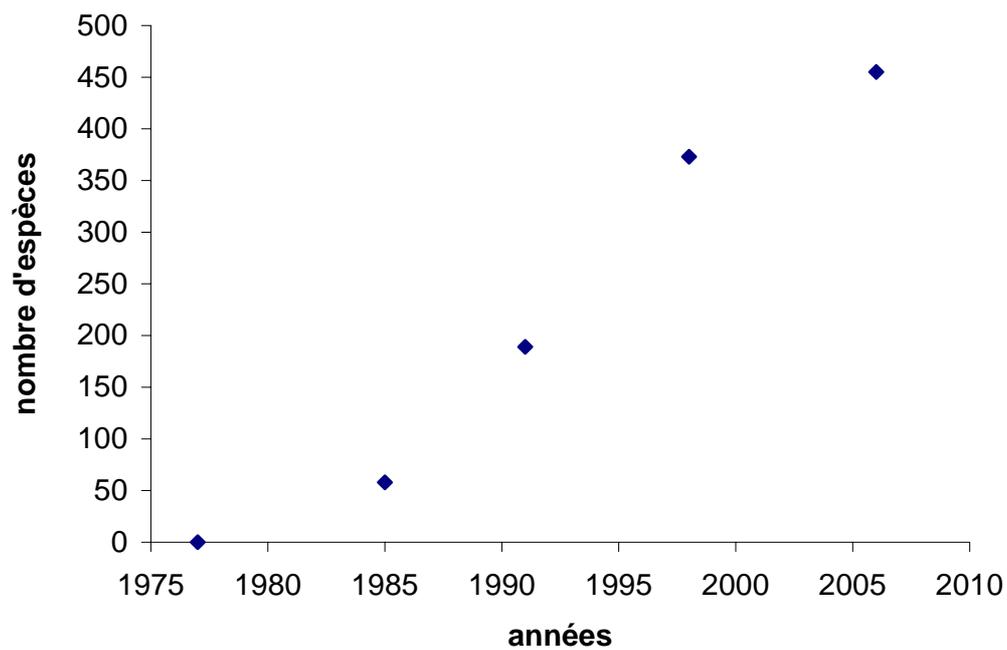


Figure i.4. Evolution du nombre d'espèces hydrothermales décrites depuis la découverte des écosystèmes hydrothermaux. Les chiffres correspondent au nombre d'espèces de la macrofaune décrites au moment de la publication des principales revues par Newman (1985), Tunnicliffe (1991), Tunnicliffe *et al.* (1998) et Desbruyères *et al.* (2006b). Adapté de Neubert *et al.* 2006.

(i.e. Ocean Biogeographic Information System, OBIS), il vise à décrire et expliquer la distribution, l'abondance et la diversité de la vie marine (O'Dor *et al.* 2007). Il inclut une composante qui concerne partiellement l'environnement hydrothermal (i.e. Biogeography of Deep-Water Chemosynthetic Ecosystems, ChEss) et se focalise sur certaines zones encore peu connues (Tyler *et al.* 2003).

3. La biodiversité dans le milieu hydrothermal

Les communautés hydrothermales animales sont caractérisées par une forte biomasse due à quelques espèces mégabenthiques, un fort taux d'endémisme à différents niveaux taxonomiques (i.e. espèce, genre, famille) et une faible diversité comparée aux communautés benthiques des milieux côtiers (Tunnicliffe 1991, Van Dover 2000). Concernant la macrofaune, 455 espèces morphologiques appartenant à 267 genres et 140 familles ont été identifiées à ce jour (Desbruyères *et al.* 2006b) (Figure i.4). Cet inventaire est cependant loin d'être achevé et de nombreuses espèces sont encore découvertes chaque année (Desbruyères *et al.* 2006b) ou sont en cours de description (A. Warén, comm. pers. pour les mollusques par exemple). De plus, la présence d'espèces cryptiques est largement documentée parmi les espèces morphologiques décrites pour le milieu hydrothermal (Vrijenhoek *et al.* 1994, Guinot & Hurtado 2003, Won *et al.* 2003, Hurtado *et al.* 2004) ce qui laisse à penser que la biodiversité réelle est sous estimée.

La majorité des espèces de la méiofaune recensées sont des nématodes ou des crustacés, en particulier des copépodes (Dinet *et al.* 1988, Vanreusel *et al.* 1997, Zekely *et al.* 2006). Ce dernier groupe s'avère être le mieux connu avec 78 espèces décrites actuellement (Bright 2006) contre 7 espèces de nématodes. Alors que la majorité des copépodes appartiennent à la famille des Dirivultidae, endémique aux écosystèmes hydrothermaux, les nématodes appartiennent à des genres déjà connus pour la science (Vanreusel *et al.* 1997). Si la richesse spécifique des nématodes est plus faible dans le milieu hydrothermal que dans le milieu non-hydrothermal, la diversité au niveau des genres ou en termes de groupes fonctionnels est équivalente entre ces milieux (Vanreusel *et al.* 1997). Il convient cependant de noter que les peuplements méiobenthiques hydrothermaux n'ont été étudiés que dans certains types d'habitat (Dinet *et al.* 1988, Vanreusel *et al.* 1997, Zekely *et al.* 2006) et aucun site n'a fait l'objet d'une description complète (Bright 2006, Zekely *et al.* 2006). La méiofaune pourrait pourtant représenter un tiers de la richesse spécifique totale de la faune benthique (Tsurimi & Tunnicliffe 2001, Tsurimi 2003).

La diversité microbienne, longtemps estimée à partir de techniques d'isolation et de culture, demeure très mal connue même si le développement des outils moléculaires devrait améliorer nos connaissances dans les années à venir (Jeanthon 2000). Si de nombreux procaryotes et quelques eucaryotes (Edgomb *et al.* 2002) ont été découverts, ces études restent le plus souvent cantonnées à des microhabitats particuliers, et aucune vision d'ensemble pour le milieu hydrothermal n'est disponible (Cambon-Bonavita, comm. pers.).

Les facteurs contrôlant la distribution de la biodiversité hydrothermale sont nombreux et leur rôle relatif aux différentes échelles est encore mal connu (Tsurimi 2003). A l'échelle globale du système des dorsales médio-océaniques, la diversité spécifique de la macrofaune comme de la méiofaune est globalement plus élevée sur les dorsales rapides que sur les dorsales lentes (Van Dover 2002, 2003, Zekely *et al.* 2006). Ce résultat a été attribué au fait que la variabilité du taux d'accrétion est responsable des patrons de distribution spatiale et de la persistance des champs hydrothermaux (Juniper & Tunnicliffe 1997, Van Dover 2002, 2003). Le long des dorsales lentes, les distances plus importantes entre zones actives rendent les échanges entre populations moins fréquents et augmentent leur probabilité d'extinction, ce qui se traduit par une diversité plus faible (Van Dover & Trask 2000, Van Dover 2002). D'autre part, les processus historiques auraient également joué un rôle prépondérant dans la distribution actuelle de la biodiversité hydrothermale à grande échelle de sorte que la biogéographie actuelle refléterait l'histoire tectonique des plaques et l'évolution des différents bassins océaniques durant le Mésozoïque et le Cénozoïque (Tunnicliffe & Fowler 1996, Desbruyères *et al.* 2006a). Le pool régional d'espèces à l'échelle d'une dorsale serait révélateur de son âge et de la géométrie des anciennes limites des plaques à l'origine d'évènements de vicariance (Tunnicliffe & Fowler 1996). A titre d'exemple, les espèces hydrothermales de la dorsale Nord-Est Pacifique (i.e. Juan de Fuca, Explorer et Gorda) représentent des taxons vicariants aux espèces rencontrées le long de la dorsale du Pacifique oriental : l'évènement de vicariance date de la subduction de la plaque Farallon sous la plaque américaine (Tunnicliffe 1988). D'autres dorsales, aujourd'hui disparues, ont ainsi pu permettre des échanges entre différentes zones géographiques (Tunnicliffe *et al.* 1998, Desbruyères *et al.* 2006a). Cependant, à partir d'une revue sur la biogéographie de la faune hydrothermale associée à la dorsale médio-atlantique, Gebruk *et al.* (1997) suggèrent que l'histoire de la faune hydrothermale n'est pas entièrement liée à l'histoire et à la configuration des dorsales médio-océaniques, et évoquent le rôle d'autres écosystèmes chimiosynthétiques comme source potentielle de différents organismes pour la colonisation des systèmes

hydrothermaux. Les taux de similarité observés au niveau des genres et des familles de ces écosystèmes (sources hydrothermales, suintements froids, carcasses de baleine, bois coulés) renforcent effectivement l'hypothèse d'une liaison évolutive (Sibuet & Olu 1997, Samadi *et al.* 2007). A l'échelle globale comme à l'échelle d'une dorsale, l'accent est surtout mis sur les processus évolutifs pour expliquer la distribution de la biodiversité. Ce sont les caractéristiques topographiques (i.e. failles transformantes, intersections avec des microplaques, inflations bathymétriques) ou les propriétés de la circulation océanique profonde qui sont à même de générer des couloirs ou des barrières à la dispersion et d'induire des événements de vicariance responsables de phénomènes de spéciation (Vrijenhoek *et al.* 1998, Van Dover *et al.* 2002). Toutefois, à une échelle locale ou régionale, les processus de dispersion et de colonisation jouent également un rôle important sur la dynamique des métapopulations, en interagissant avec des processus écologiques qui contrôlent la distribution de la biodiversité (Neubert *et al.* 2006). Plusieurs processus écologiques ont ainsi été proposés : (1) le régime de perturbation de l'habitat, (2) l'hétérogénéité de l'habitat, (3) la distance entre habitats ou (4) les interactions biologiques.

A l'échelle locale, il a été pendant longtemps admis que les communautés hydrothermales étaient structurées par les conditions physico-chimiques de l'environnement local : les espèces se distribuent le long du gradient environnemental spatial en fonction de leur tolérance physiologique à la toxicité du milieu ou en fonction de leurs besoins nutritionnels (Sarrazin *et al.* 1999, Luther *et al.* 2001). Les observations de la mise en place des communautés suite à des éruptions volcaniques ont par ailleurs confirmé cette assertion en montrant les concordances entre les stades de succession écologique des communautés et les changements de la température et des caractéristiques chimiques de l'habitat (Hessler *et al.* 1988, Haymon *et al.* 1993, Shank *et al.* 1998). Cependant, plusieurs observations récentes ont suggéré que les interactions biotiques, prédation, compétition, mais également facilitation ou inhibition, étaient non négligeables pour expliquer l'évolution temporelle des communautés et la distribution locale de la biodiversité (Mullineaux *et al.* 2000, Micheli *et al.* 2002, Mullineaux *et al.* 2003). A titre d'exemple, Mullineaux *et al.* (2000) ont montré que le recrutement du siboglinidé *Riftia pachyptila* était facilité par la présence d'un autre siboglinidé, *Tevnia jerichonana*, indépendamment des variations des conditions physico-chimiques de l'environnement. De même, à partir d'expérimentations *in situ*, Mullineaux *et al.* (2003) ont suggéré que l'identité des premiers colonisateurs d'un nouvel habitat avait une

influence sur la réussite d'installation des colonisateurs suivants, et donc sur la structure future des communautés adultes.

Alors que dans un milieu homogène, la diversité spécifique est limitée par les interactions biotiques telles que la compétition pour l'espace ou la ressource et la prédation, un environnement plus hétérogène peut augmenter la diversité locale par la création de micro-habitats et donc de niches écologiques plus variées. A l'échelle d'un site hydrothermal, l'hétérogénéité physique (spatiale) de l'habitat est accentuée par les variations temporelles de l'intensité d'émission du fluide et ses caractéristiques chimiques (Juniper & Tunnicliffe 1997). De plus, les espèces de la mégafaune forment généralement un habitat avec une structure tridimensionnelle complexe qui accroît le nombre de niches et influencent la distribution de la diversité locale (Cordes *et al.* 2005). Ainsi une forte variabilité dans le type d'édifices et dans l'intensité du fluide à l'échelle d'un site constitue autant d'opportunités d'augmenter la diversité spécifique locale (Juniper & Tunnicliffe 1997).

La stabilité de l'habitat et donc la durée de vie des sites semblent avoir une influence non négligeable sur la diversité locale et régionale (Juniper & Tunnicliffe 1997, Tsurumi 2003). En effet, dans un environnement soumis à de fréquentes perturbations, les espèces auront tendance à répondre indépendamment les unes des autres aux variations environnementales et donc à exploiter les ressources de façon opportuniste : le système demeure à un stade juvénile peu diversifié et n'atteint jamais un stade mature. D'autre part, des taux d'extinction/recolonisation plus élevés font que les stades les plus tardifs de la dynamique successionale d'un site hydrothermal n'ont pas le temps de se mettre en place, empêchant la colonisation par les espèces associées.

La diversité génétique a fait l'objet de nombreuses études ces dernières années (voir revues dans Jollivet 1996, Vrijenhoek 1997, Vrijenhoek *et al.* 1998). Dans un milieu si fragmenté et soumis à de fréquentes extinctions, l'apparition récurrente de goulots d'étranglement et d'effets fondateurs devrait conduire à une perte des allèles rares dans les populations et à une faible diversité génétique. Cependant, le niveau de polymorphisme et d'hétérozygotie observé chez les polychètes ou les amphipodes hydrothermaux sont en accord avec les valeurs observées chez les invertébrés marins et semblent pour la plupart être le résultat de la présence de nombreux allèles rares (Jollivet 1996). Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer le maintien d'une telle diversité génétique chez les espèces hydrothermales. D'une part, le taux de radioactivité naturelle rencontré dans ces écosystèmes

pourrait résulter dans un taux de mutation plus élevé chez les organismes, favorisant ainsi l'existence d'allèles rares. D'autre part, la large gamme de variation des conditions physico-chimiques subie par les organismes pourrait favoriser les génotypes hétérozygotes dans la mesure où ils sont moins demandeurs d'énergie (Jollivet 1996). A l'inverse, les espèces symbiotiques présentent une faible variabilité génétique en comparaison avec les autres espèces hydrothermales. Ce faible polymorphisme pourrait être, dans certains cas, le résultat d'un processus de co-évolution avec le symbionte (Jollivet 1996), ou le reflet du taux d'occupation de l'habitat par ces espèces, lui-même fonction de la place que tiennent ces espèces dans la dynamique temporelle des communautés hydrothermales (Vrijenhoek 1997). En effet les espèces hébergeant des endosymbiontes (mollusques bivalves) sont le plus souvent présentes à un stade avancé de la succession écologique associée aux sources hydrothermales et sont donc moins représentées dans un habitat fortement instable.

D'autre part, l'analyse de la structure génétique des espèces permet d'appréhender indirectement les patrons de dispersion larvaire (Vrijenhoek 1997). En effet, la majorité des espèces endémiques à ce milieu étant constituée d'espèces sessiles ou à mobilité réduite, l'essentiel des flux géniques entre populations sera assuré par les larves qui sont principalement dans les panaches hydrothermaux (Kim & Mullineaux 1998) ou les courants de fond (Mullineaux *et al.* 2005). Dans un habitat essentiellement unidimensionnel telle qu'une dorsale, deux schémas principaux de dispersion sont attendus : (1) un modèle en pas japonais (i.e. dispersion de proche en proche) avec un flux génique fonction de la distance géographique entre populations et (2) un modèle en îles avec un seul pool unique de migrants colonisant l'ensemble de l'aire d'étude. Des écarts aux attendus de ces modèles sont néanmoins fréquents en raison des processus d'extinction-recolonisation qui entraînent une mobilité géographique des habitats et de fortes fluctuations de la taille des populations. Ainsi, le taux de renouvellement des habitats pourrait avoir un rôle bien plus significatif que la dispersion sur la distribution de la diversité génétique et la structure génétique des populations (Vrijenhoek *et al.* 1998, Jollivet *et al.* 1999).

Enfin, si la variabilité génétique permet aux organismes de s'adapter aux conditions contrastées et fluctuantes de leur environnement, elle est soumise à de fortes pressions de sélection (Jollivet *et al.* 1995, Piccino *et al.* 2004, Minic *et al.* 2006). A titre d'exemple, Piccino *et al.* (2004) ont montré qu'il existait une sélection dirigée sur le gène de la phosphoglucomutase (PGM) chez *Alvinella pompejana* en fonction du microhabitat exploité par les individus. Ils ont mis en évidence un système dans lequel un allèle serait favorisé car présentant une stabilité thermique plus élevée.

Les patrons de distribution de la diversité en milieu hydrothermal demeurent difficiles à interpréter pour de multiples raisons :

- (1) Les différents sites hydrothermaux ont fait l'objet d'un effort d'échantillonnage fort variable et avec des techniques variées mais le plus souvent qualitatives ou au mieux semi-quantitatives. Seules quelques rares études récentes se sont appuyées sur un échantillonnage plus quantitatif pour l'étude des moulières (Van Dover & Trask 2000, Turnipseed *et al.* 2003) ou des colonies de siboglinidés (Tsurumi & Tunnicliffe 2003, Govenar *et al.* 2005). Ainsi, la comparaison de la biodiversité entre provinces biogéographiques se limite souvent à une comparaison de listes d'espèces.
- (2) Si la diversité spécifique dépend à la fois de processus évolutifs agissant à grande échelle et de processus écologiques agissant à l'échelle locale, la contribution relative de ces différents processus et le lien entre la diversité locale et la diversité régionale sont souvent mal compris. Seule une étude récente de Tsurumi (2003) a montré sur la dorsale de Juan de Fuca (Nord-Est Pacifique) que la diversité locale était proportionnelle au pool régional d'espèces, et contrôlée par l'hétérogénéité et le taux de perturbation de l'habitat. Mais la majorité des hypothèses avancées sur les facteurs responsables de la diversité ne sont pas statistiquement testées (Tsurimi 2003).
- (3) A l'échelle locale, le rôle des interactions biotiques n'a été appréhendé que sur quelques habitats comme les moulières (Van Dover 2003, Dreyer *et al.* 2005) ou les colonies de siboglinidés (Mullineaux *et al.* 2003, Tsurimi & Tunnicliffe 2003) et l'influence des facteurs environnementaux (température, facteurs chimiques) sur la distribution des espèces n'a le plus souvent porté que sur quelques espèces emblématiques de la mégafaune ; la définition même des propriétés de l'habitat à prendre en considération, et ce à une échelle compatible avec celle à laquelle l'organisme le perçoit, pose des problèmes (Luther *et al.* 2001, Le Bris *et al.* 2003, Bates *et al.* 2005, Le Bris *et al.* 2005).
- (4) En terme de diversité génétique, les patrons observés soulèvent encore de nombreuses questions sur le rôle relatif de la dispersion larvaire, de la dynamique particulière de l'habitat ou des processus de sélection (Vrijenhoek 1997, Vrijenhoek *et al.* 1998, Jollivet *et al.* 1999).

4. Les objectifs de la thèse

Les objectifs centraux de la thèse sont de comprendre comment les traits d'histoire de vie des espèces et les facteurs environnementaux (contexte géologique, environnement physico-chimique, barrières physiques à la dispersion) influencent la distribution de la biodiversité hydrothermale à différentes échelles spatiales en se focalisant sur le groupe des gastéropodes. Le choix de ce taxon se justifie par de multiples raisons. Les gastéropodes sont une composante majeure des communautés faunistiques associées aux sources hydrothermales (Tunnicliffe *et al.* 1998) et sont présents dans la totalité des habitats (Jollivet 1996, Mills *et al.* 2007). De plus, ils présentent une certaine diversité fonctionnelle en termes de niveau trophique et de rôle dans l'écosystème (Tunnicliffe 1991, Jollivet 1996). Le taux d'endémisme de ce taxon est très élevé avec 86% des espèces et 61% des genres restreints au milieu hydrothermal (Tunnicliffe *et al.* 1998). La zone d'étude est restreinte à la dorsale du Pacifique oriental (EPR). Les données traitées et analysées proviennent des 3 dernières missions océanographiques françaises réalisées dans cette zone en 1999 (HOPE), 2002 (PHARE) et 2004 (BIOSPEEDO).

En s'appuyant tantôt sur une approche moléculaire, tantôt sur une approche écologique, le manuscrit s'articule en 4 parties qui traitent de la diversité des gastéropodes à 3 échelles spatiales :

- (1) Le premier chapitre a pour objectif de déterminer la structure génétique du végétogastéropode *Lepetodrilus elevatus* à l'échelle de l'EPR (100-1000 km), entre 13°N et 17°S, afin de déterminer le rôle des barrières géographiques sur la spéciation et l'éventuelle existence d'espèces cryptiques ; le jeu de données est complété par des observations obtenues sur quelques autres espèces de gastéropodes ;
- (2) Le deuxième chapitre a pour objectif de déterminer le rôle relatif des processus régionaux (i.e. barrières géographiques et environnement géodynamique) et des processus locaux (i.e. succession écologique) sur la diversité des communautés macrobenthiques associées aux moulières le long de la dorsale EPR sud (100-1000 km), entre 7°S et 21°S ; si l'accent est principalement mis sur l'exemple des gastéropodes, les données obtenues sur les polychètes et les échinodermes sont également incluses dans les analyses ;
- (3) Le troisième chapitre est consacré à la génétique des populations de *L. elevatus* à méso-échelle (10-100 km) entre trois champs hydrothermaux de la dorsale sud EPR ; grâce à

l'utilisation de nouveaux marqueurs moléculaires, il s'agit de déterminer le rôle de la dispersion sur la distribution de la diversité génétique de cette espèce ;

- (4) Enfin, le quatrième chapitre vise à déterminer le rôle relatif de l'environnement physico-chimique et des traits d'histoire de vie des organismes sur la diversité des peuplements de gastéropodes à l'échelle locale (1 m-1 km) ; l'étude porte essentiellement sur les gastéropodes associés aux colonies de la polychète *Alvinella pompejana* du champ hydrothermal 13°N de l'EPR.

CHAPITRE 1

Phylogéographie du vétigastéropode

***Lepetodrilus elevatus* le long de la dorsale du
Pacifique oriental (EPR)**



ENCADRE 1

Définition des échelles d'espace le long de la dorsale

La terminologie utilisée dans le présent travail afin de définir les différentes échelles d'espace correspond à celle décrite par Chevaldonné *et al.* (1997) :

- (1) un « fumeur » représente une seule et unique sortie de fluide hydrothermal, au niveau d'une cheminée ou d'un diffuseur ;
- (2) un « site » fait référence à un ensemble de fumeurs sur une même zone continue de quelques mètres avec un réseau de fissures communes ;
- (3) un « champ » hydrothermal correspond à un ensemble de sites séparés de quelques centaines de mètres à quelques kilomètres et reliés par un réseau hydrothermal souterrain qui présente une même dynamique temporelle ;
- (4) enfin, les champs hydrothermaux peuvent être regroupés en « secteurs » séparés par des dizaines ou centaines de kilomètres.

CHAPITRE 1

Phylogéographie du vétigastéropode *Lepetodrilus elevatus*

le long de la dorsale du Pacifique oriental (EPR)

1.1. Introduction

La séparation des champs hydrothermaux (encadré 1) sur plusieurs centaines à milliers de kilomètres, créant de grandes discontinuités dans la distribution des espèces le long d'une dorsale, ainsi que la durée de vie limitée des sites soulèvent de nombreuses questions sur les capacités de dispersion et de colonisation des espèces hydrothermales, pourtant essentielles au maintien des populations locales. Si différentes observations *in situ* ont permis de dégager les principaux facteurs hydrodynamiques impliqués dans le transport des larves tels que les courants de fond (Mullineaux *et al.* 2005) ou les panaches hydrothermaux (Mullineaux *et al.* 1995b), les échelles spatiales de la dispersion demeurent mal connues en raison d'une méconnaissance générale de la durée de vie des larves. Cependant, ces dernières années, l'émergence d'outils moléculaires a permis d'appréhender indirectement les patrons de dispersion larvaire des espèces hydrothermales (Vrijenhoek 1997). Sachant qu'à l'exception de quelques monts hors axes, les sites hydrothermaux sont confinés le long d'un graben axial, d'une largeur de 100 à 500 m, les structures génétiques de ces espèces devraient être en accord avec les flux de gènes estimés sous les hypothèses des modèles de populations à une dimension (Chevaldonné *et al.* 1997) : le modèle de dispersion en îles ou le modèle de dispersion en pas japonais. Dans le modèle en îles, caractéristique des espèces avec une forte capacité de dispersion, les migrants proviennent d'un unique pool d'individus et les flux géniques estimés sont indépendants de la distance géographique. Au contraire, dans un modèle de dispersion en pas japonais, les distances de dispersion des propagules sont bien plus faibles que l'étendue géographique de l'espèce, de sorte que la différenciation génétique augmente avec la distance géographique entre populations (Wright 1943, Kimura & Weiss 1964). Dans ce cas, il existe une corrélation entre le flux génique et la distance géographique, et les espèces à l'état d'équilibre migration-dérive devraient afficher un patron d'isolement par la distance (Slatkin 1993). Théoriquement, les espèces hydrothermales ayant pour la majorité d'entre elles des capacités de dispersion limitées (voir revues dans Jollivet 1996 et Vrijenhoek *et al.* 1998), les patrons de dispersion devraient être en accord avec le modèle de dispersion en pas japonais. C'est le cas de la polychète siboglinidé *Riftia pachyptila*, le long de l'EPR nord et de la dorsale des Galápagos (Black *et al.* 1994), et d'un autre siboglinidé,

Oasisia alvinae, le long d'une portion de l'EPR nord. A l'inverse, d'autres espèces de l'EPR, telles que le bivalve *Calyptogena magnifica*, entre 21°N et 18°S (Karl *et al.* 1996), la polychète alvinellidé *Alvinella pompejana*, entre 9°50'N et 21°N (Jollivet *et al.* 1995), et les gastéropodes *Eulepetopsis vitrea* et *Lepetodrilus pustulosus*, entre 9°50'N et 13°N (Craddock *et al.* 1997), ne présentent pas de patron d'isolement par la distance.

Chez les espèces hydrothermales, les écarts fréquents aux attendus théoriques des modèles populationnels peuvent s'expliquer, d'une part par l'existence de modes de migration différents de ceux des modèles évoqués ci-dessus, mais aussi par l'alternance des évènements d'extinction/recolonisation très fréquents le long de la dorsale (Jollivet *et al.* 1999). En effet, les variations de l'activité hydrothermale le long de l'axe de la dorsale entraînent la formation et la disparition de nombreux sites hydrothermaux. Dans de telles conditions, où la dispersion n'est pas homogène dans l'espace et la taille des populations fluctue rapidement dans le temps, l'équilibre mutation-dérive a peu de chance d'être atteint. En comparaison à un système stable (i.e. sans extinction), ces processus peuvent soit accentuer, soit atténuer les différenciations génétiques entre les populations en fonction du mode de recolonisation des espèces (Vrijenhoek 1997, Jollivet *et al.* 1999). En effet, Vrijenhoek *et al.* (1998) ont montré que le niveau de différenciation génétique d'une espèce était fortement dépendant de la proportion d'habitat non occupée par cette espèce et non proportionnel au taux de migration estimé.

D'autres facteurs peuvent également être évoqués pour expliquer cet écart entre les attendus théoriques et les résultats observés. Les caractéristiques topographiques des dorsales, telles que les failles transformantes, les inflations bathymétriques, ou la présence de microplaques, peuvent altérer les courants océaniques et former ainsi des barrières géographiques au flux génique en limitant la dispersion larvaire le long de la dorsale (Vrijenhoek *et al.* 1998, Van Dover *et al.* 2002). Les barrières aux flux géniques entraînent alors des divergences génétiques entre populations, des adaptations différentielles voire de la spéciation en fonction de leur perméabilité. D'autre part, dans le cas d'une espèce présentant un fort potentiel de dispersion, un apparent isolement par la distance peut résulter d'un mélange de populations génétiquement différenciées et/ou d'espèces cryptiques (Barton & Hewitt 1985). L'analyse génétique des individus de part et d'autre d'une zone d'hybridation, plus ou moins marquée en fonction de la pression de sélection, révèle des clines dans les fréquences alléliques qui peuvent être interprétés comme une diminution du flux génique en fonction de la distance géographique, si les espèces ne sont pas clairement identifiées (O'Mullan *et al.* 2001). De même, le mélange d'espèces cryptiques résultant d'une remise en

contact secondaire et présentant un gradient spatial d'abondance, peut également laisser croire à un modèle de dispersion en pas japonais.

La présence d'espèces cryptiques est largement répandue dans le milieu marin (Knowlton 1993, 2000) et a déjà été rapportée pour de nombreux taxons des sources hydrothermales, dont les bivalves vesicomidés (Vrijenhoek *et al.* 1994), les moules (Won *et al.* 2003), les crustacés (Guinot & Hurtado 2003) et les polychètes (Hurtado *et al.* 2004). Dans ce contexte il apparaît donc primordial de tester si les patrons de dispersion attendus des espèces hydrothermales peuvent être altérés, soit par les fortes contraintes environnementales, soit par des histoires de colonisation contrastées le long de la dorsale. Il convient alors de savoir comment des processus de spéciation à l'échelle d'une dorsale peuvent influencer la distribution de la biodiversité.

Le végérogastéropode *Lepetodrilus elevatus* Mc Lean, 1988 est l'une des principales espèces de gastéropodes rencontrées le long de la dorsale du Pacifique oriental, de 21°N à 21°S, et sur la dorsale des Galápagos (GAR) (McLean 1988, Warén & Bouchet 2001, Jollivet *et al.* 2004, Desbruyères *et al.* 2006b). Alors que McLean (1988) a identifié deux sous-espèces, *L. e. elevatus*, inféodée à l'EPR, et *L. e. galriftensis* spécifique à la dorsale des Galápagos, Craddock *et al.* (1997) ont proposé, à partir d'analyses génétiques, de faire de ces deux sous-espèces deux espèces distinctes. Selon ces auteurs, l'aire de distribution de *L. galriftensis* serait plus importante que décrite initialement par McLean et s'étendrait également de 21°N à 9°N le long de l'EPR où elle vivrait en sympatrie avec *L. elevatus*. Cependant, pour calibrer leur analyse, Craddock *et al.* (1997) ne disposaient pas d'individus provenant de la dorsale des Galápagos et pouvant être rattachés sans ambiguïté à la sous-espèce *L. e. galriftensis sensu* McLean. On peut alors se demander dans quelle mesure l'espèce qu'ils considèrent comme étant *L. galriftensis* correspond à *L. e. galriftensis sensu* McLean. Dans ce contexte il semble primordial de clarifier le statut d'espèce de *L. elevatus* le long de la dorsale du Pacifique oriental. D'autre part, bien que la taille des échantillons ne soit pas suffisante pour rejeter l'hypothèse nulle d'indépendance entre la structure génétique et la distance géographique, Craddock *et al.* (1997) ont mis en évidence un apparent déclin du flux génique avec la distance entre 9°N et 13°N sur l'EPR pour *L. elevatus* et *L. galriftensis*.

Ce chapitre a donc pour objectif d'analyser la structure génétique de *Lepetodrilus elevatus* le long de la dorsale EPR entre 13°N et 17°25'S à l'aide de trois types de marqueurs moléculaires. Dans un premier temps, 10 marqueurs allozymiques et 2 locus de gènes nucléaires ont été analysés au niveau de 9 populations de *L. elevatus* afin d'appréhender

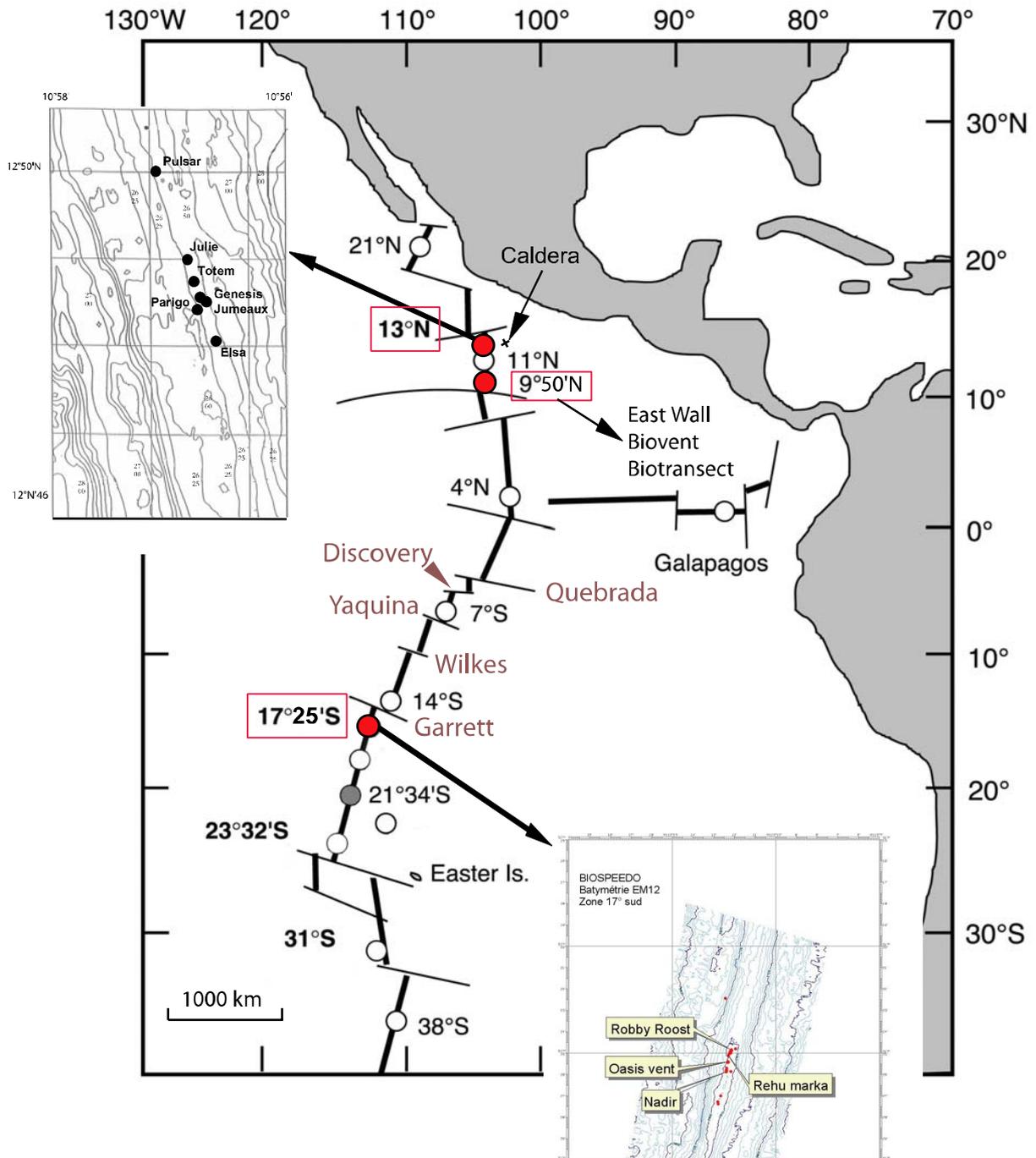


Figure 1.1. Localisation des sites d'études à 13°N, 9°50'N et 17°S le long de la dorsale du Pacifique oriental (EPR).

l'hétérogénéité génétique au sein de l'espèce à une échelle globale. Deuxièmement, une portion du gène mitochondrial codant pour la sous unité I de la cytochrome oxydase (COI) a été séquencée pour 77 individus, issus de 5 populations représentatives de la zone étudiée, afin d'identifier l'existence de potentielles barrières phylogéographiques le long de l'EPR. Enfin, ces analyses génétiques ont été couplées à une analyse de la morphologie de la coquille dans le but de discriminer sur ce critère des espèces. D'autres espèces de gastéropodes ont également fait l'objet d'investigation *via* le séquençage de la même portion du gène mitochondrial codant pour la COI, afin de révéler d'éventuelles zones de rupture phylogéographique communes entre espèces le long de la dorsale.

Les objectifs sont ainsi (1) de caractériser les flux géniques à grande échelle, (2) d'évaluer l'existence ou non d'espèces cryptiques de gastéropodes le long de l'EPR, (3) de proposer d'éventuels facteurs de spéciation.

1.2. Matériel et méthodes

1.2.1 Échantillonnage et sites d'étude

Le détail de l'échantillonnage des 9 populations de *Lepetodrilus elevatus* appartenant à 3 champs hydrothermaux est présenté dans le Tableau 1.1. Les individus provenant de 9°50'N et de 13°N ont été récoltés lors de la mission HOPE qui s'est déroulée le long de l'EPR nord en avril 1999, à l'exception de ceux du site 'Biotransect' qui nous ont été gracieusement fournis par le Dr Timothy Shank (Woods Hole Oceanographic Institution, WHOI). Les individus provenant de 17°25'S ont été prélevés lors de la mission BIOSPEEDO effectuée en avril/mai 2004 le long de l'EPR sud. Tous les individus ont été prélevés à l'aide de la pince hydraulique du Nautille (IFREMER) ou de l'Alvin (WHOI). Deux à quatre sites ont été échantillonnés au niveau des 3 champs hydrothermaux. A 13°N, 3 échantillons ont été prélevés dans la vallée axiale (i.e. Elsa, Julie et Genesis) alors que le quatrième provient d'un site hors axe (i.e. Caldera) (Figure 1.1). Les prélèvements ont été effectués soit dans des bouquets du siboglinidé *Riftia pachyptila*, soit dans des moulières à *Bathymodiolus thermophilus*, soit dans un habitat mixte (Tableau 1.1). A l'issue de l'échantillonnage, les individus ont été conservés dans l'azote liquide ou dans l'éthanol à 80° jusqu'à l'extraction des protéines ou de l'ADN. Toutes les coquilles ont été conservées pour les analyses morphologiques. Le nombre d'individus analysés pour chaque type de marqueur (allozymes, ADN nucléaire, ADN mitochondrial) est détaillé dans le Tableau 1.1. Dans la mesure où le corps complet d'un *L. elevatus* était nécessaire à l'extraction d'une quantité suffisante de protéines, les individus utilisés pour le typage allozymique sont différents de ceux utilisés

Tableau 1.1. Sites d'échantillonnage, type d'habitat et nombre d'individus traités pour chaque marqueur génétique. Les échantillons analysés pour la COI correspondent à un sous ensemble des individus traités par les marqueurs *Lep*. Les plongées ont été effectuées à bord du Nautille (Ifremer). * Alvin (WHOI)

Champ	Site	Coordonnées	Plongée	Habitat	N _{Allozymes}	N _{Lep}	N _{COI}
13°N	Caldera	12°42,70'N - 103°54,40'W	1364	dominance <i>R. pachyptila</i> , <i>Tevnia jerichonana</i> et quelques <i>B. thermophilus</i>	-	64	8
	Julie	12°49,05'N - 103°56,56'W	1360	dominance <i>R. pachyptila</i> et quelques <i>B. thermophilus</i>	45	80	-
	Genesis	12°48,67'N - 103°56,43'W	1357-1361	<i>R. pachyptila</i>	52	116	4
9°50'N	Elsa	12°48,11'N - 103°56,33'W	1359	<i>R. pachyptila</i>	34	91	11
	East-wall	9°50,54'N - 104°17,51'W	1377	<i>R. pachyptila</i> & <i>B. thermophilus</i>	44	50	27
	BioVent	9°50,79'N - 104°17,59'W	1372	<i>R. pachyptila</i> & <i>B. thermophilus</i>	53	-	-
17°25'S	Biotranssect	9°50,44'N - 104°17,51'W	4002*	<i>R. pachyptila</i> & <i>B. thermophilus</i>	19	-	-
	Oasis-BS6	17°25,38'S - 113°12,29'W	1579	<i>C. magnifica</i> & <i>B. thermophilus</i>	34	18	27
	Oasis-BS13	17°25,42'S - 113°12,28'W	1590	dominance <i>B. thermophilus</i> et quelques <i>R. pachyptila</i>	49	-	-

Tableau 1.2. Nombre de séquences obtenues par localité pour chaque espèce de gastéropode traitée pour la COI le long de la dorsale du Pacifique oriental.

Espèce	21°N	13°N	7°25S	14°S	17°25S	21°S	23°S	31°S
<i>Gorgoleptis emarginatus</i>	-	-	2	1	3	1	-	-
<i>Gorgoleptis spiralis</i>	-	-	-	1	2	3	-	-
<i>Clypeosectus delectus</i>	-	-	-	-	2	1	2	-
<i>Pachydermia laevis</i>	2	-	1	-	1	-	-	1
<i>Planorbidella planispira</i>	-	-	-	-	1	1	-	-
<i>Rhyncopelta concentrica</i>	-	2	-	-	-	-	-	-
<i>Nodopelta subnoda</i>	-	2	-	-	-	-	-	-

pour les analyses de l'ADN. Seul un individu a pu être analysé avec succès pour ces deux marqueurs.

Sept espèces supplémentaires ont fait l'objet d'une analyse phylogéographique très partielle : *Gorgoleptis spiralis* Mc Lean, 1988, *G. emarginatus* Mc Lean, 1988, *Clypeosectus delectus* Mc Lean, 1989, *Pachydermia laevis* Warén & Bouchet, 1989, *Planorbidella planispira* Warén & Bouchet, 1989, *Rhyncopelta concentrica* Mc Lean, 1989, et *Nodopelta subnoda* Mc Lean, 1989. Le nombre d'individus traités ainsi que leurs origines sont présentés dans le Tableau 1.2. Par ailleurs, des individus de *Lepetodrilus pustulosus* Mc Lean, 1988, et *L. cristatus* Mc Lean, 1988, en provenance du site Caldera (13°N) ont également été pris en compte dans certaines analyses.

1.2.2. Méthodes allozymiques

Les allozymes sont des enzymes que l'on différencie par leur mobilité électrophorétique, elle-même liée à leur charge ionique. Ainsi, la substitution d'un acide aminé dans la séquence de la protéine entraîne une modification de sa charge électrique et donc de sa mobilité électrophorétique. Les enzymes migrent sur gel d'agarose ou de polyacrylamide en fonction de leur charge électrique qui est dépendante du rapport entre le nombre d'acides aminés chargés positivement et le nombre d'acides aminés chargés négativement. Comme il existe deux copies d'un gène dans le génome, chaque individu sera révélé par une bande, ou électromorphe, s'il est homozygote pour ce gène, ou par deux bandes s'il est hétérozygote. Cependant, la méthode des allozymes ne révèle qu'une partie de la variabilité génotypique. C'est-à-dire qu'une mutation sur la séquence d'ADN n'entraînera pas forcément la substitution d'un acide aminé ; elle est alors qualifiée de mutation silencieuse. L'utilisation des allozymes conduit à une sous-estimation de la variabilité génétique en comparaison des méthodes basées sur l'ADN.

Dans notre étude, les électrophorèses ont été réalisées sur un gel d'amidon à 12%, selon les procédures décrites par Pasteur *et al.* (1987). Le corps entier de chaque individu provenant des échantillons congelés a d'abord été homogénéisé dans une solution de broyage (0,01 M Tris, 0,002 M EDTA, 0,05% β -mercapto-éthanol, 0,0001 M fluorure de phénylméthylsulphonyle, 0,25 M saccharose, pH 6,8) avant d'être centrifugé à 13500 g durant 25 minutes. Le surnageant est ensuite absorbé sur des papiers filtre (Whatman N°1) de 4 mm x 12 mm, qui sont insérés perpendiculairement au gel avant l'électrophorèse. Les tampons d'électrophorèse utilisés sont les suivants :

- (1) Tris-citrate pH8 (TC8), pour la phosphoglucomutase (*Pgm*, E.C. 2.7.5.1), la mannose

phosphate isomérase (*Mpi*, E.C. 5.3.1.8), la Leu-Tyr peptidase (*Pep*, E.C. 3.4.11.x) et l'aspartate aminotransférase (*Aat*, E.C. 2.6.1.1);

(2) Tris-citrate, électrodes pH 6,3, gel pH 6,7 (TC6,7), pour la malate déshydrogénase (*Mdh*, E.C. 1.1.1.37), la glucose-6-phosphate isomérase (*Gpi*, E.C. 5.3.1.9) et l'isocitrate déshydrogénase (*Idh*, E.C. 1.1.1.42);

(3) Tris-citric-boric-lithium hydroxide, électrodes pH 8,1, gel pH 8,3 (LiOH8,3), pour l'enzyme malique (*Me*, E.C. 1.1.1.40).

Le système tampon (1) a migré à 80 mA durant 4 h, le tampon (2) à 60mA durant 4 h et le tampon (3) à 250 mA durant 4 h.

Les 8 systèmes enzymatiques, codant pour 10 locus, ont été visualisés grâce à une coloration enzyme-spécifique dont les techniques sont décrites par Pasteur *et al.* (1987). Après avoir révélé les enzymes, l'électrophorégramme ou zymogramme obtenu est photographié, puis la réaction enzymatique est stoppée grâce à un fixateur décrit par Pasteur *et al.* (1987). Etant donné l'aspect monomorphe ou trop diffus de certains systèmes enzymatiques, seulement 7 locus (soit 6 enzymes) présentaient des résultats interprétables pour la totalité des populations et ont été considérés par la suite. Trois locus additionnels (i.e. *Pgm1*, *Leu-Tyr* et *Me1*) ont été occasionnellement considérés pour 5 des 8 populations étudiées avec ce type de marqueur. Les locus ont été numérotés selon leur mobilité anodale décroissante pour les systèmes multi-locus, et les allèles en fonction de leur distance relative à l'allèle le plus fréquent (100).

1.2.3. ADN nucléaire

Dans une première étape, des marqueurs polymorphes anonymes ont été identifiés par la méthode de l'analyse directe du polymorphisme de longueur (DALP : Desmarais *et al.* 1998). Brièvement, le principe de cette méthode est la suivante. Des amorces universelles marquées (dérivées de l'amorce universelle M13) sont utilisées pour l'amplification directe de fragments de tailles diverses de l'ADN nucléaire (voir Desmarais *et al.* 1998 pour les conditions de PCR) et le polymorphisme de longueur est directement observé après migration sur gel de polyacrylamide des produits de PCR. Les bandes les plus intéressantes sont celles qui (1) sont présentes chez tous les individus, et (2) sont susceptibles de correspondre à des allèles de taille variable pour un même locus. Les bandes d'intérêt ainsi identifiées sont alors directement découpées dans le gel et l'ADN est purifié, inséré dans un plasmide-T BlueScript™ par ligation T-A et transformé dans des cellules compétentes DH5α. Les clones positifs sont ensuite séquencés afin d'identifier les allèles au sein de chaque locus.

Dans le cas de *Lepetodrilus elevatus*, deux locus (i.e. *Lep1* et *Lep3*) présentant un polymorphisme d'indel (insertion-délétion) ont été sélectionnés selon cette méthode et des amorces spécifiques ont été définies (De Barry 2000). Les séquences des amorces sont : [Lep1-R : 5'-AAAGATCCTCCCTTTGTAATGG-3' ; Lep1-F : 5'-CTAAAACCTTAAAGTTCGA-3' ; Lep3-R : 5'-GAAAGATCCTCCCTTTGTAATGG-3' ; Lep3-F : 5'-TAAACCTTAAAGTTCGAGAC-3'].

Pour appliquer cette technique dans le cadre de ma thèse, l'ADN génomique total de chaque individu a été extrait et purifié selon le protocole phénol-chloroforme (Sambrook *et al.* 1989). Les amplifications ont été réalisées dans 25µl d'un milieu réactif contenant 5 µl d'ADN, 1x de tampon de PCR, 1,5mM de MgCl₂, 0,4 µM de chaque amorce, 3,5 U d'ADN Taq polymérase, 0,14 mM de chaque dNTP, et de l'eau MilliQ stérile pour compléter le volume. Les amorces anti-sens ont été marquées avec le fluorochrome 6-FAM. Les conditions d'amplification sont les suivantes : (1) une étape initiale de dénaturation de 2 mn à 94°C, (2) 35 cycles comprenant 30 s de dénaturation à 91°C, 30 s d'hybridation de l'amorce à 55°C et 1 mn d'élongation à 72°C, (3) une étape finale d'élongation à 72°C durant 5 mn.

La migration des produits de PCR, préalablement dénaturés dans du formamide pendant 5 minutes, a été effectuée sur gel de polyacrylamide (8%, 0,5x) dans un tampon Tris-Borate-EDTA 0,5x durant 1h 45mn puis visualisée grâce à un scanner FMBIO II HITACHI. Contrairement aux protéines, les fragments d'ADN migrent alors en fonction de leur taille, avec les plus petits fragments migrant à une distance plus importante de l'anode. Les allèles ont été nommés en fonction de leur taille moléculaire déterminée grâce à des marqueurs de taille connue.

1.2.4. Traitement des données

Pour chaque population, les fréquences alléliques, le nombre moyen d'allèles par locus (N_{all}), l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_{NB}) ont été estimés avec le logiciel Genetix 4.05. (Belkhir *et al.* 2004). Le logiciel Fstat 2.9 (Goudet 2001) a permis l'estimation de la richesse allélique (R_S).

Le nombre moyen d'allèles par locus se calcule comme :

$$N_{all} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n a_i$$

où n est le nombre de locus et a_i le nombre d'allèles par locus.

L'hétérozygotie observée (h_o) et l'hétérozygotie attendue (H_{NB}) correspondent respectivement à la fréquence moyenne des hétérozygotes observée dans l'échantillon, et à la fréquence moyenne des hétérozygotes attendue sous l'équilibre de Hardy-Weinberg, corrigée pour le biais d'échantillonnage (Nei 1987). Leurs valeurs pour un locus sont :

$$h_o = 1 - \sum_{i=1}^k X_{ii}$$

où X_{ii} est la fréquence des homozygotes pour l'allèle i .

$$h_{NB} = \frac{2N(1 - \sum_{i=1}^k x_{i^2})}{(2N - 1)}$$

où x_{i^2} est la fréquence attendue du $i^{\text{ème}}$ allèle, et N le nombre d'individus échantillonnés.

Leurs valeurs sur la totalité des locus sont :

$$H_o = \frac{1}{n} \sum h_o$$

$$H_{NB} = \frac{1}{n} \sum h_{NB}$$

La richesse allélique est une mesure du nombre d'allèles indépendante de la taille de l'échantillon, ce qui permet une comparaison entre des échantillons de taille inégale. Son calcul correspond à une adaptation de l'indice de raréfaction de Sanders à la génétique des populations (El Mousadik & Petit 1996). Le principe est d'estimer le nombre d'allèles attendu dans un échantillon de $2n$ gènes sachant que $2N$ gènes ont été échantillonnés ($n \leq N$), selon la formule :

$$R_s = \sum_{i=1}^n \left(1 - \frac{\binom{2N - N_i}{2n}}{\binom{2N}{2n}} \right)$$

où N_i est le nombre d'allèles de type i dans les $2N$ gènes.

Sous Fstat 2.9.3.2. (Goudet 2001), n est fixé au plus petit nombre d'individus échantillonnés pour un locus dans une population.

L'hypothèse nulle d'indépendance entre les locus a été testée grâce à Genetix 4.05.

Afin d'analyser l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg, l'indice de fixation de Wright (Fis) a été calculé pour chaque population (soit pour chacun des locus, soit pour l'ensemble des locus) selon l'estimation du f de Weir & Cockerham (1984) :

$$f = 1 - \frac{\sum (C_i)}{\sum (B_i + C_i)}$$

où, pour un allèle i donné, B_i la composante entre individus à l'intérieur de chaque population et C_i la composante entre gamètes dans chaque individu, de la variance totale des fréquences alléliques. La valeur du f estimé a été testée grâce à un test par permutation sous Genetix 4.05. (Belkhir *et al.* 2004). Le principe de ce test est de comparer la valeur observée du Fis à une distribution théorique de l'estimateur sous l'hypothèse H_0 . Pour cela les valeurs du Fis ont été calculées après 1000 permutations des allèles à l'intérieur de la population.

Le niveau de différenciation génétique entre paires de populations a été estimé par le calcul de l'estimateur $\hat{\theta}$ de l'indice de fixation Fst de Wright selon Weir & Cockerham (1984) pour chaque locus :

$$\hat{\theta} = \frac{\sum (A_i)}{\sum (A_i B_i C_i)}$$

où, pour un allèle i donné, A_i est la composante inter-population, B_i la composante entre individus à l'intérieur de chaque population et C_i la composante entre gamètes dans chaque individu, de la variance totale des fréquences alléliques.

Le détail des calculs des différentes composantes de la variance est décrit dans Weir & Cockerham (1984). Cet indice a été utilisé car il fournit une valeur de Fst non biaisée lorsque les effectifs sont inégaux et que le nombre de populations étudiées est faible. La valeur du $\hat{\theta}$ multilocus a également été calculée. Les valeurs ont été testées, comme pour les Fis, en les comparant à une distribution théorique générée après 1000 permutations des individus dans la totalité des populations sous le logiciel Genetix 4.05.2.

Afin de détecter un éventuel schéma d'isolement par la distance, un test de Mantel a été effectué. Il permet de déterminer s'il existe une corrélation entre une matrice de distances

génétiques et une matrice de distances géographiques. Un coefficient d'association, ou coefficient de Mantel, Z , entre les deux matrices est calculé à partir des données réelles, et ensuite comparé à des pseudo-valeurs, générées par permutations aléatoires des populations dans une des matrices. Le logiciel 'Great Circle Distance Calculator' (disponible en ligne à l'adresse <http://www.gb3pi.org.uk/great.html>) a été utilisé pour calculer les distances les plus courtes entre deux populations à partir des coordonnées géographiques des sites. La distance génétique est égale à : $\hat{\theta} \cdot (1 - \hat{\theta})$ (Slatkin 1993).

Une analyse factorielle des correspondances (AFC) a été effectuée sur les données allozymiques. Le logiciel Genetix 4.05. (Belkhir *et al.* 2004) permet de mener ce genre d'analyse, grâce à un programme qui correspond à une extension de l'Analyse des Correspondances Multiples (AMC). Dans une AMC classique, les individus (objets) sont croisés avec les modalités des différentes variables (descripteurs) ; l'analyse porte alors sur un tableau disjonctif complet, dans lequel chaque individu présente la valeur 1 pour une seule modalité de chaque variable. Dans le cas particulier de cette AFC, l'analyse est étendue à un tableau où les individus peuvent présenter les valeurs 0,1,2 pour une ou deux modalités (allèles) de chaque variable (locus). Un tel codage est plus approprié pour des individus diploïdes pouvant posséder 2 allèles par locus. Ainsi chaque individu est représenté par un vecteur de son génotype multilocus qui correspond aux scores de chaque modalité pour chaque variable (les différents allèles pour les différents locus) avec 0 pour l'absence, 1 pour la présence de l'allèle à l'état hétérozygote, et 2 pour la présence de l'allèle à l'état homozygote. Les individus sont représentés dans un hyperespace qui a autant de dimensions que de modalités. Le principe de l'AFC repose sur la recherche, dans cet espace, d'axes factoriels orthogonaux et indépendants qui maximisent l'inertie des projections, c'est-à-dire la masse des objets (individus) multipliée par le carré de la distance au barycentre de l'hyperespace. Les différents axes correspondent aux vecteurs propres de la matrice, le premier est par convention celui qui présente la plus forte valeur propre, c'est-à-dire qui contribue le plus à l'inertie totale.

Le logiciel Bottleneck a été utilisé afin de tester d'éventuels déséquilibres démographiques au sein de chaque lignée évolutive identifiée (Cornuet & Luikart 1996). Dans une population ayant récemment subi un goulot d'étranglement ou un effet fondateur, la diversité génétique attendue sous Hardy-Weinberg (H_e) est plus élevée que la diversité

génétique attendue (H_e) sous l'hypothèse de l'équilibre mutation-dérive avec une population de taille constante, calculée à partir du nombre d'allèles observés (k) (Cornuet & Luikart 1996, Luikart *et al.* 1998). A l'inverse, une population en expansion est caractérisée par une diminution de H_e comparée à H_e . Afin de tester un tel écart, un test de Wilcoxon a été effectué sous le modèle en nombre infini d'allèles (IAM) selon les recommandations de Cornuet & Luikart (1996).

1.2.5. Séquençage de l'ADN mitochondrial

L'ADN a d'abord été extrait et purifié selon le protocole phénol-chloroforme (Sambrook *et al.* 1989). Pour chaque individu, un fragment de 690pb de la sous-unité I de la cytochrome oxydase (COI) a été amplifié grâce aux amorces universelles décrites par Folmer *et al.* (1994). Chaque amplification s'est déroulée dans un milieu réactif de 50 μ l contenant 3 μ l d'ADN, 1x de tampon PCR, 2 mM de $MgCl_2$, 0,4 μ M de chaque amorce, 40 μ M de chaque dNTP, 2 U d'ADN Taq polymérase, et le reste en eau MilliQ stérile. Les réactions de PCR se sont déroulées selon les conditions suivantes : (1) une dénaturation initiale à 94°C pendant 3 mn, (2) 40 cycles avec 45 s de dénaturation à 94°C, 45 s d'hybridation avec l'amorce à 50°C et 1 mn 30 s d'élongation à 72°C, (3) une élongation finale à 72°C pendant 7 mn. Les individus des espèces *Gorgoleptis emarginatus* et *G. spiralis* ont été traités dans les mêmes conditions.

Dans certains cas où l'ADN était visiblement dégradé (i.e. Elsa et Genesis), une double PCR a été effectuée. L'ADN a d'abord été amplifié une première fois avec les amorces universelles de Folmer *et al.* (1994) dans les conditions suivantes : (1) une dénaturation initiale à 94°C pendant 3 mn, (2) 5 cycles comprenant 35 s à 94°C, 35 s à 46°C et 1 mn 20 s à 72°C, (3) 35 cycles de 35 s à 94°C, 35 s à 50°C et 1 mn 20 s à 72°C ; 1 μ l de produit de PCR est alors amplifié une seconde fois avec des amorces spécifiques obtenues à partir d'un alignement de séquences de COI de lepetodrilidés [COI-R : 5'-TAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3' ; COI-F : 5'-GTTCAAATCATAAGATATTGG-3']. La deuxième amplification a été réalisée dans un nouveau milieu réactif d'amplification de 50 μ l dans les conditions suivantes : (1) 3 mn de dénaturation initiale à 94°C, (2) 30 cycles avec une dénaturation de 35 s à 94°C, une hybridation de 35 s à 56°C et une élongation de 1 mn 20 s à 72°C, (3) une élongation finale de 10 mn à 72°C.

Pour les autres espèces de gastéropodes (*Planorbidella planispira*, *Pachydermia laevis*, *Clypeosectus delectus*, *Nodopelta subnoda* et *Rhyncopelta concentrica*), il s'est avéré que les amorces universelles de Folmer *et al.* (1994) ne permettaient pas d'obtenir des amplifications satisfaisantes. De nouveau, une double PCR a été effectuée. L'ADN a été amplifié une première fois avec les amorces universelles M1 et M2 (Nelson & Fisher 2000), qui amplifient un fragment de COI plus grand, puis amplifié une seconde fois avec les amorces de Folmer. Les deux amplifications ont été conduites dans les conditions suivantes : (1) une dénaturation initiale à 94°C pendant 3 mn, (2) 40 cycles avec 45 s de dénaturation à 94°C, 45 s d'hybridation avec l'amorce à 50°C et 1 mn 30 s d'élongation à 73°C, (3) une élongation finale à 72°C pendant 7 mn.

Les produits de PCR ont été purifiés et séquencés grâce à un séquenceur ABI 3100 en utilisant la chimie de séquençage BigDye© terminator (Perkin Elmer) selon le protocole du fabricant.

Les séquences ont été lues et corrigées grâce au logiciel Chromas 2.3 et alignées manuellement sous BioEdit Sequence Alignment 7.0.1. La correction des séquences représente une phase délicate dans la procédure d'obtention des données. Pour les régions de doute, nous avons préféré sous-estimer le polymorphisme plutôt que de créer de manière biaisée des sites variables. Le début et la fin de certains chromatogrammes étant de très mauvaise qualité, souvent lié à un état dégradé de l'ADN, les séquences ont été réduites de plusieurs dizaines voire centaines de paires de bases afin de conserver uniquement les parties lisibles et minimiser la quantité de données manquantes (GAP).

1.2.6. Traitement des données phylogénétiques

Dans le but d'établir les liens de parenté entre individus, un arbre a été construit à partir de la distance de Kimura 2 paramètres (K2P) selon le principe du maximum de vraisemblance grâce au logiciel PAUP* 4.0b10 (Swofford 2002). Afin d'attribuer le meilleur modèle de substitution aux données, le *hierarchical Likelihood Ratio Test* (hLRTs) réalisé par le programme Modeltest 3.07 a été utilisé (Posada et Crandall 1998). L'analyse de maximum de vraisemblance a été effectuée à partir de recherches heuristiques avec 50 étapes aléatoires d'addition de séquences et selon la méthode de réarrangement local des branches. Les valeurs de bootstrap établies sur 1000 répliqués ont été calculées à partir de l'arbre consensus majoritaire à un seuil de 50%. Des séquences de *Lepetodrilus cristatus* et *L. pustulosus* ont été utilisées comme groupe externe afin d'enraciner l'arbre. Des séquences de *L. elevatus*

publiées sous Genbank (n°AY923923, U56846) ont également été incluses dans l'analyse.

D'autres algorithmes ont également été utilisés afin d'estimer les liens de parenté : la méthode des plus proches voisins (Neighbour-joining, NJ), le maximum de parcimonie (MP) et le minimum d'évolution (ME). Toutes ces analyses ont été réalisées sous Mega 3.1 (Kumar *et al.* 2004). Les méthodes de distance sont basées sur la distance K2P à partir de tous les sites informatifs avec un taux de substitution uniforme entre les sites, et 1000 ré-échantillonnages du jeu de données. Les arbres ME et MP ont été construits à partir de recherches heuristiques avec réarrangement local des branches.

Le logiciel Network v. 4.1.0.9. (Bandelt *et al.* 1999) a permis la construction d'un réseau d'haplotypes calculé par la méthode de groupement moyen.

Un arbre construit par agglomération des plus proches voisins, basé sur la distance K2P à partir de tous les sites informatifs et avec un taux de substitution uniforme, a été généré pour les autres espèces de gastéropodes. La qualité des embranchements a été testée à partir de 1000 ré-échantillonnage du jeu de données.

La diversité génétique de chaque population échantillonnée a été mesurée grâce au calcul de la diversité haplotypique (h_{e-HAP}) et de la diversité nucléotidique (π) avec le logiciel DNAsp 4.0. (Rozas *et al.* 2003).

La diversité haplotypique observée définit la probabilité que deux gènes tirés au hasard dans un échantillon soient différents (Nei 1987) :

$$h_{e-HAP} = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum p_i^2\right)$$

avec n , le nombre de séquence dans l'échantillon et p_i la fréquence de chaque haplotype.

La diversité nucléotidique π mesure la divergence nucléotidique moyenne entre toutes les paires de séquences (Tajima 1983) selon la formule :

$$\hat{\pi} = \sum_{i < j}^m \frac{d_{ij}}{c}$$

où m est le nombre total de séquences, d_{ij} le nombre de différences nucléotidiques entre la séquence i et j , et c le nombre de comparaison de séquences.

Ce même logiciel a permis de calculer les statistiques de Fu & Li afin de tester l'hypothèse nulle de populations à l'équilibre. Il a également permis de générer, pour chaque population, les courbes match-mismatch dans le but de tester si les populations sont à l'état stationnaire ou en expansion. Le principe du test de Fu & Li (1993) repose sur la comparaison de deux estimateurs du paramètre de mutation θ ($=2N\mu$ pour le génôme mitochondrial), l'un basé sur le nombre de sites polymorphes observés (S), et l'autre sur le nombre moyen de différences entre 2 séquences (π) selon la statistique F :

$$F = \frac{(\pi - \eta_e)}{\sqrt{\text{var}(\pi - \eta_e)}}$$

avec π le nombre de différences nucléotidiques moyen entre deux séquences et η_e le nombre de mutations singletons dans les séquences. Si le polymorphisme est neutre (équilibre mutation-dérive), alors les deux estimateurs de θ sont égaux et le F est égal à zéro. Dans le cas d'une population en expansion, le nombre de sites polymorphes croît rapidement alors que le π est peu affecté, ce qui se traduit par des valeurs de F négatives. A l'inverse, une contraction de la taille de la population entraîne une diminution du nombre de sites polymorphes, F devrait donc présenter des valeurs positives. Cependant, ce test permet non seulement de mettre en évidence une déviation significative à l'hypothèse de stationnarité, mais aussi une déviation à l'hypothèse de neutralité due à des effets sélectif. La significativité du F est déterminée à partir de la valeur critique déterminée par Fu & Li (1993). Le test du R_2 de Ramos-Onsis & Rozas (2002), plus puissant que le test F de Fu dans le cas de petits échantillons, a été utilisé afin de détecter des populations en expansion.

La différenciation génétique entre populations a été estimée par le calcul des F_{st} par paire à partir des fréquences haplotypiques et testée grâce au test exact de différenciation des populations disponible sous Arlequin 2.0 (Schneider *et al.* 2000).

1.2.7. Analyses morphométriques

Toutes les coquilles des *Lepetodrilus elevatus* analysées pour les études sur les allozymes ou l'ADN mitochondrial et non cassées ont été photographiées et mesurées à l'aide du logiciel d'analyse d'images 'Image tool' (Université du Texas ; <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Un échantillon additionnel de 85 individus de la sous-espèce *Lepetodrilus elevatus galriftensis* provenant de la ride des Galapagos (collection

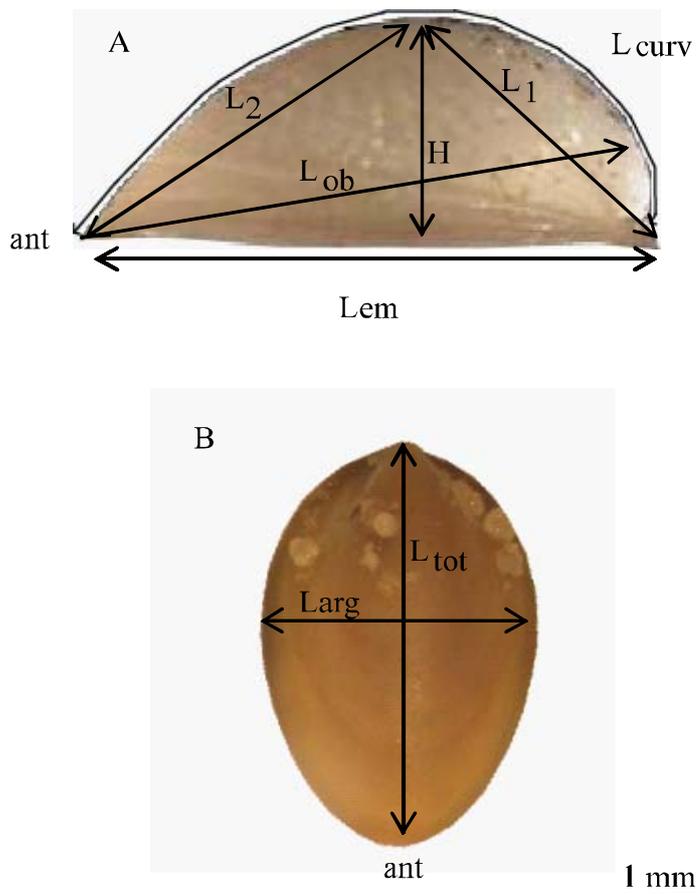


Figure 1.2. Illustration des huit mesures effectuées sur les coquilles de *Lepetodrilus elevatus*. A : vue latérale. B : vue du dessus ; ant = extrémité antérieure de l'animal. L_{curv} : longueur curvilinéaire depuis la partie antérieure de l'animal jusqu'à l'apex ; H : hauteur maximale de la coquille ; L_{em} : longueur de l'empreinte depuis la partie antérieure de l'animal jusqu'à la partie postérieure ; L_1 : longueur du point le plus élevé de la coquille jusqu'à son extrémité antérieure ; L_2 : longueur du point le plus élevé de la coquille jusqu'à son extrémité postérieure ; L_{tot} : longueur totale de la coquille ; L_{ob} : longueur oblique maximale de la coquille ; $Larg$: largeur maximale de la coquille.

du Los Angeles County Museum of Natural History, LACM 2528) a également été pris en compte.

Huit mesures ont été considérées (Figure 1.2) : la longueur curvilinéaire de la coquille, L_{curv} , longueur courbe de la partie antérieure de l'animal jusqu'à la prodissoconque ; la hauteur de la coquille, H ; la longueur de l'empreinte du pied, L_{em} ; la largeur de la coquille, larg ; la longueur depuis le point le plus élevé de la coquille jusqu'à son extrémité postérieure, L_1 ; la longueur depuis le point le plus élevé de la coquille jusqu'à son extrémité antérieure L_2 ; la longueur totale de la coquille, L_{tot} ; la longueur oblique maximale de la coquille, L_{ob} . Ces mesures ont été choisies en conformité avec la description des deux sous-espèces *Lepetodrilus elevatus elevatus* et *L. e. galriftensis* qui mettent l'accent sur la position relative de l'apex, ou la forme plus ou moins aplatie de la coquille (McLean 1988).

Afin de se débarrasser des problèmes liés aux changements des relations d'allométrie des coquilles au cours de la croissance des individus, les données brutes ont été transformées selon la méthode du « log-shape ratio » (Mosimann 1970, Mosimann & James 1979, Kazmierczak 1985). Cette méthode consiste à (1) faire subir une transformation logarithmique aux données, (2) calculer pour chaque individu une 'taille moyenne' qui correspond à la moyenne arithmétique des logarithmes des différentes variables mesurées et (3) à soustraire aux variables transformées la 'taille moyenne'.

Une analyse en composantes principales a été effectuée sur les données ainsi transformées afin de mettre en évidence d'éventuelles différences de la morphologie des coquilles entre les lignées évolutives. Le but de l'analyse en composantes principales est de dégager, dans un hyperespace composé d'autant de dimensions que de variables, les axes indépendants qui vont projeter le maximum de la variance initiale des individus. Une matrice de corrélation des variables, construite à partir des données centrées réduites, permet de calculer une matrice des vecteurs propres correspondant aux coordonnées des nouveaux axes sur les anciennes variables. Chaque vecteur propre est caractérisé par une valeur propre proportionnelle à la variance associée aux axes. Le premier axe est celui qui explique la plus grande partie de la variance initiale.

Tableau 1.3. Fréquences alléliques calculées pour les locus allozymiques et les locus ADN nucléaires anonymes (DALP). Les individus des 8 populations ont été génotypés pour 7 locus enzymatiques. Pour les populations de 9°50'N et 17°S, 3 locus supplémentaires ont été génotypés. N = taille de l'échantillon.

	13°N				9°50'N			17°S	
	Caldera	Elsa	Genesis	Julie	Biotransect	BioVent	East Wall	Oasis-BS6	Oasis-BS13
N	0	34	52	45	19	53	44	34	49
Locus									
Allele									
<i>Gpi</i>									
10	-	0,029	-	0,956	0,368	0,623	0,227	1,000	1,000
100	-	0,485	0,567	0,033	0,395	0,151	0,432	-	-
140	-	0,088	0,038	-	0,026	0,028	0,034	-	-
180	-	0,397	0,394	0,011	0,211	0,198	0,307	-	-
<i>Idh1</i>									
70	-	-	0,077	-	0,053	0,010	0,011	-	-
80	-	0,030	0,038	0,033	-	0,010	-	-	0,010
100	-	0,970	0,885	0,967	0,947	0,980	0,989	1,000	0,990
<i>Idh2</i>									
10	-	0,029	-	0,022	0,684	0,075	-	1,000	1,000
80	-	-	-	-	0,105	-	-	-	-
100	-	0,559	0,558	0,522	0,211	0,745	0,611	-	-
115	-	-	0,010	-	-	0,047	-	-	-
130	-	0,412	0,433	0,433	-	0,132	0,389	-	-
145	-	-	-	0,022	-	-	-	-	-
<i>Mdh</i>									
70	-	0,227	0,327	0,433	0,079	0,059	0,200	-	-
85	-	0,106	0,038	-	0,342	0,373	0,089	0,500	0,429
100	-	0,667	0,635	0,533	0,553	0,529	0,678	0,500	0,571
120	-	-	-	0,033	0,026	0,039	0,033	-	-
<i>Aat2</i>									
50	-	-	-	-	0,071	0,094	0,044	0,382	0,347
75	-	0,029	-	0,034	0,357	0,811	0,267	0,603	0,633
100	-	0,971	1,000	0,966	0,571	0,094	0,689	0,015	0,020
<i>Mpi</i>									
80	-	-	0,029	-	-	0,009	-	-	-
90	-	0,050	0,019	0,025	0,026	0,019	0,022	-	-
100	-	0,700	0,692	0,788	0,526	0,057	0,467	-	-
105	-	-	-	-	0,342	0,170	0,100	0,515	0,500
110	-	0,250	0,260	0,188	0,026	0,009	0,200	-	-
115	-	-	-	-	0,079	0,736	0,211	0,485	0,500
<i>Pgm2</i>									
80	-	-	-	-	-	0,010	-	-	-
90	-	0,125	0,130	0,410	0,158	0,029	0,224	-	-
95	-	-	-	-	-	0,404	0,066	0,485	0,296
100	-	0,813	0,870	0,564	0,132	0,058	0,474	-	-
105	-	-	-	-	0,316	0,423	0,158	0,353	0,510
110	-	0,063	-	0,026	0,211	-	0,039	-	-

115	-	-	-	-	0,105	0,077	0,039	0,162	0,194
<i>Pgm1</i>									
90	-	-	-	-	0,033	0,039	-	-	-
95	-	-	-	-	-	-	-	-	0,010
100	-	-	-	-	0,800	0,856	0,868	1,000	0,970
105	-	-	-	-	-	-	-	-	0,010
110	-	-	-	-	0,167	0,077	0,053	-	0,010
120	-	-	-	-	-	0,029	0,079	-	-
<i>Leu-Tyr</i>									
40	-	-	-	-	0,250	0,726	0,188	0,300	0,355
60	-	-	-	-	0,625	0,179	0,146	0,400	0,307
90	-	-	-	-	0,125	0,024	0,042	0,300	0,339
100	-	-	-	-	-	0,048	0,542	-	-
110	-	-	-	-	-	0,012	0,083	-	-
120	-	-	-	-	-	0,012	-	-	-
<i>Me1</i>									
40	-	-	-	-	-	-	-	-	0,016
60	-	-	-	-	-	-	-	-	0,016
95	-	-	-	-	0,286	0,028	-	0,183	0,594
100	-	-	-	-	0,714	0,953	0,967	0,550	0,219
105	-	-	-	-	-	0,019	0,033	0,267	0,156
<i>lep1</i>									
N	64	91	116	80	0	0	50	30	0
177	0,016	0,011	0,009	0,013	-	-	0,010	0,017	-
176	0,617	0,560	0,509	0,556	-	-	0,440	0,333	-
174	-	0,006	0,013	0,013	-	-	-	0,017	-
173	0,047	0,066	0,095	0,069	-	-	0,130	0,083	-
171	0,188	0,181	0,181	0,194	-	-	0,150	0,183	-
169	0,008	0,017	0,022	0,006	-	-	-	-	-
168	0,117	0,148	0,168	0,144	-	-	0,220	0,067	-
163	-	-	-	-	-	-	0,010	0,300	-
162	0,008	0,011	-	0,006	-	-	0,040	-	-
161	-	-	0,004	-	-	-	-	-	-
<i>lep3</i>									
N	63	50	61	80	-	-	27	18	-
190	-	-	-	0,006	-	-	-	-	-
192	0,119	0,130	0,123	0,081	-	-	0,185	0,111	-
193	0,008	0,030	0,066	0,069	-	-	-	-	-
194	0,016	0,020	0,008	0,006	-	-	-	-	-
195	0,175	0,190	0,139	0,131	-	-	0,056	0,250	-
196	0,008	0,200	0,066	0,063	-	-	-	-	-
197	0,048	0,030	0,082	0,044	-	-	0,074	0,111	-
198	-	0,010	0,008	0,019	-	-	0,019	0,028	-
200	0,587	0,560	0,492	0,569	-	-	0,630	0,444	-
201	0,040	0,010	0,008	0,006	-	-	0,037	0,056	-
202	-	-	-	0,006	-	-	-	-	-
206	-	-	0,008	-	-	-	0,010	-	-

Tableau 1.4. Valeurs des Fis aux locus enzymatiques et DALP (* $p < 0,05$ ** $p < 0,001$) et variabilité génétique pour chaque population. N_{all} : nombre moyen d'allèles par population. Hétérozygoties observée (H_o) et attendue (H_{NB} ; Nei 1987) (SD) ; R_s : richesse allélique.

Locus	13°N				9°50N			17°S		All
	Caldera	Elsa	Genesis	Julie	Biotransect	BioVent	East Wall	Oasis-BS6	Oasis-BS13	
Allozymes										
Fis										
<i>Gpi</i>	-	-0,215	-0,171	0,746***	0,543***	0,797***	0,430***	-	-	0,300***
<i>Idh1</i>	-	-0,016	0,094	-0,023	-0,029	-0,005	0,000	-	0,000	0,040
<i>Idh2</i>	-	0,218	0,051	0,227	0,789***	0,601***	0,215	-	-	0,298***
<i>Mdh</i>	-	-0,030	-0,329**	-0,001	0,378	-0,353***	-0,119	-1,000***	-0,745***	-0,311***
<i>Aat2</i>	-	-0,015	-	-0,018	1,000***	0,541***	0,807***	0,234	0,242	0,483***
<i>Mpi</i>	-	0,192	0,159	0,068	0,578***	0,168	0,459***	-0,941****	-1,000***	-0,051
<i>Pgm2</i>	-	-0,155	-0,140	0,063	-0,163	-0,387***	0,102	-0,425***	-0,186	-0,174***
All	-	0,002	-0,068	0,112	0,461***	0,164***	0,311***	-0,527***	-0,408***	0,033
N_{ALL}	-	2,8	2,7	2,8	3,7	4,3	3,7	1,8	2	
H_o	-	0,360	0,370	0,275	0,301	0,36	0,349	0,462	0,426	
H_{NB}	-	0,361	0,346	0,309	0,550	0,430	0,504	0,305	0,304	
	-	(±0,241)	(±0,236)	(±0,218)	(±0,314)	(±0,346)	(±0,224)	(±0,478)	(±0,436)	
R_s	-	2,621	2,453	2,33	3,691	3,411	3,332	1,773	1,825	
Nuclear DNA										
<i>Lep1</i>										
N_{ALL}	7	8	8	8	-	-	7	7	-	
H_o	0,562	0,648	0,664	0,600	-	-	0,660	0,567	-	
H_{NB}	0,572	0,630	0,674	0,631	-	-	0,724	0,753	-	
R_s	5,637	6,128	6,083	5,967	-	-	6,177	7,000	-	
Fis	0,017	-0,030	0,014	0,050	-	-	0,089	0,264**	-	0,042
<i>Lep3</i>										
N_{ALL}	8	9	10	11	-	-	6	6	-	
H_o	0,571	0,640	0,705	0,588	-	-	0,519	0,778	-	
H_{NB}	0,611	0,637	0,714	0,646	-	-	0,570	0,732	-	
R_s	5,725	6,388	7,039	7,115	-	-	5,517	6,000	-	
Fis	0,065	-0,005	0,013	0,091	-	-	0,091	-0,065	-	0,042

1.3. Résultats

Il est important de souligner ici que les résultats présentés par la suite n'auraient pu être réalisés sans l'aide de nombreuses personnes citées ci-dessous.

*Dans le cadre de leur stage à la Station Méditerranéenne de l'Environnement Littoral à Sete, Pierrick Labbé, Pierre et Emanouella ont réalisé une partie du génotypage des locus *Lep 1* et *Lep 3* et des amplifications du gène codant pour la COI.*

*Une partie des données issues de l'analyse morphométrique de la coquille de *Lepetodrilus elevatus* a été acquise par Franck Sadosky dans le cadre de son stage de DESS au Muséum National d'Histoire Naturelle.*

L'analyse préliminaire de la phylogéographie des autres espèces de gastéropodes a été effectuée en collaboration avec Sophie Plouviez, actuellement en thèse à la Station Biologique de Roscoff.

1.3.1. Diversité génétique, écarts à l'équilibre de Hardy-Weinberg et clines alléliques

Allozymes

Les fréquences alléliques pour les 10 locus polymorphes sont présentées dans le Tableau 1.3. Les populations provenant de 17°S sont monomorphes pour 2 locus (*Gpi* et *Idh2*) au site Oasis-BS13 et pour 4 locus (*Gpi*, *Idh1*, *Idh2* et *Pgm1*) au site Oasis-BS6. Trois populations de 13°N (Genesis, Biovent et Biotransect) présentent des allèles privés à 3 locus (*Idh2*, *Pgm2* et *Leu-Tyr*) et une population de 17°S (Oasis-BS13) à 2 locus (*Pgm1* et *Me1*). Tous ces allèles privés, excepté pour le locus *Idh2*, correspondent à des allèles rares ($q < 0,05$). Sur les 7 locus analysés sur la totalité des populations, 5 locus (*Idh1*, *Idh2*, *Mdh*, *Mpi* et *Pgm2*) possèdent au moins un allèle rare présent dans 2 populations ou plus.

La richesse allélique (R_s) et l'hétérozygotie multilocus (H_{NB}) varient respectivement de 1,773 à 3,691 et de 0,304 à 0,550 (Tableau 1.4). Les valeurs minimales de ces paramètres ont été estimées pour les populations de 17°S et les valeurs maximales pour les populations de 9°50'N. Pour les populations de 9°50'N et 17°S, les fréquences alléliques ne sont pas conformes à l'équilibre de Hardy-Weinberg sur la quasi totalité des locus (Tableau 1.4). A 13°N, un écart significatif à l'équilibre de Hardy-Weinberg a été observé pour seulement 1 locus, i.e. *Gpi* pour la population de Julie et *Mdh* pour la population de Genesis. Les valeurs multi-locus du Fis révèlent des déficits significatifs en hétérozygotes pour les populations de 9°50'N et des excès pour les populations de 17°S (Tableau 1.4). Le Fis multilocus estimé pour chaque champ hydrothermal en regroupant les échantillons, diffère significativement de

Tableau 1.5. Déséquilibres de liaison observés entre les locus enzymatiques pour chaque population. N = nombre total de combinaisons possibles entre locus.

	13°N			9°50N			17°S		Tous
	Elsa	Genesis	Julie	Biotranssect	Biovent	Eastwall	Oasis BS13	Oasis BS6	
Nombre de déséquilibre de liaison	2	1	2	7	8	15	5	4	15
(N)	(21)	(15)	(20)	(21)	(21)	(21)	(10)	(6)	(21)

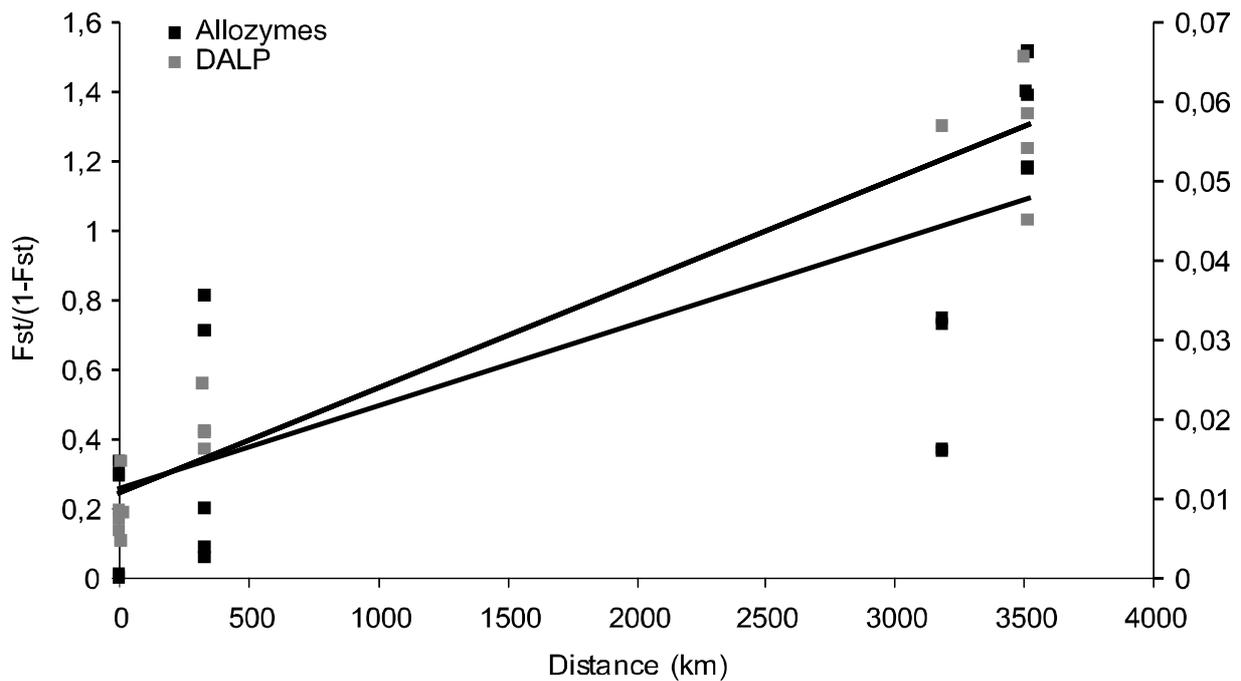


Figure 1.3. Isolement par la distance mis en évidence chez *Lepetodrilus elevatus* à partir des locus allozymiques et des locus ADN nucléaires anonymes (DALP).

0 pour chacun des 3 champs (i.e. 13°N, 9°50'N et 17°S). Sur un total de 21, 15 déséquilibres de liaison ont été détectés sur la totalité des échantillons (Tableau 1.5). Cependant, en considérant les populations une à une, nous constatons que ces déséquilibres se concentrent au niveau des échantillons provenant du champ hydrothermal 9°50'N, et dans une moindre mesure du champ 17°S. Ce résultat peut-être associé à une dépendance entre locus, mais aussi à de la sélection naturelle, ou à un mélange entre deux entités génétiquement différenciées.

Le test global de différenciation génétique, effectué sur la totalité des populations, révèle une hétérogénéité significative dans la distribution des fréquences alléliques ($F_{st} = 0,356$; $p = 0,000$). Les F_{st} estimés selon la méthode de Weir & Cockerham (1984) pour chaque champ hydrothermal et sur la totalité des locus diffèrent significativement de 0 à 13°N ($F_{st} = 0,030$; $p < 0,01$) et à 9°50'N ($F_{st} = 0,228$; $p < 0,01$). Aucune différenciation génétique n'a été détectée à 17°S.

La comparaison des distances génétiques avec les distances géographiques, à l'aide d'un test de Mantel, révèle un isolement par la distance significatif ($R^2=0,566$; $p < 0,01$) le long du gradient latitudinal (Figure 1.3) en adéquation avec les clines dans les fréquences alléliques de plusieurs locus : *Aat2* (*Aat2-50*, *-75*, *-100*), *Mpi* (*Mpi-100*, *-115*), *Idh2* (*Idh2-10*, *-100*, *-130*), *Pgm2* (*Pgm2-100*, *-105*) et *Mdh* (*Mdh-70*, *-85*) (Tableau 1.3 ; Figure 1.4). Le locus de la *Gpi* présente également un cline des fréquences alléliques, s'il est fait abstraction de la population de Julie, qui présente des fréquences proches de celles rencontrées à 17°S. Cependant, ces résultats sont à considérer avec précaution dans la mesure où la distance entre les champs hydrothermaux du nord et celui du sud est 10 fois plus grande que celle entre les 2 champs du nord.

Marqueurs nucléaires anonymes

Etant donné que tous les individus n'ont pas pu être traités pour chacun des deux locus, et que le faible nombre de locus examiné limite l'intérêt d'une analyse multilocus, les deux marqueurs nucléaires anonymes ont été considérés indépendamment. Dix et 12 allèles ont été respectivement détectés pour les locus *Lep1* et *Lep3* avec pour chacun 5 allèles rares ($q < 0,05$) (Tableau 1.3). Chaque population présente un fort polymorphisme avec la présence de 7 à 8 allèles pour le *Lep1* et de 6 à 11 allèles pour le *Lep3*. Pour les deux locus, la richesse allélique (R_s) varie entre 5,64 et 7,12, tandis que l'hétérozygotie attendue est comprise entre 0,57 et 0,75 (Tableau 1.4). La forte diversité génétique observée pour la population de Oasis-BS13 (17°S) est due à la forte fréquence de l'allèle 163 (i.e. 0,300), souvent rencontré à l'état

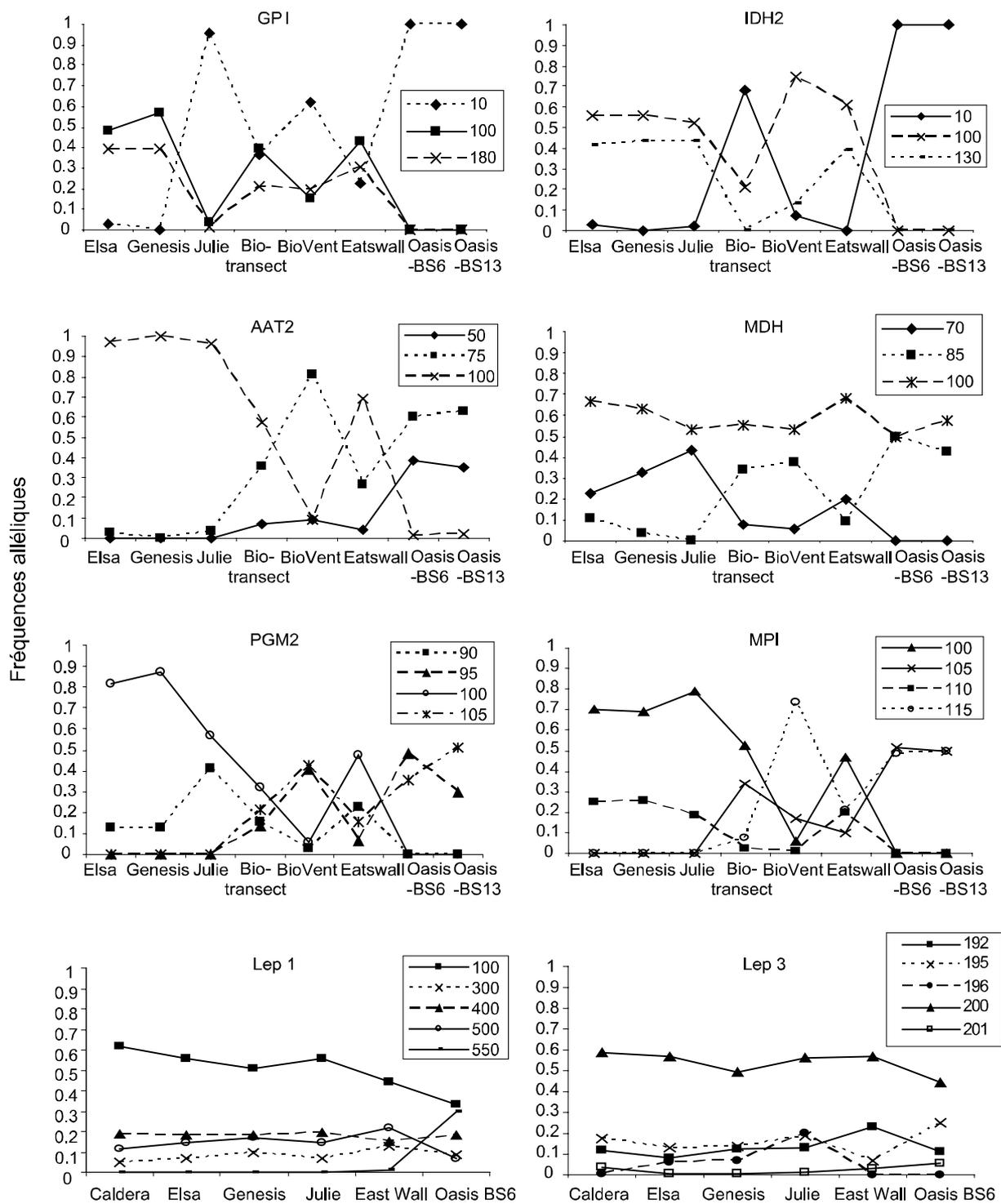


Figure 1.4. Clines dans les fréquences alléliques pour quelques locus allozymiques et pour les deux locus DALP chez *Lepetodrilus elevatus*.

homozygote. A 13°N, la richesse allélique et l'hétérozygotie sont moins élevées pour les populations situées dans la vallée axiale (i.e. Julie, Genesis et Elsa) que pour la population hors axe (i.e. Caldera). Les fréquences alléliques sont, pour la majorité, conformes à une rencontre aléatoire des gamètes dans chaque population (Tableau 1.4). Seule la population Oasis-BS6 présente un écart significatif à l'équilibre de Hardy-Weinberg au niveau du locus *Lep 1* ($F_{is} = 0,264$; $p < 0,01$) avec un F_{is} significativement différent de 0 en raison d'un déficit en hétérozygotes (Tableau 1.4).

Le test global de différenciation génétique sur la totalité des populations ne permet pas de mettre en évidence une différenciation génétique significative entre les populations pour les deux locus ($F_{st} = 0,011$; $p > 0,05$). Les champs hydrothermaux de 17°S et 9°50'N n'étant représentés que par une seule population, les F_{st} par paire ont été estimés uniquement pour les populations de 13°N, pour lesquelles aucune différenciation génétique significative n'a été détectée ($F_{st} = 0,000$; $p = 1.000$).

Un test de Mantel montre cependant un isolement par la distance significatif le long du gradient latitudinal ($R^2 = 0,933$; $p = 0,033$; Figure 1.3). Cet isolement s'explique par la présence d'un cline dans les fréquences alléliques du locus *Lep1* entre 13°N et 17°S (Figure 1.4). Absent de 13°N, l'allèle *Lep1-163* est présent à une faible fréquence sur le site Eastwall (9°50'N) et devient l'allèle dominant à Oasis-BS6 (17°S), suggérant que soit la sélection affecte ce locus, ou qu'une certaine proportion des individus provient d'une autre population génétiquement différenciée.

1.3.2. Mise en évidence d'espèces cryptiques chez *Lepetodrilus elevatus*

La présence d'un isolement par la distance mis en évidence pour les deux types de marqueurs nucléaires, ajouté à la présence de forts déséquilibres de liaison et d'un déficit en hétérozygotes, laisse penser qu'il pourrait exister un mélange de deux clades génétiquement différenciés, au moins à 9°50N.

Allozymes

Afin de vérifier cette hypothèse, une analyse factorielle des correspondances adaptée à des données génétiques a été effectuée à partir des fréquences génotypiques. L'axe 1 qui explique 26,41% de la variance totale sépare 2 groupes distincts : l'un regroupant des individus issus des populations de 17°S, ainsi que la majorité des individus provenant de 9°50'N et l'autre incluant les individus des populations de 13°N et quelques individus de

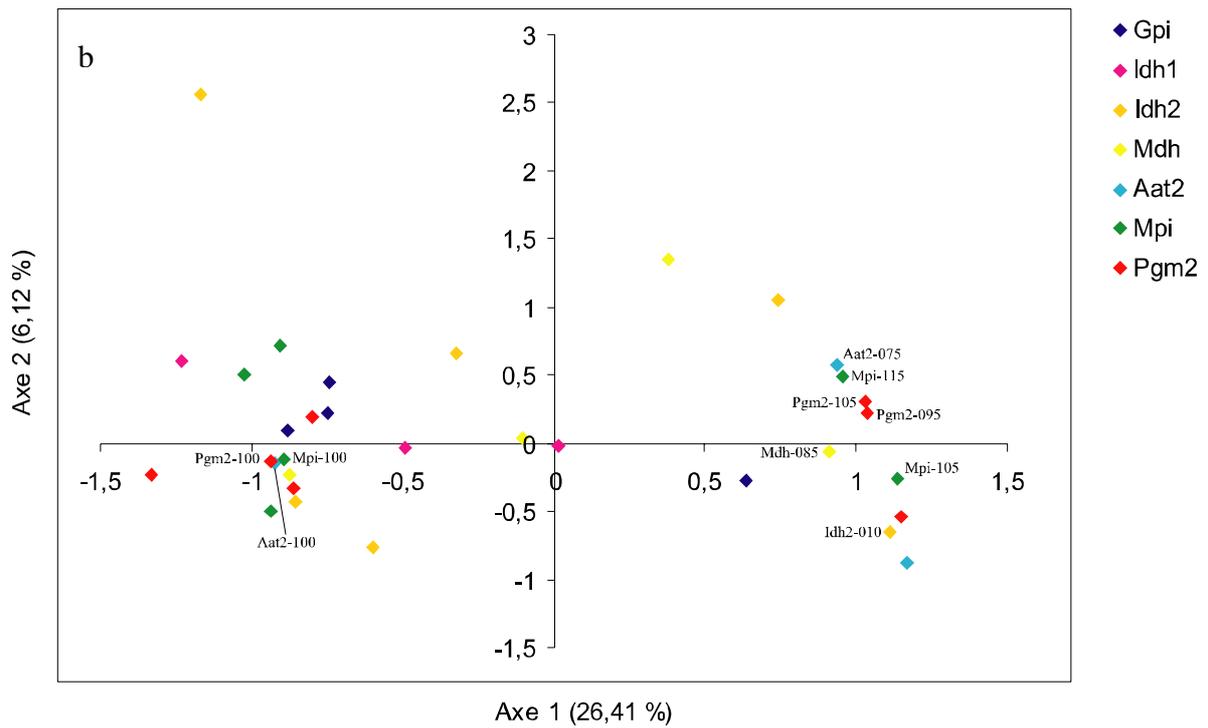
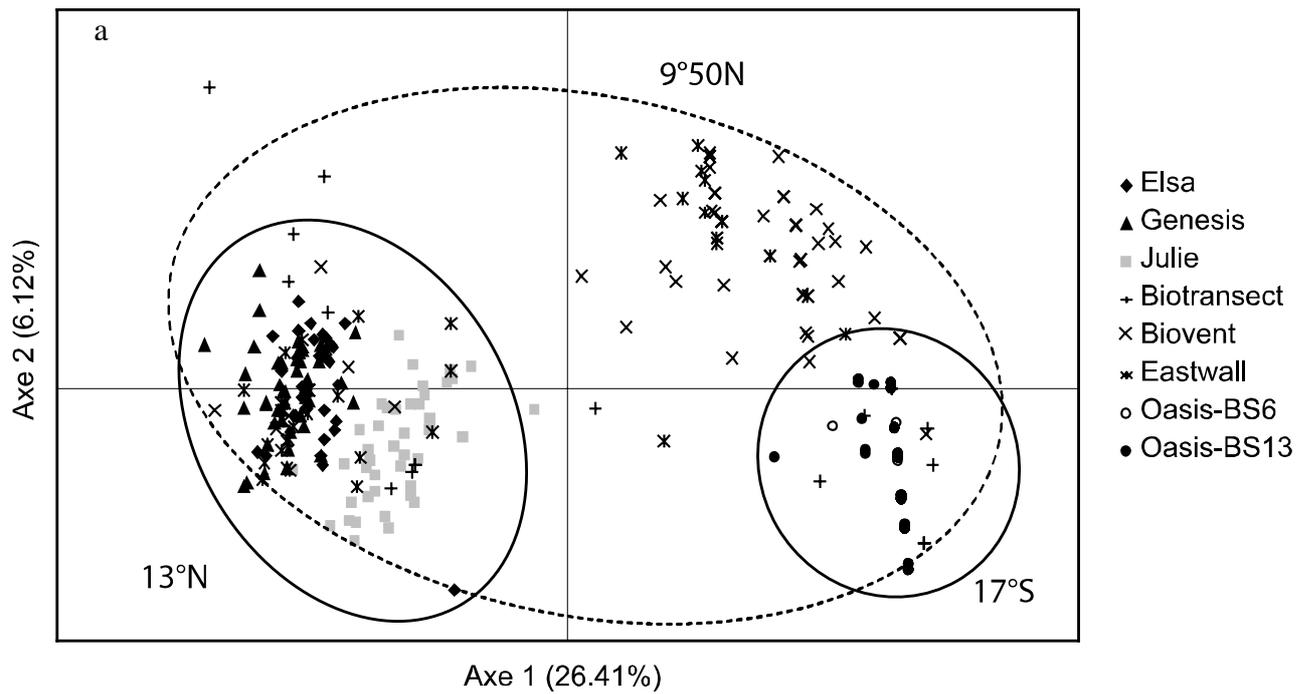


Figure 1.5. Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) effectuée à partir des fréquences alléliques de chaque individu de *Lepetodrilus elevatus* (données allozymiques). Représentation des individus (a) et des allèles (b) dans le plan factoriel formé par les axes 1 et 2.

9°50'N, principalement du site Eastwall (Figure 1.5a). Les deux groupes sont présents en sympatrie à 9°50'N. Au sein du groupe nord, la population de Julie est légèrement séparée de celles de Elsa et Genesis. Dans le groupe sud, les individus de 17°S se distinguent de ceux de 9°50'N le long de l'axe 2 de l'AFC (6,12% de la variance totale) (Figure 1.5a). Un certain nombre d'individus présentent une situation intermédiaire, suggérant la présence possible d'hybrides. Il s'agit de 4 individus échantillonnés à 9°50'N et d'un individu récolté à Julie (13°N). Il convient de noter qu'en théorie, ces résultats peuvent être associés, soit à la présence de 2 clades au sein des populations de *Lepetodrilus elevatus* entre 13°N et 17°S, soit à des effets sélectifs divergeant d'une population à l'autre.

Les allèles contribuant le plus à ce résultat appartiennent aux locus qui montrent les plus forts clines de distribution des fréquences alléliques (Figure 1.5b). Les principaux locus impliqués sont ainsi au nombre de trois : la phosphoglucomutase (Pgm2), l'aspartate aminotransférase (Aat2) et la mannose phosphate isomérase (Mpi).

ADN mitochondrial

Dans le but de confirmer cette hypothèse de deux groupes génétiquement différenciés, des séquences d'ADN mitochondrial ont été obtenues chez des individus représentatifs de la zone d'étude. Certains ADN étant toutefois relativement dégradés, nous avons rencontré plusieurs problèmes, soit au moment de l'amplification, soit au niveau de la qualité de certaines séquences. Afin de garder un maximum d'individus, l'alignement des séquences a donc été limité à un fragment de 361-pb³. Un total de 31 haplotypes a ainsi été détecté parmi les 79 spécimens de *Lepetodrilus elevatus* examinés, avec 108 sites polymorphes dont 9 singletons et 99 sites informatifs.

L'arbre généré par la méthode du maximum de vraisemblance montre la présence de deux lignées évolutives supportées par de fortes valeurs de bootstrap (Figure 1.6). Les deux clades sont séparés par 15 substitutions nucléotidiques fixées, mais ces différences n'engendrent pas de substitutions d'acides aminés selon le code génétique universel des invertébrés. Les méthodes du plus proche voisin, du minimum d'évolution ou du maximum de parcimonie indiquent la même topologie générale, seules les branches internes de chaque clade variant selon la méthode.

³ Des analyses effectuées sur un nombre plus faible d'individus avec des séquences de 600 pb fournissent des résultats comparables.

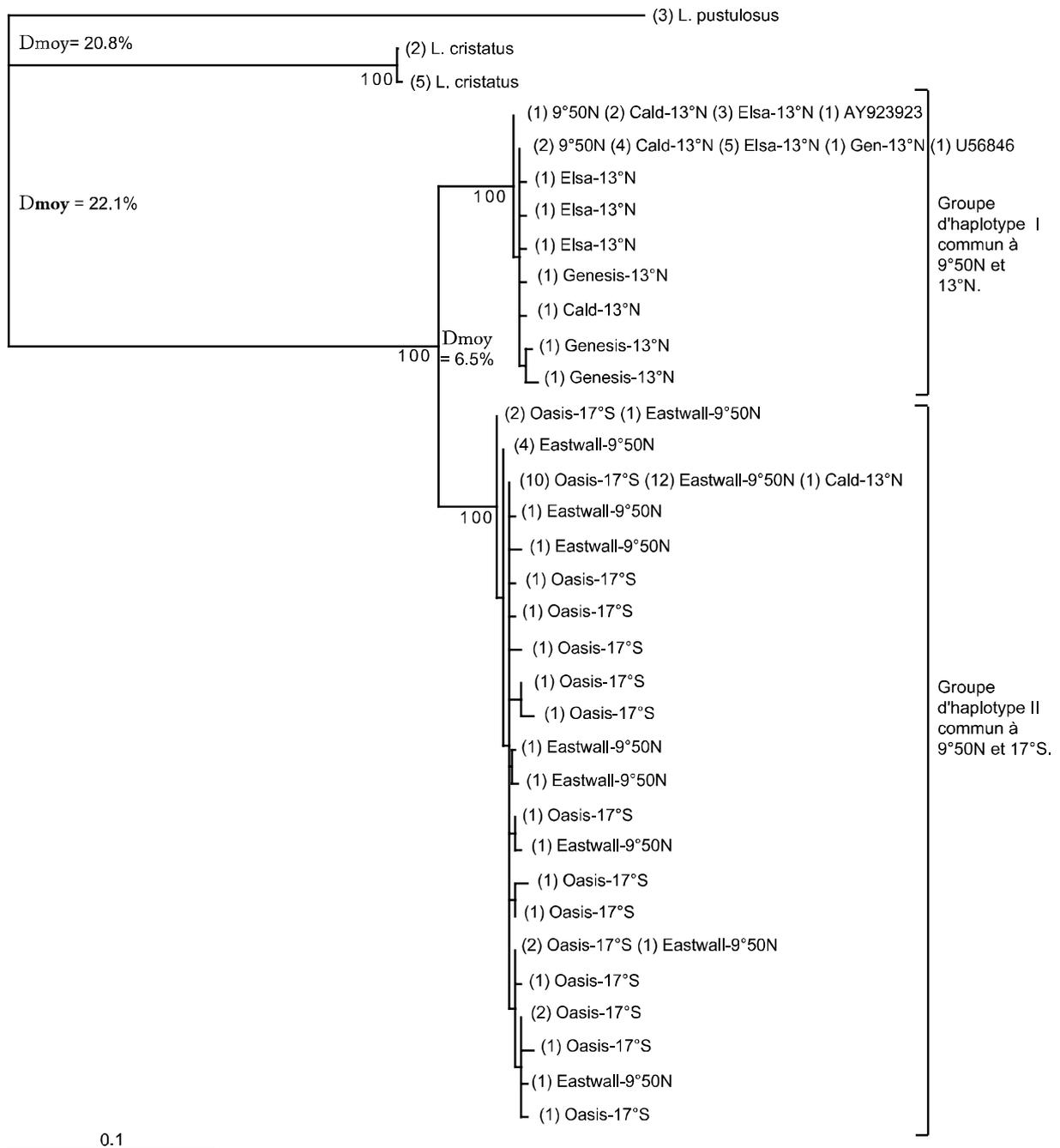


Figure 1.6. Arbre consensus généré selon la méthode du Maximum de Vraisemblance (ML) à partir des 31 haplotypes identifiés chez *Lepetodrilus elevatus* et *Lepetodrilus* spp. Les nombres à proximité des nœuds correspondent aux valeurs de bootstrap et les valeurs entre parenthèses au nombre d'individus des différentes localités. D_{moy} = distance génétique moyenne entre clades.

La distance entre les haplotypes appartenant à chaque groupe, mesurée à partir du paramètre Kimura-2, est de 0,065, soit 6,5% de divergence génétique (Figure 1.6). Géographiquement, les deux lignées séparent nettement les populations de 13°N (clade nord) et de 17°S (clade sud), excepté pour un individu du site Caldera (13°N) qui se regroupe avec les populations de 17°S. Les individus provenant des populations de 9°50'N appartiennent au clade sud, sauf trois d'entre eux qui sont regroupés avec le clade nord. Etant donnée la taille des individus de *Lepetodrilus elevatus*, il n'a pas été possible, de manière systématique dans cette étude, d'utiliser les mêmes individus pour les analyses des locus allozymiques et des séquences de COI : la méthode des allozymes nécessite le broyage complet du corps des spécimens afin d'obtenir une quantité suffisante de protéines, permettant l'analyse d'un nombre suffisant de locus. Un seul individu traité pour les allozymes a ainsi pu être séquencé pour le gène de la COI. Alors que l'AFC effectuée sur les données allozymiques classait cet individu dans le clade nord, sa séquence mitochondriale le rattache au clade sud.

La diversité haplotypique (h_{e-HAP}) et la diversité nucléotidique (π) moyennes sont respectivement de $0,882 \pm 0,027$ et $0,031 \pm 0,002$. Les valeurs obtenues pour chaque population sont présentées dans le tableau 1.6. La diversité haplotypique apparaît relativement homogène entre les différentes populations, avec la plus faible valeur observée pour le site Caldera ($h_{e-HAP} = 0,75$). En terme de diversité nucléotidique, les sites Eastwall et Caldera présentent des valeurs relativement élevées en comparaison des autres populations ($\pi = 0,017$ et $0,021$). Ce résultat est à mettre en relation avec le mélange des deux clades pour ces deux sites.

Tableau 1.6. Variabilité génétique des séquences de la *COI* par population. N_{HAP} : nombre d'haplotypes dans la population ; h_{e-HAP} : diversité haplotypique ; π : diversité nucléotidique ; ^a clade nord ; ^b clade sud.

	13°N			9°50N	17°S
	Elsa	Genesis	Caldera	East Wall	Oasis
<i>MtCOI</i>					
N_{HAP}	5	4	4	10	15
h_{e-HAP}	0,764 ($\pm 0,107$)	1,000 ($\pm 0,177$)	0,750 ($\pm 0,139$)	0,800 ($\pm 0,069$)	0,863 ($\pm 0,062$)
π	0,0027	0,0074	0,0165	0,0212	0,0060
π intra clade	0,0027 ^a	0,0074 ^a	0,0021 ^a	0,0036 ^b	0,0060 ^b

Analyses morphologiques

A première vue, la morphologie générale des coquilles des *Lepetodrilus elevatus* identifiées comme appartenant aux clades sud et nord par les données allozymiques ou les

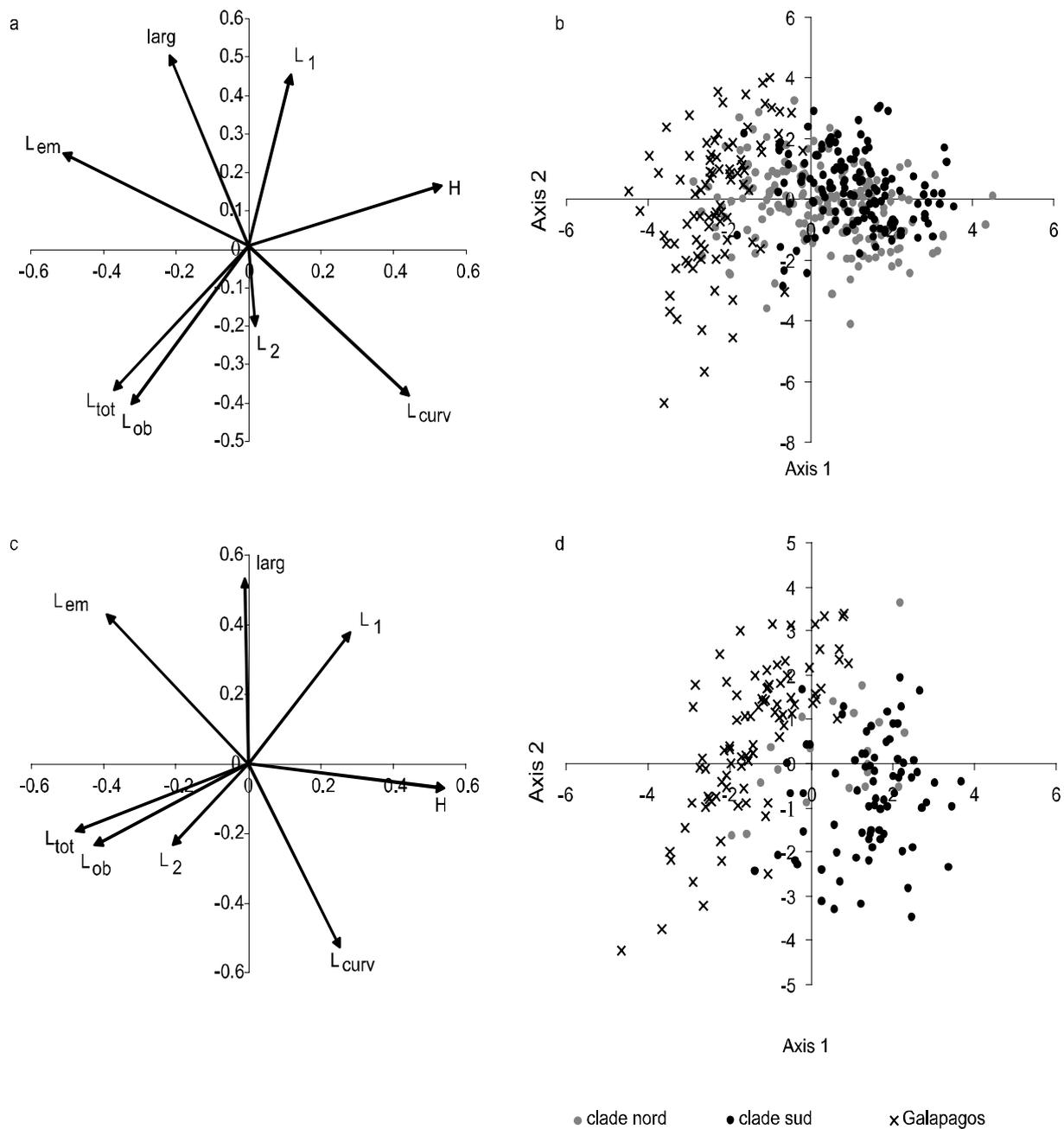


Figure 1.7. Analyse en Composante Principale (ACP) effectuée sur les caractéristiques morphologiques de la coquille de *Lepetodrilus elevatus* et *L. galriftensis*. Les données ont été transformées selon la méthode du « log-shape ratio ». a : cercle des corrélations et b : coordonnées des individus dans le plan factoriel formé par les axes 1 et 2 pour les deux clades identifiés par les allozymes chez *L. elevatus*; c : cercle des corrélations et d : coordonnées des individus dans le plan factoriel formé par les axes 1 et 2 pour les deux clades identifiés par les séquences de la COI chez *L. elevatus*. L_{curv} : longueur curvilinéaire ; L_{tot} : longueur totale ; L_{em} : longueur de l’empreinte ; L₁ : longueur du point le plus élevé de la coquille jusqu’à son extrémité antérieure ; L₂ : longueur du point le plus élevé de la coquille jusqu’à son extrémité postérieure ; L_{ob} : longueur oblique maximale de la coquille ; H : hauteur ; larg : largeur.

séquences de COI ne montre pas de différences évidentes. Les analyses en composantes principales (ACP) effectuées sur le Log-Shape Ratio des 8 mesures considérées dans cette étude pour chaque marqueur avaient donc pour but d'améliorer le caractère discriminant que pouvait avoir la forme générale de la coquille. Les hybrides potentiels repérés grâce à l'AFC sur les caractéristiques allozymiques des individus ont été retirés des analyses afin d'éviter tout biais éventuel. A l'inverse, des individus de *Lepetodrilus elevatus galriftensis* de la dorsale des Galápagos décrits par McLean ont été pris en compte (Figure 1.7).

L'axe 1 de l'ACP effectuée sur les individus analysés en allozymes explique 39,03% de la variance totale du nuage de points alors que l'axe 2 en explique 28,77%. Pour l'ACP effectuée sur les individus ayant fait l'objet d'analyses des séquences mitochondriales, les axes 1 et 2 expliquent respectivement 38,46% et 32,63% de la variance totale du jeu de données. Pour les deux analyses, les variables ayant le plus de poids sur l'axe 1 sont la longueur totale, la longueur de l'empreinte et la hauteur, et sur l'axe 2 la largeur de la coquille. Les individus de *L. elevatus galriftensis* tendent à s'individualiser le long de l'axe 1 bien qu'une zone de chevauchement entre les deux ne permette pas de les séparer totalement. Quelque soit le marqueur utilisé, ce chevauchement concerne uniquement des individus de *L. elevatus* appartenant au clade nord. Cette différenciation entre *L. elevatus galriftensis* et *L. elevatus* s'explique par le fait que les premiers possèdent une coquille généralement plus aplatie. A l'inverse, les ACP ne permettent pas de discriminer les deux lignées évolutives de *L. elevatus* selon la morphologie de la coquille.

1.3.3. Analyses démographiques au sein de chaque clade

Afin de tester l'homogénéité génétique au sein de chaque clade, des analyses séparées ont été effectuées. Bien que le locus *Gpi* ait un grand intérêt dans la discrimination des deux clades, ce locus a été retiré de l'analyse intra-clade en raison des nombreuses données manquantes pour certaines populations.

La forte variabilité génétique préalablement détectée au niveau des populations de 9°50'N disparaît lorsqu'on considère les deux clades séparément et apparaît relativement homogène entre les différentes populations analysées. Le nombre moyen d'allèles par locus allozymique est compris entre 2,3 et 2,7 pour les populations du clade nord, et entre 2,0 et 2,9 pour celles du clade sud respectivement (Tableau 1.7). En terme de diversité nucléotidique des séquences de COI, les valeurs de π sont voisines et comprises entre 0,0027 et 0,0074 (Tableau 1.6). Sauf au niveau des 2 populations de 17°S, il n'existe plus de déséquilibre de

Tableau 1.7. Valeurs des Fis aux locus enzymatiques pour chaque clade (* p < 0,05 ** p < 0,001) et variabilité génétique pour chaque clade. N_{all} : nombre moyen d'allèles par population. Hétérozygoties observée (H_o) et attendue (H_{NB}; Nei 1987) (SD) ; R_s : richesse allélique.

Locus	13°N			9°50N			17°25S		
	Elsa	Genesis	Julie	Biotransect	BioVent	East Wall	Oasis-BS6	Oasis-BS13	All
Clade nord									
Fis									
<i>Gpi</i>	-0,215	-0,171	0,746***	0,048	0,543	0,46*	-	-	0,058
<i>Idh1</i>	-0,016	-0,094	-0,012	-0,059	-0,000	-0,000	-	-	0,045
<i>Idh2</i>	0,218	0,051	0,252*	0,714**	0,272	-0,085	-	-	0,166**
<i>Mdh</i>	-0,030	-0,329**	-0,019	-0,125	-0,200	-0,223	-	-	-0,156**
<i>Aat2</i>	-0,015	-	-0,018	-	-	-	-	-	-0,014
<i>Mpi</i>	0,192	0,159	0,068	0,000	0,077	0,167	-	-	0,143
<i>Pgm2</i>	-0,155	-0,140	0,068	-0,500*	-0,391	-0,290	-	-	-0,156*
All	0,002	-0,068	0,116	0,048	0,104	0,036	-	-	0,017
N _{ALL}	2,9	2,7	2,9	2,3	2,7	2,6	-	-	
H _o	0,360	0,370	0,272	0,329	0,429	0,359	-	-	
H _{NB}	0,361	0,346	0,307	0,344	0,473	0,372	-	-	
	(±0,223)	(±0,202)	(±0,234)	(±0,270)	(±0,280)	(±0,252)			
R _s	2,146	1,975	1,865	2,072	2,7	2,04	-	-	
Clade sud									
Fis									
<i>Gpi</i>	-	-	-	1,000	0,863***	0,402	-	-	0,750***
<i>Idh1</i>	-	-	-	-	0,000	-	-	0,000	0,063***
<i>Idh2</i>	-	-	-	-	0,579***	1,000*	-	-	0,626***
<i>Mdh</i>	-	-	-	-0,018	-0,426***	-0,072	-1,000***	-0,745***	-0,600***
<i>Aat2</i>	-	-	-	1,000	0,113	-0,143	0,234	0,243	0,221**
<i>Mpi</i>	-	-	-	-0,167	-0,071	0,189	-0,941***	-1,000***	-0,634***
<i>Pgm2</i>	-	-	-	-0,577*	-0,580***	-0,029	-0,425*	-0,186	-0,373***
All	-	-	-	0,106	0,017	0,155	-0,527***	-0,408***	-0,237***
N _{ALL}	-	-	-	2	2,9	2,6	1,9	2	
H _o	-	-	-	0,268	0,353	0,332	0,462	0,426	
H _{NB}	-	-	-	0,295	0,359	0,390	0,305	0,304	
				(±0,243)	(±0,205)	(±0,255)	(±0,288)	(±0,281)	
R _s	-	-	-	1,917	2,172	2,262	1,712	1,736	

Tableau 1.8. Valeurs de Fst entre paire de populations calculées à partir des données allozymiques pour le clade nord (diagonale supérieure) et le clade sud (diagonale inférieure). * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

		13°N			9°50N			17°S
		Elsa	Genesis	Julie	Biotransect	BioVent	East Wall	Oasis-BS6
13° N	Elsa	-	-0,002	0,231***	0,093***	0,007	0,008	-
	Genesis	-	-	0,251**	0,118***	0,040	0,021*	-
	Julie	-	-	-	0,298**	0,138*	0,172***	-
9°50N	Biotransect	-	-	-	-	0,074	0,102***	-
	BioVent	-	-	-	0,321***	-	-0,006	-
	East Wall	-	-	-	0,349**	0,038*	-	-
17°S	Oasis-BS6	-	-	-	0,070*	0,296***	0,370***	-
	Oasis-BS13	-	-	-	0,072*	0,296***	0,357***	0,011

liaisons, ce qui indique une indépendance des locus au sein de chaque clade. Le déficit en hétérozygotes observé sur les locus allozymiques a fortement diminué au sein du clade nord avec l'absence de F_{is} multilocus significativement différent de 0 (Tableau 1.7). A l'inverse, un excès en hétérozygotes persiste au sein du clade sud pour les 2 populations analysées à 17°S. La déviation significative à l'hypothèse nulle d'équilibre démographique suggère que ces deux populations ont récemment subi un goulot d'étranglement (test de Wilcoxon ; $p > 0,05$).

Clade nord

Au sein du clade nord, les valeurs de F_{st} indiquent que les populations de Julie et Biotransect diffèrent significativement de toutes les autres populations (Tableau 1.8). Cependant, la valeur du F_{st} calculée entre les 2 champs hydrothermaux, 9°50'N et 13°N, n'est pas significative ($F_{st} = 0,010$; $p > 0,05$), suggérant que le flux génique peut être aussi important entre deux champs hydrothermaux séparés de 300 km, qu'entre deux populations d'un même champ hydrothermal. Les valeurs de F_{st} estimées à partir des fréquences haplotypiques sont significatives entre Elsa et le reste des populations de 13°N et 9°50'N (Tableau 1.9).

Le réseau d'haplotypes réalisé à partir du groupement moyen des 9 haplotypes se référant au clade nord montre la présence de deux haplotypes majoritaires, présents dans la majorité des localités géographiques (Figure 1.8). Les autres haplotypes dérivent des deux principaux par une ou deux mutations. La courbe de mismatch des divergences nucléotidiques par paire est unimodale et montre un excès de variants rares par rapport aux attentes théoriques pour des populations stables (Figure 1.9). En revanche, elle s'ajuste correctement aux attentes d'un modèle pour une population en expansion ou en déclin. Ce résultat est d'ailleurs confirmé par le test R_2 de Ramos-Onsins & Rozas qui rejette l'hypothèse nulle de populations stables ($R_2 = 0,0597$; $p = 0,006$). Les statistiques de F_u et L_i sont négatives ($F = -2,899$) et s'écartent significativement de la théorie de neutralité ($p < 0,05$). Cependant, à l'échelle locale, les populations de 13°N (i.e. Caldera, Genesis et Elsa) ne présentent pas de statistiques significatives, suggérant que ces populations sont restées stables suffisamment longtemps pour atteindre un équilibre mutation/dérive.

- Caldera (13°N)
- Elsa (13°N)
- Genesis (13°N)
- Eastwall (9°50N)

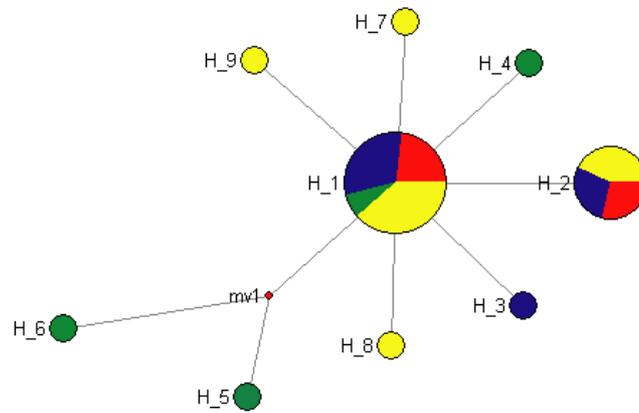


Figure 1.8. Réseau d'haplotypes montrant les relations évolutives entre les haplotypes de *Lepetodrilus elevatus* appartenant au clade nord. Les ronds représentent les haplotypes et leur taille est proportionnelle à leur fréquence au sein de toutes les populations.

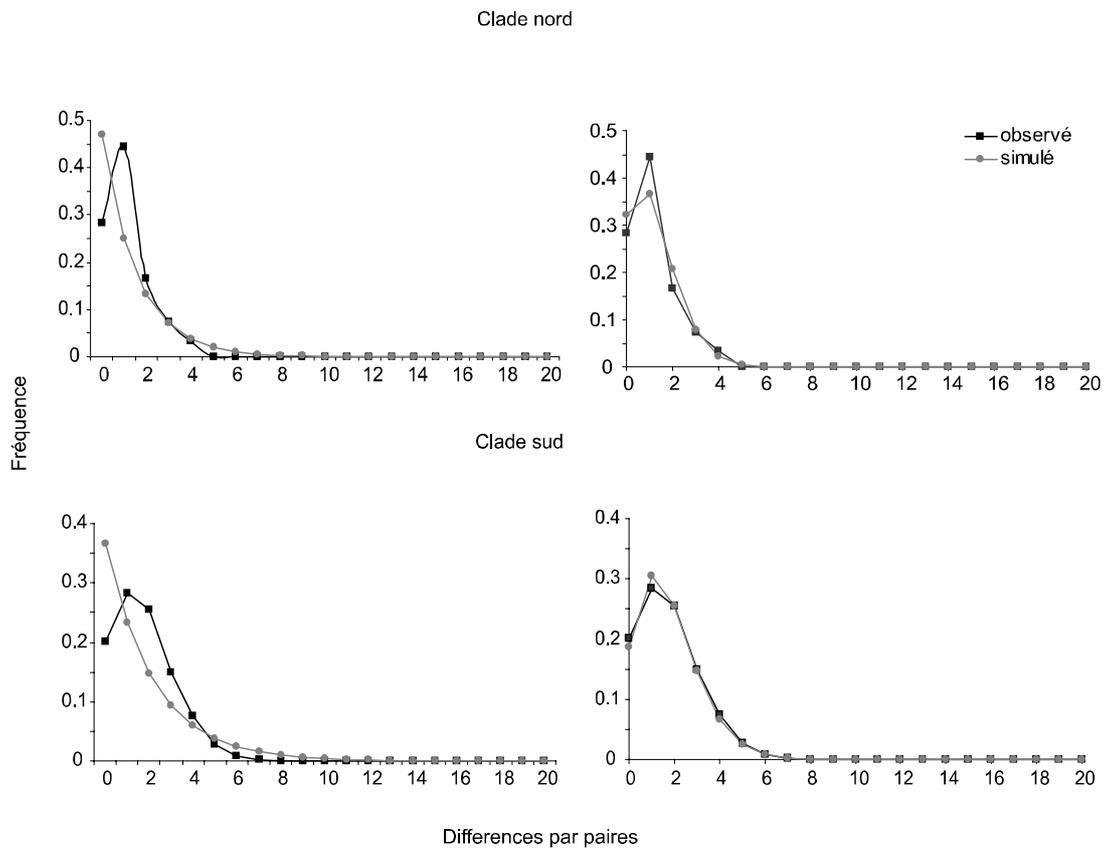


Figure 1.9. Courbes de mismatch représentant les différences nucléotidiques observées entre paires d'haplotypes de *Lepetodrilus elevatus* pour chaque clade et comparées aux valeurs attendues sous un modèle de population de taille infinie (gauche) et sous un modèle de population en expansion (droite).

Tableau 1.9. Valeurs de Fst entre paire de populations calculées à partir des données de COI pour le clade nord (diagonale supérieure) et le clade sud (diagonale inférieure). * p < 0,05 ; ** p < 0,01.

		13°N		9°50N
		Genesis	Caldera	Eastwall
13°N	Elsa	0,145*	0,249***	0,267*
	Genesis		0,149	0,148
	Caldera	-		0,291
9°50N	Eastwall	-	-	
17°S	Oasis-BS6	-	-	0,212***

Clade sud

Dans le clade sud, les valeurs estimées de Fst diffèrent significativement de 0 entre toutes les populations, sauf entre les deux populations de 17°S (i.e. Oasis-BS6 et Oasis-BS13) (Tableau 1.8). Contrairement au clade nord, la forte valeur de Fst entre les deux champs hydrothermaux, 9°50'N et 17°S, est significative (Fst = 0,243, p<0.01). Etant donné, les fortes distances géographiques entre ces deux champs, il convient de noter que les populations ont pu simplement diverger sous l'effet de la dérive génétique. D'après les données mitochondriales, les populations de Eastwall (9°50'N) et Oasis-BS6 (17°S) diffèrent significativement l'une de l'autre (Tableau 1.9). La population de Caldera, n'étant représentée que par une seule séquence n'a pas été incluse dans l'analyse.

Le réseau d'haplotypes basé sur 22 haplotypes indique la présence d'un unique haplotype ancestral à partir duquel plusieurs variants sont apparus suite à 2 ou 3 substitutions (Figure 1.10). Comme dans le cas du clade nord, la courbe de mismatch des différences nucléotidiques par paire est unimodale et caractérisée par un excès de variants rares. De même, le test R₂ de Rozas-Onsins & Ramos rejette l'hypothèse nulle de populations stables (R₂ = 0,0361 ; p = 0,000). Les statistiques de Fu et Li sont également négatives (F = -3,926) et dévient significativement de la neutralité (p< 0,05), suggérant la présence d'effets sélectifs ou un phénomène d'expansion des populations.

1.3.4. Analyse du COI sur d'autres espèces de gastéropodes

L'arbre consensus généré à partir de la méthode du plus proche voisin est présenté sur la Figure 1.11. Pour certaines espèces (i.e. *Rhyncopelta concentrica*, *Nodopelta subnoda* et *Planorbidella planispira*), peu de séquences ont pu être obtenues, soit en raison du faible nombre d'individus disponibles, soit en raison de problèmes rencontrés lors de l'étape d'amplification. En effet, malgré la mise en place d'une PCR emboîtée, des difficultés à

amplifier le gène de la COI sont apparues pour de nombreux individus. L'obtention de quelques séquences devrait néanmoins permettre dans l'avenir de définir des nouvelles amorces spécifiques pour différents genres ou familles de gastéropodes.

Concernant les espèces pour lesquelles les séquences obtenues couvraient un champ spatial suffisamment vaste, des résultats fort différents ont été observés. *Gorgoleptis spiralis* ne présente pas de coupure phylogéographique entre 14°S et 21°S avec des distances génétiques (paramètre de Kimura-2) comprises entre 0,000 et 0,006, soit 0 à 0,6% de divergence. A l'inverse, pour *G. emarginatus*, deux lignées évolutives sont mises en évidence au niveau de l'arbre phylogénétique : une lignée regroupant les individus de 7°25'S et de 14°S, avec une divergence génétique intra-clade comprise entre 0,2% et 1%, et une lignée comprenant les individus provenant de 17°25'S et de 21°S avec une divergence nulle. La divergence génétique entre ces deux groupes est comprise entre 1,2% et 2,2%, valeurs faibles mais non négligeables. *Clypeosectus delectus* constitue une seule entité génétique entre 17°25'S et 23°S (0,6% de divergence entre les individus). Les séquences de *Pachydermia laevis*, récolté au niveau de 3 champs hydrothermaux entre 21°N et 31°S, permettent d'identifier trois lignées soutenues par des fortes valeurs de bootstrap (92-99 %). Les divergences génétiques sont supérieures à 10% entre les 3 lignées propres à chaque champ hydrothermal (i.e. 10,5 % - 10,9 % entre 7°25'S et 31°S ; 10,5 % - 12,8 % entre 7°25'S et 21°N et 10,3 % - 10,6 % entre 31°S et 21° N), ce qui suggère d'importantes barrières au flux de gènes chez cette espèce.

1.4. Discussion

1.4.1 Évidence de la présence d'espèces cryptiques

Le premier objectif de cette étude était d'analyser la structure génétique du vétérogastéropode *Lepetodrilus elevatus* supposé constituer une seule et unique espèce le long de la dorsale du Pacifique oriental. Cependant, l'analyse des deux marqueurs nucléaires (i.e. allozymes et DALP) le long de la dorsale, entre 13°N et 17°S, montre que les patrons d'isolement par la distance observés résultent en fait principalement d'un mélange clinal de deux lignées distinctes. La première lignée semble restreinte à la partie nord de la dorsale, de 13°N à 9°50'N, alors que la deuxième est principalement présente dans le sud, de 9°50'N à 17°S. Seul un individu issu de la population de Caldera à 13°N a été assigné à la lignée du sud. Ce résultat est fortement soutenu par une importante différenciation génétique, la présence de clines dans les fréquences alléliques, ainsi que des différences haplotypiques

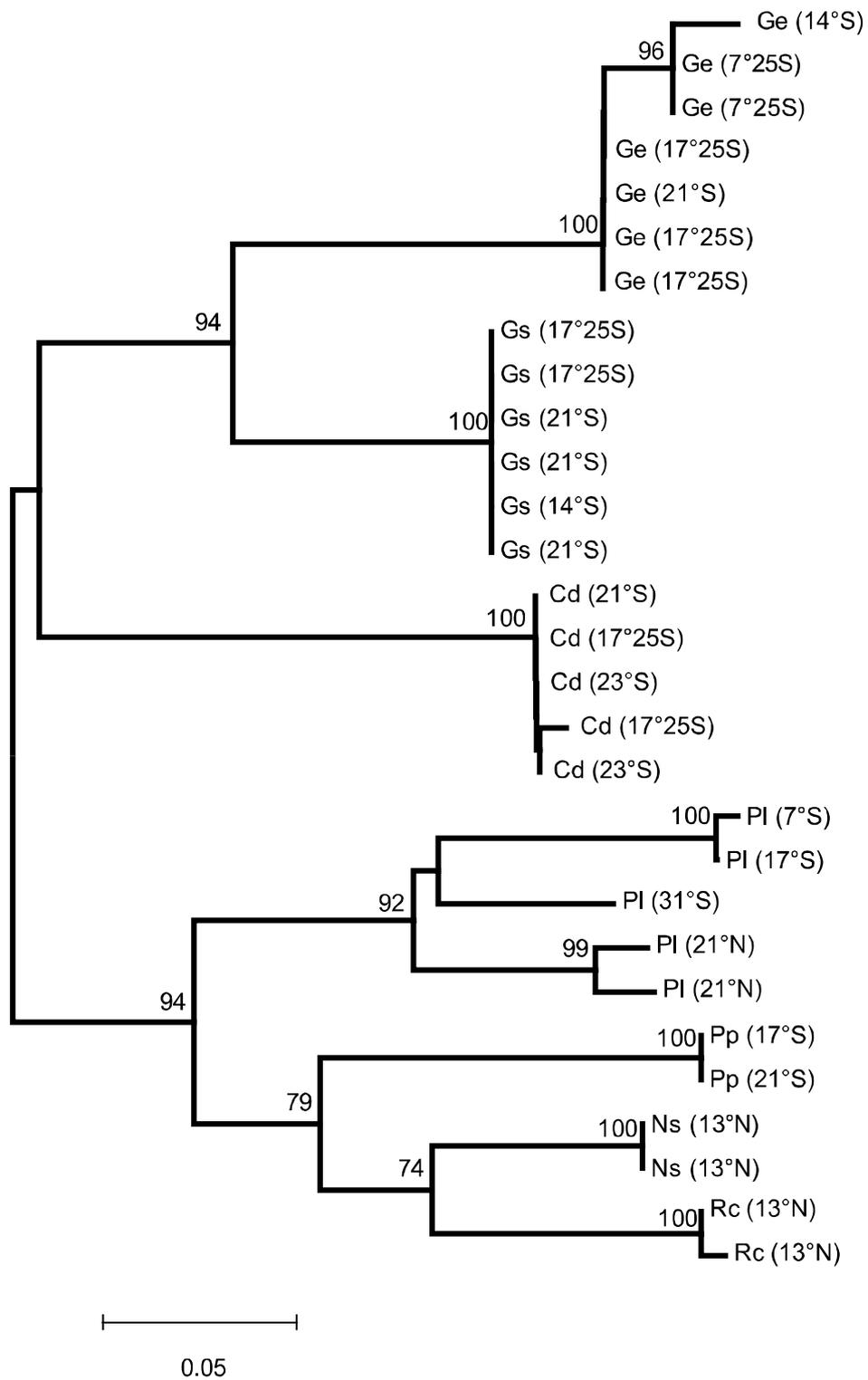


Figure 1.11. Arbre consensus généré selon la méthode du plus proche voisin et basé sur 29 haplotypes de 7 espèces de gastéropodes. Le nombre à proximité des nœuds correspond à la valeur des bootstraps. Ge : *Gorgoleptis emarginatus* ; Gs : *Gorgoleptis spiralis* ; Cd : *Clypeosectus delectus* ; Pl : *Pachydermia laevis* ; Pp : *Planorbidella planispira* ; Ns : *Nodopelta subnoda* ; Rc : *Rhyncopelta concentrica*.

fixes. L'analyse factorielle des correspondances, effectuée sur les données allozymiques, sépare nettement les populations de 17°25'S et 13°N, ce qui est également confirmé par les données mitochondriales qui révèlent la présence de 2 clades avec l'absence d'haplotypes communs entre les deux. Les déséquilibres de liaison ainsi que les forts déficits en hétérozygotes observés à 9°50'N, lorsque la totalité des individus échantillonnés est considérée, disparaissent lorsque les deux lignées sont traitées séparément.

Bien que les marqueurs nucléaires de type DALP montrent un isolement par la distance significatif le long du gradient latitudinal, en relation avec un cline dans les fréquences alléliques du locus *Lep1*, ils ne permettent pas de confirmer la présence de deux clades. A 9°50'N, les valeurs de Fis obtenues sur ces marqueurs ne traduisent pas l'existence d'un mélange de deux entités génétiques différenciées. La différence de réponse observée entre ces locus et les locus allozymiques peut avoir plusieurs causes : (1) un polymorphisme ancestral antérieur à la spéciation entre les deux lignées et les différents événements de colonisation ; (2) les indels à l'origine de cette variabilité seraient des états homoplasiques apparus après la spéciation. Dans le premier cas, plusieurs mécanismes évolutifs ont été proposés afin d'expliquer la rétention d'un polymorphisme ancestral. D'une part, des allèles spécifiques peuvent être maintenus par la sélection en dépit d'événements de spéciation. D'autre part, des allèles neutres peuvent résister à une élimination par dérive génétique si la taille effective de la population est assez grande (Goodacre & Wade 2001). Si nous admettons que le polymorphisme de longueur observé dans cette étude serait plutôt antérieur à la divergence génétique entre les deux lignées, seul l'allèle 163 au locus *Lep 1* serait apparu après la spéciation dans les populations de 17°25S.

Craddock *et al.* (1997) avaient déjà suggéré la présence de deux espèces génétiquement différenciées le long de l'EPR entre 21°N et 9°N, qu'ils avaient identifiées comme *L. elevatus* et *L. galriftensis*, élevant ainsi la sous-espèce *L. e. galriftensis* au rang d'espèce. Toutefois, ces auteurs précisait que ces deux espèces ne partageaient aucun allozyme (i.e. électromorphe). Or, dans notre étude, tous les locus enzymatiques possèdent au moins un allèle commun aux deux lignées, les différences entre lignées résultant de différences dans les fréquences alléliques. Sachant que les marqueurs allozymiques que nous avons utilisés sont identiques à ceux analysés par Craddock *et al.* (1997), il semble que les lignées que nous individualisons ne correspondent pas, pour l'une d'elle, à l'espèce identifiée par eux comme *L. galriftensis*. Par ailleurs, sur la base de la morphologie de la coquille, ces lignées ne semblent pas davantage se rattacher à *L. e. galriftensis* telle que définie par

McLean. Les résultats témoignent donc de la présence de deux lignées évolutives chez *L. elevatus sensu stricto* qui n'avaient jamais été détectées jusqu'à présent.

L'existence d'hybrides entre les deux lignées évolutives à 9°50'N, et probablement à Julie (13°N), est toutefois suggérée par la présence d'individus intermédiaires dans l'analyse factorielle conduite sur les données allozymiques. Une telle hybridation est de plus confirmée par les résultats obtenus pour un individu de la population Eastwall, assigné au clade sud à partir de sa séquence de COI et au clade nord en fonction de sa signature enzymatique. Malheureusement il s'agit là du seul spécimen qui ait pu être traité pour les deux types de marqueurs.

Depuis le développement des analyses moléculaires, la découverte d'espèces cryptiques dans les écosystèmes hydrothermaux, et à plus large échelle dans le milieu marin, est largement répandue (Vrijenhoek *et al.* 1994, Peek *et al.* 1997, Knowlton 2000, Chevallon *et al.* 2002, Hurtado *et al.* 2004). Le fait que le groupement généalogique mis en évidence dans cette analyse soit cohérent à l'échelle de plusieurs marqueurs et donc de plusieurs gènes indépendants, nous conforte dans l'idée que les deux clades correspondent bien à deux lignées évolutives distinctes qu'il est possible d'élever au rang d'espèces (Avisé & Wollenberg 1997). En effet, bien que le concept d'espèce soit encore largement débattu dans la communauté scientifique (Knowlton 1993, Avisé & Wollenberg 1997, Mayden 1997, Samadi & Barberousse 2006), les différences observées entre les lignées satisfont les critères de la définition biologique, comme de la définition phylogénétique de l'espèce. Ainsi, l'absence d'haplotype commun aux deux clades suggère l'existence d'une barrière reproductive intrinsèque soutenant le concept biologique de l'espèce. Le pourcentage de divergence génétique (K2P) est compris entre 0 et 1,1% pour le clade nord, entre 0 et 2,8% pour le clade sud, et atteint 6,5% entre les deux clades en accord avec le concept phylogénétique de l'espèce. Si les niveaux de divergence peuvent être très variables entre deux espèces (Knowlton 2000), ces différentes valeurs correspondent à des niveaux de divergence intra- et inter-spécifique (Peek *et al.* 1997, Goffredi *et al.* 2003). A titre d'exemple, Goffredi *et al.* (2003), ont identifié 2 lignées distinctes avec des divergences de séquences de la COI comprises entre 3,9 et 10,3 % chez deux complexes d'espèces de vesycomidés. Plusieurs espèces cryptiques ont été découvertes chez les polychètes du genre *Oasisia* le long de la dorsale Est Pacifique avec des divergences allant de 2,6 à 9,7% (Hurtado *et al.* 2002). Won *et al.* (2003) ont mis en évidence la présence d'espèces cryptiques chez les bivalves du genre *Bathymodiolus* le long de l'EPR pour des valeurs de divergence de 4,4%.

De nombreuses études génétiques menées sur les espèces hydrothermales ont montré l'existence de différents taxons vivant en sympatrie, génétiquement très divergents et morphologiquement très proches (Vrijenhoek *et al.* 1994, Craddock *et al.* 1995, Peek *et al.* 1997, Knowlton 2000, Goffredi *et al.* 2003, Won *et al.* 2003). De plus, de nombreuses descriptions d'espèces de mollusques, basées sur les caractères morphologiques de la coquille, se sont avérées injustifiées au regard des données moléculaires (Knowlton 2000). Si, chez les mollusques comme chez bien d'autres taxons, les variations de la morphologie sont contraintes généalogiquement, elles sont également le résultat d'une plasticité phénotypique en relation avec les changements environnementaux (Knowlton 2000, Goffredi *et al.* 2003). Une plasticité morphologique semble ainsi être relativement fréquente chez les organismes hydrothermaux (Black *et al.* 1994, Southward *et al.* 1995, Knowlton 2000). Etant donné les caractéristiques du milieu hydrothermal, en terme de variabilité spatiale et temporelle des paramètres physico-chimiques, on peut supposer que ce milieu est à même d'influencer la morphologie de la coquille, ce qui expliquerait notre incapacité à identifier sur ce seul critère les espèces cryptiques détectées. Des facteurs environnementaux tels que la température, l'espace disponible, ou les concentrations de différents composés chimiques peuvent entraîner des variations des critères morphologiques. Par exemple, l'absence ou la présence de certains métaux dans le fluide hydrothermal peut modifier la couleur de la coquille comme cela a été observé parmi les individus analysés dans la présente étude. La densité des individus pourrait elle aussi avoir un impact sur la morphologie de la coquille. Lors de l'échantillonnage des *Lepetodrilus elevatus* associés aux bouquets de *Riftia pachyptila*, certains tubes étaient totalement recouverts de gastéropodes tandis que d'autres présentaient des densités d'individus très faibles. Une telle hétérogénéité pourrait avoir des conséquences sur la croissance des animaux et altérer notamment le ratio longueur sur largeur.

Les différences morphologiques telles que la forme de la coquille ou les décorations qu'elle présente sont des caractères diagnostics pour l'identification des différentes espèces du genre *Lepetodrilus* décrites à ce jour (McLean 1988, Warén & Bouchet 2001). Cependant d'autres critères doivent également être pris en compte pour distinguer des espèces très proches telles que la géométrie de la radula ou différentes caractéristiques du corps mou. A titre d'exemple, Johnson *et al.* (2006) ont récemment distingué deux espèces morphologiquement très proches, *L. fucensis* et *L. gordensis*, dans le NE Pacifique en fonction de la présence ou non de papilles sensorielles sur le cou.

Bien que nos résultats restent très préliminaires, d'autres espèces de gastéropodes communes le long de l'EPR pourraient également être composées de plusieurs lignées évolutives. *Gorgoleptis emarginatus* présente un point de rupture phylogéographique entre 14°S et 17°S avec deux lignées divergentes de 2%. Bien que cette valeur soit vraisemblablement trop faible pour conclure sur la présence de deux espèces cryptiques, elle est cependant non négligeable et montre une forte réduction du flux génique entre 14°S et 17°25'S. *P. laevis* présente quant à lui des niveaux de divergence remarquables, supérieurs à 10 %, entre 3 lignées évolutives correspondant à 3 champs hydrothermaux distincts : 21°N, 7°S et 31°S. Ce gastéropode pourrait donc potentiellement être considérée comme un complexe d'espèces.

L'augmentation du nombre de séquences et de marqueurs moléculaires seront nécessaires pour valider ces résultats. Il est toutefois intéressant de noter que des espèces très proches, et possédant vraisemblablement des traits d'histoire de vie voisins, comme *Gorgoleptis emarginatus* et *G. spiralis* peuvent présenter des patrons phylogéographiques différents.

1.4.2. Spéciation allopatrique vs. spéciation sympatrique

Les deux espèces cryptiques mises en évidence dans cette étude occupent des aires de distribution géographique comme des habitats relativement différents qui permettent d'étayer différents scénarios pouvant expliquer la spéciation. La présence de barrières topographiques (i.e. failles transformantes, inflations bathymétriques, microplaques) ainsi que la circulation océanique profonde, qui influencent la dispersion larvaire le long de la dorsale, font que les processus de vicariance jouent un rôle important dans la différenciation des populations hydrothermales (Van Dover *et al.* 2002). Différentes barrières ont ainsi été évoquées par différents auteurs pour rendre compte de limites d'aire de distribution entre le nord et le sud de la dorsale du Pacifique oriental. Won *et al.* (2003) ont mis en évidence chez *Bathymodiolus thermophilus* une isolation partielle des populations de 17°S par rapport à celles situées plus au nord. Ils ont émis l'hypothèse que ce patron de distribution pouvait s'expliquer par la présence d'un fort courant d'est en ouest qui contraint le déplacement des panaches hydrothermaux vers le sud. Hurtado *et al.* (2004) ont observé une divergence significative entre des populations d'*Alvinella pompejana*, et dans une moindre mesure de *Tevnia jerichonana*, situées de part et d'autre de l'Equateur. Ils ont alors attribué ce changement de structure génétique à la présence de tourbillons au nord et au sud de l'Equateur qui empêcheraient la dispersion des larves pélagiques dans les panaches hydrothermaux (Reid

1997). Ces deux études mettent l'accent sur des barrières qui influenceraient les larves transportées par les panaches hydrothermaux. Cependant, bien que ce type de transport existe pour certaines larves (Kim & Mullineaux 1998), Mullineaux *et al.* (2005) et Metaxas (2004) ont suggéré que les larves de gastéropodes étaient plutôt transportées par les courants proches du fond.

D'autres barrières à la dispersion peuvent néanmoins être proposées pour des larves transportées à proximité du fond : (1) le point de jonction triple (Hess Deep) entre la ride des Galapagos et la dorsale du Pacifique oriental (Hurtado *et al.* 2004) ; (2) les failles transformantes fréquentes le long de la dorsale (Quebrada, Discovery, Yaquina, Wilkes, Garret ; Figure 1.1) (Chevaldonné *et al.* 1997). De nouveau, différents éléments rendent ces barrières peu plausibles pour expliquer nos résultats. La présence de *Lepetodrilus galriftensis* entre 9°N et 21°N suggère qu'il existe des échanges possible entre la ride des Galapagos et la dorsale Est Pacifique (Craddock *et al.* 1997), même si la présence de *L. galriftensis* le long de l'EPR n'a jamais été confirmée depuis cette étude en dépit du nombre importants d'échantillonnages réalisés dans la zone. La présence des deux clades en sympatrie à 9°50'N suppose que ces barrières géographiques sont « semi-perméables » au flux génique, ou qu'il y a eu dans le passé des évènements ponctuels de remise contact secondaire. Des évènements ponctuels, tels qu'une éruption volcanique, sont à même d'engendrer la création de mégapanaches qui sont caractérisés par une taille allant jusqu'à 20 km de diamètre et 600 m d'épaisseur (Van Dover 2000). De telles structures peuvent alors entraîner un pool de larves au-delà des barrières topographiques mentionnées (Van Dover *et al.* 2002).

L'histoire tectonique des dorsales océaniques peut également expliquer les évènements de vicariance survenus au sein de la faune hydrothermale, qui ont souvent abouti à des divergences génétiques chez de nombreuses espèces (Tunnicliffe & Fowler 1996). Un modèle tectonique proposé pour l'évolution de la partie sud de la dorsale du Pacifique oriental, depuis la fin de l'Oligocène jusqu'à aujourd'hui a permis de mettre en évidence (1) une réorganisation majeure et une réorientation de l'axe central de la dorsale il y a entre 20 et 18 Millions d'années (Ma) avec un axe central encore actif aujourd'hui au sud de 13°S et (2) la formation d'une microplaque temporaire (i.e. la microplaque de Bauer) il y a entre 8,2 et 6,5 Ma au nord de 13°S (Mammerickx *et al.* 1980). Cette microplaque, à l'identique de la microplaque de l'île de Pâques, qui constitue actuellement une importante barrière géographique au flux génique (Won *et al.* 2003, Hurtado *et al.* 2004), a pu être à l'origine

d'un évènement de vicariance expliquant la spéciation allopatrique des deux lignées évolutives de *Lepetodrilus elevatus*.

Différentes horloges moléculaires ont été utilisées afin d'estimer le temps de divergence entre les deux lignées. Avec un taux de substitution de 0,23% (Chevaldonné *et al.* 2002), la séparation aurait eu lieu il y a 14 millions d'années (MA). Cependant ce taux a été défini pour le gène de la COI chez les polychètes hydrothermales d'après l'âge de la séparation entre l'EPR et le complexe des dorsales du nord pacifique (Juan de Fuca/Gorda/Explorer). Or, s'appuyant sur le même évènement géologique, (Johnson *et al.* 2006) ont calculé un taux de substitution de 0,56% pour le même gène chez les espèces du genre *Lepetodrilus*, ce qui amène à dater la divergence à 6 Ma. Bien que les taux d'évolution d'un gène soient très variables à travers le temps et entre les taxons, et doivent par conséquent être interprétés avec précaution, un temps de divergence compris entre 6 et 14 Ma corroborerait le rôle de la microplaque de Bauer dans la différenciation des deux lignées de *Lepetodrilus elevatus*. Une récente expansion démographique des populations situées au sud aurait permis à ces dernières de coloniser progressivement des nouvelles zones actives, ce qui expliquerait que les deux lignées soient désormais présentes en sympatrie à 9°50'N. Les quelques résultats obtenus sur d'autres espèces de gastéropodes (i.e. *Gorgolettis emarginatus* et *Pachydermia laevis*) dans cette étude suggèrent que la zone située entre 14°S et 17°25'S a pu constituer une barrière géographique au flux génique et jouer un rôle important dans la mise en place des faunes actuelles.

L'évènement vicariant décrit ci-dessus a probablement été renforcé par une spécialisation partielle pour l'habitat comme le suggère les différences dans la composition des communautés macrobenthiques associées à chaque espèce cryptique. Ainsi, le clade nord est principalement rencontré à 13°N dans un habitat caractérisé par le siboglinidé *Riftia pachytila* alors que le clade sud est associé à 17°S à un habitat composé de moulières à *Bathymodiolus thermophilus* et de colonies de *Calyptogena magnifica*. A 9°50'N, la présence conjointe des 2 espèces cryptiques de *Lepetodrilus elevatus* est à mettre en relation avec la présence des deux types d'habitats. Or, les bouquets de *Riftia* et les moulières ne se développent pas dans les mêmes conditions environnementales et constituent deux habitats différents en terme de caractéristiques physico-chimiques (Fustec *et al.* 1987, Shank *et al.* 1998). Ainsi, l'expansion du clade sud vers le nord pourrait être limitée par la disponibilité d'habitats dominés par les moules pour lesquels il serait pré-adapté.

Face à la forte hétérogénéité spatiale et temporelle de l'environnement à l'échelle d'un édifice (fumeur/zone de diffusion), les organismes sont plus à même de s'adapter à une ressource et/ou à un micro-environnement physico-chimique (température, concentration en sulfure...) particulier. Ainsi, l'hypothèse d'une spéciation sympatrique entre les deux lignées de *Lepetodrilus elevatus* ne peut pas être totalement écartée et plusieurs processus ont été proposés pour l'expliquer (Rice 1984, Palumbi 1992, 1994) : de forts processus sélectifs associés à la nature de l'habitat, des effets locaux de dérive génétique, ou des mécanismes d'isolement reproducteur (croisements non aléatoires liés à l'habitat) peuvent ainsi entraîner une réduction du flux génique entre individus appartenant à des populations voisines.

1.4.3. Évolution démographique de chaque clade

Sachant que le taux d'évolution des gènes mitochondriaux est plus élevé que celui des gènes nucléaires, les patrons de diversité peuvent être très contrastés entre les données allozymiques et mitochondriales. Ce contraste est fréquent chez les espèces hydrothermales et s'accompagne souvent d'un écart à l'équilibre mutation-dérive qui est le reflet d'évènements continus d'expansion et de réduction des populations (Hurtado *et al.* 2004). Dans le cas de *Lepetodrilus elevatus*, les diversités génétiques basées sur les données nucléaires et mitochondriales sont au contraire relativement similaires entre les populations des deux clades. Seuls la faible richesse allélique, le fort excès en hétérozygotes et la présence d'allèles fixés au niveau des allozymes pour les populations de 17°S suggèrent que ces dernières ont récemment subi un important goulot d'étranglement. Ceci est d'ailleurs largement confirmé par la mise en évidence d'un écart significatif à l'équilibre mutation-dérive sous le modèle de mutation en nombre infini d'allèles. Ces résultats sont en accord avec les observations effectuées *in situ* lors de la mission BIOSPEEDO en 2004 (Jollivet *et al.* 2004) : le champ hydrothermal de 17°S présentait de nombreuses zones d'extinction en comparaison avec les observations antérieures faites sur les assemblages faunistiques en 1993 (mission Naudur, chef de mission : J.M. Auzende) et en 1999 (mission SEPR Alvin, chefs de missions : R.C. Vrijenhoek & J. Lupton). De tels changements démographiques s'expliquent par les fréquentes éruptions volcaniques qui favorisent les extinctions locales des communautés hydrothermales et la recolonisation de nouveaux sites le long des systèmes de dorsales ultrarapides comme le sud de la dorsale du Pacifique oriental (Haymon *et al.* 1991). Cependant, il est important de noter que ces processus métapopulationnels peuvent également altérer les relations entre le niveau de différenciation génétique et le flux génique en influençant les statistiques F (Jollivet *et al.* 1999).

Craddock *et al.* (1997) ont révélé une relative homogénéité génétique des populations de *Lepetodrilus elevatus* entre 21°N et 9°50'N en dépit d'une possible dispersion selon le modèle de dispersion à pas japonais. Cependant, en raison de la faible taille de leurs échantillons, cette hypothèse n'avait pu être vérifiée statistiquement. D'autre part, l'isolement par la distance qu'ils supposaient pouvait être lié au mélange des deux espèces cryptiques révélées dans cette étude.

Dans notre étude, la différenciation génétique au sein de chaque clade peut être aussi importante entre sites voisins de quelques centaines de mètres ou de quelques kilomètres que de champs distants de plusieurs centaines de kilomètres. Ceci suggérerait que les processus de dispersion pourraient être largement balancés par les processus d'extinction-recolonisation et joueraient un rôle mineur dans la structuration génétique des populations. D'un autre côté, nos résultats pour le clade nord pourraient être partiellement biaisés par des processus d'hybridation entre les lignées. Concernant le clade sud, les populations sont génétiquement homogènes à l'échelle de 17°S mais diffèrent significativement entre 17°S et 9°50'N. Un tel résultat peut aisément s'expliquer par la distance importante qui sépare ces deux champs (> 3000 km). L'échantillonnage de populations intermédiaires apparaît donc indispensable pour mieux comprendre la structure génétique de cette lignée.

1.5. Conclusion

La présente étude a permis de montrer à travers l'analyse de différents types de marqueurs moléculaires l'existence de deux lignées évolutives chez le vétérogastéropode *Lepetodrilus elevatus* le long de la dorsale du Pacifique oriental entre 13°N et 17°S : un clade nord observé entre 13°N et 9°50'N et un clade sud rencontré entre 9°50'N et 17°S. Le taux de divergence entre les deux lignées (6,5%) est en accord avec un niveau de divergence interspécifique. Différentes horloges moléculaires ont permis d'estimer le temps de divergence entre ces deux espèces entre 6 Ma et 14 Ma. Bien que la limite géographique de ces deux espèces ne soit pas clairement définie en raison d'un échantillonnage insuffisant à l'échelle de la dorsale, nos résultats suggèrent une spéciation allopatrique, probablement en relation avec la présence d'une barrière géographique aux alentours de 15°S, due à la présence de la microplaque de Bauer, il y a 6 à 8,2 Ma. Cet événement de vicariance aurait été suivi d'une expansion vers le nord du clade sud, expliquant la présence actuelle en sympatrie des deux espèces à 9°50'N. Le clade sud étant associé aux moulières et celui du nord aux bouquets du siboglinidé *Riftia pachyptila*, la spéciation a probablement été renforcée par une spécialisation pour l'habitat. Des données très préliminaires acquises sur d'autres espèces de gastéropodes

(*Gorgoleptis emarginatus* et *Pachydermia laevis*) renforcent néanmoins l'hypothèse d'un point de rupture phylogéographique aux alentours de 15°S.

Les données obtenues sur les séquences mitochondriales du gène de la COI suggèrent que les populations de chaque espèce sont en expansion depuis la spéciation. Les excès en hétérozygotes observés dans les fréquences alléliques pour le clade sud (17°S) sont caractéristiques de populations ayant subi un goulot d'étranglement récent, résultant probablement d'évènements d'extinction massive de sites dans la région d'étude. Une analyse plus fine de la structure génétique à méso-échelle des deux espèces de *Lepetodrilus elevatus* apparaît pourtant nécessaire pour déterminer l'importance relative des mécanismes de dispersion et des phénomènes d'extinction-recolonisation sur la distribution spatiale de la diversité génétique.

CHAPITRE 2

**Biodiversité des communautés
macrobenthiques associées aux moulières du
sud de la dorsale du Pacifique oriental
(SEPR)**



CHAPITRE 2

Biodiversité des communautés macrobenthiques associées aux moulières du sud de la dorsale du Pacifique oriental (SEPR)

2.1. Introduction

Alors que la structure des communautés à l'échelle d'un site a été largement étudiée en relation avec le gradient environnemental physico-chimique (Sarrazin *et al.* 1997, Shank *et al.* 1998, Sarrazin & Juniper 1999), les questions relevant de la distribution de la biodiversité à grande échelle et de la biogéographie des espèces ont souvent été appréhendées à partir de listes régionales d'espèces (Jollivet 1996, Tunnicliffe & Fowler 1996, Desbruyères *et al.* 2006a), en comparant des écosystèmes largement éloignés géographiquement (Van Dover & Doerries 2005, Van Dover 2003) ou présentant des caractéristiques environnementales très différentes (i.e. sources hydrothermales, suintements froids, sites intertidaux) (Turnipseed *et al.* 2003, Turnipseed *et al.* 2004, Van Dover & Trask 2000). Peu d'études se sont intéressées à l'évolution de la biodiversité le long d'un gradient latitudinal à partir d'un échantillonnage discret en différents points séparés de quelques kilomètres à des milliers de kilomètres. Tsurimi (2003) et Tsurimi & Tunnicliffe (2003) ont été les premières à avoir considéré la biodiversité associée aux sites hydrothermaux à l'échelle d'une dorsale, dans le but de comparer la diversité régionale à la diversité locale. Sur l'exemple des peuplements des colonies de siboglinidés du NE Pacifique, ces auteurs ont montré que (1) la diversité locale associée à différents segments de la dorsale de Juan de Fuca était corrélée à la diversité régionale, et que (2) la structure des communautés était variable en fonction des segments de la dorsale sans que les mécanismes responsables de ce schéma soient clairement explicités (complexité de l'habitat, âge des sites, taille des sites).

La partie sud de la dorsale du Pacifique oriental, avec un taux d'accrétion qui peut être supérieur à 150 mm.an^{-1} , est l'une des dorsales les plus rapides au monde (Naar & Hey 1989), et se caractérise généralement par une forte instabilité de l'activité hydrothermale associée à des événements volcaniques récents (Auzende *et al.* 1994, Fouquet *et al.* 1994, Embley *et al.* 1998). De part ces caractéristiques géodynamiques, elle a ainsi fait l'objet de nombreuses études de la part des géologues à des échelles spatiales variables, régionales ou locales (Renard *et al.* 1985, Fouquet *et al.* 1994, Fujioka *et al.* 1995, Cormier *et al.* 1996, Embley *et al.* 1998). A l'inverse, la composition des communautés macrobenthiques associées aux habitats hydrothermaux de cette partie de dorsale demeure mal connue. Les premières

données recueillies en 1993 entre 17°S et 19°S suggèrent l'existence d'une mégafaune comparable en terme de composition faunistique à celle connue à 9°50'-13°N mais une structure des peuplements fort différente : bouquets de *Riftia pachyptila* de taille restreinte, extension considérable des moulières à *Bathymodiolus thermophilus*, immenses champs de cirripèdes pédonculés et d'anémones (Geistdoerfer *et al.* 1995). A 7°25'S, les observations préliminaires de Halanych *et al.* (1999) tendent au contraire à indiquer une macrofaune relativement comparable à celle déjà observée dans le nord, les différences constatées pouvant être reliées uniquement à des stades différents de l'évolution des communautés. Seule une identification au niveau générique a toutefois été utilisée par ces auteurs. A partir d'échantillons quantitatifs réalisés au sein de moulières à 9°50'N, 17°25'S et 18°36'S, Van Dover (2002, 2003) a proposé pour sa part que la dorsale du Pacifique oriental constituait une unique province biogéographique, les principales différences résidant dans les abondances relatives des espèces dominantes les plus communes et dans la présence ou non de certaines espèces rares. Cependant, dans un milieu océanique caractérisé par une forte connectivité, l'emploi du terme 'province biogéographique' semble délicat et il peut être plus pertinent de considérer la diversité régionale comme la résultante du chevauchement des aires de distribution des espèces en fonction de facteurs abiotiques, biotiques et historiques (voir Levin *et al.* 2001).

A l'inverse de ces premières observations, l'essor récent des techniques moléculaires a permis la mise en évidence de ruptures phylogéographiques entre les populations de plusieurs espèces le long de la dorsale du Pacifique oriental, suggérant la présence de barrières géographiques plus ou moins perméables selon les taxons, entre l'Equateur et la microplaque de l'île de Pâques (Won *et al.* 2003, Hurtado *et al.* 2004, Matabos *et al.* 2008). Ces barrières géographiques, topographiques ou hydrodynamiques, à l'origine d'interruption du flux de gènes, peuvent conduire à la présence d'espèces cryptiques. Par ailleurs, des observations récentes sur les assemblages faunistiques entre 17°24'S et 23°S rapportent la présence d'espèces caractéristiques des bassins arrière-arc du Pacifique ouest, tels que les cirripèdes *Eochionelasmus* aff. *fijiensis* et le polychète *Thermiphione* aff. *fijiensis*, de la dorsale Antarctique Pacifique, tel que le gastéropode *Eosopha auzendei*, ou de la dorsale médio-atlantique telle que des crevettes du genre *Chorocaris* (Jollivet *et al.* 2004). De telles observations ont ainsi suggéré que la portion sud de la dorsale du Pacifique oriental pourrait constituer une zone de transition entre la faune de l'EPR Nord (NEPR), et des bassins arrière-arc du Pacifique, voire de l'Atlantique (Jollivet *et al.* 2004).

En parallèle à ces considérations d'ordre biogéographique, d'autres facteurs peuvent influencer la distribution de la biodiversité à l'échelle de la dorsale EPR sud. Si le sud de la dorsale du Pacifique oriental est une dorsale dite ultra-rapide avec un taux de renouvellement des sites hydrothermaux plus rapides qu'au nord, ce taux varie fortement d'un segment de dorsale à un autre de sorte que cette partie de la dorsale constitue un ensemble de secteurs présentant des morphologies très variées en fonction du degré d'évolution des processus d'accrétion (Auzende *et al.* 1994, Fouquet *et al.* 1994). Certaines régions, à taux de renouvellement rapide, vont présenter des faciès en dôme avec des lacs de laves lobées ou drapées, résultat d'un volcanisme effusif plus ou moins récent, alors que d'autres, plus stables, vont montrer des faciès à large graben axial présentant de nombreuses failles et fissures (Renard *et al.* 1985, Auzende *et al.* 1994). Ces caractéristiques géodynamiques affectent fortement le taux d'extinction et recolonisation des habitats, et vraisemblablement la structure des communautés benthiques. Des hypothèses contradictoires ont ainsi été proposées pour rendre compte de l'impact de l'instabilité sur la biodiversité. Tout d'abord, dans un milieu instable, les taux d'extinction et recolonisation élevés en réponse à des éruptions effusives fréquentes font que les communautés ont peu de chance de se développer sur le long terme et d'atteindre un degré de maturité avancé : ceci devrait se traduire par une faible diversité dans les paysages géodynamiques les plus instables (Juniper & Tunnicliffe 1997). A l'inverse la diversité pourrait être plus élevée dans les zones fortement instables dans la mesure où les sites hydrothermaux sont plus proches les uns des autres (Turnipseed *et al.* 2003, Van Dover & Dories 2005). En dépit d'une durée de vie plus courte des sites, leur proximité limiterait les risques d'extinction locale des espèces grâce aux processus de dispersion à méso-échelle qui facilite les mécanismes de recolonisation. Ce point soulève donc également l'importance de la taille des champs hydrothermaux et donc de la compréhension de la dynamique des métapopulations sur la diversité (Neubert *et al.* 2006). Enfin, les zones étendues comprenant un nombre plus important de micro-habitats (Rosenzweig 1995), des champs de grande taille devraient posséder une diversité plus élevée (Tsurimi & Tunnicliffe 2003).

La variabilité de la biodiversité peut également résulter de processus strictement locaux. A l'échelle d'un site, les variations spatiales du flux hydrothermal ou l'hétérogénéité de l'environnement génèrent autant de micro-habitats qui influencent la distribution des organismes (Sarrazin & Juniper 1999, Tsurimi & Tunnicliffe 2003, Mills *et al.* 2007). Entre sites voisins, la diversité évolue en fonction de l'âge du site en réponse à la diminution ou à l'intensification du flux hydrothermal qui gouverne la dynamique successionale des

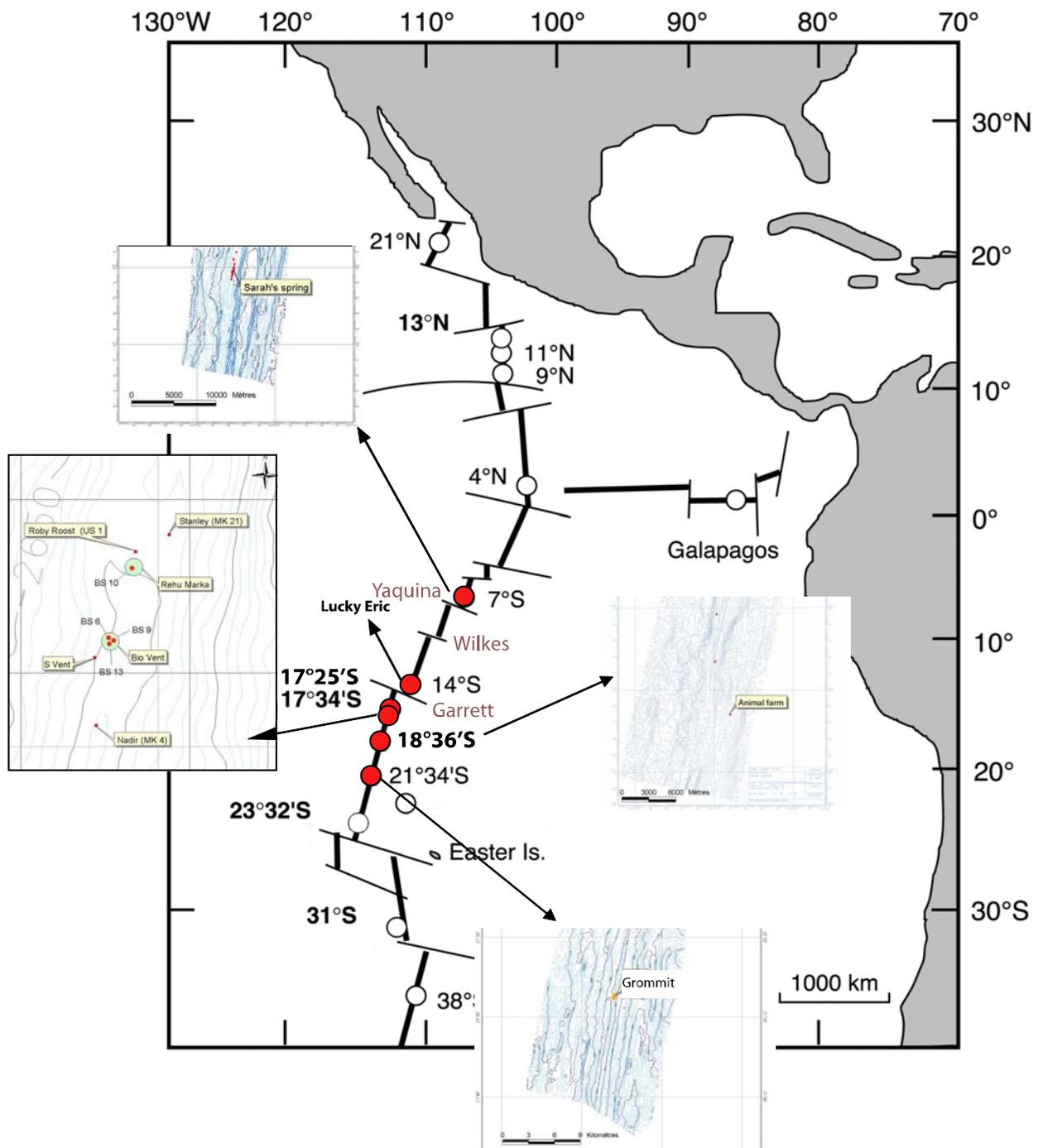


Figure 2.1. Localisation des sites d'études à 7°S, 14°S, 17°25'S, 17°34'S, 18°36'S et 21°33'S le long de la dorsale du Pacifique oriental sud (SEPR).

communautés (Shank *et al.* 1998, Sarrazin & Juniper 1999, Mullineaux *et al.* 2000). Concernant les moulières de la dorsale du Pacifique oriental, il a été montré que la richesse spécifique et l'abondance des invertébrés variaient en fonction de la productivité des sites : elles étaient plus faibles dans les sites caractérisés par une diminution du flux hydrothermal que dans les sites présentant une forte activité hydrothermale (Van Dover 2003, Dreyer *et al.* 2005).

La structure des peuplements et la distribution de la biodiversité sont souvent le résultat de l'influence d'un ensemble de facteurs biotiques et abiotiques et de processus écologiques agissant à différentes échelles spatiales et temporelles (Levin *et al.* 2001, Neubert *et al.* 2006). La mission océanographique BIOSPEEDO qui s'est déroulée en avril-mai 2004, le long de la dorsale du Pacifique oriental sud, entre 7°S et 21°S, avait pour objectifs majeurs (1) de décrire la distribution latitudinale des composantes de la biodiversité des communautés hydrothermales, et (2) de comprendre la part relative des phénomènes historiques et écologiques (habitat et interactions biologiques) dans la mise en place de cette biodiversité. Dans ce contexte, le présent chapitre s'appuie sur le dépouillement de prélèvements macrobenthiques réalisés dans 10 moulières appartenant à 6 champs hydrothermaux : 7°25'S, 14°S, 17°25'S, 17°34'S, 18°36'S et 21°33'S. Dans un premier temps, il s'agira de fournir une description de la distribution de la biodiversité de la macrofaune le long du gradient latitudinal. Dans un second temps, un certain nombre d'hypothèses seront testées afin de tenter de déterminer la part relative des facteurs régionaux et locaux sur les patrons observés : (1) existe-t-il une évolution à grande échelle de la diversité en relation avec des barrières à la dispersion ? autrement dit, la dorsale du Pacifique oriental constitue-t-elle une seule entité biogéographique ? ; (2) les facteurs géodynamiques modulant le degré de stabilité des sites à une échelle intermédiaire (10-100km) sont-ils déterminants ? et (3) quel est l'impact des facteurs locaux, telles que la succession dynamique des communautés ou la structure des sites, à petite échelle (< 1km) ?

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1. Echantillonnage et traitement des échantillons

Les échantillons dont les caractéristiques sont présentées dans le Tableau 2.1 ont été récoltés le long de la dorsale Sud Est Pacifique lors de la campagne océanographique BIOSPEEDO. Dix moulières à *Bathymodiolus thermophilus* ont ainsi été échantillonnées au niveau de 6 champs hydrothermaux répartis entre 7°24'S et 21°33'S (Figure 2.1) à l'aide de la

Tableau 2.1. Caractéristiques des échantillons prélevés au niveau des moulrières de la dorsale du Pacifique oriental sud (SEPR).

Champs	Sites	Latitude	Longitude	Plongée	Date	Nb de moulles	Gamme de taille des moulles (mm)	Proportion de juvéniles (%)	Surface échantillonnée (cm ²)	Nb total individus de la macrofaune	Densité de la macrofaune (ind.m ⁻²)
7°25'S	Sarah's Spring	7°25,2445'S	107°47,6386'W	1574	10/04/2004	46	0-80	9	687,16	167	2431
14°S	Lucky Eric	13°59,2093'S	112°28,9559'W	1592	04/05/2004	84	0-170	39	3580,79	412	1150
17°25'S	Oasis BS6	17°25,3843'S	113°12,2893'W	1579	19/04/2004	147	0-170	3	11080,64	2224	2010
	Oasis BS13	17°25,4200'S	113°12,2800'W	1590	01/05/2004	46	0-200	4	8438,41	3165	3749
	Rehu Marka BS10	17°24,9787'S	113°12,1369'W	1590	01/05/2004	91	0-160	2	13621,75	1047	765
17°34'S	Susie	17°35,4718'S	113°14,8252'W	1588	29/04/2004	607	0-170	69	9887,67	1760	1779
18°36'S	Animal Farm	18°36,6966'S	113°24,0482'W	1585	26/04/2004	379	0-130	56	8735,32	1889	2162
21°33'S	Grommit	21°33,6695'S	114°17,9049'W	1575	14/04/2004	238	10-120	0	15326,45	955	623
	Grommit	21°33,6648'S	114°17,9814'W	1577	16/04/2004	76	20-120	0	4823,1	360	745
	Grommit	21°33,6848'S	114°17,9808'W	1578	17/04/2004	430	0-120	9	11352,97	957	844

pince hydraulique du Nautille (Ifremer). Chaque prélèvement correspond à la récolte de moules et de leur faune associée dans un espace restreint. Au regard des données des campagnes précédentes, trois champs (7°25'S, 17°25'S et 18°36'S) étaient supposés présenter une activité hydrothermale principalement liée au volcanisme effusif, avec de larges zone de diffusion, alors que les trois autres champs (14°S, 17°34'S et 21°33'S) devaient plutôt être associés à une activité hydrothermale sous contrôle tectonique (Jollivet *et al.* 2004).

La macrofaune, issue du lavage des moules, a été tamisée sur une maille circulaire de 1mm, triée de manière grossière à bord, et fixée, soit à l'éthanol 96 %, soit au formol salé 10% neutralisé au tétraborate de sodium. Au laboratoire, chaque taxon a ensuite été identifié au niveau taxonomique le plus bas, l'espèce si possible, et compté. Les gastéropodes ont été identifiés en partie en collaboration avec le Dr Anders Warén (Department of Invertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, Stockholm). L'identification des polychètes a été réalisée par le Dr Daniel Desbruyères (IFREMER, Brest) et le Dr Stéphane Hourdez (Station Biologique de Roscoff) et les données ont été gracieusement mises à ma disposition. Les informations concernant les échinodermes récoltés lors de Biospeedo étaient disponibles dans Stöhr & Segonzac (2006). Seuls les gastéropodes, les polychètes et les échinodermes ont été considérés dans le cadre de cette analyse dans la mesure où l'épifaune mobile (amphipodes, crustacés décapodes) était incorrectement récoltée par la technique d'échantillonnage mise en oeuvre : l'utilisation de la pince du Nautille entraîne inévitablement une perte d'individus qui est d'autant plus importante que les organismes présentent de fortes capacités de déplacement.

La longueur antéro-postérieure de toutes les moules récoltées a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse avec une précision de 0,1 mm (Figure 2.2)⁴. Pour chaque échantillon, une distribution de fréquence de taille a alors été construite ; l'intervalle de classe a été fixée à 10mm afin de respecter les 3 critères suivants (Jollivet *et al.* 2000) : (1) la majorité des classes de taille doit contenir au moins 5 individus ; (2) le nombre de classes vides adjacentes doit être minimisé ; (3) l'intervalle de classe de taille doit être bien plus grand que l'erreur de mesure. Les distributions en fréquences de taille ont été comparées pour chaque paire d'échantillon à l'aide d'un test de conformité du χ^2 . Les individus ont été classés arbitrairement comme des juvéniles lorsque leur taille était inférieure à 10 mm (i.e. première classe de taille des histogrammes).

⁴ Une partie des mesures m'ont été fournies par F. Viard, T. Comtet et C. Daguin-Thiébaud (Station Biologique de Roscoff).

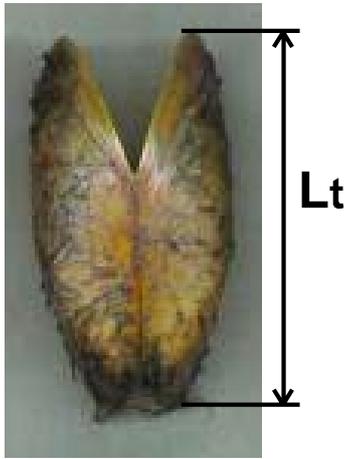


Figure 2.2. Mesure de la longueur antéro-postérieure (Lt) chez *Bathymodiolus thermophilus*.

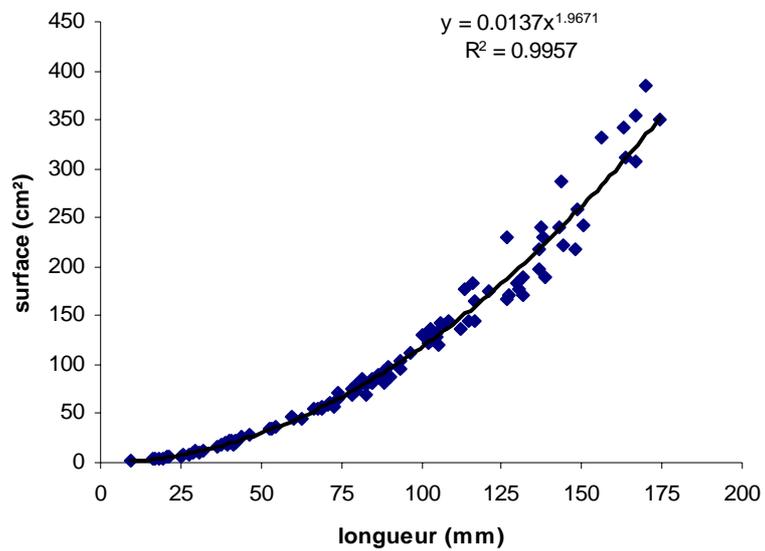


Figure 2.3. Relation entre la longueur antéro-postérieure de la coquille et sa surface chez *Bathymodiolus thermophilus*. La relation a été calculée à partir de 106 moules.

Un problème central dans les études écologiques des communautés hydrothermales concerne la nature de l'échantillonnage. En effet, la difficulté d'accès du milieu et l'hétérogénéité du substrat dur à micro-échelle rendent difficile l'obtention d'échantillons quantitatifs même si de nouveaux échantillonneurs ont été récemment développés (Van Dover & Trask 2000, Govenar *et al.* 2005). Or, de tels échantillons sont le plus souvent nécessaires dans un but de comparaison entre échantillons, de mesures de la diversité ou pour la réalisation d'analyses statistiques uni- et multivariées. Sachant que les organismes analysés dans ce chapitre sont étroitement associés à l'habitat que représentent les moulières, les échantillons ont été rendus 'quantitatifs' en évaluant la surface de l'ensemble des moules récoltées.

La surface individuelle d'une moule a été estimée en calculant la relation entre la surface d'une feuille d'aluminium nécessaire pour recouvrir la totalité de la surface extérieure de la coquille et la longueur de celle-ci. Un lot de 106 moules couvrant un spectre de taille représentatif a été sélectionné pour établir cette relation. Pour chaque moule, la longueur antéro-postérieure de la coquille a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse, puis la coquille a été recouverte de papier aluminium de densité connue ($0,0035 \text{ g.cm}^{-2}$) en prenant bien soin d'éviter les zones de superposition ; la quantité d'aluminium nécessaire pour recouvrir les deux valves a été pesée puis convertie en surface. La relation longueur-surface ainsi établie suit une relation de puissance tel que (Figure 2.3) :

$$S = 0,0137 L^{1,9671} \quad (R^2 = 0,996 ; n = 106 ; p = 0,000)$$

avec S, la surface de la coquille et L, la longueur antéro-postérieure de la coquille.

La longueur des moules de chaque échantillon ayant été mesurée, la surface correspondante a été calculée puis additionnée afin d'obtenir la surface totale de chaque prélèvement.

2.2.2. Analyse des données

Diversité et composition faunistique

Les abondances ont préalablement été exprimées en densités d'individus par m^2 à partir de l'estimation de la surface échantillonnée pour chaque prélèvement.

A partir de la matrice espèces-stations, différents indices de diversité spécifique ont alors été calculés : la richesse spécifique (S) qui correspond au nombre d'espèces total dans chaque échantillon, l'indice de diversité de Shannon (H'), l'indice de diversité de Simpson (λ), l'indice de régularité Pielou (J') et l'indice de raréfaction de Sanders $ES_{(N)}$.

Les indices de diversité de Shannon et de Simpson rendent compte à la fois du nombre d'espèces et de leur distribution relative, et ont été calculés selon les formules suivantes :

$$H' = - \sum_{i=1}^{i=S} p_i (\log_2 p_i)$$

$$\lambda = \sum_{i=1}^{i=S} p_i^2$$

avec p_i , la proportion de l'espèce i dans l'échantillon, S , le nombre d'espèces dans l'échantillon ; $p_i = n_i/N$ avec N , le nombre total d'individus dans l'échantillon et n_i , le nombre d'individus de l'espèce i .

L'indice de Shannon H' est compris entre 0, lorsque tous les individus appartiennent à la même espèce, et un nombre positif plus ou moins grand lorsque les individus sont répartis entre différentes espèces. Pour une richesse spécifique donnée, H' croît lorsque la régularité augmente. L'indice de Simpson varie entre 0, pour une richesse spécifique infinie et une régularité parfaite, et 1 lorsqu'une seule espèce est présente.

L'indice de Pielou mesure la régularité ou l'équitabilité des espèces (i.e. leur distribution relative au sein de l'échantillon) selon la formule suivante :

$$J' = \frac{H'}{\log_2 S}$$

Le $\log_2 S$ correspond à la diversité maximale d'un échantillon, c'est-à-dire à la diversité d'un échantillon composé d'espèces toutes présentes dans les mêmes proportions.

Ces différents indices de diversité ont pour défaut majeur d'être fortement dépendants de la taille des échantillons (nombre d'individus dans le prélèvement), et donc d'être sensibles à un effort d'échantillonnage variable ce qui est le cas dans notre analyse (Gray 2000, Warwick & Clarke 2001). Afin de pallier cette limitation, l'indice de raréfaction de Sanders $ES_{(n')}$ modifié par Hurlbert (1971) a été calculé. Il permet d'estimer le nombre attendu d'espèces q' dans un échantillon de taille normalisée n' à partir du ré-échantillonnage d'un échantillon réel contenant q espèces parmi n individus. La taille de l'échantillon normalisé a été fixée au plus petit effectif obtenu dans nos échantillons, soit 600 individus par m^2 . La formulation de l'indice de raréfaction de Sanders est :

$$ES(n') = \sum_{i=1}^{i=q} \left[1 - \frac{\frac{(n - n_i)!}{n!((n - n_i) - n')!}}{\frac{n!}{n!(n - n')!}} \right]$$

avec q, le nombre réel d'espèces, n, la taille réelle de l'échantillon, n_i , l'abondance réelle de l'espèce i, n' , la taille de l'échantillon standardisé.

Elle repose sur deux hypothèses qui sont :

- les échantillons récoltés sont homogènes et possèdent la même distribution relative des abondances des espèces ;
- les espèces sont distribuées au hasard dans l'espace.

En raison du caractère agrégatif de la distribution de la plupart des organismes, ces hypothèses sont rarement vérifiées de sorte que cette méthode tend à sous-estimer ou à surestimer la richesse spécifique en fonction du degré de dominance des espèces (Gray 2000).

Les différents indices de diversité calculés précédemment ne prennent pas en considération les liens de parenté entre les espèces. Or, un assemblage faunistique comprenant un groupe d'espèces très proches peut être considéré comme moins diversifié qu'un assemblage possédant le même nombre d'espèces mais plus éloignées d'un point de vue phylogénétique (Warwick & Clarke 1995). Pour prendre en considération cette autre dimension de la diversité, des indices basés sur les relations taxonomiques entre espèces ont été calculés à partir des données de présence/absence (Warwick & Clarke 2001). Ils mesurent les caractéristiques et la complexité des relations taxonomiques entre les espèces d'un assemblage faunistique.

Un premier indice, la diversité taxonomique moyenne Δ^+ ('Average Taxonomic Distinctness') mesure la distance moyenne qui sépare dans l'arbre taxonomique chaque paire d'espèces prises au hasard (Figure 2.4). Il se calcule selon la formule suivante (Warwick & Clarke 2001) :

$$\Delta^+ = \frac{\left[\sum \sum_{i < j} \omega_{ij} \right]}{\left[s(s-1)/2 \right]}$$

où s est le nombre d'espèces présentes dans l'échantillon et ω_{ij} le poids donné à la distance entre les espèces i et j dans la classification phylogénétique.

La valeur de ω_{ij} a été fixée selon les critères suivants (Clarke & Warwick 1999) :

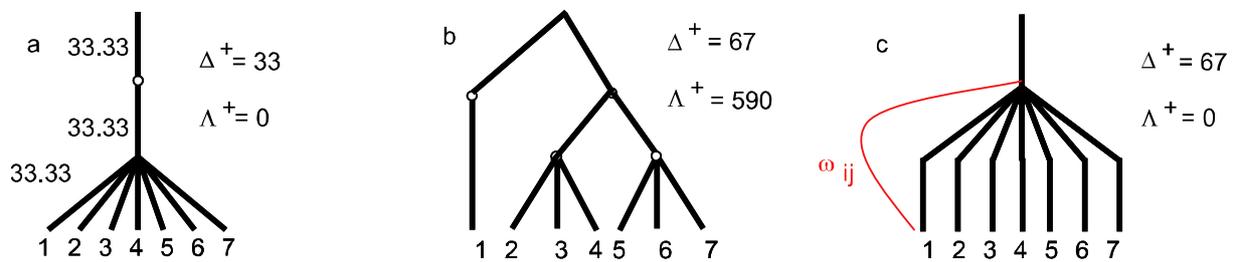


Figure 2.4. Exemples d'arbres taxonomiques illustrant la classification possible de 7 espèces en différents niveaux hiérarchiques successifs (espèce, genre, famille, ordre) et le calcul des indices de diversité taxonomique associés. Les valeurs de l'« Average Taxonomic Distinctness » (Δ^+) et de la « Variation in Taxonomic Distinctness » (Λ^+) ont été calculées pour chacune des configurations. Les configurations a et c ont la même topologie mais des chemins plus longs et donc des valeurs de Δ^+ différentes. Les configurations b et c ont la même valeur de Δ^+ , mais la topologie b est plus complexe ce qui se traduit par une valeur de Λ^+ plus élevée. Sur cet exemple, le poids ω_{ij} reliant deux niveaux hiérarchiques successifs a été fixé à 33,33.

- la distance entre deux espèces reliées au niveau taxonomique le plus élevé (i.e. appartenant à 2 classes différentes) est égale à 100 ;
- cinq niveaux taxonomiques sont pris en compte : l'espèce, le genre, la famille, l'ordre et la classe ;
- les distances entre niveaux taxonomiques sont comparables, soit $100/5 = 20$.

Ainsi, la distance entre 2 espèces différentes appartenant au même genre est égale à 20, la distance entre deux espèces de genres différents mais de même famille est égale à 40, etc....

Cet indice ne suffit pas à décrire toute la complexité des relations taxonomiques existantes entre les différentes espèces d'un même échantillon. Ainsi, deux arbres présentant une typologie différente peuvent posséder la même valeur de Δ^+ (Figure 2.4). Pour cette raison, un second indice, la variance de la diversité taxonomique Λ^+ ('Variation in Taxonomic Distinctness'), a été calculé. Il s'agit d'une mesure de la régularité de la distribution des taxons à travers l'arbre phylogénétique qui permet de déterminer si certains taxons de niveaux supérieurs (famille, ordre) sont sur- ou sous-représentés en nombre d'espèces (Warwick & Clarke 2001). La variation de la diversité taxonomique est définie par :

$$\Lambda^+ = \left[\frac{\sum \sum_{i < j} \omega_{ij}^2}{s(s-1)/2} \right] - \bar{\omega}^2$$

où s est le nombre d'espèces présentes dans l'échantillon, ω_{ij} le poids donné à la distance entre les espèces i et j dans la classification phylogénétique et $\bar{\omega}$ la valeur moyenne des distances entre chaque paire d'espèces :

$$\bar{\omega} = \frac{\sum \sum_{i < j} \omega_{ij}}{s(s-1)/2} \equiv \Delta^+$$

Ces indices de diversité taxonomique sont relativement indépendants de l'effort d'échantillonnage (Warwick & Clarke, 2001). Par ailleurs, ils présentent également l'avantage de pouvoir être testés statistiquement afin de détecter un écart entre les valeurs observées de Δ^+ et Λ^+ et des valeurs attendues (Clarke & Warwick, 1998). Ces valeurs attendues pour des échantillons théoriques de m espèces sont calculées à partir de 1000 sous-échantillonnages d'une liste régionale d'espèces. De telles simulations par permutation sont utilisées pour établir un intervalle de confiance en forme d'entonnoir des valeurs de Δ^+ et Λ^+ en fonction de m qui englobent 95 % des valeurs attendues. La comparaison entre les valeurs observées et l'intervalle de confiance ainsi établi permet de déterminer si le pool local d'espèces diffère significativement du pool régional d'espèces. L'existence de différences significatives

suggère que des processus locaux (hétérogénéité de l'habitat, perturbation, biais dans l'échantillonnage) gouvernent la richesse spécifique locale indépendamment du pool régional d'espèces (Clarke & Warwick 1998).

Afin de comparer la diversité locale et régionale, il est important que la liste régionale des espèces ne soit pas issue uniquement d'une compilation des données acquises dans différentes localités lors d'une étude ponctuelle : ceci risquerait d'induire une corrélation biaisée (Hawksworth & Kalin-Arroyo 1995). Aussi, le pool régional d'espèces a été défini à partir de la liste des espèces obtenue dans cette étude mais aussi des listes des espèces déjà récoltées au niveau des moulières du sud de la dorsale du Pacifique oriental (Van Dover 2002, 2003). Les espèces de l'épifaune mobile et de la méiofaune ont été exclues des listes de Van Dover (2002, 2003).

La diversité a également été considérée d'un point de vue fonctionnel. Pour cela, la complexité des interactions trophiques a été estimée en établissant le régime alimentaire des espèces d'après Desbruyères *et al.* (1998, 2006b), Fauchald & Jumars (1979), Fretter (1988, 1989), Fretter *et al.* (1981), Haszprunar (1989), Rouse & Pleijel (2001), Stöhr & Ségonzac (2006), Sysoev & Kantor (1995), Turnipseed *et al.* (2004), Tyler *et al.* (1995), Van Dover (2000), Ward *et al.* (2003) et Warén & Bouchet (1989, 2001). Lorsque l'information n'était pas disponible pour une espèce, le régime alimentaire d'une autre espèce du même genre ou de la même famille a été retenu. Sept groupes trophiques majeurs ont été ainsi identifiés : les organismes symbiotiques, les brouteurs, les suspensivores, les mixtes, les déposivores, les carnivores/nécrophages et les omnivores.

Analyses multivariées

Dans un premier temps, les analyses multivariées ont été effectuées sur les données exprimées en présence-absence, transformation qui, en donnant un poids équivalent à toutes les espèces, est la mieux adaptée pour traiter des questions de biogéographie (Desbruyères *et al.* 2000, Desbruyères *et al.* 2006a). Difficilement identifiables au niveau de l'espèce, les juvéniles ont été retirés des analyses à l'exception de ceux du gastéropode *Laeviphitus* sp. qui n'était pas représenté par des adultes. De même, la polychète *Branchipolynoe symmytilida*, espèce commensale présente dans la cavité palléale de *Bathymodiolus thermophilus*, a été exclue car elle n'appartient pas à la faune colonisant exclusivement la surface des moules.

Un dendrogramme a été construit à partir d'une matrice triangulaire de similarité établie d'après le tableau de contingence espèces-stations. La similarité entre stations a été calculée à l'aide du coefficient de similarité de Bray-Curtis S_{jk} (Clarke & Warwick 2001) :

$$S_{jk} = 100 \cdot \left(1 - \frac{\sum_{i=1}^{i=p} |y_{ij} - y_{ik}|}{\sum_{i=1}^{i=p} (y_{ij} + y_{ik})} \right)$$

Avec y_{ij} l'abondance de la $i^{\text{ème}}$ espèce dans la $j^{\text{ème}}$ station et y_{ik} l'abondance de la $i^{\text{ème}}$ espèce dans la $k^{\text{ème}}$ station.

S_{jk} varie entre 0, si les deux stations j et k n'ont aucune espèce en commun, et 100, si les deux stations ont strictement la même composition faunistique.

Une analyse non-paramétrique de similarité a été utilisée afin de détecter des différences significatives entre des groupes d'échantillons définis *a priori* grâce à la subroutine ANOSIM (ANalysis Of SIMilarities) du logiciel PRIMER v5 (Clarke & Warwick 2001). Les groupes ont été déterminés en fonction de nos hypothèses de travail initiales :

- (1) L'environnement géodynamique influence la stabilité des édifices hydrothermaux et la structure des communautés benthiques ; ceci amène ainsi à opposer les sites avec une activité hydrothermale liée à du volcanisme effusif ($7^{\circ}25'S$, $17^{\circ}25'S$ et $18^{\circ}36'S$) et ceux avec une activité hydrothermale sous contrôle tectonique ($14^{\circ}S$, $17^{\circ}34'S$ et $21^{\circ}33'S$) ;
- (2) La structure des communautés évolue le long d'un gradient latitudinal en relation avec la présence de barrières à la dispersion (faille transformante de Garret, microplaque temporaire de Bauer). Selon cette hypothèse, le regroupement testé est le suivant : $7^{\circ}25'S$ - $14^{\circ}S$ vs. $17^{\circ}25'S$ - $21^{\circ}33'S$.

Cette analyse est basée sur la statistique R tel que :

$$R = \frac{(\bar{r}_B - \bar{r}_W)}{n(n-1)/4}$$

avec, n , le nombre total d'échantillons, \bar{r}_B , le rang moyen des coefficients de similarité entre les échantillons d'un groupe et \bar{r}_W , le rang moyen des coefficients de similarité entre toutes les paires d'échantillons de groupes différents.

R est proche de 0 si les similarités entre stations au sein d'un groupe sont comparables aux similarités entre stations de groupes différents. R est égal à 1 si toutes les similarités des stations au sein d'un groupe sont plus fortes que les similarités des stations entre les groupes.

Afin de tester la significativité de la valeur calculée du R, celle-ci est comparée à une distribution théorique générée après permutations aléatoires des échantillons dans les différents groupes (Clarke & Warwick 2001).

Dans un second temps, une analyse factorielle des correspondances (AFC) a été effectuée sur les densités (ind.m^{-2}) après transformation $\log(X+1)$ des données (Legendre & Legendre, 1998). Cette transformation permet de donner moins de poids aux espèces abondantes par rapport aux espèces rares.

2.3. Résultats

2.3.1. Description des sites

La description générale des sites et des zones d'échantillonnage a été établie en s'appuyant sur Jollivet *et al.* (2004) et l'examen des vidéos réalisées lors des différentes plongées sur chaque site.

7°25'S : Sarah's Spring

Décrit en 1999, ce site situé sur une vaste étendue de lave présentait un aspect moribond avec une absence apparente d'activité hydrothermale (Figure 2.5a) bien que quelques fumeurs noirs colonisés par des alvinellidés aient été observés à quelques centaines de mètres dans le sud. La mégafaune visible était pauvre et se limitait exclusivement à quelques moules et des anémones. Les moules constituant notre échantillon ont été prélevées individuellement sous des blocs de basalte.

14°S : Lucky Eric

Le champ hydrothermal de 14°S était essentiellement composé de fumeurs noirs très actifs, associés ou non à des colonies d'alvinellidés, et entourés de quelques coquilles vides de moules. Le site, Lucky Eric, qui a fait l'objet du prélèvement a été découvert lors de la mission Biospedo (Jollivet *et al.* 2004). Il était composé d'une zone de diffusion colonisée par des moules et entourée d'une faune peu dense constituée de serpulidés, d'anémones et de galathées (Figure 2.5b). Le prélèvement a été effectué en divers endroits de la moulière, notamment au creux de blocs de basalte où le flux de diffusion semblait relativement faible. Les moules ont été prélevées individuellement.

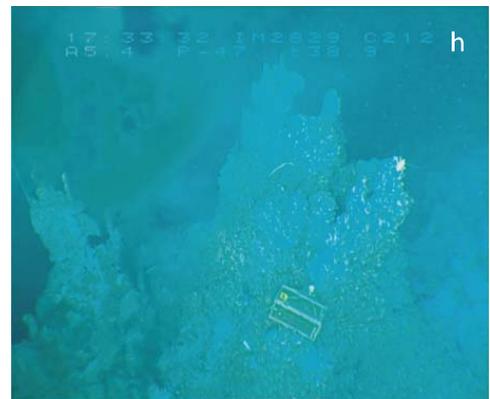
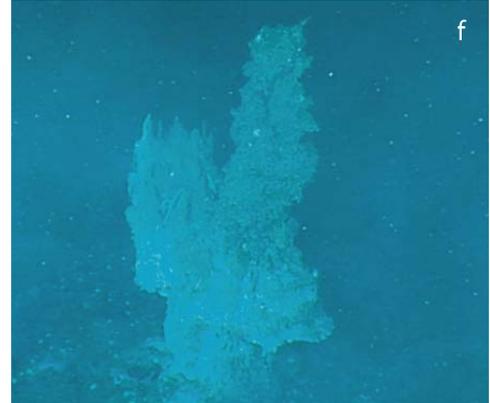
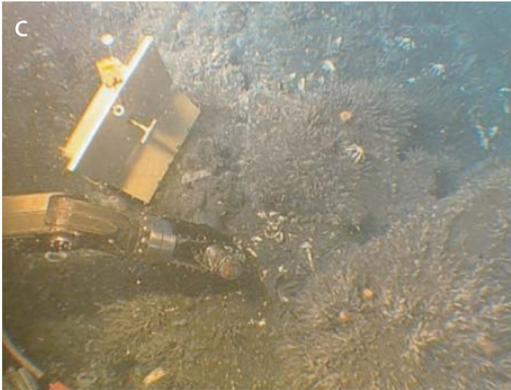


Figure 2.5. Photos des 8 sites échantillonnés sur 6 champs hydrothermaux. a: Sarah' spring (7°25'S); b: Lucky Eric (14°S); c: Rehu Marka - BS10 (17°24'S); d: Oasis - BS6 (17°25'S); e: Oasis BS13 (17°25'S); f: Susie (17°34'S); g: Animal Farm (18°36'S); h: Grommit (21°33'S). © IFREMER.

17°25'S : Oasis - Rehu Marka

Les descriptions effectuées sur cette aire géographique lors de la mission NAUDUR en 1993 (Fouquet *et al.* 1994) ou lors d'une mission japonaise en 1994 (Embley *et al.* 1998) témoignent d'éruptions volcaniques récentes et suggèrent d'importants changements de l'activité hydrothermale par rapport aux observations faites en 1984 (Renard *et al.* 1985). Le champ hydrothermal est alors caractérisé par la présence de cheminées anciennes partiellement ensevelies sous la lave et de zones de diffusion d'eaux moirées non colonisées sur de grandes surfaces de laves dépourvues de sédiments (Fouquet *et al.* 1994, Embley *et al.* 1998). Les zones colonisées présentaient une faune luxuriante constituée de *Neolepas* aff. *rapanuii*, *Bathymodiolus thermophilus*, *Riftia pachyptila* et *Tevnia jerichonana* (Geistdoerfer *et al.* 1995) ; les moulières seraient âgées de 10 à 15 ans (Fouquet *et al.* 1994). Pour sa part, Van Dover (2002) estima l'âge des moulières à 16 ans en 1999. Lors de la campagne BIOSPEEDO, de grandes cheminées actives (fumeurs noirs colonisés par des colonies d'alvinellidés) étaient toujours présentes sur la zone qui semblait néanmoins avoir subi une diminution de l'activité hydrothermale (Jollivet *et al.* 2004). Ainsi, de nombreuses zones de diffusion étaient éteintes et les colonies de siboglinidés extrêmement rares.

Trois zones d'échantillonnage ont été prospectées sur ce champ hydrothermal :

- (1) La zone de prélèvement (BS10) correspondait à une large zone de diffusion colonisée par des modioles, des clams et des cirripèdes du genre *Neolepas* associées à quelques anémones et galathées (Figure 2.5c). Le prélèvement a été effectué en différents points au cœur de la moulière
- (2) La zone de prélèvement *Oasis BS6* était une large zone de diffusion très active abritant une faune relativement dense constituée de massifs de moules, de clams et de nombreux et larges bouquets de cirripèdes (Figure 2.5d). Quelques rares *Riftia pachyptila* de petite taille étaient visibles dans des crevasses formées suite à un effondrement de lave (Jollivet *et al.* 2004). Les prélèvements ont été effectués en deux points différents autour d'une zone d'effondrement, caractérisée par une forte diffusion de fluide hydrothermal autour de laquelle gravitaient des crabes, des galathées et des poissons zoarcidés.
- (3) A l'inverse de la zone précédente, la zone *Oasis BS13* comprenait de gros édifices actifs recouverts de larges colonies de moules (Figure 2.5e). Quelques fumeurs noirs encore actifs abritaient des colonies d'*Alvinella pompejana*. Le prélèvement a été réalisé dans une moulière au milieu de laquelle un bouquet de quelques siboglinidés s'était développé. Il est ainsi important de noter qu'un tube de *Riftia pachyptila*, recouvert de très nombreux

gastéropodes du genre *Lepetodrilus*, a été prélevé simultanément aux moules, biaisant assurément la qualité de l'échantillon.

17°34'S : Susie

Décrit en 1994 comme une aire dépourvue de caractéristiques tectoniques et recouverte de lave récente avec une quasi-absence de sédiment (Embley *et al.* 1998), le site Susie était constitué 10 ans plus tard, lors de la mission BIOSPEEDO, de fumeurs noirs encore actifs partiellement colonisés par des massifs de moules (Figure 2.5f ; Jollivet *et al.* 2004). La faune, très dense, est un enchaînement à petite échelle d'espace de massifs de moules, de bouquets de *Riftia* et de colonies d'*Alvinella* spp. Des crabes, des galathées, des holothuries et des serpulidés sont présents à la périphérie des fumeurs. Le prélèvement a été effectué au pied d'un massif largement colonisé par des modioles. Un tube de *Riftia pachyptila* a également été mélangé au prélèvement, mais contrairement au prélèvement précédent à Oasis BS13, ce tube n'était pas recouvert de gastéropodes.

18°36'S : Animal Farm

La zone présentait lors de la mission NAUDUR en 1993 une faune exubérante associée à une forte activité hydrothermale de type zone de diffusion (Fouquet *et al.* 1994). Van Dover (2002) a estimé l'âge de ce site à 20-30 ans lors d'un échantillonnage effectué en 1999. Lors de la campagne BIOSPEEDO, il était d'apparence moribonde et évoquait un site récemment actif avec la présence de larges cimetières de moules et de clams (Figure 2.5g). Seule une faible zone de diffusion, colonisée par des moules et des clams auxquels étaient associés de nombreux gastéropodes du genre *Eosipho*, des anémones, des crabes et des ophiures, indiquait un reste d'activité hydrothermale. Le prélèvement a ainsi été effectué parmi les moules, au cœur de la zone de diffusion.

21°33'S : Grommit

Découverte lors d'une mission américaine en 1998, le champ hydrothermal 21°33'S présentait une forte activité hydrothermale avec de nombreux fumeurs noirs. Deux types de cheminées étaient présentes : les premières étaient formées par des étroits conduits et étaient colonisées par des essaims de crevettes du genre *Chorocaris* ; les secondes correspondaient à de larges fumeurs noirs et étaient recouverts par des colonies d'alvinelles (Jollivet *et al.* 2004). Sur le site Grommit, de larges massifs de moules étaient présents à la base de quelques fumeurs noirs (Figure 2.5h). La faune associée, principalement des galathées, des crabes, des

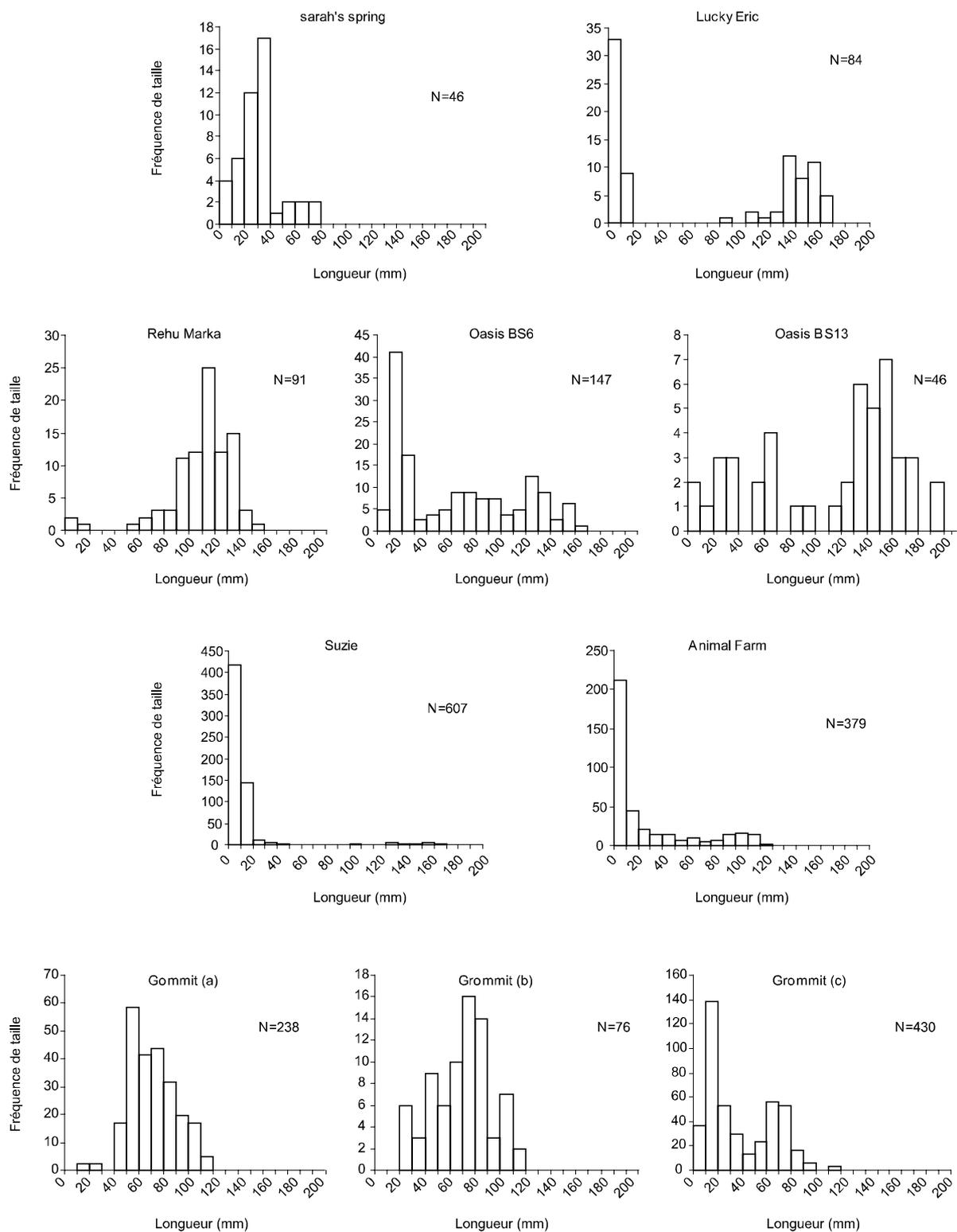


Figure 2.6. Structure démographique de *Bathymodiolus thermophilus* pour les 10 échantillons de moulières.

crevettes et des gastéropodes du genre *Eosipho auzendei*, était très dense autour des massifs de moules. Les différents prélèvements ont été effectués au cœur des moulières, en différents points, lors de 3 plongées distinctes.

2.3.2. Structure démographique de *Bathymodiolus thermophilus*

Le nombre de moules *Bathymodiolus thermophilus* récoltées dans chaque échantillon était très fluctuant et variait entre 46 et 607 individus (Tableau 2.1.) Les longueurs maximales ont été observées au niveau du site Oasis BS13 avec des moules de taille supérieure à 180 mm (Figure 2.6). De nombreuses jeunes recrues ont été échantillonnées à Susie (17°34S) et à Animal Farm (18°36S) avec respectivement 69% et 56% de juvéniles, et dans une moindre mesure à Lucky Eric (14°S) avec 39% de juvéniles (Tableau 2.1).

Les distributions en fréquence de taille des moules étaient ainsi très hétérogènes et significativement différentes les unes des autres (χ^2 de conformité; $p < 0,01$), aussi bien entre prélèvements voisins au sein d'un même champ hydrothermal (17°25'S et 21°33'S) qu'entre prélèvements distants de plusieurs centaines de km entre champs (Figure 2.6). Les sites Lucky Eric et Susie sont caractérisés par la présence de deux groupes de taille de moules : un premier groupe composé d'individus de grande taille comprises entre 80 mm et 170 mm, et un deuxième groupe composé de jeunes individus de taille inférieure à 20 mm. Les moulières échantillonnées au niveau des sites Sarah's Spring et Animal Farm sont caractérisées par des individus de taille relativement faible : la taille maximale n'excède pas 120 mm et la majorité des individus ont une taille inférieure à 40 mm. Les moulières échantillonnées au niveau de 17°25'S (Oasis BS6, Oasis BS13 et Rehu Marka) possèdent des moules couvrant une large gamme de taille, comprise entre 1 et 160 mm à Oasis BS6 et Rehu Marka, et entre 1 et 190 mm à Oasis BS13. L'importance relative des différentes classes de taille est toutefois extrêmement variable entre les échantillons. Un schéma comparable est observé à 21°33'S même si la gamme de taille générale des moules est plus restreinte, entre 1 et 120 mm.

Le cas des sites Sarah's Spring et Animal Farm est fort surprenant. Alors que la quasi-absence d'activité hydrothermale dans ces zones aurait plutôt suggéré l'existence de moulières sénescents constituées de larges individus en fin de vie (Jollivet 1993), ces sites sont surtout dominés par de jeunes individus de petite taille. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce paradoxe :

- (1) les prélèvements ne sont pas représentatifs de la zone environnante en raison d'un biais d'échantillonnage ;

- (2) la structure démographique de la moulière ne résulte pas exclusivement de processus locaux mais peut s'expliquer par des apports larvaires extérieurs ;
- (3) il existe une mortalité différentielle des moules en fonction des conditions environnementales ; lorsqu'un site devient sénescant, les moules de grande taille ont un taux de mortalité plus élevée dans la mesure où la contribution de leurs symbiotes à leurs besoins énergétiques devient insuffisante (Van Dover 2002).

Un bon exemple pour illustrer ces deux hypothèses est le cas du site Animal Farm où le prélèvement a été effectué dans une moulière ayant persisté alors que la zone environnante ne présente plus aucun signe d'activité hydrothermale. Au regard de ces résultats, il semble que la structure démographique de *Bathymodiolus thermophilus* ne puisse pas être utilisée dans le cadre de notre étude comme un indicateur quantitatif fiable du caractère florissant ou sénescant des moulières et qu'il serait préférable de se référer aux observations qualitatives fournies par l'examen des vidéos réalisées lors des plongées.

2.3.3. Diversité et composition faunistique

Un total de 12936 individus appartenant à 61 espèces a été identifié (Tableau 2.2) : 29 espèces de gastéropodes représentant 19 genres et 11 familles ; 30 espèces de polychètes rattachées à 24 genres et 15 familles ; 2 espèces d'échinodermes appartenant à 2 genres et 2 familles distinctes ; et une espèce de némerte non identifiée. Parmi ces 61 espèces, 3 polychètes n'ont en fait été identifiées qu'au niveau de la famille : un Phyllodocidae, un Ampharetidae et un Flabelligeridae. De même, 7 taxons n'ont été identifiés qu'au niveau du genre : 2 gastéropodes des genres *Shinkailepas* et *Laeviphitus* et 4 polychètes des genres *Glycera*, *Nereimyra*, *Harmothoe* et *Prionospio*. Cette liste d'espèces inclue également deux espèces nouvelles de gastéropodes (*Melanodrymia* sp. n. et *Phymorhyncus* sp. n.) et 3 espèces nouvelles de polychètes (*Nicomache* sp. n., *Sphaedoropsis* sp. n. et *Paralvinella* sp. n.) (Tableau 2.2). Par ailleurs, certaines espèces présentent un statut incertain et nécessitent de plus amples analyses morphologiques et moléculaires :

- (1) Concernant *Gorgoleptis emarginatus*, nous avons admis la présence de deux espèces distinctes sur la base des données moléculaires décrites dans le chapitre 1 ;
- (2) *Pachydermia laevis* a été définie comme une seule espèce entre 17°25'S et 21°33'S en raison des données moléculaires couvrant un domaine spatial insuffisant (cf. chapitre 1) ;
- (3) Dans le cas de *Lepetodrilus elevatus*, en l'absence de critères morphologiques diagnostiques fiables, nous avons admis qu'une seule espèce était présente dans la

Tableau 2.2. Liste des espèces récoltées dans les 10 moulières échantillonnées le long de l'EPR sud (voir Planches 1, 2 et 3).

classe	familles	species	Sarah's spring	Lucky Eric	Rehu Marka	Oasis-BS6	Oasis-BS13	Susie	Animal farm	Grommit (a)	Grommit (b)	Grommit (c)		
Gastéropodes	Neolepetopsidés	<i>Eulepetopsis vitrea</i>	20	61	104	22	0	41	392	16	3	24		
	Trochidae	<i>Bathymargarites symplector</i>	1	0	10	9	0	0	227	0	0	0		
	Sutilizonidae	<i>Sutilizona theca</i>	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0		
	Lepetodrilidae	<i>Lepetodrilus elevatus</i>	1	271	26	1984	3039	1589	2	65	14	116		
		<i>Lepetodrilus pustulosus</i>	129	23	0	0	34	6	0	0	0	2		
		<i>Lepetodrilus ovalis</i>	6	37	298	70	0	113	190	17	6	65		
		<i>Lepetodrilus cristatus</i>	0	9	0	0	0	2	0	8	5	5		
		<i>Lepetodrilus tevnianus</i>	0	6	0	0	7	4	0	2	1	2		
		<i>Gorgoleptis emarginatus</i>	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
		<i>Gorgoleptis cf. emarginatus</i>	0	0	14	0	0	0	0	0	1	0	0	
		<i>Gorgoleptis spiralis</i>	1	3	66	36	0	1	9	7	6	17		
		<i>Gorgoleptis patulus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	6	
		<i>Clypeosectus cf. delectus</i>	4	0	32	15	0	0	0	0	0	1	0	
		Seguenziidae	<i>Cyathermia naticoides</i>	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	
		Neomphalidae	<i>Melanodrymia sp. n.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
			<i>Melanodrymia aurantiaca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	724	149	520
	<i>Melanodrymia galeronae</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	<i>Pachydermia laevis</i>		0	0	45	0	0	0	0	0	28	3	23	
	<i>Planorbidella cf. planispira</i>		0	1	40	19	0	2	16	3	1	14		
	<i>Neomphalus fretterae</i>		0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	
	Peltospiridae	<i>Nodopelta subnoda</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	
		<i>Echinopelta fistulosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	72	0	
		<i>Rhynchopelta concentrica</i>	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	
Phenacolepadidae	<i>Shinkailepas sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0			
Buccinidae	<i>Eosipho auzendei</i>	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	4		
Provannidae	<i>Provanna ios</i>	0	0	12	0	0	0	6	0	0	0	1		
Elachisnidae	<i>Laeviphitus sp.</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
Conidae	<i>Phymorhyncus sp. n.</i>	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0		
	<i>Phymorhyncus cf. major</i>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0		
Polychaetes	Maldanidae	<i>Nicomache sp. n.</i>	0	0	0	9	0	0	0	3	0	1		
	Amphinomidae	<i>Archinome rosacea</i>	0	0	183	13	0	0	330	27	29	28		
	Dorvellidae	<i>Ophryotrocha akessoni</i>	0	0	6	3	0	0	19	0	24	17		

Tableau 2.2. (suite)

	Glyceridae	<i>Glyceria</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	Phyllocodidae	Phyllocodidae nd.	0	0	0	0	0	2	0	0	0	
	Hesionidae	<i>Hesiospina vestimentifera</i>	0	0	71	0	0	0	276	0	0	0
		<i>Hesiocaeca</i> cf. <i>hessleri</i>	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
		Cf. <i>Nereimyra</i> sp.	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Nereididae	<i>Nereis sandersi</i>	0	0	13	2	0	0	59	40	22	15
	Polynoidae	<i>Branchinotogluma hessleri</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Branchinotogluma sandersi</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		<i>Lepidonotopodium fimbriatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	4	0
		<i>Lepidonotopodium williamsae</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
		<i>Lepidonotopodium atalantae</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		<i>Levensteiniella kincaidi</i>	0	0	25	15	0	0	0	0	0	2
		<i>Levensteiniella plicata</i>	0	0	2	0	0	0	9	1	0	0
		<i>Thermiphione tufari</i>	0	0	2	1	0	0	15	0	2	2
		<i>Harmothoe</i> sp.	0	0	23	3	0	0	0	0	0	0
		Sphaerodoridae	<i>Sphaedoropsis</i> n. sp.	0	0	0	0	0	23	0	0	0
	Serpulidae	<i>Laminatubus alvinus</i>	0	0	0	4	0	0	0	0	0	
	Siboglinidae	<i>Oasisia alvinae</i>	0	0	0	0	3	0	0	0	0	
	Spionidae	<i>Prionospio</i> sp.	0	0	0	1	0	0	0	5	0	
	Alvinellidae	<i>Alvinella caudata</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		<i>Paralvinella</i> sp. n.	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0
		<i>Paralvinella pandorae</i> (?)	0	0	0	0	16	0	0	0	0	0
		<i>Paralvinella grasslei</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Ampharetidae	<i>Amphisamytha galapagensis</i>	0	0	49	8	7	0	165	0	1	88
		<i>Ampharetidae</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Flabelligeridae	<i>Flabelligeridae</i> sp.	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0
Nemerte	Nemerte		0	0	0	1	0	0	0	0	0	3
Echinodermes	Ophiuridae	<i>Spinophiura jolliveti</i>	0	0	0	0	51	0	132	0	0	0
	Ophiacanthidae	<i>Ophiolamina eprae</i>	0	0	2	1	0	0	5	0	0	0
Nombre d'individus			167	412	1047	2224	3165	1760	1889	955	360	957
Surface échantillonnée (cm ²)			687	3581	11081	8438	13622	9888	8735	15326	4823	11353
Proportion de juvéniles			0.00	0.00	0.94	0.00	11.87	1.46	5.30	0.10	0.00	0.10

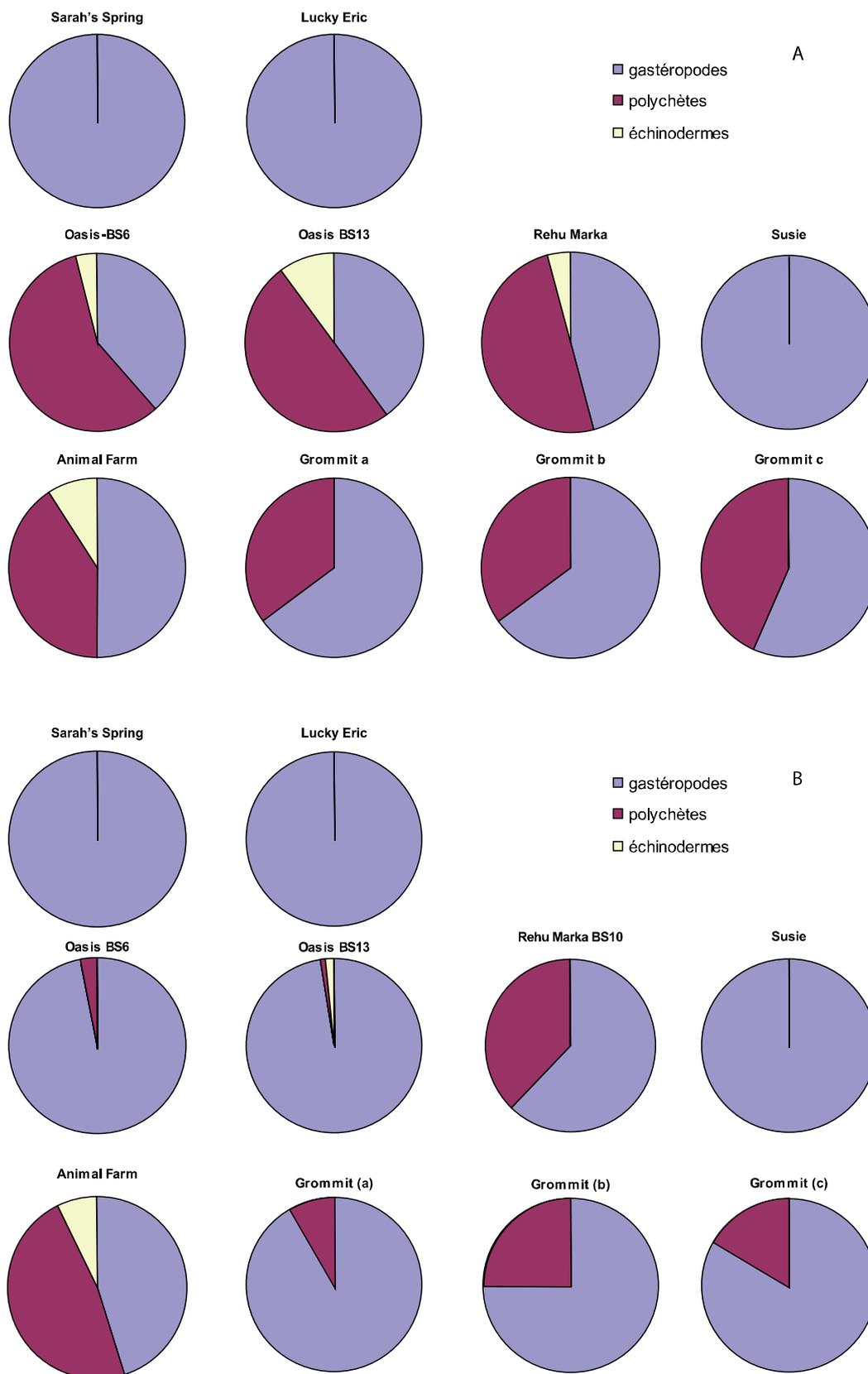


Figure 2.7. Composition taxonomique des échantillons de la macrofaune prélevée dans les moulières : A : en terme de nombre d'espèces ; B : en terme de nombre d'individus.

mesure où seules des moulières ont été échantillonnées ; des analyses moléculaires récentes suggèrent néanmoins l'existence possible de plusieurs espèces cryptiques entre 7°25'S et 21°33'S (Plouviez & Jollivet, comm. pers.) ;

- (4) Les gastéropodes *Clypeosectus* cf. *delectus* et *Planorbidella* cf. *planispira* pourraient correspondre à des espèces différentes de celles déjà décrites le long de l'EPR nord (Warén, comm. pers.) ;
- (5) La polychète *Archinome rosacea* pourrait regrouper elle aussi sous un même nom un vaste complexe d'espèces cryptiques réparties le long de la dorsale Est Pacifique (Desbruyères & Hourdez, com. pers.).

En termes de nombre d'espèces, le groupe le plus diversifié localement est le groupe des gastéropodes avec 4 à 13 espèces par échantillon, soit 38,4 à 100 % de la richesse spécifique (Figure 2.7A). La richesse spécifique locale en polychètes varie entre 0 et 14 espèces, soit 0 à 52,2 %. En terme d'effectifs, les gastéropodes représentent 61,9 à 100 % des abondances locales, excepté pour le site d'Animal Farm où les polychètes, majoritaires, représentent 54,5% des individus dans l'échantillon (Figure 2.7B).

Les espèces les plus abondantes à l'échelle régionale sont les gastéropodes *Lepetodrilus elevatus* (55,0 % des abondances totales), *Melanodrymia auriantica* (10,8 %), *L. ovalis* (6,2 %) et *Eulepetopsis vitrea* (5,3 %), et les polychètes *Archinome rosacea* (4,7 %), *Hesiospina vestimentifera* (2,7 %) et *Amphisamytha galapagensis* (2,5 %) (Tableau 2.2). A l'exception de *Melanodrymia auriantica* et de *Hesiospina vestimentifera*, il s'agit d'espèces présentes dans au moins 6 des sites échantillonnés.

Les valeurs des différents indices de diversité sont fournies dans le Tableau 2.3. La richesse spécifique varie entre 8 et 26 espèces et est indépendante de la surface échantillonnée ($R^2 = 0,38$; $p > 0,05$; Figure 2.8). Les plus faibles richesses spécifiques sont rencontrées à Sarah's spring, Lucky Eric et Susie alors que les valeurs maximales sont observées à Oasis (sauf BS-13), Rehu Marka, Animal Farm et Grommit. Les indices de raréfaction de Sanders fournissent une image comparable. Les valeurs de l'indice de diversité de Shannon sont relativement faibles sur la totalité des échantillons avec des valeurs comprises entre 0,23 à Oasis-BS13 et 2,39 à Rehu Marka. L'indice de Simpson reflète la même tendance avec une valeur maximale proche de 1 à Oasis-BS13 et une valeur minimale de 0,13 observée à Animal Farm. Ceci s'explique d'une part par la faible richesse spécifique locale et d'autre part par la forte dominance d'un petit nombre d'espèces dans chaque échantillon. En effet, de 1 à 4

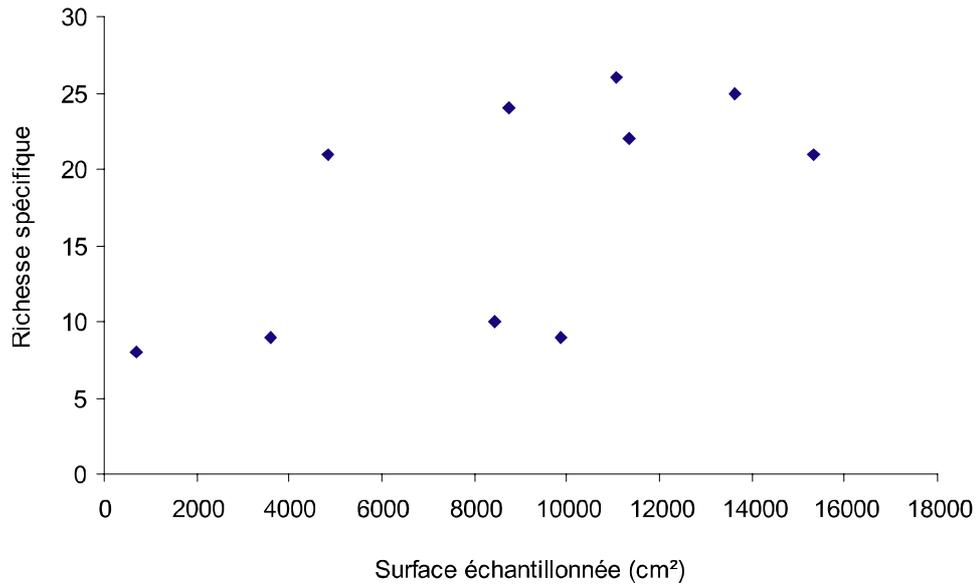


Figure 2.8. Richesse spécifique en fonction de la surface des moules échantillonnée lors de chaque prélèvement.

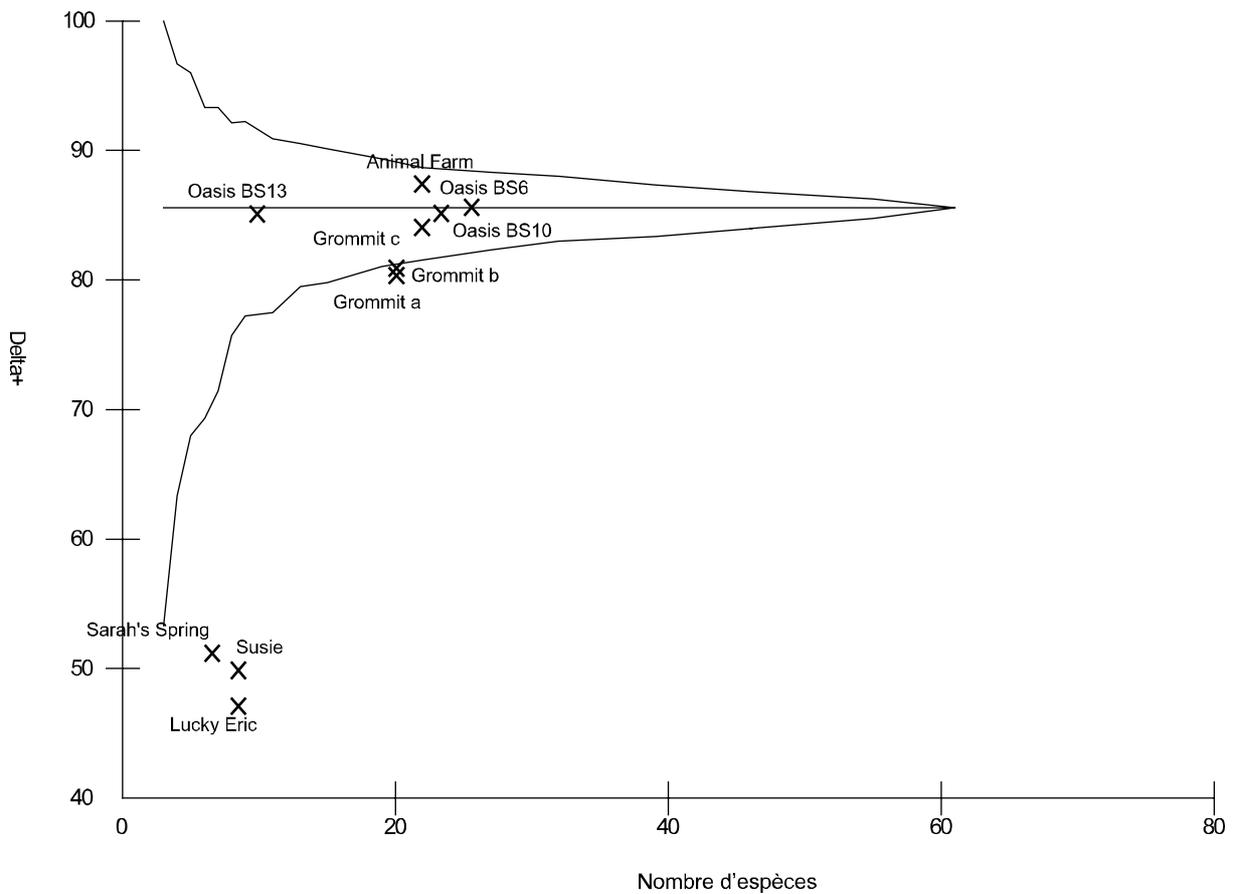


Figure 2.9. Intervalle de confiance à 95% de la valeur de la diversité taxonomique moyenne Δ^+ pour des valeurs théoriques de m espèces générées à partir d'un sous-échantillonnage aléatoire du pool régional d'espèces.

espèces représentent plus de 60% de l'abondance totale de chaque échantillon. Trois des quatre échantillons qui présentaient les plus faibles richesses spécifiques observée (RS) et estimée ($ES_{(600)}$) (i.e. Sarah's Spring, Lucky Eric et Susie), présentent également les plus faibles valeurs de la diversité taxonomique moyenne Δ^+ , comprises entre 46,67 et 51,43 (Tableau 2.3). A l'inverse, l'échantillon Oasis BS13 ; également caractérisé par une faible richesse spécifique, affiche une valeur de Δ^+ de 84,89, du même ordre de grandeur que celle des autres échantillons. Cette différence s'explique par le fait que les échantillons Sarah's Spring, Lucky Eric et Susie sont exclusivement composés de gastéropodes appartenant à 3 ou 4 familles, alors que l'échantillon de Oasis BS13 comprend des gastéropodes, des polychètes et des échinodermes. Les sites Animal Farm et Oasis BS6 présentent les plus petites valeurs de la variance de la diversité taxonomique, Λ^+ , ce qui reflète la régularité phylogénétique dans la distribution des taxons dans ces deux échantillons. Les valeurs de la diversité taxonomique moyenne obtenues pour les sites Sarah's spring, Lucky Eric et Susie sont significativement plus faibles que les valeurs qu'elles auraient dû présenter si elles correspondaient à un sous-échantillonnage aléatoire du pool régional d'espèces (Figure 2.9). C'est également le cas, dans une moindre mesure, des 3 échantillons de Grommit. De tels résultats peuvent être le reflet de l'hétérogénéité de l'habitat ou d'un biais dans l'échantillonnage mais également suggérer que la diversité locale dépend d'un pool régional d'espèces différent de celui utilisé dans notre étude. Dans le cas de Sarah's Spring et Lucky Eric, la récolte individuelle des moules peut en partie expliquer l'absence de polychètes dans les échantillons.

Tableau 2.3. Indices de diversité calculés pour chaque moulière échantillonnée le long de la dorsale EPR sud. S, H', λ , J' et $ES_{(n)}$ ont été calculés à partir des données d'abondances standardisées par rapport à la surface échantillonnée. Δ^+ et Λ^+ ont été calculés à partir des données exprimées en présence/absence.

Site	N(ind.m ²)	S	H'(log _e)	λ	J'	$ES_{(600)}$	Δ^+	Λ^+
Sarah's Spring	2431	8	0,86	0,61	0,41	7,96	51,43	412,2
Lucky Eric	1150	9	1,15	0,47	0,52	8,78	46,67	511,1
Rehu Marka-BS10	765	24	2,39	0,14	0,75	22,70	84,35	439,1
Oasis-BS6	2010	26	0,61	0,80	0,19	16,84	86,88	353,4
Oasis-BS13	3749	10	0,23	0,92	0,10	7,00	87,11	607,2
Susie	1779	9	0,41	0,82	0,19	6,74	50,56	499,7
Animal Farm	2162	23	2,21	0,13	0,71	19,20	88,14	292,6
Grommit (a)	623	20	1,10	0,58	0,37	19,74	80,32	536,7
Grommit (b)	745	20	1,97	0,23	0,66	19,85	80,63	504,9
Grommit (c)	844	23	1,73	0,32	0,55	21,47	83,56	513,8

2.3.4. Distribution spatiale des espèces de gastéropode le long de l'EPR sud

Les données acquises au cours de la campagne BIOSPEEDO nous amènent à accroître l'aire de distribution aujourd'hui connue d'un certain nombre d'espèces de gastéropodes

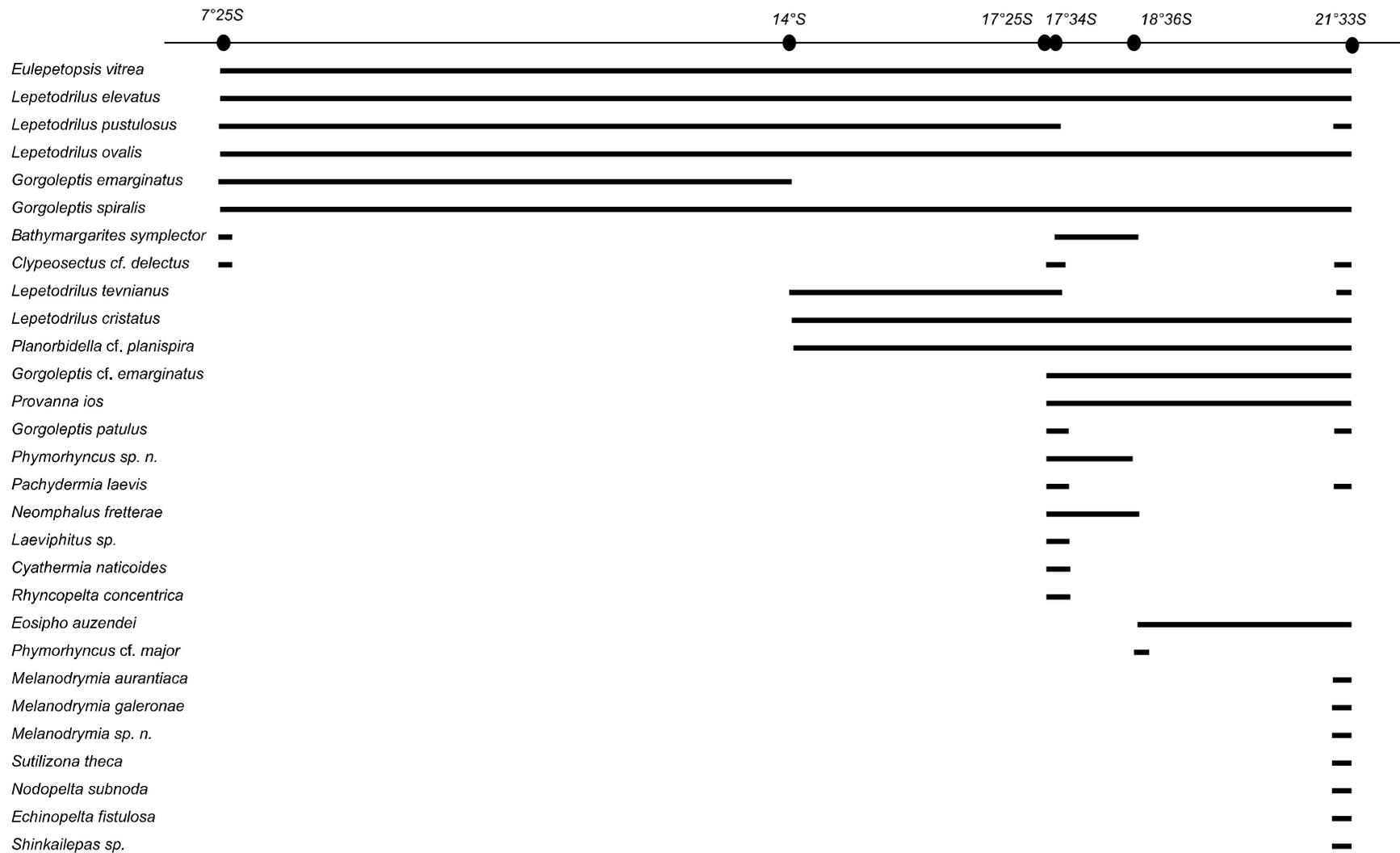


Figure 2.10. Distribution des espèces de la macrofaune des moulières échantillonnées le long du gradient latitudinal. NB : la présence des espèces est ponctuelle, les zones entre deux points n'ayant pas été échantillonnées,

(Warén & Bouchet 2001, Desbruyères *et al.* 2006b). A titre d'exemple, *Lepetodrilus tevnianus* uniquement décrit à 11°N a été rencontré à 14°S, 17°25'S, 17°34'S et 21°33'S. De même *L. cristatus* que nous avons récolté de 14°S à 21°S n'était connu à ce jour que des champs hydrothermaux de 13°N, 21°N et des Galapagos. Des extensions peuvent également être indiquées pour *Echinopelta fistulosa*, décrit de 13°N à 21°N et échantillonné à 21°33'S ou pour *Cyathermia naticoides* référencé de 9°N à 21°N et prélevé à 17°25'S. Par ailleurs, c'est la première fois que des individus benthiques de *Laeviphitus* sp. ont été récoltés le long de la dorsale du Pacifique oriental : ce taxon n'était connu jusqu'à présent qu'à l'état larvaire dans cette zone (Desbruyères *et al.* 2006b).

Différents types d'espèces peuvent être définis en fonction de leur distribution spatiale (Figure 2.10) :

- (1) Les espèces présentes sur toute l'étendue du gradient et connues pour leur large distribution le long de l'EPR (ex : *Eulepetopsis vitrea*, *Lepetodrilus elevatus*, *L. pustulosus*, *L. ovalis*). *Lepetodrilus elevatus* a déjà été reporté le long de la dorsale du Pacifique oriental, de 21°N à 17°S, le long de la dorsale des Galápagos (GAR) et dans les bassins arrière-arc du Pacifique ouest (bassin des Fidji, bassin de Lau, bassin des Mariannes) (Desbruyères *et al.* 2006b, Warén & Bouchet 2001). *L. pustulosus*, *L. ovalis* et *Eulepetopsis vitrea* présentent la même distribution à l'exception des bassins arrière-arc (Desbruyères *et al.* 2006b, Warén 2001). Ces différentes espèces ont également été récoltées plus au sud, le long de la dorsale Antarctique Pacifique à 31°S et 37°S (Warén com. pers).
- (2) Les espèces présentes de manière ponctuelle dans nos échantillons mais très communes le long de l'EPR nord (ex : *Melanodrymia aurantiaca*, *Pachydermia laevis*, *Neomphalus fretterae*, *Cyathermia naticoides*, *Nodopelta subnoda*, *Echinopelta fistulosa* et *Rhynchopelta concentrica*). La présence locale de ces espèces, parfois en faible nombre, pourrait être expliquée par un effort d'échantillonnage limité ou par la distribution de ces espèces dans des microhabitats particuliers en relation avec des variations locales du flux hydrothermal. Elle ne renseignerait absolument pas sur l'existence éventuelle d'un gradient latitudinal de diversité. Certaines espèces telles que *Nodopelta subnoda*, *Echinopelta fistulosa* ou *Melanodrymia aurantiaca* ont été échantillonnées exclusivement à 21°S mais sont connues pour être associées aux fumeurs noirs et aux colonies d'alvinellidés (Jollivet 1996, Desbruyères *et al.* 2006b, Mills *et al.* 2007, Matabos *et al.* sous presse). Leur présence à Grommit est probablement liée au caractère particulier de ce site avec une étroite imbrication de différents micro-habitats.

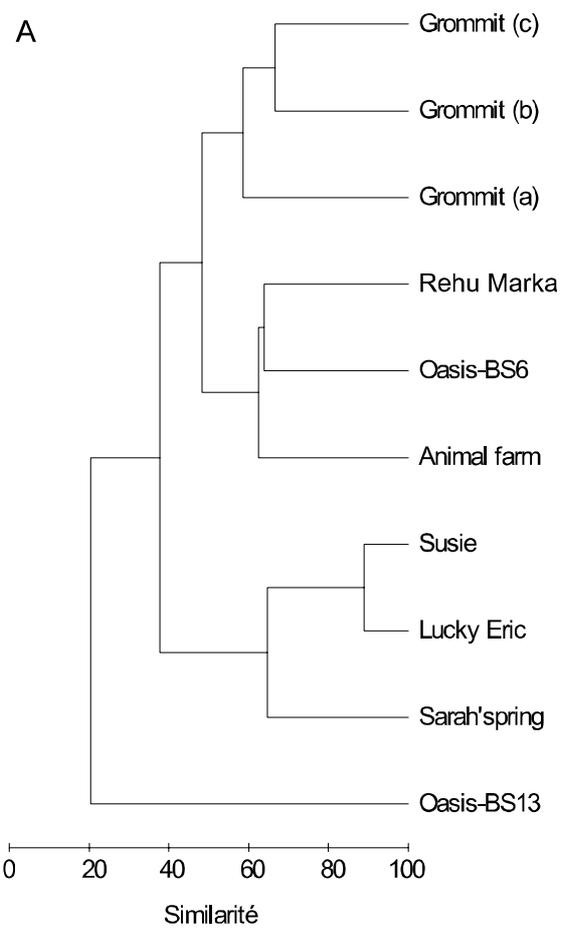


Figure 2.11. Dendrogramme illustrant la similarité de la composition faunistique entre les dix moulières échantillonnées. La similarité a été calculée à l'aide du coefficient de similarité de Bray-Curtis sur les données exprimées en présence/absence. La classification ascendante hiérarchique a été effectuée selon la méthode du groupement moyen.

(3) Les espèces présentes uniquement dans la partie sud de l'EPR qui correspondent à 3 catégories : les espèces nouvelles ou supposées telles (*Phymorhyncus* n. sp., *Melanodrymia* n. sp. et *Gorgoleptis* cf. *emarginatus*), les espèces caractéristiques de la dorsale Antarctique Pacifique (*Eosipho auzendei*) et les genres décrits dans les bassins arrière-arc et/ou sur la dorsale médio-atlantique (*Shinkailepas* sp.). La nouvelle espèce de *Phymorhyncus* a été récoltée à 17°25'S et 18°25'S et *Melanodrymia* n.sp à 21°33'S. La deuxième lignée évolutive de *G. emarginatus*, mise en évidence dans le chapitre 1, s'isole des autres populations plus au nord à partir de 17°25'S selon les données moléculaires. *E. auzendei* a été décrite à ce jour de 17°S à 23°S et le long de la dorsale Antarctique Pacifique (Desbruyères *et al.* 2006b). Le genre *Shinkailepas* regroupe aujourd'hui des espèces connues dans les bassins arrière-arc du Pacifique ouest et le long de la dorsale médio-atlantique même si plusieurs espèces restent à décrire dans l'Océan Indien et le long de la dorsale du Pacifique oriental.

Les polychètes étant absents des échantillons prélevés sur les champs hydrothermaux de 7°25'S et 14°S, l'analyse de leur distribution le long de la dorsale apportait peu d'informations supplémentaires. Ces données seront utilisées dans la discussion en complément aux données acquises sur les gastéropodes.

2.3.5. Analyses multivariées

Le dendrogramme construit à partir des données exprimées en présence/absence indique l'existence de quatre assemblages principaux à un niveau de similarité de 50 % (Figure 2.11).

(1) L'échantillon Oasis BS13 (17°25'S) se distingue très nettement des autres échantillons auxquels il se rattache au seuil de seulement 20% de similarité. Tandis que tous les autres échantillons sont composés de 8 à 13 espèces de gastéropodes, seules 4 espèces sont présentes à Oasis-BS13 avec une très large dominance de *Lepetodrilus elevatus*. De plus, 5 espèces sont exclusivement présentes dans ce prélèvement, parmi lesquelles certaines sont connues pour être associées préférentiellement aux bouquets de siboglinidés (i.e. *Oasisia alvinae*, *Cyathermia naticoides*, *Paralvinella pandorae* et *P. grasslei* (Desbruyères *et al.* 2006b)). Sachant qu'un tube de *Riftia pachyptila* a été prélevé avec les moules lors de la réalisation du prélèvement à Oasis BS13, nous pouvons supposer qu'un biais d'échantillonnage explique la forte différence observée par rapport au reste des échantillons.

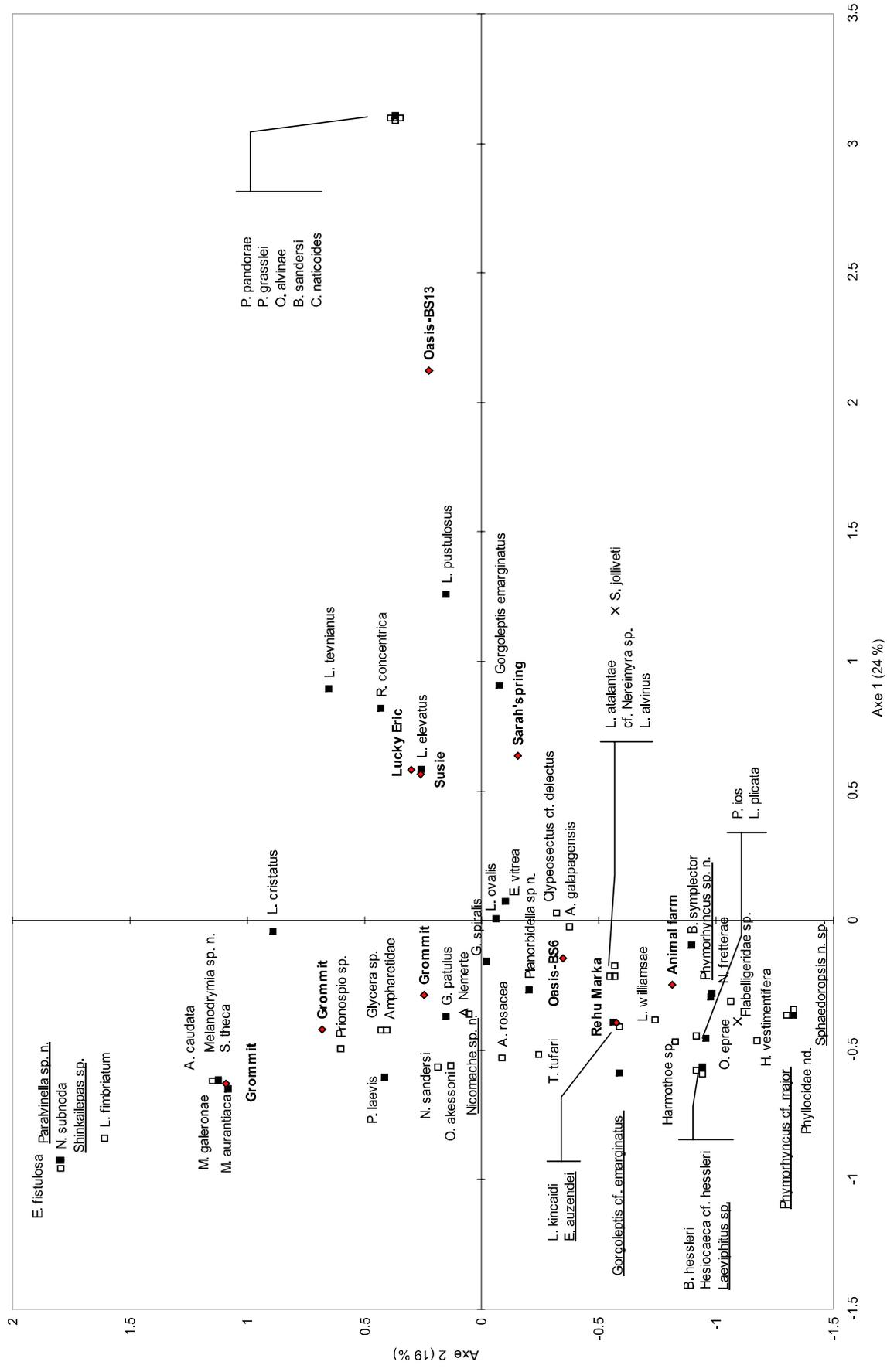


Figure 2.12. Analyse factorielle des correspondances (AFC) effectuée sur les abondances de la macrofaune de chaque moulière échantillonnée le long de la dorsale du Pacifique oriental sud. Les données ont subi une transformation $\log(X+1)$.

- (2) Le deuxième groupe est constitué des échantillons provenant de Sarah's spring (7°25'S), Lucky Eric (14°S) et Susie (17°34'S). Ils correspondent aux trois échantillons possédant la plus faible richesse spécifique, et sont caractérisés par une absence de polychètes et d'échinodermes.
- (3) Le troisième groupe rassemble les échantillons prélevés à Oasis BS6 (17°25'S), Rehu Marka (17°25'S) et Animal Farm (18°36'S) avec plus de 60% de similarité. Ces prélèvements possèdent les plus fortes richesses spécifiques et taxonomiques observées, en raison en particulier du fort nombre d'espèces de polychètes présentes.
- (4) Les trois échantillons prélevés à Grommit (21°33'S) forment le quatrième groupe avec 60% de similarité. Ils sont fortement dominés par le gastéropode *Melanodrymia aurantiaca* qui représente entre 41% et 76% de la totalité des individus. Certaines espèces rares, telles que *M. galeronae* et *Shinkailepas* sp., ainsi que de nouvelles espèces (i.e. *Melanodrymia* n. sp. et *Paralvinella* sp. n.) ont été exclusivement trouvées dans ces échantillons. Ce groupe diffère également du groupe précédent par l'absence totale d'échinodermes dans les prélèvements.

Les résultats de l'analyse de similarité ne permettent pas de discriminer les échantillons en fonction de l'environnement géodynamique (hydrothermalisme volcanique vs. hydrothermalisme tectonique, ANOSIM ; $R = 0,298$; $p = 0,056$), ni en fonction de la zone géographique (ANOSIM ; $R = 0,155$; $p = 0,22$). L'impact de l'environnement géodynamique est toutefois marginalement significatif.

L'analyse factorielle des correspondances (AFC) effectuée sur les densités, après transformation $\log(X+1)$, permet d'analyser une structure des communautés qui reflète les différences à la fois en termes de composition spécifique et d'abondances relatives des espèces (Figure 2.12). Cependant, elle ne fournit pas une image très différente de celle déjà indiquée par le dendrogramme. Le premier axe, qui explique 24% de la variance totale, isole deux grands ensembles : les échantillons correspondant aux groupes 1 et 2 du dendrogramme (Sarah's spring, Lucky Eric, Susie et Oasis-BS13) du côté positif de l'axe 1 et les échantillons correspondant aux groupes 3 et 4 du dendrogramme (Rehu Marka, Oasis-BS6, Animal Farm et Grommit) du côté négatif de l'axe 1. Du côté positif de l'axe 1, l'échantillon Oasis BS13 s'individualise des 3 autres. Les espèces qui contribuent le plus à la définition de l'axe 1 sont *Lepetodrilus pustulosus* (14,1 %), *Paralvinella pandorae* (13,8 %), *Cyathermia naticoides* (9,6 %) et *L. elevatus* (8,0 %), dont les abondances tendent à augmenter vers le côté positif de l'axe. L'axe 2, qui représente 19 % de la variance totale, sépare les groupes 3 (Oasis BS6,

Tableau 2.4. Groupes trophiques des familles échantillonnées au niveau des moulières. Les espèces-types correspondent aux espèces références dans l'étude ayant permis de définir le régime alimentaire des différentes familles.

Taxon	Familles	Espèce-type	Groupe trophique	Références
Gastéropodes	Neolepetopsidae		brouteur	Warén & Bouchet 2001
	Trochidae	<i>Bathymargarites symplector</i>	brouteur/suspensivore	Warén & Bouchet 1989
	Sutilizonidae	<i>Sutilizona theca</i>	déposivore	Haszprunar 1989
	Lepetodrilidae	<i>Clypeosectus delectus</i>	déposivore	Haszprunar 1989
		<i>Lepetodrilus</i> sp.	brouteur	Fretter 1988
		<i>Gorgolettis</i> sp.	brouteur	Fretter 1988
	Neomphalidae	<i>Cyathermia naticoides</i>	brouteur/suspensivore	Warén et Bouchet 1989
		<i>Melanodrymia auriantaca</i>	brouteur	Warén et Bouchet 1989
		<i>Planorbidella planispira</i>	brouteur	Warén et Bouchet 1989
		<i>Pachydermia laevis</i>	brouteur	Warén et Bouchet 1989
		<i>Neomphalus fretterae</i>	brouteur	Fretter et al. 1981
	Peltopiridae	<i>Peltopiridae</i>	brouteur	Fretter 1989
	Buccinidae	<i>Eosipho auzendei</i>	nécrophage	Warén & Bouchet 2001
	Provannidae	<i>Provanna</i> spp.	brouteur/suspensivore	Warén & Bouchet 1989
	Elachisinidae	<i>Laeviphitus</i> sp.	?	Warén & Bouchet 2001
Conidae	<i>Phymorhyncus</i> spp	carnivore	Sysoev & Kantor 1995	
Polychètes	Maldanidae	<i>Nicomache</i>	déposivore	Desbruyères et al. 2006
	Amphinomidae	<i>Archinome rosacea</i>	carnivore	Ward et al. 2003
		Dorvellidae		omnivore
		<i>Ophryotrocha</i>	omnivore	Fauchald & Jumars 1979
	Glyceridae	<i>Glycera branchipoda</i>	carnivore	Desbruyères et al. 2006
	Phyllodocidae		carnivore/nécrophage	Rouse & Pleijel 2001
	Hesionidae		carnivore	Rouse & Pleijel 2001
	Nereididae	<i>Nereis sandersi</i>	omnivore	Desbruyères et al. 2006
	Polynoidae	<i>Branchinotogluma segonzaci</i>	carnivore	Desbruyères et al. 2006
		<i>Lepidonotopodium fimbriatum</i>	carnivore	Desbruyères et al. 2006
			carnivore	Van Dover 2000
	Sphaerodoridae		déposivore/suspensivore	Rouse & Pleijel 2001
	Serpulidae	<i>Laminatubus alvinus</i>	suspensivore	Desbruyères et al. 2006
	Siboglinidae		symbiotrophe	Rouse & Pleijel 2001
	Spionidae	<i>Prionospio sandersi</i>	déposivore	Desbruyères et al. 2006
	Alvinellidae	<i>Alvinella pompejana</i>	déposivore/brouteur	Desbruyères et al. 1998
		<i>Alvinella caudata</i>	déposivore	Desbruyères et al. 2006
		<i>Paralvinella pandorae</i>	déposivore	Desbruyères et al. 2006
	Ampharetidae	<i>Amphisamytha galapagensis</i>	déposivore	Desbruyères et al. 2006
	Flabelligeridae		déposivore/détritivore	Rouse & Pleijel 2001
Echinodermes	Ophiuridae	<i>Spinophiura jolliveti</i>	nécrophage/brouteur	Stöhr & Segonzac 2006
		<i>Ophioctenella acies</i>	détritivore	Tyler et al. 1995
	Ophiacanthidae	<i>Ophiolamina eprae</i>	nécrophage/brouteur	Stöhr & Segonzac 2006

Rehu Marka et Animal Farm) et 4 (Grommit) du dendrogramme. Les espèces clefs pour définir cet axe sont *Melanodrymia auriantica* (12,9 %), *Echinopelta fistulosa* (9,75 %), *Paralvinella sp. n.* (5,6 %) et *Nodopelta subnoda* (5,3 %) du côté positif, et *Hesiospina vestimentifera* (8,1 %) et *Bathymargarites symplector* (6,2 %) du côté négatif.

2.3.6. Diversité fonctionnelle

Les groupes 1 et 2 (Oasis BS13, Lucky Eric, Susie et Sarah's Spring), identifiés par les analyses multivariées, présentent la plus faible diversité trophique et sont composés quasi-exclusivement de gastéropodes brouteurs (> 95 %) (Tableau 2.4 ; Figure 2.13). Le groupe 4 (Grommit) comprend environ 80 % de brouteurs et de l'ordre de 5 % de déposivores, de carnivores et d'omnivores. La composition trophique du groupe 3 (Rehu Marka, Oasis BS6 et Animal Farm) suggère une architecture du réseau trophique plus complexe avec seulement 62 % de brouteurs alors que les carnivores représentent plus de 22 % des organismes récoltés et que les déposivores, les mixotrophes et les omnivores forment environ 5 % du peuplement. Ce résultat est à mettre en relation avec les faibles abondances relatives des lepetodrilidés à Rehu Marka et Animal Farm et la forte présence en ces 2 sites de la polychète *Archinome rosacea*.

2.4. Discussion

Cette étude a permis de révéler quelques unes des caractéristiques faunistiques des communautés associées aux moulières le long de la dorsale du Pacifique oriental sud, région encore mal connue d'un point de vue faunistique (Geitsdoerfer *et al.* 1995, Halanych *et al.* 1999, Van Dover 2002, 2003). Les valeurs des indices de diversité α sont relativement faibles en raison d'une part d'une faible richesse spécifique, et d'autre part de la dominance d'un faible nombre d'espèces. En effet, 1 à 4 espèces suffisent pour expliquer plus de 60% de l'abondance totale dans la totalité des échantillons. A l'échelle locale, la présence d'un petit nombre d'espèces dominantes apparaît comme une caractéristique très générale des communautés hydrothermales, qu'il s'agisse de bouquets de siboglinidés (Tsurimi & Tunnicliffe 2003) ou de moulières (Van Dover 2002).

Les indices de diversité présentent par ailleurs une forte hétérogénéité d'une moulière à l'autre avec des valeurs de J' et H' variant respectivement entre 0,10 et 0,75, et 0,23 et 2,39. Le Tableau 2.5 fournit, à titre comparatif, les indices de diversité des assemblages faunistiques associés aux moulières pour différents sites hydrothermaux et zones de saintements froids. Les valeurs obtenues dans notre étude comprennent les deux extrêmes en

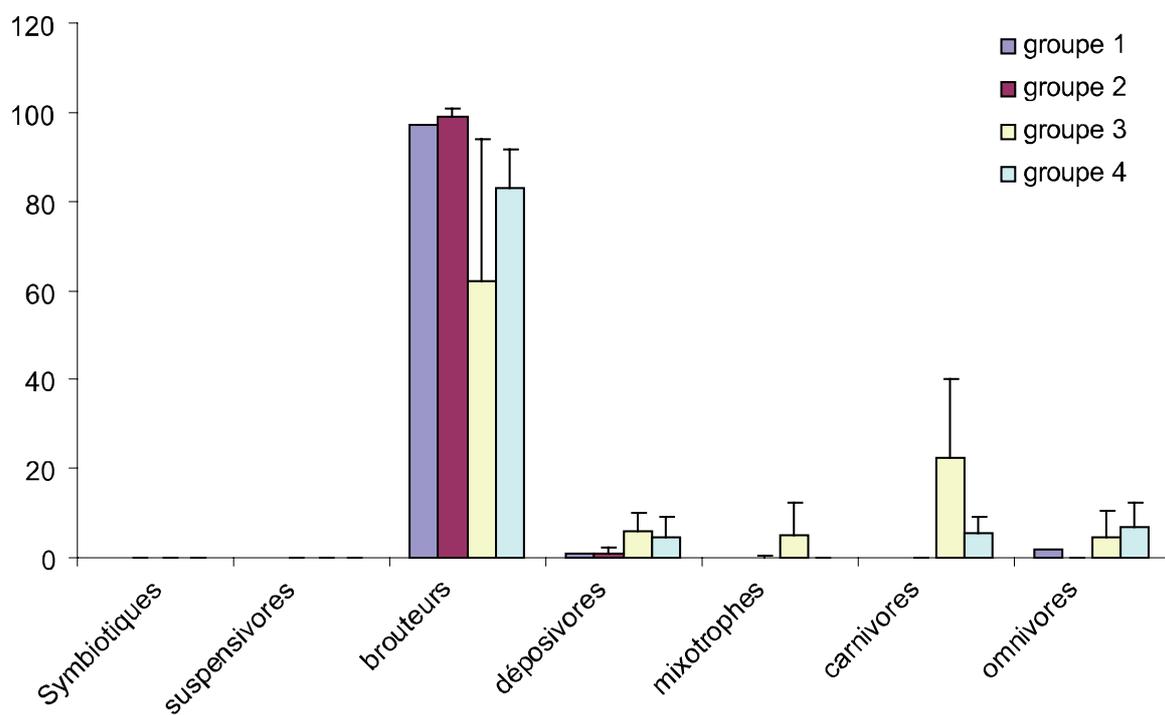


Figure 2.13. Composition en groupe trophique des différents groupes identifiés par le dendrogramme. Les valeurs correspondent au pourcentage moyen (\pm écart-type) d'individus appartenant à un groupe donné.

ce qui concerne l'indice de diversité H'. La faune associée aux moulières est globalement plus diversifiée sur l'EPR que sur la dorsale médio-atlantique et l'EPR sud plus diversifiée que l'EPR nord (Tunncliffe & Fowler 1996, Van Dover 2002, Turnipseed *et al.* 2003). La proximité des sites a été évoquée comme un des facteurs prépondérants pour expliquer cette observation (Van Dover 2002, Turnipseed *et al.* 2003). Cependant, certaines valeurs obtenues dans notre étude sont du même ordre de grandeur que celles observées pour les suintements froids du Golfe du Mexique et les richesses spécifiques sont largement inférieures à celles habituellement observées dans les moulières de l'EPR sud (Tableau 2.5). Ces différences peuvent s'expliquer par plusieurs biais dans l'échantillonnage. Certaines des études rapportées dans le tableau (Van Dover 2002, 2003, Dreyer *et al.* 2005, Van Dover & Doerries 2005) font référence à des échantillons quantitatifs, incluant par conséquent l'épifaune mobile et les juvéniles de la large macrofaune mobile comme les crabes, induisant un biais dans les comparaisons. D'autre part, Sarrazin *et al.* (2006) ont inclus dans leur analyse la méiofaune, expliquant la forte richesse spécifique observée au niveau d'Oasis dans leur étude. En effet, il a été montré que la méiofaune pouvait constituer à elle seule un tiers de la diversité totale (Tsurimi 2003). Enfin, au niveau des sites de Sarah's Spring ou de Lucky Eric, les bathymodiales étaient distribuées de façon éparse dans les creux de blocs de basalte. Les moules ont par conséquent été prélevées une par une à l'aide de la pince, de sorte que le milieu interstitiel créé par l'amoncellement de celles-ci n'a pu être échantillonné correctement, excluant potentiellement des prélèvements de nombreuses polychètes. Les sites présentant une faible diversité (i.e. Lucky Eric, Sarah's Spring et Susie) se caractérisaient en terme de diversité taxonomique par un écart significatif au pool régional d'espèces suggérant, soit un biais d'échantillonnage, soit l'influence de facteurs locaux sur la structuration des communautés.

A partir d'observations de vidéos et d'échantillons récoltés à l'aide de la pince d'un submersible, Geistdoerfer *et al.* (1995) et Halanych *et al.* (1999) ont suggéré que les organismes qui constituent les communautés de l'EPR sud sont généralement communs à ceux observés sur l'EPR nord même si les structures des peuplements pouvaient être différentes. En étendant vers le sud l'aire de distribution de plusieurs espèces bien connues de l'EPR nord comme *Lepetodrilus cristatus*, *L. tevnianus*, *Echinopelta fistulosa* ou encore *Cyathermia naticoides*, notre étude semble suggérer la présence d'une continuité dans la distribution des espèces le long de la dorsale EPR qui avait déjà été mentionné pour plusieurs

Tableau 2.5. Comparaison de différents indices de diversité pour des assemblages faunistiques associés aux moulières provenant de différents environnements chimiosynthétiques. * épifaune mobile et mégafaune exclues.

Dorsale	Site	S	J'	H'(log_e)	Références
EPR/9°N	East Wall (1999)	40	0,57 (0,03)	1,59 (0,17)	Dreyer et al. 2005
	East Wall (2001)	34	0,40 (0,03)	1,15 (0,11)	Dreyer et al. 2005
	East Wall	44	0,56 (0,03)	1,67 (0,10)	Van Dover 2003
	Train Station (1999)	31	0,48 (0,03)	1,36 (0,04)	Dreyer et al. 2005
	Train Station (2001)	37	0,42 (0,05)	1,18 (0,11)	Dreyer et al. 2005
	Train Station	34	0,53 (0,02)	1,50 (0,06)	Van Dover 2003
	Biovent (1999)	42	0,47 (0,04)	1,42 (0,13)	Dreyer et al. 2005
	Biovent (2001)	43	0,45 (0,05)	1,32 (0,14)	Dreyer et al. 2005
	Biovent	46	0,52 (0,03)	1,66 (0,11)	Van Dover 2003
Mussel Bed	31	0,73 (0,03)	1,93 (0,05)	Dreyer et al. 2005	
EPR/11°N		12	0,50 (0,02)	1,33 (0,05)	Dreyer et al. 2005
EPR sud	Sarah's Spring	8*	0,41*	0,86*	Cette étude
	Lucky Eric	9*	0,52*	1,15*	Cette étude
	Rehu Marka	24*	0,75*	2,39*	Cette étude
	Rehu Marka	34*	-	2,45	Van Dover 2002
	Oasis-BS6	26*	0,19*	0,61*	Cette étude
	Oasis-BS13	11*	0,10*	0,23*	Cette étude
	Oasis	38	-	2,22	Sarrazin et al. 2006
	Oasis	35*	-	2,13	Van Dover 2002
	Susie	9*	0,19*	0,41*	Cette étude
	Animal Farm	23*	0,71*	2,21*	Cette étude
	Animal Farm	21*	-	2,47	Van Dover 2002
	Grommit (a)	20*	0,37*	1,10*	Cette étude
	Grommit (b)	20*	0,66*	1,97*	Cette étude
	Grommit (c)	22*	0,55*	1,73*	Cette étude
Mid-Atlantic-Ridge	Lucky Strike	-	-	1,47	Van Dover 2002
	Lucky Strike	19	0,34 (0,15)	0,74 (0,35)	Van Dover & Doerries 2005
	Logatchev	20	0,33 (0,15)	0,88 (0,41)	Van Dover & Doerries 2005
	Snake Pit	27	0,71 (0,12)	1,81 (0,33)	Van Dover & Doerries 2005
Gulf of Mexico	BP	5	0,55	0,91	Bergquist et al. 2005
	GB	6	0,50	0,90	Bergquist et al. 2005
	BH	7,3	0,46	0,92	Bergquist et al. 2005
	GC	8,5	0,58	1,24	Bergquist et al. 2005

espèces très dominantes telles que *L. elevatus*, *Amphisamytha galapagensis*, *Ophryotrocha akessoni* ou *Archinome rosacea* (Van Dover 2002, 2003).

Cependant, un certain nombre d'espèces semblent spécifiques à la partie sud de la dorsale, au-delà de 17°S. Il peut s'agir, soit d'espèces nouvelles (*Phymorhynchus* sp. n., *Melanodrymia* sp. n., *Paralvinella* sp. n., *Sphaerodopsis* sp. n., *Nicomache* sp. n.), soit d'espèces appartenant à des genres caractéristiques de la dorsale Pacifique Antarctique (*Eosipho auzendei*). *Eosipho auzendei* a ainsi été observé uniquement dans les prélèvements d'Animal Farm (18°36'S) et de Grommit (21°33'S). Les espèces nouvelles se rattachent à des genres inféodés au Pacifique oriental (i.e. *Melanodrymia*), à des genres communs dans tout le Pacifique (i.e. *Paralvinella*, *Nicomache*) voire à des genres ubiquistes présents dans différents océans (i.e. *Phymorhynchus*) (Desbruyères *et al.* 2006b). Toutefois, la nouvelle espèce de *Phymorhynchus*, prélevée à Oasis (17°25'S) et à Grommit (21°33'S), a déjà été rencontrée plus au sud de l'EPR, au-delà de la micro-plaque de l'île de Pâques et pourrait être propre à cette région (A. Warén, com. pers.). Le genre *Shinkailepas*, représenté par 2 individus d'une seule espèce à Grommit (21°33'S), a été décrit pour les bassins arrière arc du Pacifique ouest et sur la dorsale médio-atlantique. Enfin, pour un certain nombre d'espèces, des doutes subsistent dans l'identification. Celles-ci ont été par défaut assimilées aux espèces correspondantes décrites pour le nord de l'EPR (*Clypeosectus* cf. *delectus*, *Planorbidella* cf. *planispira*, *Phymorhynchus* cf. *major*) ou subdivisées en deux espèces sur la base de données moléculaires partielles (*Gorgolettis* cf. *emarginatus*). Ces espèces, au statut incertain, présentent des morphes sensiblement différents au-delà de 17°S (A. Warén, com. pers.). De plus amples études morphologiques et moléculaires permettront dans l'avenir de clarifier nos identifications.

Si les analyses multivariées n'ont pas permis de mettre en évidence une différence marquée dans la composition faunistique le long du gradient latitudinal, les résultats fournis ci-dessus sur les patrons de distribution des espèces suggèrent cependant que la zone 17°25'S-21°33'S pourrait constituer une zone de transition dans la répartition de plusieurs espèces de l'EPR (Desbruyères *et al.* 2006a). Un passage par le sud *via* la dorsale Pacifique Antarctique et le complexe de la dorsale de Macquarie a déjà été suggéré comme une voie de dispersion possible pour la faune entre les bassins arrière arc du Pacifique ouest et la dorsale du Pacifique oriental (Tunnicliffe & Fowler 1996, Kojima *et al.* 2001, Kojima *et al.* 2002, Kojima *et al.* 2003, Desbruyères *et al.* 2006a). Le mélange de deux types de faunes est clairement marqué au niveau du champ hydrothermal 21°33'S, avec la présence de cheminées recouvertes, soit de colonies d'alvinellidés caractéristiques de l'EPR, soit d'essaims de

crevettes du genre *Chorocaris*, analogues à ceux rencontrés le long de la dorsale médio-atlantique, de la dorsale indienne et des bassins arrière arc du Pacifique ouest (Van Dover *et al.* 2001, Jollivet *et al.* 2004). De plus, lors de la mission BIOSPEEDO, d'autres échantillons appartenant à différents habitats ont été récoltés et traités en terme de composition faunistique même s'ils n'ont pas été intégrés dans cette étude par souci de cohérence. Ainsi, une autre espèce nouvelle appartenant vraisemblablement à un nouveau genre pour la faune hydrothermale, *Haloceras* sp. (Planche 3E-H), a été prélevée dans les colonies d'alvinellidés associées à un fumeur noir du site Grommit à 21°33'S. A ce jour, le genre *Haloceras* est composé de 10 espèces présentes dans l'Indo-Pacifique à des profondeurs supérieures à 200 m: à l'est de l'Australie (*H. acrocomata*, *H. galerita*, *H. phaeocephala* et *H. spinosa*), en Nouvelle Calédonie (*H. exquisita* et *H. heliptyx*), au Japon (*H. japonica* et *H. tricarinata*), aux Galapagos (*H. rugosa*) et en Afrique du Sud-Mozambique (*H. tricarinata*) (Warén & Bouchet, 1991).

Les différences observées au niveau de la composition faunistique peuvent s'expliquer par la présence de différentes barrières géographiques, qu'elles soient géologiques ou hydrodynamiques. Trois failles transformantes principales, Yaquina, Wilkes et Garret (Figure 2.1), coupent la dorsale aux alentours de 6°S, 10°S et 13°S et peuvent constituer une barrière à la dispersion larvaire. La microplaque de Bauer évoquée dans le chapitre précédent a pu jouer un rôle important dans l'histoire de la colonisation de la dorsale et donc dans les événements de spéciation (Tunncliffe & Fowler 1996, Matabos *et al.* 2008). Plus au sud, la microplaque de l'île de Pâques peut tenir un rôle de barrière ou filtre à la colonisation de la dorsale du Pacifique oriental par des espèces de la dorsale Pacifique Antarctique (Won *et al.* 2003). Cependant, ces barrières ne sont pas imperméables comme en témoigne le grand nombre d'espèces partagées entre le nord et le sud de la dorsale. Dans ce cas, le partage d'espèces identiques entre les deux parties de la dorsale peut être le résultat d'une colonisation récente plus ou moins importante du sud vers le nord ou inversement. En effet, les différences entre les communautés faunistiques associées aux moulières réside plus dans des changements d'abondances relatives des espèces dominantes plutôt que dans la composition faunistique proprement dite (Van Dover 2002, 2003). Le terme de province biogéographique peut être délicat dans un milieu instable où la morphologie de la dorsale et les habitats disponibles sont en constante évolution. Les capacités de dispersion peuvent être très variables d'une espèce à l'autre se traduisant par des capacités de colonisation plus ou moins fortes, comme en témoigne les fortes disparités entre les aires de répartition de différentes espèces (Desbruyères *et al.* 2006b). Récemment, Lester *et al.* (2007) ont

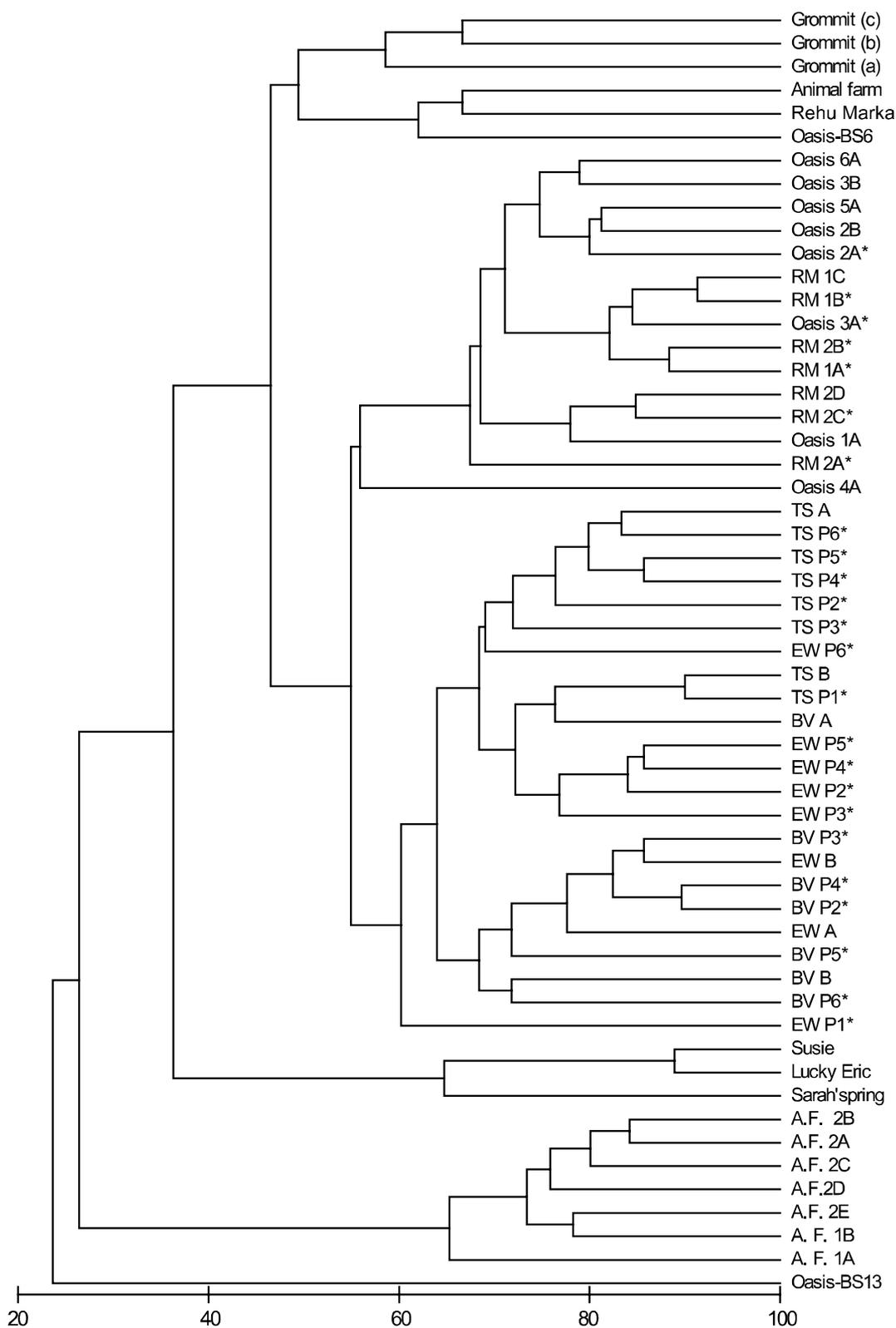


Figure 2.14. Dendrogramme illustrant la similarité de la composition faunistique entre les moulières échantillonnées le long de la dorsale du Pacifique oriental. Les données incluent celles obtenues dans cette étude et les données de Van Dover (2002 ; 2003). A.F. : Animal Farm (18°36'S) ; BV : Biovent (9°N) ; TS : Train Station (9°N) ; EW : Eastwall (9°N). La similarité a été calculée à l'aide du coefficient de similarité de Bray-Curtis sur les données exprimées en présence/absence. La classification ascendante hiérarchique a été effectuée selon la méthode du groupement moyen. Les * indiquent des échantillons quantitatifs.

néanmoins considéré qu'il n'existait pas de relation générale et robuste entre les capacités de dispersion d'une espèce et l'étendue de son aire géographique. Par ailleurs, il ne faut pas perdre de vue que nous observons une distribution des espèces à un instant t donné qui ne correspond pas nécessairement à un état d'équilibre : la distribution de certaines espèces peut encore être en cours d'expansion.

La diversité de la faune associée aux moulières a fait l'objet de nombreuses études au cours des dernières années dont certaines consacrées à la partie sud de la dorsale du Pacifique oriental (Van Dover & Trask 2000, Van Dover 2002, Turnipseed *et al.* 2003, Van Dover 2003, Bergquist *et al.* 2005, Dreyer *et al.* 2005, Van Dover & Doerries 2005). La Figure 2.14 présente ainsi un dendrogramme construit à l'aide de l'indice de similarité de Bray-Curtis à partir des données acquises au cours de notre étude et de celles obtenues par Van Dover (2002, 2003) sur les sites Oasis, Animal Farm et Rehu Marka de l'EPR sud et les sites Biovent, Eastwall et Train Station de l'EPR nord ($9^{\circ}50'N$). Les échantillons de Van Dover (2002, 2003) étaient soit quantitatifs, soit qualitatifs. Les données ont été exprimées en présence/absence afin de limiter l'influence de techniques d'échantillonnage différentes et n'ont inclus que les gastéropodes, les polychètes et les échinodermes (35 gastéropodes, 41 polychètes et 3 échinodermes). Cinq groupes majeurs peuvent être identifiés : (1) notre échantillon de Oasis BS-13, (2) les prélèvements d'Animal Farm de Van Dover, (3) nos échantillons de Sarah's spring, Lucky Eric et Susie, (4) les échantillons de Van Dover de $17^{\circ}25'S$ et de $9^{\circ}50'N$ et (5) nos échantillons de Oasis, Rehu Marka, Animal Farm et Grommit. Ils ne permettent pas d'isoler les peuplements de la dorsale SEPR. Au contraire, la topologie obtenue tend à regrouper les échantillons en fonction de l'étude ou de caractéristiques particulières des sites. Ainsi, le site Animal Farm de l'étude de Van Dover (2002, 2003), caractérisé par une très faible diversité, se distingue en raison du caractère sénescents de la moulière échantillonnée. Le site Oasis-BS13 est biaisé par la récolte de siboglinidés conjointement avec les moules. La récolte une à une des moules sur les sites Sarah's spring et Lucky Eric peut être en partie responsable de l'absence de polychètes en ces sites et de leur individualisation dans l'analyse. Pour le reste, la différence entre nos résultats et ceux de Van Dover est plus surprenante même si un examen attentif des données laisse apparaître des différences notables. Quatre espèces de gastéropodes et 8 espèces de polychètes observées par Van Dover (2002, 2003) à $17^{\circ}25'S$ et $18^{\circ}36'S$ n'ont pas été retrouvées dans nos échantillons. A l'inverse, 12 espèces de gastéropodes et 13 espèces de polychètes ne sont pas présentes dans les prélèvements de Van Dover, aussi bien le long de l'EPR sud que de l'EPR

nord. Ces chiffres atteignent 20 gastéropodes et 16 polychètes si la comparaison se borne à l'EPR sud.

Plusieurs raisons peuvent être évoquées pour justifier un tel écart. Tout d'abord, il peut être le reflet d'un biais dans l'échantillonnage. Des différences dans la méthode d'échantillonnage (i.e. quantitatif *vs.* qualitatif) introduisent un biais important dans l'analyse avec la présence de sites potentiellement sous-échantillonnés, rendant difficile la comparaison d'une étude à l'autre (Van Dover & Trask 2000). Cependant, le dendrogramme ne révèle pas de distinction particulière entre les prélèvements quantitatifs et qualitatifs effectués par Van Dover (2002, 2003) (Figure 2.14). Un autre facteur important à prendre en compte lors de la comparaison entre différentes études concerne l'identification des taxons. Dans de nombreux cas, l'identification au niveau spécifique est menée par les écologistes eux-mêmes, parfois aidés par des spécialistes de la systématique. L'obtention de comparaisons valides entre les différentes études, nécessite un processus de standardisation de l'identification des organismes avec l'aide de taxonomistes reconnus. Enfin, la comparaison des sites Oasis, Rehu Marka et Animal Farm concerne des échantillons prélevés à cinq années d'intervalles, période durant laquelle des changements profonds ont pu intervenir (Hessler *et al.* 1988). Une variation dans l'intensité du fluide et des conditions environnementales à l'échelle locale peut être à l'origine de changements dans la structure des peuplements (Sarrazin *et al.* 1997, Shank *et al.* 1998). Le site Sarah's spring est une illustration parfaite de ce propos, florissant en 1999 (Halanych *et al.* 1999) et moribond en 2004.

L'analyse de similarité a permis de mettre en évidence un impact significatif à un niveau marginal de l'environnement géodynamique sur la composition faunistique des assemblages associés aux moulières. Les zones de la dorsale gouvernées par un volcanisme effusif sont associées à une dorsale caractérisée par une morphologie en dôme, où les circuits hydrothermaux, résultant du réchauffement de l'eau de mer par les laves en cours de refroidissement, sont courts, peu profonds et instables (Fouquet *et al.* 1994). A l'inverse, les zones en phase tectonique, sont caractérisées par la présence d'un graben axial, où les émissions hydrothermales sont contrôlées par les failles du graben, et une plus grande stabilité hydrothermale dans le temps (Fouquet *et al.* 1994). Le type de régime géodynamique devrait donc avoir un impact important sur la structure des communautés benthiques en influençant le taux d'extinction/recolonisation des sites, l'hétérogénéité de l'habitat et la distance entre les sites, même si les conséquences de ces facteurs ne font pas l'unanimité dans la communauté scientifique. Alors que certains auteurs suggèrent une diversité plus faible dans les

environnement instables (Juniper & Tunnicliffe 1997), d'autres affirment le contraire en insistant sur le lien entre instabilité et distances inter-sites (Turnipseed *et al.* 2003, Van Dover & Dories 2005). D'autre part, au niveau des zones volcaniques instables, la sédimentation est faible et le substrat est majoritairement constitué de basalte tandis qu'au niveau des zones tectoniques, plus stables, la couche de sédiment est plus importante. Cette hétérogénéité peut avoir une influence sur la composition faunistique (Juniper & Tunnicliffe 1997).

En dépit du résultat de ce test global, il apparaît difficile de mettre en avant des points forts de ressemblance dans la structure des communautés des zones tectoniques (i.e. Lucky Eric et Grommit) en comparaison des zones à volcanisme effusif (i.e. Oasis, Animal Farm, Rehu Marka) ou de les opposer au regard de leur diversité. Ainsi, les plus fortes diversités ont été mesurés à la fois au niveau de sites caractérisés par du volcanisme effusif (i.e. Rehu Marka, Animal Farm) ou de l'hydrothermalisme tectonique (i.e. Grommit). De nouveau, les conditions particulières de l'échantillonnage de Sarah's spring et Lucky Eric ne peuvent être écartées comme un biais évident dans les conclusions fournies par le test.

L'hypothèse d'une influence prépondérante des facteurs locaux sur les patrons observés ne peut être négligée. La durée du cycle hydrothermal peut être très variable au sein d'un champ en réponse à des événements stochastiques et ponctuels capables d'altérer le flux, et à des minéralisations en surface qui bouchent les conduits d'évacuation du fluide (Hessler *et al.* 1985, Fustec *et al.* 1987, Hessler *et al.* 1988). Les variations dans l'intensité du flux hydrothermal modifient l'environnement physico-chimique ainsi que les interactions biotiques entre organismes (Mullineaux *et al.* 2003) entraînant des modifications dans la structure et la composition des communautés associées (Sarrazin *et al.* 1997, Shank *et al.* 1998). Van Dover (2003) et Dreyer *et al.* (2005) ont ainsi montré que la structure des communautés variait en fonction de l'âge estimé de la moulière. Dans notre cas, l'âge des moulières n'est pas connu ; l'observation des structures démographiques des moules n'est pas très informative et ne reflète pas nécessairement le stade sénescence de la moulière. A titre d'exemple, alors que l'on s'attend sur les sites supposés moribonds de Sarah's spring et d'Animal Farm à la présence de larges individus en fin de vie, la structure démographique a montré une forte dominance d'individus de petite taille. Une diminution de l'activité hydrothermale, voire une extinction, peut affecter le taux de croissance des modioles en réponse à une concentration en sulfure limitante pour les bactéries symbiotrophes, ou entraîner un taux de mortalité plus élevé chez les individus de grande de taille en réponse à une contribution insuffisante des symbiontes à leurs besoin nutritionnels (Van Dover 2002).

Si à l'inverse, nous nous appuyons sur la description générale des sites pour qualifier l'état de la moulière et définir Sarah's spring et Animal Farm comme des sites en fin de vie (ou renaissant), la macrofaune associée présente des caractéristiques très distinctes entre ces 2 sites. La communauté associée à la moulière de Sarah's spring était peu diverse et composée uniquement de quelques espèces de gastéropodes, corroborant les observations sur le terrain. A l'inverse le site d'Animal Farm était caractérisé par une forte diversité spécifique et taxonomique. La situation inverse a été observée sur le site de Susie. Alors que ce site était constitué d'un grand édifice de type « fumeur noir » associé à de larges moulières et une forte activité hydrothermale, l'échantillon, prélevé dans un massif de moules au pied de l'édifice, affichait une faible diversité macrobenthique. Si l'examen des groupes trophiques est à même de nous renseigner localement, il n'apporte pas de réponses globales. Alors que la présence d'organismes nécrophages comme le buccinidé *Eosipho auzendei* et l'ophiure *Spinophiura jolliveti* est en accord avec le caractère moribond du site Animal Farm, la macrofaune du site de Sarah's spring est quasiment composé exclusivement de brouteurs.

Les prélèvements étant très localisés dans l'espace, ils peuvent ne refléter qu'un microhabitat particulier non représentatif à l'échelle de la moulière. Ainsi, l'hétérogénéité de l'habitat peut expliquer les fortes variations locales de la diversité. Les prélèvements sont représentatifs d'une surface donnée, largement inférieure à la surface du site. Au regard de la forte variabilité des conditions environnementales à l'échelle de quelques centimètres, l'analyse d'un prélèvement de surface inférieure à 1m² n'est pas représentatif de la diversité à l'échelle de la totalité de la moulière. Bergquist *et al.* (2005), suite à l'analyse des communautés associées à des moulières de suintements froids dans le Golfe du Mexique, ont montré que la distribution des espèces variait entre le centre et la périphérie d'une moulière le long d'un gradient environnemental. Sur le site Oasis, Sarrazin *et al.* (2006) ont mis en évidence une hétérogénéité des conditions environnementales au-dessus d'une moulière à une échelle inférieure au mètre.

Les facteurs locaux incluent également les interactions biotiques opérant au niveau intra- et interspécifique (compétition, facilitation et prédation) et qui vont varier dans le temps en fonction de la dynamique successionale. Il a été montré que les communautés de macrofaune les plus diversifiées au niveau spécifique étaient également associées à une diversité trophique plus élevée, et que les phénomènes de compétition et de prédation avaient tendance à augmenter la diversité locale (Hawksworth & Kalin-Arroyo 1995). Ainsi, la prédation pourrait jouer un rôle important sur la structure des communautés en contrôlant

l'intensité des relations de compétition (Micheli *et al.* 2002) ou en modifiant la structure démographique de certaines espèces (Sancho *et al.* 2005).

Les phénomènes biotiques et abiotiques agissant à l'échelle locale n'ont pas été spécifiquement analysés dans le présent chapitre de sorte qu'il est difficile d'inférer leur rôle à l'échelle des moulières étudiées. Cependant, la diversité observée localement étant la résultante de facteurs locaux et régionaux, leur rôle ne peut pas être écarté.

2.5. Conclusion

La campagne océanographique BIOSPEEDO qui s'est déroulée sur une durée de 45 jours incluant 22 plongées scientifiques a permis d'explorer en une unique occasion une grande portion de la partie du sud de la dorsale du Pacifique oriental, depuis le champ hydrothermal 7°25'S jusqu'au champ hydrothermal 21°33'S (Jollivet *et al.* 2004). Toutefois, le nombre finalement réduit d'échantillons (i.e. 10 moulières) et l'absence fréquente de réplicats par champ hydrothermal, en relation avec de multiples sources de variation, rendent difficiles l'obtention de conclusions solides au regard des objectifs que nous nous étions fixés : l'examen de la relation entre la diversité locale et régionale ou l'influence relative des facteurs locaux et régionaux sur la structure des communautés macrobenthiques.

A l'échelle globale, un certain nombre de résultats pertinents méritent néanmoins d'être soulignés. A première vue, la présence d'espèces abondantes communes entre les parties nord et sud de la dorsale du Pacifique oriental suggère l'existence d'une seule entité biogéographique le long de la dorsale, comme l'avaient déjà supposées des observations de la mégafaune (Geistdoerfer *et al.* 1995, Halanych *et al.* 1999) ou des observations localisées de la macrofaune (Van Dover 2002, 2003). Cependant, un examen détaillé des espèces rares ou du moins peu abondantes semble indiquer l'existence d'une zone de transition dans la composition de la macrofaune au-delà de 17°25'S. Ceci est soutenu par la présence de nouvelles espèces à Oasis, Animal Farm et Grommit, ainsi que d'espèces apparentés à la dorsale Pacifique Antarctique (*Eosipho auzendei*), aux bassins arrière-arc du Pacifique ouest et de la dorsale médio-atlantique (*Shinkailepas* sp.). Par ailleurs, beaucoup de doutes subsistent encore au niveau du statut des espèces. Certaines sont en cours de description et d'autres ont soulevé des interrogations et nécessitent de plus amples analyses morphologiques et moléculaires. Dans la mesure où il reste toujours difficile de statuer sur le réel endémisme des espèces rares (endémisme régional véritable ou artefact lié à un effort d'échantillonnage insuffisant), l'accent pourra être mis dans un premier temps sur les espèces dont la présence continue du nord au sud est incertaine.

Seule la levée de ces questionnements permettra de dresser des conclusions quant à la distribution de la biodiversité le long de la dorsale du Pacifique oriental. Il existe probablement des limites biogéographiques plus ou moins prononcées en fonction de leur nature (topologique ou hydrodynamique) et de leur intensité. Aussi, les espèces, en fonction de leur biologie, telle que leur mode de reproduction ou leurs capacités de dispersion, ne vont pas répondre à l'identique face à ces différentes barrières. Il peut donc être plus approprié de considérer la biodiversité régionale comme le chevauchement des différentes aires de répartition des espèces en fonction de leurs traits d'histoire de vie et de leur histoire évolutive. Une meilleure connaissance des schémas de dispersion passés et actuels des différentes espèces est nécessaire à la compréhension de leur distribution.

PLANCHES

**Gastéropodes hydrothermaux de la
dorsale du Pacifique oriental**



PLANCHE 1.

Neolepetopsidé (A). A: *Eulepetopsis vitrea*

Lepetodrilidae (B-J). B: *Clypeosectus delectus*; C: *Lepetodrilus cristatus* ; D: *L. pustulosus* ;

E: *L. elevatus* ; F-G: *L. ovalis* ; H-I: *Gorgolettis* cf. *emarginatus* ; J: *G. spiralis*

Trochidae (L). K: *Bathymargarites symplector*

Échelle : 1 mm

(photos : M. Matabos)

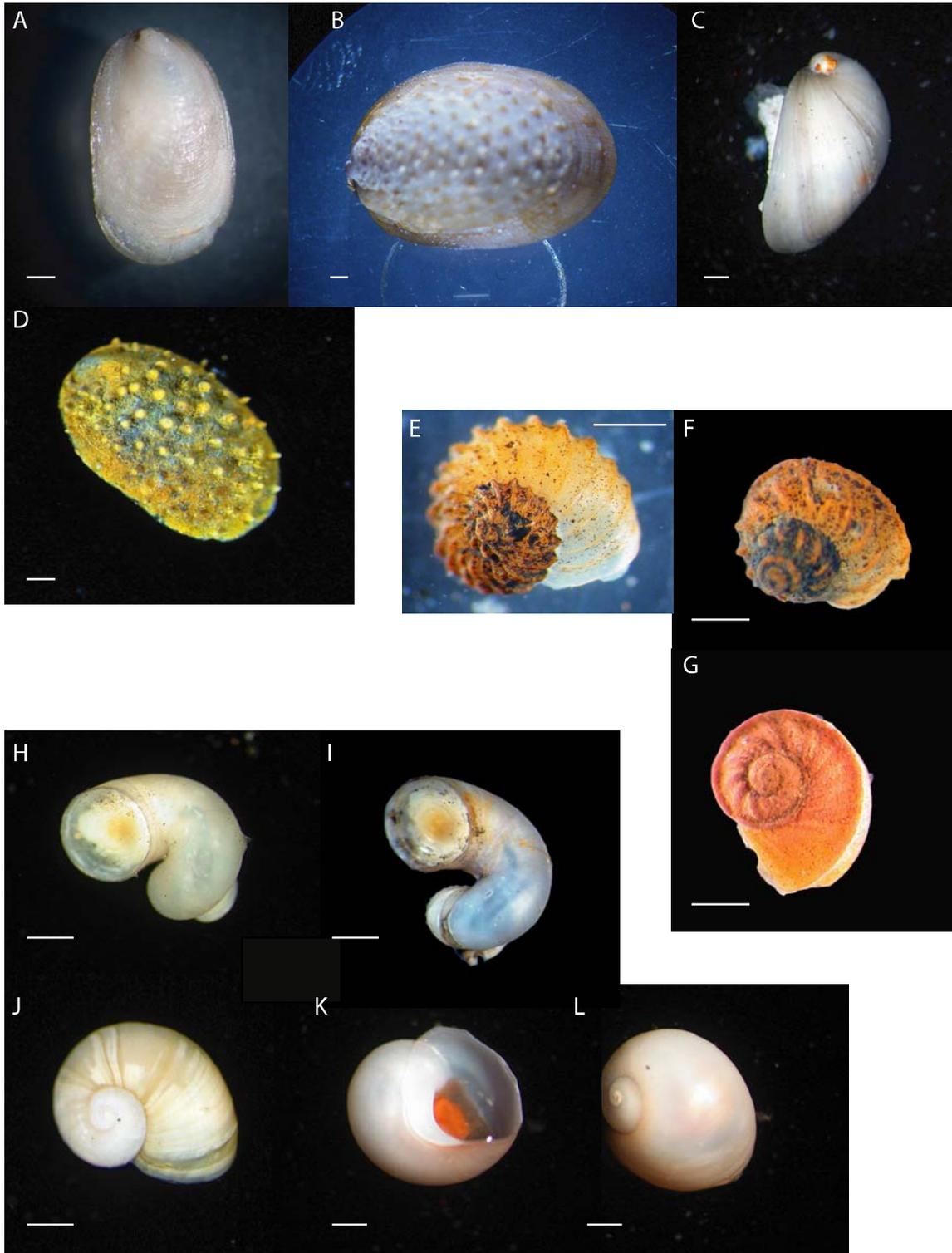


PLANCHE 2.

Peltospiridés (A-D). A: *Nodopelta subnoda* ; B: *Nodopelta heminoda* ; C: *Peltospira operculata* ; D: *Echinopelta fistulosa*.

Neomphalidae (E-L). E: *Melanodrymia* n. sp. ; F: *Melanodrymia galeronae* ; G: *Melanodrymia aurantiaca* ; H-I: *Pachydermia laevis* ; J: *Planorbidella* cf. *planispira* ; K-L: *Cyathermia naticoides*

Échelle : 1 mm

(photos : M. Matabos)

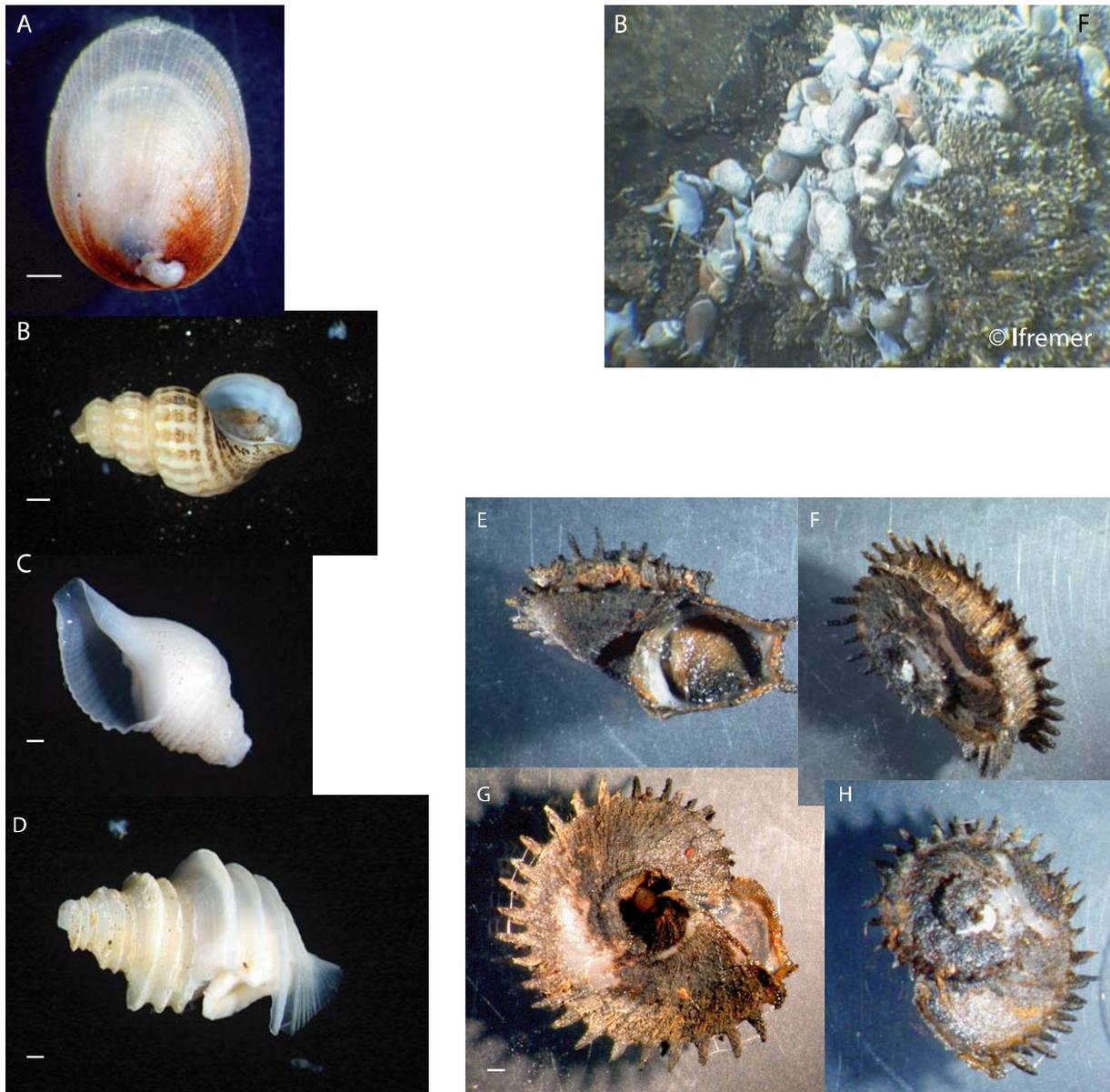


PLANCHE 3.

Phenacolepapidae (A). A: *Shinkailepas* sp.

Buccinidae (B). B: *Eosipho auzendei*.

Provannidae (C). C: *Provanna ios*

Turridae (C-D). C: *Phymorhyncus major* ; D: *Phymorhyncus* n. sp.

E-H : *Haloceras* sp.

Échelle : 1 mm

(photos : M. Matabos)

CHAPITRE 3

**Structure génétique de *Lepetodrilus elevatus*
à méso-échelle : Recherche de marqueurs
nucléaires polymorphes.**



CHAPITRE 3

Structure génétique de *Lepetodrilus elevatus* à méso-échelle : Recherche de marqueurs polymorphes

3.1. Introduction

En raison des capacités de nage réduites des larves planctoniques (Bradbury & Snelgrove 2001), leur transport dépend principalement des courants hydrodynamiques. S'il a d'abord été suggéré que les larves hydrothermales étaient principalement transportées *via* les panaches hydrothermaux (Mullineaux *et al.* 1995b) le long de la vallée axiale des dorsales océaniques, des études plus récentes ont montré que les larves de certains taxons étaient significativement plus abondantes dans les zones proches du fond (Kim & Mullineaux 1998, Mullineaux *et al.* 2005). Combinant une analyse de la distribution des abondances des larves et de données courantométriques, Kim & Mullineaux (1998) ont estimé la proportion de larves d'organismes hydrothermaux se dispersant *via* les courants de fond ou les panaches. Ainsi, la proportion de larves entraînées dans les panaches hydrothermaux est fonction de la vitesse de formation du panache (i.e. plus un fumeur est vigoureux, plus sa vitesse d'entraînement est élevée et plus le nombre de larves entraînées augmente) et de la vitesse des courants de fond (plus celle-ci est élevée, plus les larves vont avoir tendance à se maintenir à proximité du fond).

Au-delà des mécanismes physiques impliqués dans la dispersion, les distances de dispersion restent cependant encore très peu connues en milieu hydrothermal en raison d'une méconnaissance de la durée de vie des larves. A partir d'élevages et d'études du métabolisme larvaire, Marsh *et al.* (2001) ont estimé une durée de vie des larves du siboglinidé *Riftia pachyptila* à 40 jours. S'appuyant sur des mesures de courants à 9°50'N sur l'EPR, ils ont alors estimé une distance de dispersion d'une centaine de km. Chevaldonné *et al.* (1997), à partir de mesures courantométriques à 100 m et 200 m au dessus du fond à 13°N sur l'EPR, ont mis en évidence des renverses dans la direction du courant au cours du temps. Alors que les vitesses des courants résiduels étaient de l'ordre de 4,5 cm.s⁻¹ sur des périodes de 1 à 2 mois, elles n'étaient plus que de 2,2 et 2,4 cm.s⁻¹ à 100 m et 200 m sur une période de 159 jours. Après plusieurs simulations s'appuyant sur ce schéma de circulation, ces auteurs en ont déduit une distance parcourue de 8 à 40 km pour une durée de vie larvaire de 2 à 10 jours pour la polychète *Alvinella pompejana*. En réponse à ces renverses de courant, la corrélation

entre la distance parcourue par une larve et sa durée de vie n'est plus valide à partir d'un certain nombre de jours (Chevaldonné *et al.* 1997, Marsh *et al.* 2001). Enfin, Pradillon *et al.* (2001), à partir de mesures en aquarium pressurisé, ont montré que les embryons de la polychète *Alvinella pompejana*, stoppaient leur développement dans des eaux abyssales à 2°C jusqu'à un nouveau contact avec une eau plus chaude. Ces éventuels arrêts de croissance seraient à même de favoriser un transport sur de très grandes distances.

Chez les gastéropodes hydrothermaux, le transport larvaire semble s'effectuer principalement par les courants de fond (Metaxas 2004, Mullineaux *et al.* 2005). Des analyses morphologiques de la coquille larvaire ont indiqué que ces espèces possédaient un mode de développement larvaire non planctotrophe et ont donc suggéré une dispersion limitée (Lutz *et al.* 1986, Craddock *et al.* 1997). Cependant, même pour une larve lécithotrophe, plusieurs facteurs peuvent affecter la durée de vie larvaire tels que l'absorption de matière organique dissoute ou un ralentissement du métabolisme dans des eaux froides (Mullineaux & France 1995, Mullineaux *et al.* 1998). D'autre part, d'autres mécanismes, tels que la phorésie, ont déjà été évoqués comme moyen alternatif à la dispersion (Zal *et al.* 1995).

Ces dernières années, l'émergence des outils moléculaires a permis d'appréhender indirectement les patrons de dispersion larvaire des espèces hydrothermales (Vrijenhoek 1997, Shank & Halanych 2007). En effet, une espèce qui recrute dans un nouveau site apporte avec elle une information génétique de sa population source. Il est donc possible, à partir de l'analyse de la structure génétique des populations, de mettre en évidence les patrons des flux géniques passés, d'inférer les patrons historiques de colonisation et d'estimer les taux de migration/dispersion ainsi que le degré d'isolement des populations. Les facteurs influençant l'organisation de la variabilité génétique peuvent être (1) la présence de barrières géographiques ou hydrodynamiques qui peut perturber les patrons de migration ; (2) le taux d'extinction-recolonisation qui contrôle partiellement la taille des populations locales et influence directement l'effet de dérive ; et enfin, (3) l'hétérogénéité de l'habitat qui peut également affecter significativement la variabilité génétique par sélection différentielle. En effet, les variations environnementales, en termes de conditions physico-chimiques, de température et d'interactions biologiques, peuvent favoriser le balayage d'un variant génétique au sein d'un champ hydrothermal s'il présente une valeur adaptative plus élevée ou, à l'inverse, maintenir un polymorphisme génétique entre plusieurs segments isolés d'une dorsale si la sélection s'opère sur l'hétérozygote.

Au niveau de la portion de dorsale ultra rapide SEPR, l'activité hydrothermale est relativement continue et importante entre 13°S et 19°S comme en témoigne la présence de panaches hydrothermaux couvrant environ 60% de cet axe (Urabe *et al.* 1995, Baker & Urabe 1996). Celle-ci est directement liée à la présence d'une chambre magmatique axiale (AMC) peu profonde, largement répandue le long de ce segment de dorsale. L'analyse chimique de la composition des panaches hydrothermaux a révélé des épisodes volcaniques fréquents en comparaison des dorsales moins rapides (Urabe *et al.* 1995). Ainsi, la présence d'une activité hydrothermale continue associée à la présence d'une AMC étendue entraîne une distribution quasi-continue des sites, facilitant *a priori* la dispersion d'un champ à l'autre. A l'inverse, ces fréquents évènements de volcanisme vont entraîner un taux d'extinction-recolonisation plus élevé et donc entraîner une forte fluctuation de la taille des populations (Jollivet *et al.* 1999).

Peu de marqueurs moléculaires ont été développés pour les organismes hydrothermaux. Les premières études de structure génétique concernant ces espèces ont principalement été appréhendées par l'utilisation de marqueurs allozymiques (Jollivet *et al.* 1995, Craddock *et al.* 1997) ou à partir du séquençage de gènes mitochondriaux, le plus souvent celui codant pour la Cytochrome Oxydase I (Peek *et al.* 1997, Peek *et al.* 2000, Hurtado *et al.* 2004, Johnson *et al.* 2006). La première étude génétique basée sur la technique d'AFLP (Amplification of Fragment Length Polymorphisms) chez le siboglinidé *Riftia pachyptila* a pourtant montré que l'utilisation de ce type de marqueur (très polymorphe) permettait une étude plus fine de la variabilité génétique intra-spécifique et serait donc plus appropriée à l'étude des mécanismes de dispersion larvaire (Shank & Halanych 2007). Le développement de marqueurs moléculaires nucléaires neutres et très variables est donc nécessaire pour mieux comprendre le rôle de la dispersion sur la mise en place des structures génétiques.

Dans le cadre du chapitre 1, il a été suggéré sur la base des marqueurs allozymiques que la variabilité génétique entre champs hydrothermaux pouvait être aussi importante que la variabilité au sein d'un champ pour les deux clades de *Lepetodrilus elevatus*. Cependant, la distance entre les champs pris en considération ne permettait pas nécessairement d'estimer le rôle de la dispersion à une échelle plus fine. Par ailleurs, la variabilité observée au niveau de marqueurs allozymiques est vraisemblablement sous-estimée, certaines variations n'étant pas exprimées au niveau enzymatique, et ces gènes peuvent, de plus, être soumis à sélection, sous l'influence de l'environnement (Jollivet *et al.* 1995, Piccino *et al.* 2004). Le but de ce chapitre est donc d'obtenir et tester de nouveaux marqueurs nucléaires polymorphes au sein

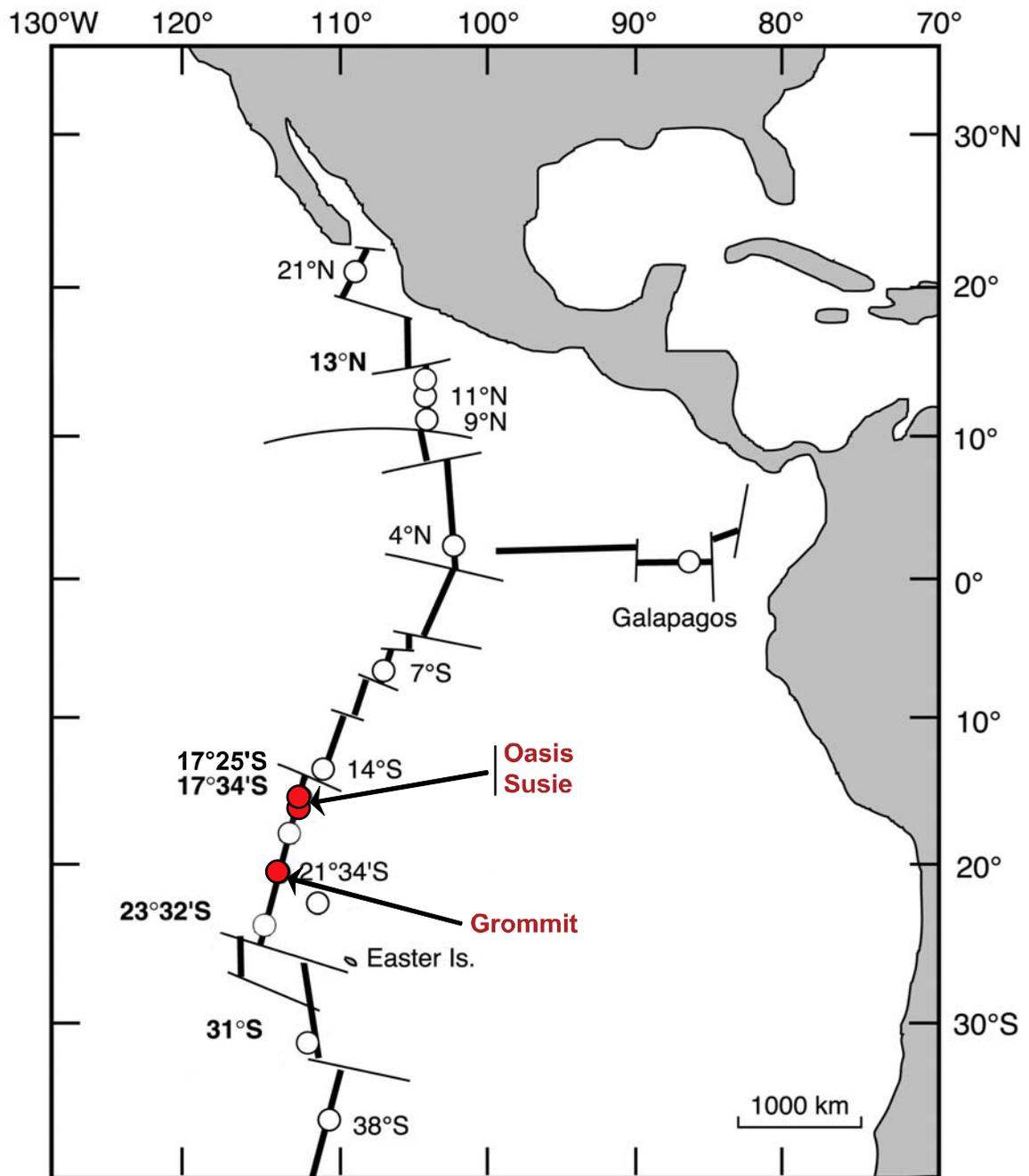


Figure 3.1. Localisation des sites de prélèvement le long de la dorsale du Pacifique oriental sud (SEPR).

des populations de *Lepetodrilus elevatus* du clade sud en effectuant une première analyse de la structure génétique à méso-échelle afin d'estimer l'importance relative des mécanismes de dispersion et des phénomènes d'extinction-recolonisation sur la distribution spatiale de la diversité génétique. Pour cela 9 locus nucléaires, dont le marqueur Dalp *Lep 1* (cf Chapitre 1), ont été utilisés pour génotyper trois populations de *L. elevatus* comprises entre 17°25'S et 21°33'S. Le choix de ces populations a été effectué en relation avec la récolte de larves au-dessus de celles-ci durant la mission BIOSPEEDO.

3.2. Matériels et méthodes

3.2.1. Echantillonnage et sites d'étude

Tous les individus de *Lepetodrilus elevatus* ont été récoltés sur des coquilles de *Bathymodiolus thermophilus* prélevées à l'aide de la pince du Nautile (IFREMER) lors de la mission BIOSPEEDO 2004 (Jollivet *et al.* 2004). Pour cette étude préliminaire, les échantillons provenaient de 3 champs hydrothermaux choisis le long de la dorsale EPR sud : le site Oasis à 17°25'S, le site Susie à 17°34'S, les deux étant séparés de 20 km, et le site de Grommit à 21°33'S situé à environ 400 km au sud (Figure 3.1.). Ce choix a été réalisé de manière à disposer de deux échelles spatiales compatibles avec les quelques connaissances supposées des distances de transport des larves. Les individus ont été conservés dans de l'alcool à 80° à l'issue de l'échantillonnage. La localisation des populations, le nombre d'individus et le numéro de plongée sont détaillés dans le Tableau 3.1.

3.2.2. Mise au point des marqueurs nucléaires

Une banque d'ADNc a été construite à partir d'un lot d'individus échantillonnés sur le site Oasis à 17°25'S durant la mission BIOSPEEDO et conservés dans l'azote liquide⁵. Pour obtenir la banque d'ADNc, les ARNm ont été purifiés après extraction des ARN totaux sur résine oligodT (Kit PromegaTM). Les ADNc ont alors été synthétisés par rétrotranscription à l'aide d'un oligodT ancré, puis amplifiés. Le clonage des produits d'amplification, purifiés sur colonne QIAquickTM, a permis l'obtention d'un million de clones qui ont fait l'objet d'un sous-échantillonnage pour être ensuite séquencés. Après un premier criblage partiel de la banque, 900 séquences ont été obtenues et ont permis de sélectionner 10 gènes d'intérêt présentant du polymorphisme nucléotidique au niveau de la région exonique dont 3 ont fait l'objet d'une amplification spécifique au niveau populationnel sur l'ADN génomique pour rechercher un

⁵ La construction de la banque a été réalisée par Arnaud Tanguy (équipe EGPM, UMR 7144, Station Biologique de Roscoff). Les séquences des clones ont été réalisées au Centre National de Séquençage du Génomique à Evry.

Tableau 3.1. Caractéristiques des échantillons de *Lepetodrilus elevatus* récoltés le long de la dorsale du Pacifique oriental sud (SEPR) et utilisés pour l'étude la structure génétique des populations à méso-échelle.

Site	Champ	Coordonnées	Plongée	Date	Nb individus
Oasis	17°25'S	17°25,384'S - 113°12,289'W	1579	19/04/04	53
Susie	17°34'S	17°35,450'S - 113°14,828'W	1588	29/04/04	54
Grommit	21°33'S	21°33,669'S - 114°17,905'W	1575	14/04/04	50

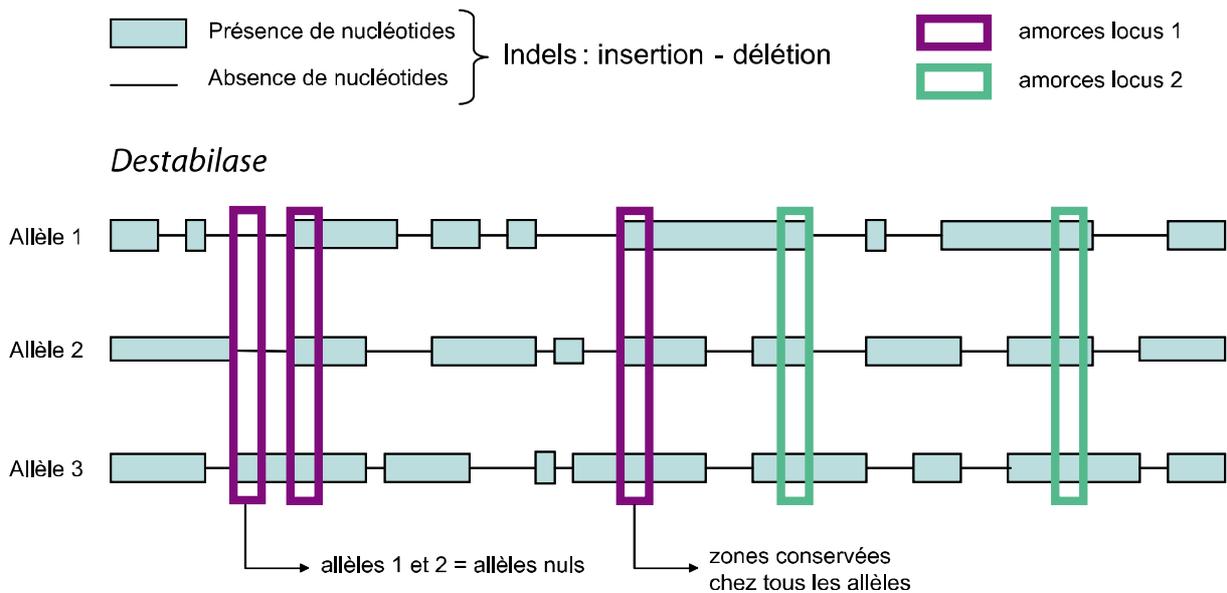


Figure 3.2. Représentation schématique illustrant le protocole de mise en place des marqueurs nucléaires à partir des séquences totales des gènes sélectionnés sur l'exemple de la *Destabilase*. Les 3 séquences illustrées correspondent à 3 allèles d'un même gène. Plusieurs paires d'amorces ont été définies par gène sur différents introns présentant des indels.

polymorphisme d'indels : la *destabilase* et la *textilinine*, gènes codant pour des protéases et pouvant être impliquées dans la digestion et le recyclage des protéines, et la Veliger Digestive Gland 3 (*vdg3*) qui est un gène retrouvé dans le tractus digestif des larves de mollusques et potentiellement impliqué dans la métamorphose (Plouviez 2006). Les trois portions de gènes *Destabilase*, *Textilinine* et *Vdg3* ont une taille respective de 1684pb, 895pb et 912pb et présentent une structure exon-intron-exon. Vingt à 30 individus caractéristiques du clade sud ont été séquencés afin d'évaluer le niveau de polymorphisme existant au sein de ces gènes. Des amorces amplifiant des marqueurs nucléaires présentant un polymorphisme d'indels (insertion/délétion de plusieurs paires de bases) ont été définies sur les parties conservées alignées sur l'ensemble des allèles séquencés (cf. Figure 3.2)⁶. Les allèles ainsi identifiés présentaient des différences de taille inférieures à quelques dizaines de paires de base. De telles différences de taille sont visibles par électrophorèse sur gel de polyacrylamide dénaturant à condition d'avoir des produits d'amplification d'une taille comprise entre 80 à 300 paires de bases. Il a donc été nécessaire de définir plusieurs paires d'amorces pour chaque gène de façon à pouvoir analyser de façon combinée le polymorphisme présent tout au long du gène : 3 paires pour la *Destabilase* et 2 pour la *Textilinine* et la *Vdg3*. Les séquences des amorces et le nombre d'allèles identifiés par locus sont fournis dans le Tableau 3.2.

En plus de ces marqueurs, trois marqueurs microsatellites ont été développés à partir de la même banque d'ADNc. Les caractéristiques de ces marqueurs figurent dans le Tableau 3.3. Enfin, le locus *Lep 1* défini au chapitre 1 a été pris en compte.

3.2.3. Génotypage des individus

Pour chaque individu, l'ADN génomique total a été extrait et purifié avec le Kit Nucleopsin® Tissue selon les recommandations du fabricant (Macherey-Nagel). Pour tous les locus excepté le *Lep 1* (cf. Chapitre 1), les amplifications par PCR ont été réalisées dans 15µl d'un milieu réactif contenant 4 µl d'ADN (dilution au 1/20^{ème}), 1x de tampon de PCR, 1,25 mM de MgCl₂, 2 µg.µl⁻¹ de BSA à 2%, 0,33 µM de l'amorce anti-sens, 0,26 µM de l'amorce sens non marquée, 0,1 µM de l'amorce sens marquée, 0,35 U d'ADN Taq polymérase Thermoprime Plus DNA polymerase (ABgene), 1 mM de chaque dNTP, et le reste en eau milliQ stérile. Les amorces sens sont marquées en 5' par les fluorochromes IRD700™ ou IRD800™ (MWG Biotech) visibles dans l'infrarouge à 700 et 800 nm. Les conditions d'amplifications sont les suivantes : (1) une étape initiale de dénaturation de 2 mn

⁶ Le travail de définition des marqueurs nucléaires a été effectué par S. Plouviez (équipe EGPM, UMR 7144, Station Biologique de Roscoff) sous la direction de Didier Jollivet.

Tableau 3.2. Séquences des amorces définies pour chaque locus de chaque gène avec le nombre N d'allèles identifiés pour chaque locus à partir des séquences (voir texte).

<i>Locus</i>	<i>Destabilase</i>		<i>Textilinine</i>		<i>Vdg3</i>	
	Séquences	N	Séquences	N	Séquences	N
<i>pol 1</i>	F-GGTAGAAACCTATAACCAAGTGATG R-CAGTGTATTACGAGAAAAGAAGA	3	F-GATAAAAGTGGTTCGTGC R-TGTAGTAAACCTGCGAGC	8	F-GCCAACGCCAACTTCTTCTG R-TCCAGCTGCTAAGAAACAATGTATC	3
<i>pol 2</i>	F-GCAATGCACTCCTCTCCG R-CGAGAATATTTGGTTACTTGACATC	5	F-TGGCGTAAAGCGTAAATATCCC R-AATAGCCCTTACACATGCCTCC	5	F-TCTCTCATCAGCAATAGCAT R-TTGAGAGTTATTTATGATAGGAA	3
<i>pol 3</i>	F-TTTTCCAATGAATTTCCAAAGTAT R-CAGGCTGTGAAGAAAACAAAAGTA	3	-	-	-	-

Tableau 3.3. Séquences des amorces définies dans des régions UTR de gènes codant pour les locus microsatellites.

<i>Locus</i>	Motifs microsatellites	Séquences
<i>Le1YB07</i>	TATATATATATATA	F-GCATGGAGGGAGCAGTGTAGTG R-ACGAGGGCTACCAAGAAAGTCAAG
<i>Le3YD03</i>	ACACACACACAC	F-GTCGTTTTTGACAAGTCTGCCG R-AAAGCGATTATATGTATGATAAGTGC
<i>LeYN19</i>	CACACACACA	F-TTTCATTTAGTTGAGTTTAGCCC R-TCAGCGAAGTCCAGAGG

à 94°C, (2) 35 cycles comprenant 30 s de dénaturation à 91°C, 30 s d'hybridation de l'amorce à T_m °C et 25 s d'élongation à 72°C, (3) une étape finale d'élongation à 72°C durant 5 mn. Les températures d'hybridation des différentes amorces sont présentées pour chaque locus dans le Tableau 3.4.

Après dénaturation à 95°C pendant 5 mn en présence du tampon de charge contenant du formamide 95 % et un colorant rouge (Congo Red), les produits de PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide Long Ranger à 6% de 41 cm dans du tampon Tris-Borate-EDTA 1X à 1200V et 30W dans un analyseur de fragment de type Li-Cor NEN 4200™. La durée des électrophorèses a variée entre 45 mn et 2 h selon la longueur des fragments. Les allèles ont été nommés d'après leur taille déterminée grâce à des marqueurs de taille connue.

3.2.4. Analyses

Pour chaque population, les fréquences alléliques, le nombre moyen d'allèles par locus (N_{all}), l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_{NB}) ont été estimés avec le logiciel Genetix 4.05 (Belkhir *et al.* 2004). La richesse allélique (R_s) a été calculée à l'aide du logiciel Fstat 2.9.3.2 (Goudet 2001). Le détail des calculs de ces paramètres est fourni dans le chapitre 1. L'hypothèse nulle d'indépendance entre locus a été testée à l'aide du logiciel Genetix 4.05 et a permis de vérifier la dépendance physique des marqueurs situés sur le même gène. Il n'a cependant pas été possible de regrouper l'information entre marqueurs issus d'un même gène.

Afin d'analyser l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg, l'indice de fixation de Wright (F_{is}) a été calculé pour chaque population et chaque locus selon l'estimation du f de Weir & Cockerham (1984). La valeur de f estimée a été testée grâce à un test par permutations avec Genetix 4.05 (Belkhir *et al.* 2004). Pour cela un ré-échantillonnage de la valeur du F_{is} a été réalisé 1000 fois de suite en permutant les allèles entre génotypes à l'intérieur de la population.

Etant donnée les forts déséquilibres de liaisons observés entre locus supposés indépendants (cf. résultats) et l'impossibilité de combiner les allèles des locus d'un même gène, la structure génétique dans l'espace a été appréhendée à partir d'analyses plus robustes impliquant moins d'hypothèses sous-jacentes. Pour cela, les données ont été transformées en matrice de présence/absence avec un score de 1 pour la présence de l'allèle chez un individu, et 0 pour l'absence. Les données non renseignées ont été codées avec un '?'. Chaque individu

Tableau 3.4. Température d'hybridation des amorces pour les différents locus nucléaires testés.

Gène	Locus	Température d'hybridation des amorces (°C)
<i>Destabilase</i>	<i>pol 1</i>	51
	<i>pol 2</i>	58
	<i>pol 3</i>	57
<i>Textilinine</i>	<i>pol 1</i>	49
	<i>pol 2</i>	59
<i>Vdg3</i>	<i>pol 1</i>	61
	<i>pol 2</i>	49
	<i>LeYN19</i>	49
	<i>Le3YD03</i>	49
	<i>Le1YB07</i>	51

Tableau 3.5. Décomposition de la variance totale lors de la réalisation d'une Analyse MOléculaire de VAriance (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992) dans le cas de données haplotypiques. P = nombre de populations. N = nombres d'individus.

Source de variation	Degrés de liberté (ddl)	Somme des carrés (SCE)	Carré Moyen attendu (CM = SCE/ddl)
Au sein d'un population	P-1	SSC(WP)	σ_b^2
Entre population	N-P	SSC(AP)	$n\sigma_a^2 + \sigma_b^2$
Totale	N-1	SSC(T)	σ_T^2

s'est donc vu assigné à une « séquence » à 2 caractères (0 et 1). Ces séquences ont été traitées par la suite comme des données haplotypiques avec autant de sites que d'allèles (i.e. 34). Le programme RESTDIST du logiciel Phylip 3.67 (Felsenstein 1981) a permis de générer une matrice de distance entre paire d'individus calculée grâce à la distance originale du F de Nei et Li (1979) selon la formule :

$$F = \frac{n_{++}}{n_{++} + \frac{1}{2}(n_{+-} + n_{-+})}$$

avec n_{++} le nombre de « sites » (allèles) communs aux deux individus, n_{+-} le nombre de « sites » présents chez le premier individu et absents chez le deuxième et n_{-+} le nombre de « sites » présents chez le deuxième individu et absents chez le premier. Un arbre a ensuite été construit selon la méthode UPGMA avec le programme NEIGHBOR sous Phylip 3.67 (Felsenstein 1981).

Afin de détecter une éventuelle différenciation génétique entre les trois populations, une Analyse MOléculaire de VAriance (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992) a été effectuée sous le logiciel Arlequin 2.0 (Schneider *et al.* 2000). Le test a été réalisé à partir des différences nucléotidiques (et/ou états de caractère), chaque site étant considéré comme un locus indépendant. Cette analyse est équivalente à une analyse de variance hiérarchique. La variance totale (σ^2_T) est répartie en composantes qui sont attribuées aux différences nucléotidiques (et/ou états de caractère) au sein d'une population (σ^2_a), et aux différences nucléotidiques (et/ou états de caractère) entre des différentes populations (σ^2_b). Dans le cas d'une structure hiérarchique simple considérant uniquement des individus haploïdes dans différentes populations, le calcul aboutit au calcul d'un indice de fixation Φ_{ST} analogue au θ de Weir & Cockerham (1984) (F_{ST} moyen pondéré sur la totalité des locus). Le schéma général de l'AMOVA est résumé dans le Tableau 3.5.

La valeur du F_{ST} est calculée selon la formule :

$$F_{ST} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2}$$

avec σ_a^2 , la composante de la variance liée aux différences entre haplotypes dans les différentes populations et σ_T^2 la variance totale.

Le σ_a^2 et F_{ST} sont testés après 1000 permutations des haplotypes entre les populations. Dans ce cas précis l'analyse est effectuée sur des séquences à 2 états de caractère et non 4 comme dans le cas de séquences nucléotidiques.

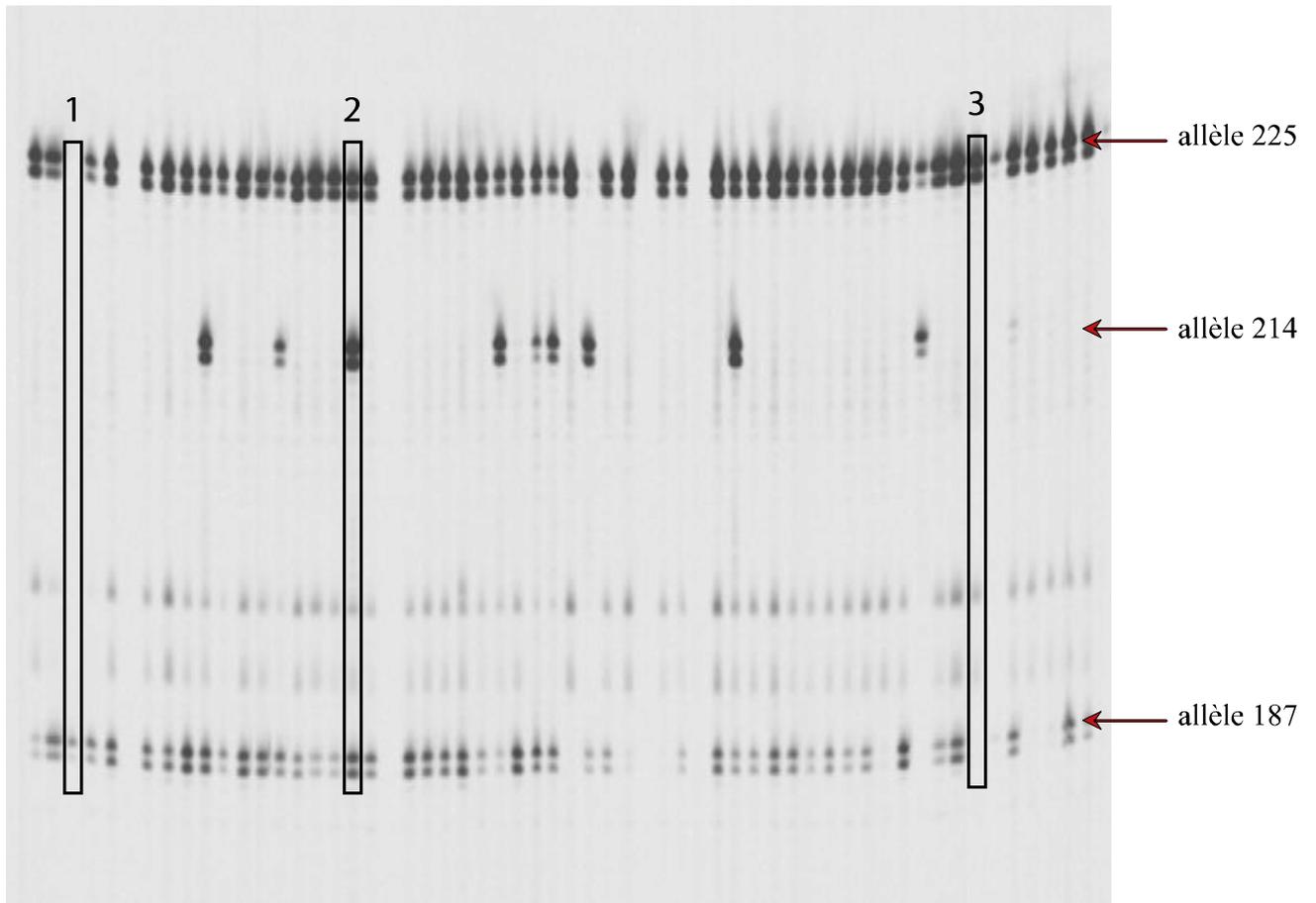


Figure 3.3. Photos de gel de polyacrylamide illustrant le génotypage du locus *destabilase pol 3*. L'allèle 187 présente une intensité plus faible que l'allèle 225. 1 : présence de l'allèle 187 et absence de l'allèle 225 indiquant que l'allèle 187 ne correspond pas à un écho de l'allèle 225. 3 : absence de l'allèle 187 et présence de l'allèle 225. 2 : individu « multibandes » caractérisé par la présence de 3 « allèles ».

La statistique S_{mn} (Hudson 2000) a été calculée à l'aide du logiciel DnaSP 4.0 (Rozas et al. 2003). L'analyse a également été adaptée à des séquences à 2 états de caractère en assimilant l'absence d'un allèle (ou caractère) à un A et la présence à un T. La statistique S_{mn} calcule le nombre de fois où le plus proche voisin (en terme de différences nucléotidiques - ici la présence/absence d'allèles) appartient à la même localité selon la formule :

$$S_m = \sum_{j=1}^n X_j / n$$

avec n , le nombre d'individus, et $X_j = W_j / T_j$ tel que W_j est le nombre de plus proches voisins de l'individu j provenant de la même localité, et T_j , le nombre de plus proches voisins de j dans la totalité des échantillons.

X_j fournit ainsi la proportion des plus proches voisins issus de la même localité pour chaque individu j (j variant de 1 à n). S_{mn} correspond à la moyenne de cette proportion pour tous les individus. Cette statistique a été montrée être puissante et fiable quelque soit le niveau de diversité haplotypique observé (Hudson 2000). La significativité du S_{mn} est testée après 1000 permutations du jeu de données.

3.3. Résultats

Sur les 7 locus définis dans les 3 gènes, 5 ont pu être amplifiés avec succès : les locus *destabilase pol 1* et *pol 3*, *textilinine pol 2*, *vdg3 pol 1* et *pol 2*. Les deux autres locus : *destabilase pol 2* et *textilinine pol 1* n'ont pas amplifié ou présentaient des profils non interprétables en raison d'un nombre trop important de bandes de tailles extrêmement variables au sein d'un même individu. Sur les 3 locus microsatellites testés, seul le locus *Le3YD03* était polymorphe (i.e. 3 allèles). Ainsi, en incluant le locus *Lep 1*, un total de 7 locus a pu être analysé sur les trois populations.

Cependant, plusieurs problèmes ont été rencontrés lors du génotypage. La quasi-totalité des locus présentaient un nombre important d'échos qu'il a été difficile d'identifier dans un premier temps. Une observation plus fine de ces bandes d'intensité variable a montré la présence au niveau du locus *destabilase pol 3* d'une bande de faible intensité correspondant en réalité à un allèle (*Destabilase pol 3-187* ; Figure 3.3). Après avoir distingué les bandes correspondant à des allèles ou à des échos, une seconde difficulté, liée à la présence d'individus multibandes présentant trois allèles sur un même locus, est apparue. Le même problème a été rencontré pour le locus *destabilase pol 1*. Après séquençage d'un certain nombre d'individus pour le gène de la *destabilase*, il s'est avéré que ce dernier constitue en

Tableau 3.6. Fréquences alléliques pour chaque locus et chaque population de *Lepetodrilus elevatus*. N : nombre d'individus analysés

	Oasis	Susie	Grommit
N	53	54	51
<i>Locus</i>			
allèle			
<i>Destabilase pol 1</i>			
N	43	54	47
202	0,034	0,056	0,065
204	-	0,046	0,044
206	0,500	0,306	0,630
207	0,466	0,583	0,261
209	-	0,009	-
<i>Destabilase pol 3</i>			
N	50	54	50
187	0,150	0,204	0,170
214	0,060	0,056	0,080
225	0,790	0,741	0,750
<i>Textilinine pol 2</i>			
N	45	52	48
079	0,022	-	-
093	0,011	0,029	0,021
116	0,067	0,115	0,177
118	0,556	0,269	0,292
119	0,344	0,587	0,510
<i>Vdg3 pol 1</i>			
N	48	52	45
209	0,844	0,664	0,438
214	0,133	0,337	0,563
216	0,022	-	-
<i>Vdg3 pol 2</i>			
N	40	52	44
168	0,012	-	-
180	0,425	0,356	0,523
181	0,500	0,510	0,184
187	0,063	0,135	0,193
<i>Le3YD03</i>			
N	48	54	46
131	0,333	0,269	0,304
133	0,667	0,722	0,696
139	-	0,009	-
<i>Lep 1</i>			
N	29	41	34
161	-	0,024	0,015
163	0,276	0,354	0,250
168	0,155	0,085	0,088
171	-	0,024	0,015
173	0,017	0,098	0,015
176	0,397	0,293	0,368
177	0,155	0,122	0,250

réalité un complexe multigénique avec la présence d'au moins 2 gènes détectés à partir de mutations au sein de l'exon (Zvalova *et al.* 2000). L'analyse des séquences obtenues sur une dizaine d'individus n'a pas permis de faire la part entre les allèles observés en terme de polymorphisme de longueur dans la mesure où les deux gènes présentaient des allèles de même taille. Nous avons donc tenté de définir des amorces amplifiant spécifiquement chacun des gènes, mais l'absence de parties conservées diagnostiques pour chaque gène n'a pas permis l'obtention d'amorces adéquates pour le locus *destabilase pol 1*. Dans un souci de cohérence, la totalité des bandes a alors été considérée pour chacun des locus. Seules les bandes présentant des intensités relativement comparables ont été considérées ce qui a permis de s'affranchir de la présence d'individus multibandes. Il semblerait que le gène codant pour la *vdg3* fait lui aussi partie d'un complexe multigénique (Jackson *et al.* 2005) sans que nous puissions ici savoir si ceux-ci peuvent être co-amplifiés par un même jeu d'amorces.

D'autre part l'analyse des séquences obtenues par Plouviez (comm. pers.) a montré la présence d'au moins un allèle nul sur le locus de la *destabilase pol 1*. Des amorces amplifiant spécifiquement cet allèle ont été définies. La visualisation de cet allèle sur gel d'agarose a montré qu'il était présent en forte fréquence. Cependant, sa prise en compte dans le génotypage aurait conduit à l'existence d'un grand nombre d'individus présentant 3 bandes au même locus.

3.3.1. Diversité génétique et écarts à l'équilibre de Hardy-Weinberg

Les fréquences alléliques pour chaque locus sont présentées dans le Tableau 3.6. La population d'Oasis possède 1 allèle privé au niveau de 3 locus (*Textilinine pol2*, *Vdg3 pol 1*, et *Vdg3 pol 2*) et la population de Susie en possède 1 au niveau des locus *Le3YDO3* et *Destabilase pol 1*. Ces allèles correspondent tous à des allèles rares ($q < 0,05$) et pourraient constituer un biais d'échantillonnage. Un allèle rare présent dans toutes les populations a également été observé sur le locus *Textilinine pol 2* (allèle 93) (Tableau 3.6). La richesse allélique et l'hétérozygotie observée sont relativement faibles et homogènes entre les populations. La richesse allélique varie entre 3,44 et 3,68 alors que l'hétérozygotie observée est comprise entre 0,295 et 0,376 (Tableau 3.7).

Les trois populations présentent un écart significatif à l'équilibre de Hardy-Weinberg avec un important déficit en hétérozygotes (Tableau 3.7). Ce déficit se retrouve dans toutes les populations sur la quasi-totalité des locus à l'exception des deux locus de la *Destabilase* et

Tableau 3.7. Valeurs des Fis aux 7 locus nucléaires (* p<0,05 ** p<0,001) et variabilité génétique pour chaque population. N_{all} : nombre moyen d'allèles par population. Hétérozygoties observée (H_o) et attendue (H_{NB}; Nei 1987) (±SD). R_s : richesse allélique.

	Oasis	Susie	Grommit	Tous
fis				
Destabilase pol 1	-0,358*	0,019	0,106	-0,066
Destabilase pol 3	-0,076	-0,175	-0,034	-0,098
Textilinine pol 2	0,538**	-0,004	0,407**	0,055**
Vdg 3 pol 1	0,348*	0,448**	0,751**	0,549**
Vdg 3 pol 2	0,435**	0,331**	0,560**	0,437**
Lep 1	0,627**	0,621**	0,647**	0,631**
Le3YD03	0,539**	0,821**	0,698**	0,687**
Fis total	0,326**	0,305**	0,467**	0,367**
N _{all}	3,571	3,857	3,571	
H _o	0,337	0,376	0,295	
H _{NB}	0,499	0,540	0,550	
	(±0,154)	(±0,128)	(±0,0120)	
R _s	3,440	3,684	3,484	

Tableau 3.8. Déséquilibres de liaisons pour chaque population et pour toutes les populations regroupées. Le tableau indique la valeur de p. * p<0,05 ** p<0,001.

	Oasis (17°25S)	Susie (17°34S)	Grommit (21°33S)	Toutes
<i>Dest pol 1 - Dest pol 3</i>	0,063	0,000**	0,000**	0,000**
<i>Dest pol 1 - Text pol 2</i>	0,820	0,199	0,091	0,004**
<i>Dest pol 1 - Vdg3 pol 1</i>	0,043*	0,116	0,417	0,043*
<i>Dest pol 1 - Vdg3 pol 2</i>	0,170	0,604	0,048*	0,027*
<i>Dest pol 1 - Lep 1</i>	0,735	0,621	0,074	0,532
<i>Dest pol 1 - Le3YD03</i>	0,960	0,651	0,566	0,961
<i>Dest pol 3 - Text pol 2</i>	0,304	0,515	0,810	0,781
<i>Dest pol 3 - Vdg3 pol 1</i>	0,669	0,481	0,532	0,615
<i>Dest pol 3 - Vdg3 pol 2</i>	0,661	0,044*	0,832	0,147
<i>Dest pol 3 - Lep 1</i>	0,449	0,242	0,413	0,518
<i>Dest pol 3 - Le3YD03</i>	0,412	0,288	0,190	0,592
<i>Text pol 2 - Vdg3 pol 1</i>	0,708	0,231	0,475	0,260
<i>Text pol 2 - Vdg3 pol 2</i>	0,700	0,214	0,688	0,609
<i>Text pol 2 - Lep 1</i>	0,820	0,510	0,641	0,542
<i>Text pol 2 - Le3YD03</i>	0,063	0,881	0,204	0,266
<i>Vdg3 pol 1 - Vdg3 pol 2</i>	0,056	0,000**	0,000**	0,020*
<i>Vdg3 pol 1 - Lep 1</i>	1,000	0,442	0,067	0,295
<i>Vdg3 pol 1 - Le3YD03</i>	0,454	0,797	0,237	0,592
<i>Vdg3 pol 2 - Lep 1</i>	0,767	0,894	0,016*	0,832
<i>Vdg3 pol 2 - Le3YD03</i>	0,747	0,584	0,578	0,849
<i>Lep 1 - Le3YD03</i>	0,440	0,543	0,417	0,093

de celui de la *Textilinine*. Un déficit en hétérozygotes n'a été observé que dans les populations d'Oasis et de Grommit pour la *Textilinine pol 2*. A l'inverse, un excès en hétérozygotes a été détecté dans la population d'Oasis pour la *Destabilase pol 1*. Un tel excès en hétérozygotes a également été détecté au niveau de la *Destabilase pol 3*, mais ce dernier n'était pas significatif. Le Fis multilocus estimé sur la globalité du jeu de données diffère significativement de zéro ($p=0,0001$) et pourrait s'expliquer soit par la présence d'allèles nuls dans le jeu de données, soit par le mélange d'entités génétiquement différenciées. Il convient également de noter que l'absence d'écarts à l'équilibre de Hardy-Weinberg aux locus de la *Destabilase* et de déficits généralisés aux locus *Vdg3* pourraient constituer des informations redondantes au sein d'un même gène et renforcent le signal observé pour chaque gène.

Sur une totalité de 21 tests, 5 déséquilibres de liaison ont été détectés entre locus (Tableau 3.8). Deux d'entre eux sont associés à une population et présentent chacun un seuil de significativité proche de 5% : *Destabilase pol 1-Vdg3 pol 1* pour la population d'Oasis ($p=0,043$) et *Destabilase pol 1- Vdg3 pol 2* pour la population de Grommit ($p=0,048$). Si un déséquilibre de liaison existe entre la *destabilase pol 1* et la *textilinine* sur la globalité des populations, celui-ci n'est pas significatif au sein des populations et pourrait être associé à un effet sélectif. Enfin, deux déséquilibres de liaison apparaissent hautement significatifs sur les locus appartenant à un même gène (i.e. *Destabilase pol 1 et pol 3*, et *Vdg3 pol 1 et pol 2*) et sont retrouvés sur au moins deux populations dans les deux cas. Ces déséquilibres sont attendus et traduisent une liaison physique inter-locus propre à chaque gène, et bien qu'ils n'aient pas été détectés au niveau de la population d'Oasis, leurs probabilités associées présentent des valeurs marginales au seuil habituel de 5% ($p=0,063$ et $p=0,056$ pour la *Destabilase* et la *Vdg3*; Tableau 3.8). Ces marqueurs présentent donc des informations dépendantes à regrouper dans les analyses.

3.3.2. Différenciation génétique entre populations

En raison de l'utilisation de certains locus physiquement liés et d'une déviation à l'équilibre de Hardy-Weinberg observée aux locus *Vdg3*, *Lep 1* et *Le3YD3* au sein de chaque population, des analyses classiques de différenciation multilocus impliquant le calcul d'indices de fixation pourraient être biaisées et n'ont donc pas été effectuées. En effet, l'estimation en terme de flux géniques de l'estimateur F_{st} implique que les populations soient à l'équilibre de Hardy-Weinberg. La différenciation génétique entre populations a donc été estimée à partir de méthodes plus robustes impliquant moins d'hypothèses sous-jacentes.

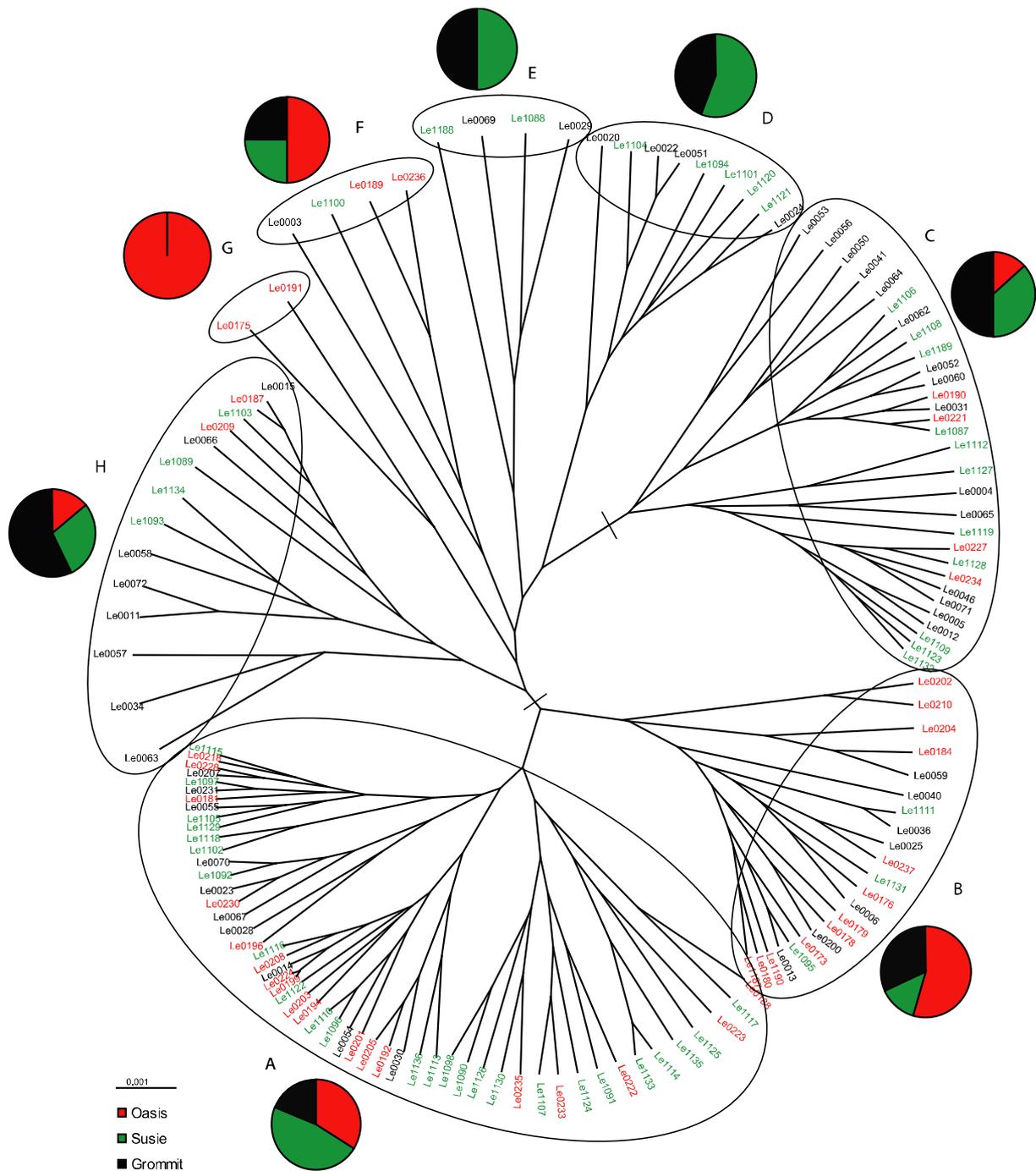


Figure 3.4. Arbre d'individus en étoile obtenu selon la méthode d'UPGMA le logiciel PHYLIP (Felsenstein, 1981), à partir du calcul de la métrique de Nei & Li (1979) $F = \text{nb de bandes communes} / \text{nb total de bandes}$. Les différents groupes ont été définis arbitrairement. Les camemberts représentent la proportion de chacune des populations dans les différents groupes.

L'arbre d'individus réalisé selon la méthode UPGMA à partir du calcul de la distance de Nei & Li (1979) est présenté sur la Figure 3.4. La topographie de l'arbre ne permet pas d'isoler les individus selon leur localité d'origine. Cependant, bien que la variabilité intra population paraisse équivalente à la variabilité inter population, il existe des différences remarquables entre les proportions géographiques des individus apparentés selon les clades considérés, suggérant une faible structuration des populations à méso-échelle. A ce titre, la population d'Oasis (en rouge) se distingue légèrement des autres avec 73% des individus répartis principalement dans les groupes A (47%) et B (55%) et est virtuellement absente des groupes CDE. L'ensemble des groupes restants rassemble 66,7% des individus provenant de la localité de Grommit dont 46,6% sont présents dans les groupes CDE. Ces 3 groupes sont constitués d'individus de Grommit à hauteur de 44 à 50%. Les individus échantillonnés à Susie sont répartis dans l'ensemble des groupes et ne montrent pas de structure particulière et pourraient présenter une position médiane entre les 2 autres populations.

Les résultats de l'AMOVA indiquent que seulement 6,4% de la variance est liée à la variabilité reflétant une faible structuration géographique ($F_{st}=0,064$; $p=0,000$). A l'inverse, la valeur globale du S_{mn} est égale à 0,328 et ne présente pas d'écart significatif à l'hypothèse nulle d'homogénéité entre les populations ($p=0,644$).

L'examen de l'évolution des fréquences alléliques pour 4 locus (i.e. *destabilase pol 1*, *textilinine pol 2*, *vdg3 pol 1* et *pol 2*) ne permet pas par ailleurs de mettre en évidence d'évolution cohérente en fonction de la distance géographique (Figure 3.5). Si les fréquences des deux allèles les plus communs du locus *vdg3 pol 1* évoluent régulièrement du site Oasis vers le site Grommit, cela n'est absolument pas le cas pour les allèles du locus *destabilase pol 1*.

3.4. Discussion

Cette étude est basée sur l'étude de nouveaux marqueurs moléculaires qui n'ont jamais été testés dans le cadre d'une étude de génétique des populations, et comme généralement admis dans la mise au point de marqueurs, plusieurs problèmes sont apparus au cours du temps. Le type de problème rencontré peut-être d'ailleurs particulièrement exacerbé lorsque le marqueur utilisé appartient à une famille de gènes dans laquelle des paralogues sont amplifiés plus ou moins facilement selon les individus considérés. Dans notre cas, les gènes de la *Destabilase* et du *Vdg 3* sont connus pour présenter plusieurs lignées de gènes paralogues (Zvalova *et al.* 2000, Jackson *et al.* 2005)

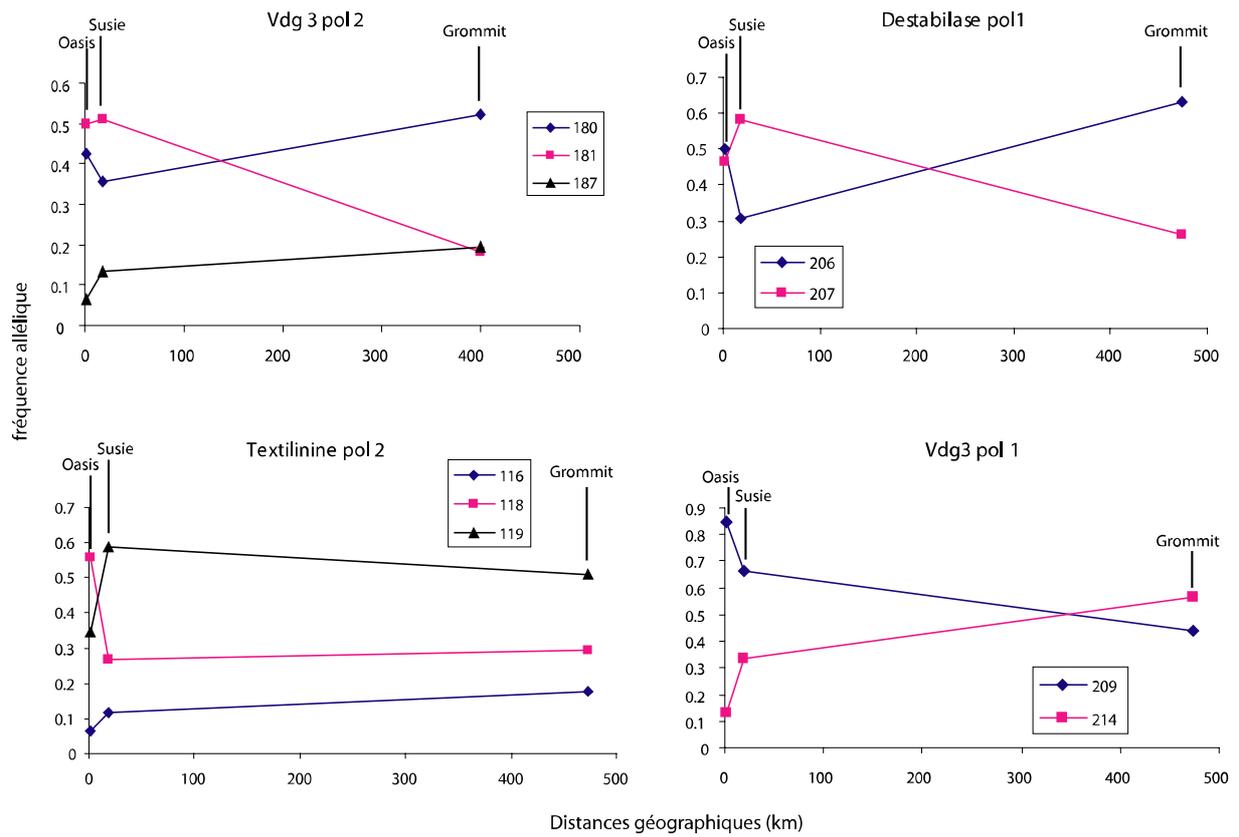


Figure 3.5. Variations des fréquences alléliques observées entre le long du gradient latitudinal.

Les amorces ont été définies à partir du séquençage de 20-30 individus ce qui peut représenter un faible effectif par comparaison avec les 150 individus génotypés dans le cadre de ce chapitre, il n'est donc pas surprenant que ces locus puissent présenter des allèles nuls par apparition ou disparition d'une zone de délétion dans la séquence sur la zone d'amorçage. L'existence d'au moins un allèle nul sur le locus *destabilase pol 1* a en effet été détectée par la suite après séquençage d'un plus grand nombre d'individus (S. Plouviez com. pers.). Ainsi, une forte variabilité des séquences entre individus peut rendre difficile l'identification de régions suffisamment conservées pour la définition d'amorces, posant la question de la validité des locus en comparaison d'une analyse directe des séquences des gènes.

Les amorces du locus *Lep1* ont été définies sur des individus appartenant au « clade nord ». La présence d'allèles nuls dans le clade sud ne peut donc pas être exclue s'il existe une forte divergence des séquences *Lep1* entre espèces cryptiques au niveau de la zone d'amorçage. Par ailleurs, un déficit en hétérozygotes a été préalablement détecté dans la population d'Oasis, corroborant ainsi l'hypothèse que ces amorces n'amplifient pas correctement les populations sud de la dorsale (cf. chapitre 1). Le déficit en hétérozygotes observé au niveau du locus microsatellite peut certainement être rattaché à l'existence d'allèles nuls, les amorces ayant également été définies sur un faible nombre de séquences.

Cependant, excepté pour le locus *Lep 1*, seul une petite proportion d'individus n'ont pas amplifié pour les différents locus suggérant que les allèles nuls, s'ils existent, sont présents en faible fréquence (Tableau 3.6). Le cas de la *destabilase pol 1* peut alors sembler paradoxal dans la mesure où 91% des individus ont amplifié alors qu'il a été montré l'existence d'un allèle nul avec une fréquence élevée. Sous l'équilibre de Hardy-Weinberg, un certain nombre d'individus devrait donc présenter un état homozygote pour cet allèle.

Un autre problème survenu lors du génotypage de la *destabilase* était lié à la quantité et la qualité des bandes obtenues. Certains individus étaient caractérisés par des profils multibandes au même locus et l'intensité des bandes apparaissait variable pour un même individu alors qu'un hétérozygote « vrai » devrait présenter deux bandes d'intensité égale (Figure 3.3), à moins qu'il y ait une grande différence de taille entre les deux allèles dans la mesure où nous savons que les allèles les plus petits sont préférentiellement amplifiés. Comme mentionné plus haut, il s'est avéré par la suite que ce gène correspondait en réalité à une famille multigénique, soit un complexe de plusieurs gènes dont les séquences sont suffisamment proches pour permettre leur co-amplification au sein d'un individu. S. Plouviez

a ainsi identifié au moins deux gènes associés à la *destabilase*, expliquant le profil des individus multibandes. Dans ce contexte, l'allèle nul non amplifié pourrait être caractéristique du deuxième gène.

Ces problèmes, associés au développement et à la mise au point de nouveaux marqueurs, n'ont pu être résolus dans le cadre de la fin d'une thèse en raison du temps imparti pour cette étude. Les résultats obtenus reflètent cependant une réalité biologique qui nous permet d'étayer certaines hypothèses, offrant ainsi différentes perspectives pour des recherches futures.

3.4.1. Diversité génétique et écarts à l'équilibre de Hardy-Weinberg

Le nombre d'allèles par locus est relativement faible, comme en témoigne les valeurs de richesse allélique et le nombre moyen d'allèles par locus. Ces locus présentent également une faible diversité génétique (H_o) qui rend difficile leur utilisation dans des études fines d'apparentement ou de détection d'immigrants récents. Les trois populations dévient significativement de l'équilibre de Hardy-Weinberg avec un déficit en hétérozygotes détecté sur la quasi-totalité des locus. Plusieurs hypothèses non exclusives peuvent être invoquées pour expliquer ce résultat en dehors des problèmes déjà évoqués et liés à la qualité même des marqueurs.

Des phénomènes d'autofécondation ou de consanguinité pourraient expliquer un tel déficit en hétérozygotes systématique sur l'ensemble des locus. Cependant, ces deux hypothèses peuvent être rejetées. Tout d'abord, *Lepetodrilus elevatus* est une espèce gonochorique à reproduction sexuée (Fretter 1988, McLean 1988), excluant donc le phénomène d'autofécondation. De plus, l'observation de gonades mâles et femelles chez une centaine d'individus de *Lepetodrilus elevatus* confirme l'absence d'hermaphrodisme chez cette espèce avec la présence d'un seul type de gamète présent au sein d'un même individu, et ce sur toute la gamme de taille (cf. Chapitre 4). D'autre part, les déficits ne sont pas observés à tous les locus dans chaque population, ce qui ne concorde pas avec l'attendu selon lequel le phénomène de consanguinité affecte l'ensemble du génome et en général l'ensemble des populations de l'espèce.

Un fort déficit en hétérozygotes peut aussi être le résultat d'un phénomène de sélection. La totalité des marqueurs utilisés dans cette étude sont supposés neutres, étant donné qu'ils ont été développés à partir d'introns qui sont des régions non codantes.

Toutefois, si cela élimine l'hypothèse d'un effet sélectif sur les locus eux-mêmes, un phénomène d'autostop, qui correspond à une sélection sur une partie du génome parce qu'elle est physiquement liée à un gène sous sélection, ne peut être exclu. Dans une population panmictique, le modèle d'autostop prédit que la fixation d'une mutation avantageuse sur une partie du génome décroît la diversité aux locus neutres associés (Maynard Smith & Haigh 1974), ce qui pourrait expliquer la faible diversité observée. Cependant, un effet d'autostop a très peu de chance d'affecter plusieurs locus à la fois et dans le cas où cette hypothèse s'avérerait correcte, elle se traduirait par des déséquilibres de liaison aux locus incriminés, ce qui n'est pas le cas dans notre jeu de données.

Enfin, un mélange de populations génétiquement différenciées (i.e. effet Wahlund) ou un phénomène d'introgession d'allèles liée à de l'hybridation entre espèces ne peuvent être exclus.

3.4.2. Hybridation entre espèces et introgression d'allèles

Dans le chapitre 1, nous avons montré qu'il existait au moins deux espèces cryptiques chez *Lepetodrilus elevatus* le long de la dorsale du Pacifique oriental sur la base des séquences mitochondriales avec une possibilité d'hybridation mise en évidence à partir des génotypes allozymiques. L'hypothèse de l'existence d'individus hybrides dans le clade « sud », tel que défini par le mitochondrial, pourrait expliquer une partie des déficits en hétérozygotes observés ainsi que la présence de déséquilibres de liaison entre locus appartenant à différents gènes (Campton 1987). L'analyse multilocus indique un déficit en hétérozygotes retrouvé au niveau de 3 gènes: *Vdg3*, *Lep 1* et *Le3YD03*, alors que la *Texilinine* et la *Destabilase* ne s'écartent pas significativement de l'équilibre de Hardy-Weinberg. Ces derniers pourraient correspondre à des gènes verrous (allèles diagnostiques à un ou plusieurs locus), où la ségrégation allélique est complète. Dans des cas d'introgession, la proportion de variants génétiques étant contrôlée par la sélection et la dérive génétique, les contributions parentales ne vont pas nécessairement persister sur la totalité des caractères (ou locus) mais peuvent être représentées par des fixations pour différents traits diagnostiques (gènes verrous) (Dowling & Secor 1997). Si deux populations panmictiques génétiquement différenciées produisent occasionnellement des hybrides, un déficit en hétérozygotes est attendu, équivalent à un effet Wahlund dans le cas de populations subdivisées (Harrison 1993). De plus, une zone hybride, maintenue par dispersion des formes parentales et une sélection contre les hybrides, génère des déséquilibres de liaison dus à des associations entre les allèles à différents locus

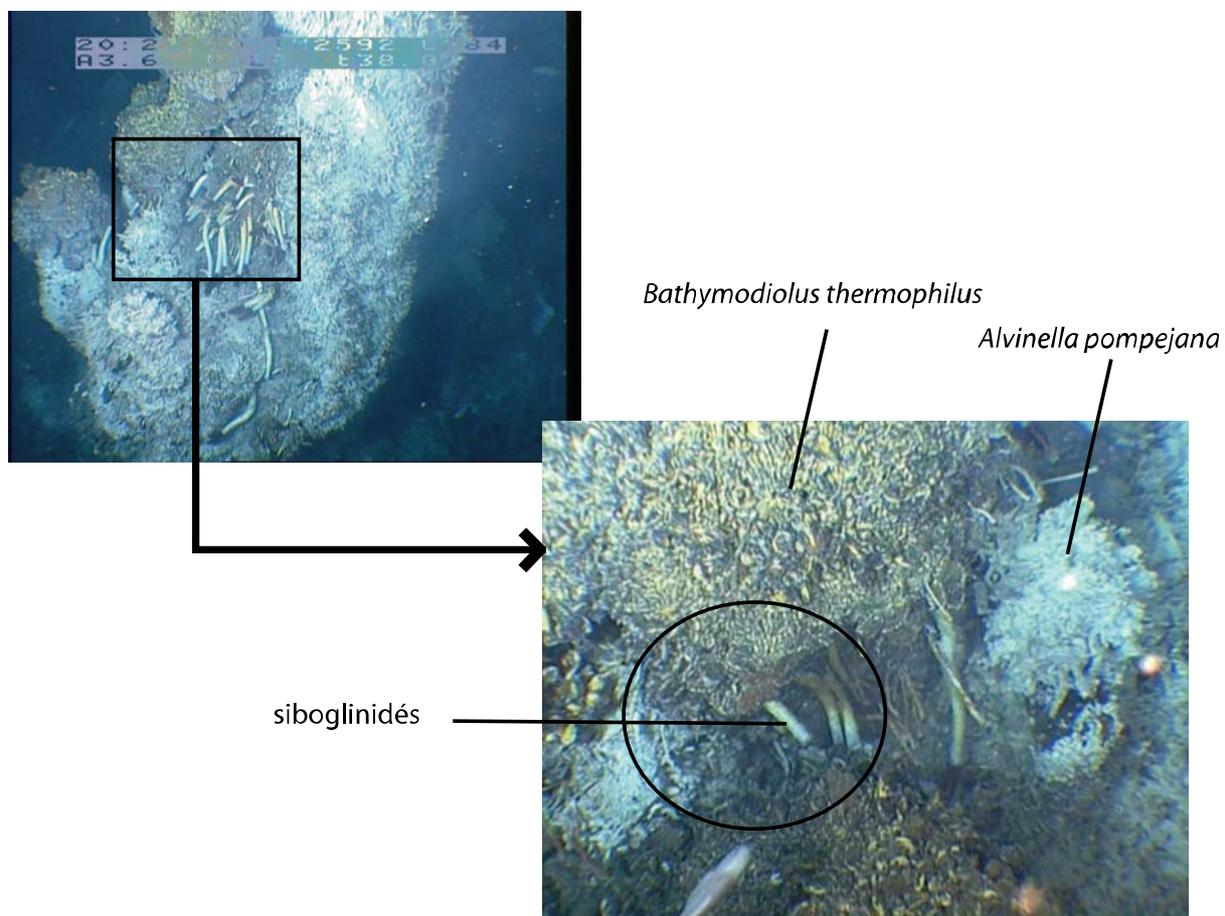


Figure 3.6. Photos d'un édifice illustrant la proximité de différents microhabitats : moulières à *Bathymodiolus thermophilus*, colonies d'*Alvinella pompejana* et bouquets de vestimentifères. (site de Miss Wormwood à 17°34'S/EPR). © Ifremer.

(Barton & Hewitt 1985). Les allèles dérivés d'une population auront tendance à se regrouper chez les mêmes individus et présenter des clines analogues (Barton & Hewitt 1985, Harrison 1993). Dans ces cas, les déséquilibres de liaisons sont attendus dans les locus introgressés et absents des gènes verrous lorsqu'une seule des entités cryptiques est échantillonnée, ce qui n'est pas le cas dans notre jeu de données où les déséquilibres de liaison sont détectés plus spécifiquement avec la *Destabilase* (*Destabilase* et *Vdg3* ; *Destabilase* et *Textiline*). Il est cependant intéressant de noter que le gène *Vdg3* présentait une évolution régulière des fréquences alléliques le long du gradient. Enfin, bien que les données mitochondriales supportent la présence d'une unique espèce de *L. elevatus* dans le sud de la dorsale du Pacifique oriental (Matabos *et al.* 2008), la présence de trois individus appartenant potentiellement à une troisième espèce cryptique ont été échantillonnés sur le site de Grommit (Plouviez & Jollivet, com. pers.), suggérant la présence de ces espèces en sympatrie à 21°33'S. Si ces individus génétiquement différenciés sont effectivement présents en faible densité, ils seront plus à même de produire des hybrides en raison de la difficulté à trouver chacun un individu dans leurs lignées respectives (Gardner 1997).

Deux hypothèses ont été proposées pour expliquer l'évènement de spéciation entre les deux espèces cryptiques de *Lepetodrilus elevatus* mises en évidence dans le premier chapitre: (1) un évènement de vicariance lié à la présence d'une barrière géographique, et (2) une spécialisation par l'habitat (Matabos *et al.* 2008).

Si la spéciation est d'origine allopatrique, il a été montré que celle-ci avait probablement été renforcée par de la spécialisation à l'habitat avec un clade préférentiellement échantillonné dans les moulières (clade sud) et un plutôt présent dans les bouquets de siboglinidés (clade nord). En considérant la proximité des micro-habitats au sein d'un édifice et la mobilité des gastéropodes, une reproduction occasionnelle entre les deux lignées est peu surprenante (Figure 3.6). Un cas bien connu d'hybridation accompagnée d'introgession de gènes concerne les deux espèces de bivalves *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis* (Bierne *et al.* 2002, 2003). Bierne *et al.* (2002) ont suggéré qu'une spécialisation par l'habitat pouvait maintenir la présence d'une zone hybride en contribuant à la barrière interspécifique empêchant ainsi une homogénéisation des deux taxons. De la même façon, les deux espèces cryptiques de *L. elevatus* ont pu diverger à certains gènes clés sous l'effet de la sélection par l'habitat, chaque taxon occupant une niche particulière. Un flux de gènes occasionnel entre les deux espèces et, une sélection contre les hybrides pourraient

maintenir une telle zone d'hybridation le long de la dorsale du Pacifique oriental (Barton & Hewitt 1985, Harisson 1993).

Dowling & Secor (1997) ont suggéré que l'hétérogénéité et l'instabilité temporelle des habitats étaient propices à la formation de taxons hybrides. D'autre part, les processus d'hybridation et d'introgession accroissent la diversité génétique à travers la production de nouveaux génotypes recombinants à une vitesse probablement plus rapide que la mutation (Dowling & Secor 1997). Une augmentation du nombre de variants par recombinaison permettrait aux organismes de s'adapter plus facilement aux fluctuations de l'environnement en augmentant la probabilité d'apparition d'un allèle avantageux. Bien que les processus d'hybridation et d'introgession soient très peu documentés dans le milieu hydrothermal, la présence d'une zone hybride a été mise en évidence chez *Bathymodiolus azoricus* et *B. puteoserpentis* le long de la dorsale médio-atlantique (O'Mullan *et al.* 2001, Won *et al.* 2003).

3.4.3. Différenciation génétique entre les populations

Alors que l'analyse de variance moléculaire (AMOVA) a montré qu'un certain pourcentage de la variance totale (6,4%) pouvait être significativement attribué à la structuration géographique des populations, le test de différenciation génétique a montré une homogénéité entre celles-ci. Ces résultats suggèrent l'existence d'un flux de gènes relativement important sur une échelle de 400 km. La topologie de l'arbre généré entre individus à partir de la distance de Nei & Li (1979) indique une isolation partielle des populations d'Oasis et de Grommit mais ne permet pas de séparer clairement les trois populations. A l'inverse, les individus de Susie ne montrent pas de structure particulière. Au regard des distances entre ces trois sites, une structuration génétique des populations en réponse à une distance de dispersion larvaire limitée devrait isoler la population de Grommit (21°33'S) des deux populations d'Oasis (17°25'S) et de Susie (17°34S). Une autre hypothèse qui peut être évoquée est la présence de régimes tectoniques différents entre les champs (cf. Chapitre 2). Ainsi, alors que la dorsale au niveau du champ de 17°25'S présente une morphologie en dôme, les deux champs de 17°34'S et 21°33'S sont sous contrôle tectonique avec une structure en graben axial profond. Si les larves de *Lepetodrilus elevatus* sont transportées par les courants proches du fond, comme cela a déjà été suggéré par plusieurs auteurs (Kim & Mullineaux 1998, Mullineaux *et al.* 2005), l'absence de failles transformantes sur cette portion de la dorsale permettrait l'existence d'un flux génique étendu le long du graben axial, pouvant expliquer ainsi l'isolement partiel de la population d'Oasis. Avec une vitesse de courant de fond équivalent à celle mesurée sur le segment 13°N, soit 4,5 cm.s⁻¹

(Chevaldonné *et al.* 1997), 102 jours seraient nécessaires à une larve pour parcourir les 400 km qui sépare Oasis de Grommit, en l'absence de renverse de courant sur cette période. Néanmoins, même si la durée de vie larvaire des gastéropodes hydrothermaux est inconnue tout comme les caractéristiques des courants de la partie sud de la dorsale du Pacifique oriental, une telle approximation souffre d'une erreur majeure qui est de considérer l'habitat à l'état d'équilibre. Or, la dynamique des habitats joue un rôle non négligeable en accentuant ou en atténuant l'effet de la différenciation génétique en fonction du mode de recolonisation des espèces (Jollivet *et al.* 1999), et Vrijenhoek (1997) a montré que le niveau de différenciation génétique était dépendant du taux d'occupation des habitats. Ainsi, les premiers colonisateurs de nouveaux habitats auront un taux de différenciation génétique plus faible que les organismes associés aux stades plus avancés de la dynamique successionnelle. *L. elevatus* fait partie des premiers colonisateurs des zones de diffusion se succédant à l'apparition d'un site (Mullineaux *et al.* 1998, Shank *et al.* 1998). Le secteur sud de la dorsale du Pacifique oriental, associé à un taux élevé d'apparition et de disparition des habitats et à de faibles distances inter-sites en réponse à de fréquents évènements de volcanisme (Baker & Urabe 1996, Embley *et al.* 1998), devrait être caractérisé par une homogénéisation génétique des populations.

D'autre part, en zone côtière, une étude récente a montré que la structure génétique entre populations distantes était beaucoup plus dépendante de la présence ou non d'une phase larvaire dispersive dans le cycle de vie que de la durée de vie des larves (Teske *et al.* 2007).

3.5. Conclusion

La mise au point des marqueurs a soulevé de nombreux problèmes méthodologiques. Premièrement, sur les trois marqueurs présentant du polymorphisme d'intron, 2 gènes constituaient en réalité des complexes multigéniques entraînant l'obtention de profils multibandes. Deuxièmement, le séquençage ultérieur de nouveaux individus a permis de détecter la présence d'allèles nuls expliquant en partie les déficits en hétérozygotes. La présence potentielle de plusieurs espèces en sympatrie, les forts déficits en hétérozygotes et la détection de certains déséquilibres de liaison suggèrent néanmoins l'existence de phénomènes d'hybridation et d'introgession d'allèles chez le complexe *Lepetodrilus elevatus*. Des analyses de différenciation génétique entre trois populations séparées de 20 à 400 km ont néanmoins montré une faible différenciation génétique qui semble indépendante de la distance géographique, mais également que la variabilité intra-population pouvait être

aussi importante que la variabilité inter-population illustrant l'absence de structuration marquée à l'échelle de notre étude.

Les résultats obtenus sont actuellement insuffisants pour affirmer l'existence de tels processus d'hybridation et d'introgession et accroître la robustesse de nos analyses sur la structure spatiale des populations de *Lepetodrilus elevatus*. A l'avenir, plusieurs travaux doivent être développés :

- (1) Il conviendrait d'identifier les différents gènes associés aux complexes multigéniques de la *destabilase* et de la *vdg3* afin de définir avec certitude les variants alléliques propres pour chaque locus à partir d'amorces plus spécifiques. Une bonne ségrégation des gènes permettrait de pouvoir combiner les allèles des différents locus afin d'augmenter le polymorphisme et donc la variabilité génétique pour faire une analyse « classique » de la différenciation par utilisation des indices de fixation. Un polymorphisme plus élevé est en effet nécessaire pour pouvoir inférer le rôle des processus de dispersion et de la dynamique de l'habitat sur la distribution et la mise en place de la diversité génétique, notamment en analysant la distribution de cette variabilité entre cohortes d'une même population.
- (2) La détection d'une hybridation introgressive repose sur l'analyse de marqueurs présentant des allèles fixés sur 2 ou plusieurs locus chez les formes parentales (Campton 1987). Or, dans le chapitre 1, nous avons vu qu'au niveau des marqueurs allozymiques, aucun allèle n'était fixé entre les deux espèces cryptiques pour les locus analysés. A l'inverse, il a été montré que le locus *Lep 1* présentait un allèle caractéristique du clade sud. L'analyse de la structure génétique de populations de *Lepetodrilus elevatus* provenant de l'EPR nord par l'utilisation des marqueurs testés dans ce chapitre pourraient permettre l'identification d'allèles diagnostiques supplémentaires ségrégant entre les deux espèces cryptiques. Ces locus combinés à d'autres marqueurs (allozymes, ADN mitochondrial) pourraient donc constituer des bons candidats à la détection et la quantification des phénomènes d'hybridation et d'introgession. Des analyses phylogénétiques conjointes de différents marqueurs permettraient également de détecter la présence d'hybrides, indiqués en regardant les discordances dans la topologie des arbres générés par chaque marqueur (Vollmer 2002).

CHAPITRE 4

**Influence de l'environnement
physico-chimique sur la structure des
communautés de gastéropodes de la dorsale
du Pacifique oriental (13°N/EPR).**

CHAPITRE 4

Influence de l'environnement physico-chimique sur la structure des communautés de gastéropodes de la dorsale Pacifique orientale (13°N/EPR).

4.1. Introduction

A micro-échelle (i.e. du cm au mètre), la forte variabilité spatio-temporelle des conditions environnementales - en termes de température, pH, concentration en oxygène, en sulfures et en différents métaux (Johnson *et al.* 1988a, Johnson *et al.* 1988b, Johnson *et al.* 1994, Le Bris *et al.* 2003, Le Bris *et al.* 2006, Sarradin *et al.* 1998) - se traduit par la présence d'une mosaïque d'habitats au sein d'une unique cheminée (Sarrazin *et al.* 1997, Sarrazin & Juniper 1999). En réponse à ces fluctuations, les organismes sont distribués en différents assemblages dont la composition varie dans le temps et dans l'espace en fonction du gradient physico-chimique d'une part, et de la dynamique temporelle de colonisation des sites d'autre part (Sarrazin *et al.* 1997, Tunnicliffe 1991).

Sur la dorsale du Pacifique oriental, quatre assemblages principaux de la mégafaune ont été décrits : (i) les colonies d'alvinellidés, inféodées aux aires les plus actives et aux parois des cheminées au niveau des émissions à fortes températures ; (ii) les bouquets de siboglinidés (i.e. *Tevnia jerichonana* et *Riftia pachyptila*) dans les zones de diffusion récentes et vigoureuses ; (iii) les colonies de bivalves (i.e. *Calymene magnifica* et *Bathymodiolus thermophilus*) dans les aires de diffusion modérées et plus anciennes et (iv) les assemblages de filtreurs (i.e. serpulidés) dans les zones à la périphérie des sites, dans une eau de mer peu ou pas influencée par le fluide hydrothermal (Fustec *et al.* 1987, Hessler *et al.* 1988, Jollivet 1996, Shank *et al.* 1998). Cependant, cette zonation n'est pas suffisante pour expliquer la distribution de l'essentiel des petits organismes de la macrofaune vagile tels que les gastéropodes (Mills *et al.* 2007). En effet, ces auteurs ont récemment montré que ces espèces n'étaient pas confinées à un assemblage particulier de la mégafaune, mais pouvaient occuper des micro-habitats spécifiques, présents dans une ou plusieurs des zones décrites ci-dessus. Ainsi, une analyse à micro-échelle des conditions physico-chimiques s'avère indispensable afin de mieux comprendre la répartition des espèces hydrothermales (Le Bris *et al.* 2005).

L'influence des facteurs environnementaux sur les processus biologiques responsables de la structuration des communautés est complexe et encore mal comprise. La variabilité spatiale et temporelle de la composition des assemblages faunistiques a souvent été attribuée aux variations des conditions physico-chimiques en relation avec les tolérances physiologiques et les besoins nutritionnels des organismes (Sarrazin *et al.* 1997, Shank *et al.* 1998). Par conséquent, les paramètres les plus communément utilisés afin d'expliquer la structuration des communautés sont, d'une part la température (Bates *et al.* 2005, Mills *et al.* 2007), d'autre part la concentration en sulfures, cet élément étant à la fois un donneur d'électrons essentiel pour les organismes chimioautotrophes et un poison pour les organismes aérobies (Childress & Fisher 1992). L'influence du sulfure est cependant complexe et plus que la concentration totale en sulfures, c'est l'importance relative de ses différentes formes, variant en fonction des habitats, qui peut jouer un rôle clé dans la distribution des espèces. Luther *et al.* (2001) ont ainsi montré que, si les concentrations totales en sulfures volatiles ($\text{H}_2\text{S} + \text{HS}^- + \text{FeS}(\text{aq})$) mesurées dans l'habitat à *Alvinella pompejana* étaient au moins 5 fois supérieures à celles observées dans les bouquets de *Riftia pachyptila*, le sulfure de fer ($\text{FeS}(\text{aq})$) était la forme dominante dans le premier habitat tandis que les formes libres des sulfures ($\text{H}_2\text{S} + \text{HS}^-$) prévalaient dans le second. Ainsi, la formation de FeS constituerait un mécanisme de détoxification dans les colonies à *A. pompejana*, cette forme étant moins toxique que les sulfures libres. Toutefois, l'importance des différentes formes dépend en grande partie de la composition du fluide hydrothermal, en particulier du ratio sulfure/fer qui est connu pour être très variable dans le temps et dans l'espace (Von Damm & Lilley 2004). D'autre part, certaines études ont montré que la composition faunistique ne dépendait pas uniquement de l'environnement physico-chimique. Ainsi, Govenar *et al.* (2005) ont démontré que la structure et la composition de l'épifaune associée à différents bouquets de *R. pachyptila* était similaire entre plusieurs sites, et indépendantes de la concentration en fer et en sulfures. De même, il a été suggéré que le recrutement de deux espèces de siboglinidés, *R. pachyptila* et *Oasisia alvinae*, ne dépendait pas de leurs tolérances respectives aux conditions physico-chimiques de l'environnement, mais était plutôt facilité par la présence d'une troisième espèce de siboglinidé, *Tevnia jerichonana* (Mullineaux *et al.* 2000). De telles études mettent ainsi en avant le rôle important des interactions biotiques (prédation, facilitation, compétition,...) dans la structuration des communautés (Micheli *et al.* 2002).

L'influence des facteurs environnementaux et des interactions biotiques ne sont pas dissociables. Ainsi, l'environnement physico-chimique peut influencer les interactions

biotiques et inversement. Par exemple, la polychète *A. pompejana*, en contrôlant les flux thermiques environnants, est capable de modifier son proche environnement et de créer des micro-niches disponibles pour d'autres espèces (Le Bris *et al.* 2005). Les polychètes siboglinidés sont des organismes symbiotiques hébergeant des bactéries sulfo-oxydantes qui prélèvent des sulfures dans le milieu ambiant (Cavanaugh *et al.* 1981, Goffredi *et al.* 1997). Cette activité biologique a pour conséquence la modification des concentrations en sulfure dans le milieu et peut entraîner des changements dans la structure des communautés associées (Childress 1988, Cordes *et al.* 2007). Inversement, Mills *et al.* (2007) ont suggéré que les espèces étaient restreintes à certains habitats en raison de contraintes phylogénétiques qui limitent leur potentialité d'adaptions physiologiques, mais que les interactions et les associations entre espèces pouvaient varier en fonction des contraintes environnementales. Ainsi, une espèce évoluant dans sa fenêtre écologique optimale sera plus compétitive qu'une espèce située aux limites de son domaine de tolérance physiologique. De manière analogue, Mullineaux *et al.* (2003) ont montré que la nature des interactions biotiques entre organismes variaient le long du gradient physico-chimique lié au fluide hydrothermal : des processus de facilitation sont prépondérants à la périphérie des fumeurs où la densité en organismes est faible, alors que des processus de compétition ou d'exclusion dominant dans les zones de forte diffusion.

En outre, bien que peu d'études aient soulevé la question, on peut s'attendre à un rôle significatif de l'environnement physico-chimique sur la dynamique des populations des espèces hydrothermales, à travers une modulation de la croissance ou de l'activité de reproduction. Schöne & Giere (2005) ont montré que le bivalve *Bathymodiolus brevior*, prélevé dans le bassin Nord Fidji, présentait des taux de croissance variables entre différentes localités en réponse à des différences dans les apports nutritifs ou dans les conditions environnementales d'un site à l'autre. De même, les taux de croissance de jeunes individus de *B. thermophilus* ou *Calyptogena magnifica* à 9°50'N sur l'EPR se sont révélés très variables au sein d'un même site, reflétant probablement une large gamme de réponses des organismes à une diversité de micro-habitats (Lutz *et al.* 1985). Dans le cas de *Lepetodrilus elevatus*, le recrutement semble homogène et cohérent à l'échelle du champ hydrothermal (13°N ou 9°50'N), suggérant que la présence de différences de structures démographiques à cette échelle seraient le résultat de processus locaux (croissance, survie) (Mullineaux *et al.* 1998, Sadosky *et al.* 2002).

La plupart des espèces hydrothermales semble présenter une reproduction continue ou quasi-continue. C'est le cas des polychètes *Amphysamitha galapagensis* (McHugh & Tunnicliffe 1994), *Paralvinella pandorae* (McHugh 1989), *Alvinella pompejana* (Faure *et al.* 2007) et *Riftia pachyptila* (Gardiner *et al.* 1992), des crevettes *Rimicaris exoculata*, *Chorocaris chacei* et *Mirocaris fortunata* (Ramirez-Llodra *et al.* 2000), du bivalve *Calymene magnifica* (Berg 1985) et des gastéropodes du genre *Lepetodrilus* (Pendlebury 2004, Kelly & Metaxas 2007). A l'inverse, quelques espèces possèderaient une reproduction discontinue telles que les polychètes *Paralvinella palmiformis* (Mc Hugh 1989) et *P. grasslei* (Zal *et al.* 1995) ou le bivalve *Bathymodiolus azoricus* (Dixon *et al.* 2006). Alors que les mécanismes de contrôle de la vitellogenèse sont principalement déterminés par des contraintes phylogénétiques (Eckelbarger 1994, Tyler & Young 1999), certains traits d'histoire de vie liés à la reproduction (taille à la première maturité sexuelle, fécondité, taille des œufs...) peuvent également varier en réponse aux variations des conditions environnementales (habitat physico-chimique, ressources nutritionnelles). Ainsi, Copley *et al.* (2003) ont mis en évidence chez la polychète *Paralvinella palmiformis* une variation spatiale dans la maturité des gamètes en relation avec la dynamique de succession des communautés hydrothermales en différents sites de la dorsale Juan de Fuca (NO du Pacifique). De même, l'activité reproductrice de l'amphipode *Bouvierella curtirama* diffère significativement entre deux sites chimiquement distincts du champ hydrothermal Lucky Strike sur la dorsale médio-atlantique, probablement en réponse à des différences de disponibilité des ressources trophiques (Sheader *et al.* 2004). Chez *Lepetodrilus fucensis*, la fécondité et le taux de développement des ovocytes fluctuent en fonction de l'habitat (Kelly & Metaxas 2007).

Dans ce contexte, on peut s'attendre à ce que des variations des différents processus démographiques (reproduction et croissance), en contrôlant l'abondance des populations locales et la capacité des organismes à coloniser de nouveaux sites, affectent indirectement l'intensité des interactions biologiques et donc la structure des communautés benthiques.

Sur les sites hydrothermaux de la dorsale du Pacifique oriental (EPR), les polychètes alvinellidés, *Alvinella pompejana* et *A. caudata*, habitent dans des tubes à la surface des cheminées actives, vraisemblablement dans les conditions les plus toxiques rencontrées dans cet environnement (Le Bris & Gaill 2007), et sont parmi les premiers colonisateurs macrobenthiques de nouveaux habitats (Pradillon *et al.* 2005b, Taylor *et al.* 1999). Dans ces conditions environnementales extrêmes, les adaptations biologiques et la structure des

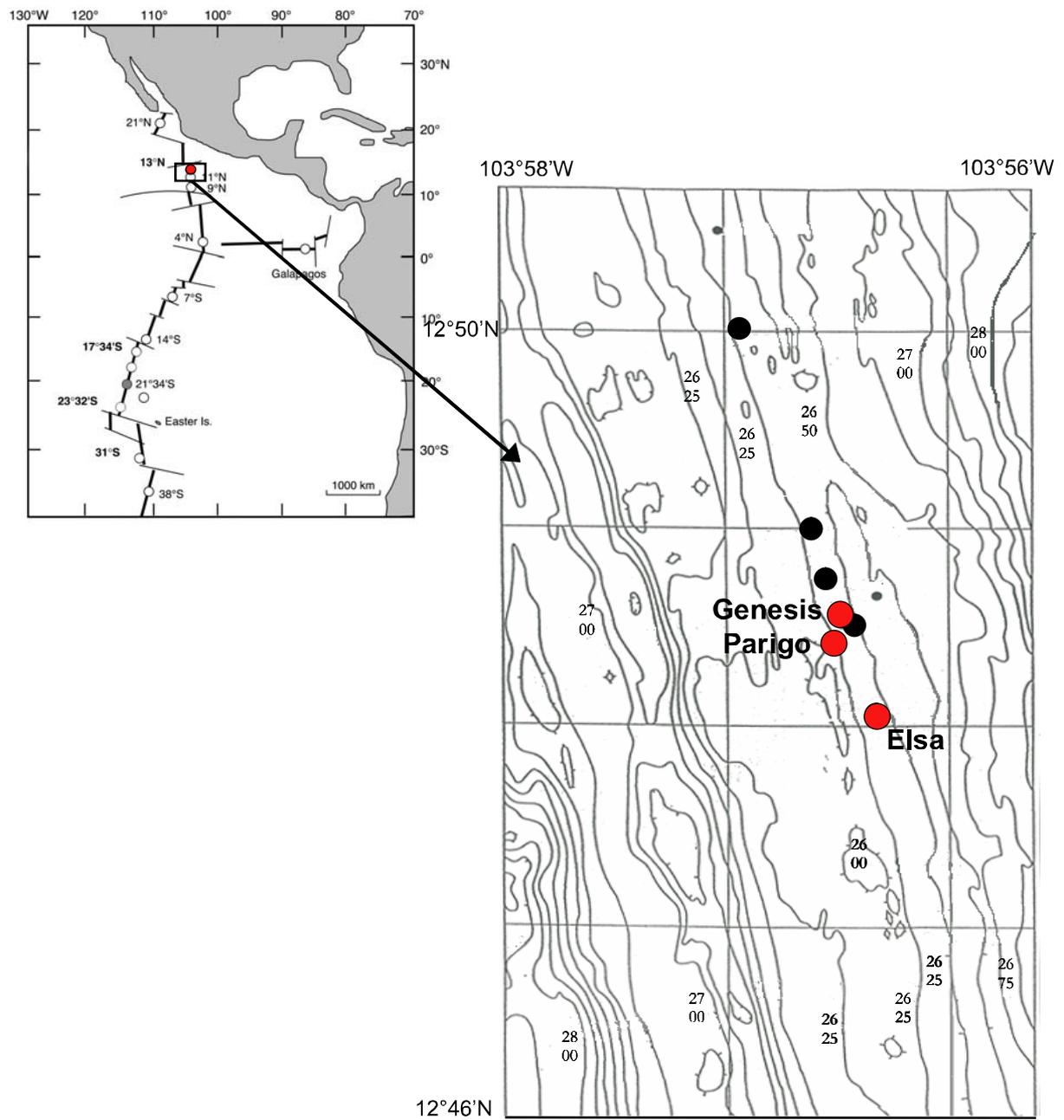


Figure 4.1. Localisation des sites d'échantillonnage sur le champ hydrothermal de 13°N/EPR.

communautés sont plus à même d'être contrôlées par des processus biogéochimiques (Luther *et al.* 2001). Cependant, la plupart des études écologiques consacrées à ce jour à l'identification des facteurs locaux responsables de la structure des communautés benthiques concernent essentiellement les communautés associées aux bouquets de siboglinidés, aux moulières à *Bathymodiolus thermophilus* ou aux colonies de serpulidés (Micheli *et al.* 2002, Mullineaux *et al.* 2003, Tsurimi 2003, Van Dover 2003, Govenar *et al.* 2004, Dreyer *et al.* 2005, Govenar *et al.* 2005). Concernant les colonies d'alvinellidés, des listes d'espèces propres à cet habitat sont disponibles mais les mécanismes de contrôle restent encore peu connus (Desbruyères *et al.* 1998, Jollivet 1993). En se focalisant sur le champ hydrothermal 13°N de l'EPR, les buts de ce chapitre sont de :

- (1) caractériser la variabilité des conditions physico-chimiques des habitats à la surface des colonies d'alvinelles en termes de température, pH et concentrations en sulfure et en fer ; une attention particulière est portée aux échelles spatiales auxquelles sont réalisées les mesures afin qu'elles soient les plus concordantes avec les conditions rencontrées par les organismes (cette partie a fait l'objet d'une collaboration avec le Dr Nadine Le Bris du Laboratoire Environnement Profond, Ifremer, Brest) ;
- (2) comparer, à différentes échelles spatiales, ces variations environnementales avec la variabilité de la composition des assemblages faunistiques ;
- (3) estimer les relations entre les conditions environnementales et la biologie des populations (structure démographique, gamétogenèse) sur l'exemple des 4 principales espèces de gastéropodes rencontrées : *Lepetodrilus elevatus*, *Nodopelta heminoda*, *N. subnoda* et *Peltopsira operculata*.

En complément aux échantillons récoltés dans les colonies d'*Alvinella* spp., des prélèvements additionnels dans des bouquets de *Riftia pachyptila* ont été pris en compte dans un but de comparaison.

4.2. Matériel et méthodes

4.2.1 Sites d'études et échantillonnage

Toutes les données physico-chimiques et biologiques ont été récoltées avec le ROV Victor 6000 lors de la mission PHARE qui s'est déroulée en mai 2002 sur le champ hydrothermal de 13°N (EPR). Un échantillonnage hiérarchique incluant trois échelles spatiales a été réalisé (Tableau 4.1 ; Figure 4.1) : (i) trois sites hydrothermaux distants de quelques centaines de mètres (Genesis, Parigo et Elsa) situés à une profondeur d'environ 2620

Tableau 4.1 Caractéristiques des échantillons de gastéropodes prélevés dans les colonies d'*Alvinella pompejana* à 13°N sur la dorsale du Pacifique oriental (EPR). * échantillons prélevés dans les bouquets de *Riftia pachyptila*.

Site hydrothermal	Structure	Echantillon	Latitude	Longitude	Plongée	Date	Nombre de points de mesure de la température	Durée totale de la mesure (min:s)	
Genesis	PP12	G12-a	12°48,632'N	103°56,426'W	164	25/05/02	3	01:01	
		G12-b			164		5	06:44	
	Hot2	G2-a*	12°48,635'N	103°56,404'W	169	30/05/02	4	49:18	
Parigo	PP-Ph05(1)	P1-a	12°48,585'N	103°56,400'W	159	19/05/02	4	04:53	
		P1-b			160		20/05/02	4	42:41
		P1-c			162		22/05/02	2	08:37
		P1-d			162		22/05/02	1	01:46
		P1-e*			162		22/05/02	4	17:22
		P1-f			163		23/05/02	5	43:38
	PP-Ph05(2)	P2-a	12°48,620'N	103°56,390'W	169	30/05/02	2	22:41	
		P2-b			169		30/05/02	1	09:42
Elsa	PP-Ph01	E1-a	12°48,150'N	103°56,267'W	168	29/05/02	4	26:31	
	PP-Hot3	E3-a	12°48,145'N	103°56,266'W	168	29/05/02	3	06:56	
		E3-b			168		29/05/02	5	11:53

m, (ii) deux édifices actifs séparés par quelques mètres au niveau de chaque site, et (iii), un à six répliqués situés à une distance de moins d'un mètre pour chaque édifice. Sur le site Genesis, l'édifice PP12 était constitué d'un petit diffuseur colonisé par de denses colonies d'*Alvinella pompejana* au sommet et des bouquets de *Riftia pachyptila* à la base (Figure 4.2a). A l'opposé, l'environnement de Hot2 correspondait à une large aire de diffusion située au bord d'une zone d'effondrement et caractérisée par la présence d'importants bouquets de *R. pachyptila* et l'absence d'*A. pompejana* (Figure 4.2b). Le site de Parigo était composé de trois édifices sulfurés séparés d'un mètre, incluant deux petits diffuseurs et une grande cheminée. Le diffuseur PP-Ph05(1) était colonisé par d'importantes colonies d'*A. pompejana* mélangées à des bouquets de *R. pachyptila* (Figure 4.2c) alors que la cheminée PP-Ph05(2) présentait des surfaces de roche nue non colonisées et des larges colonies d'*A. pompejana* (Figure 4.2d). Enfin, au site Elsa, le fumeur PP-Ph01 correspondait à un grand fumeur noir recouvert de colonies d'*A. pompejana* au sommet et à une hauteur intermédiaire, qui étaient entrecoupées par de grandes surfaces non colonisées (Figure 4.2e). L'édifice Hot 3 était un fumeur blanc de 3 mètres de diamètre, colonisé par des colonies d'*A. pompejana* très développées au sommet et par des bouquets de *R. pachyptila* à la base (Pradillon *et al.* 2005a; Figure 4.2f).

Des séries temporelles de température ont été effectuées avant l'échantillonnage des organismes pendant une durée comprise entre 1 et 50 min selon les zones de prélèvement (Tableau 4.1). Les mesures ont été réalisées en plusieurs points au niveau de l'aire d'échantillonnage grâce à la sonde de température Pt100 du Victor 6000. Afin de s'assurer que les mesures étaient caractéristiques des micro-habitats occupés par les gastéropodes, les vidéos des plongées ont été visionnées. Seules les mesures effectuées à la surface de l'aire d'échantillonnage et à une distance inférieure à 2 cm au-dessus des colonies d'*Alvinella pompejana* ont été considérées. Le visionnage des vidéos a été effectué à l'aide du programme ADELIE[©] (Aide au DEpouillement Interactif des données des Engins sous-marins) développé par l'Ifremer. Ce programme est un ensemble de logiciels, dont ADELIE SIG[©] pour le positionnement géographique et ADELIE Vidéo[©] qui permet la numérisation des images pour la capture de photos et de vidéos.

La totalité des échantillons a été récoltée dans les colonies d'*Alvinella pompejana*, excepté deux échantillons qui ont été prélevés dans les bouquets de *Riftia pachyptila*. Ils correspondent au prélèvement de Hot2 et à un répliquat prélevé sur le diffuseur PP-Ph05(1) de

Genesis PP12



Genesis Hot2



Parigo PP-Ph05 (1)



Parigo PP-Ph05 (2)



Elsa PP-Ph01



Elsa Hot3



Figure 4.2. Sites d'échantillonnage sur le champ hydrothermal de 13°N/EPR (© IFREMER).

Parigo. Les échantillons ont été prélevés à l'aide de la pince du ROV, complétés à l'occasion par des prélèvements effectués grâce à l'aspirateur, sur une surface estimée à 400-700 cm². Les échantillons ont été lavés sur un tamis de maille circulaire de 1 mm à bord du bateau et, fixé au formol salé à 10% et neutralisé au tétraborate de sodium. Au laboratoire, tous les gastéropodes ont été triés, identifiés au niveau de l'espèce et préservés dans de l'éthanol à 70°.

4.2.2. Analyses chimiques et modèle géochimique

Pour chaque site, l'analyseur de fluide du submersible, Alchemist (Analyseur CHIMIQUE In SiTu) (Le Bris *et al.* 2000), couplé à des sondes de température et de pH a permis l'obtention de mesures *in situ* de température, de pH, de concentrations en sulfures et de concentrations en fer. L'Alchemist est basé sur le principe de la détection colorimétrique grâce à la technique d'analyse d'injection de flux (Flow Injection Analysis, FIA). Il permet de mesurer la fraction labile des sulfures considérée par la suite comme le sulfure total S(-II), et les formes labiles du fer ferreux Fe(+II). S(-II) inclut les formes libres du sulfure, les sulfures de fer aqueux et les colloïdes de sulfure de fer récemment précipités (i.e. HS⁻, H₂S, FeS(aq), FeS(am)) (Le Bris *et al.* 2003). Il s'agit des formes dissoutes ou particulaires immédiatement converties en H₂S après addition de HCl 0,1 M. Le pH et la température ont été mesurés *in situ* grâce à une électrode en verre Ag/AgCl miniaturisée et couplée à un thermocouple. Cette structure spécifiquement développée pour le milieu hydrothermal (Le Bris *et al.* 2001) est reliée à un système autonome d'acquisition de données (Micrel, France). L'Alchemist acquiert une mesure toutes les 1 min 30 tandis qu'une mesure de pH et de température est obtenue toutes les 5 secondes. En raison de contraintes logistiques lors de la mission, certains sites, uniquement dédiés à des prélèvements biologiques, n'ont pas fait l'objet d'analyses des concentrations en fer et sulfures. C'est le cas de Genesis Hot 2, qui ont par conséquent été retirés par la suite des analyses traitant de l'influence de l'environnement physico-chimique sur la structure des communautés.

A partir des mesures effectuées à l'aide de l'Alchemist en différentes localités de chaque édifice hydrothermal, des régressions linéaires ont été établies entre les concentrations de sulfure ou de fer et la température, alors que des régressions non linéaires de nature logarithmique ont été calculées entre le pH et la température sous l'hypothèse d'un mélange conservatif entre l'eau de mer et le fluide hydrothermal. En admettant en première approximation que ces relations peuvent être extrapolées à l'ensemble d'un édifice, elles ont

été utilisées afin de caractériser l'environnement physico-chimique de chaque échantillon biologique à partir des séries temporelles de températures correspondantes. Douze variables physico-chimiques ont ainsi été prises en compte pour chaque prélèvement : les valeurs minimales, moyennes et maximales de la température, du pH, des concentrations en sulfures et des concentrations en fer.

Un dendrogramme regroupant les prélèvements selon leurs caractéristiques physico-chimiques a été construit à partir d'une matrice triangulaire de distance. La distance retenue est la distance euclidienne $D_{j,k}$ mesurée entre chaque paire de prélèvements telle que :

$$D_{j,k} = \sqrt{\sum_{i=1}^{i=p} (y_{ij} - y_{ik})^2}$$

avec y_{ij} , la valeur de la $i^{\text{ème}}$ variable environnementale dans le $j^{\text{ème}}$ prélèvement et y_{ik} , la valeur de la $i^{\text{ème}}$ variable environnementale dans le $k^{\text{ème}}$ prélèvement.

4.2.3 Analyse de la structure des assemblages de gastéropodes

Suite à l'identification, les abondances des différentes espèces ont été déterminées pour chaque échantillon. Différentes méthodes d'analyses multivariées ont alors été réalisées à l'aide du logiciel Primer v.5 à partir de la matrice espèces-stations. Le regroupement des échantillons en fonction de leur composition faunistique a été établi grâce au calcul de l'indice de similarité de Bray-Curtis. Pour le calcul de la matrice de similarité, les données d'abondances des espèces ont d'abord été standardisées en calculant la proportion relative de chaque espèce au sein de chaque échantillon puis ont subi une transformation \sqrt{x} . La standardisation a pour objectif de réduire le biais dû à des efforts d'échantillonnage variables selon les prélèvements alors que la transformation \sqrt{x} permet de pondérer le poids des espèces abondantes dans les analyses (Clarke & Warwick 2001).

A partir de la matrice de similarité ainsi établie, deux méthodes de représentation graphique ont été mises en œuvre : une classification ascendante hiérarchique (i.e. dendrogramme) selon la technique d'agrégation du lien intermédiaire et un cadrage multidimensionnel ou MDS (MultiDimensional Scaling) qui est une technique d'ordination. Cette dernière méthode permet de représenter dans un espace réduit bidimensionnel les distances écologiques entre les différents prélèvements en s'appuyant sur le principe suivant : les distances euclidiennes sur le graphe doivent correspondre au mieux aux distances écologiques de la matrice de similarité. La qualité du cadrage multidimensionnel est indiquée

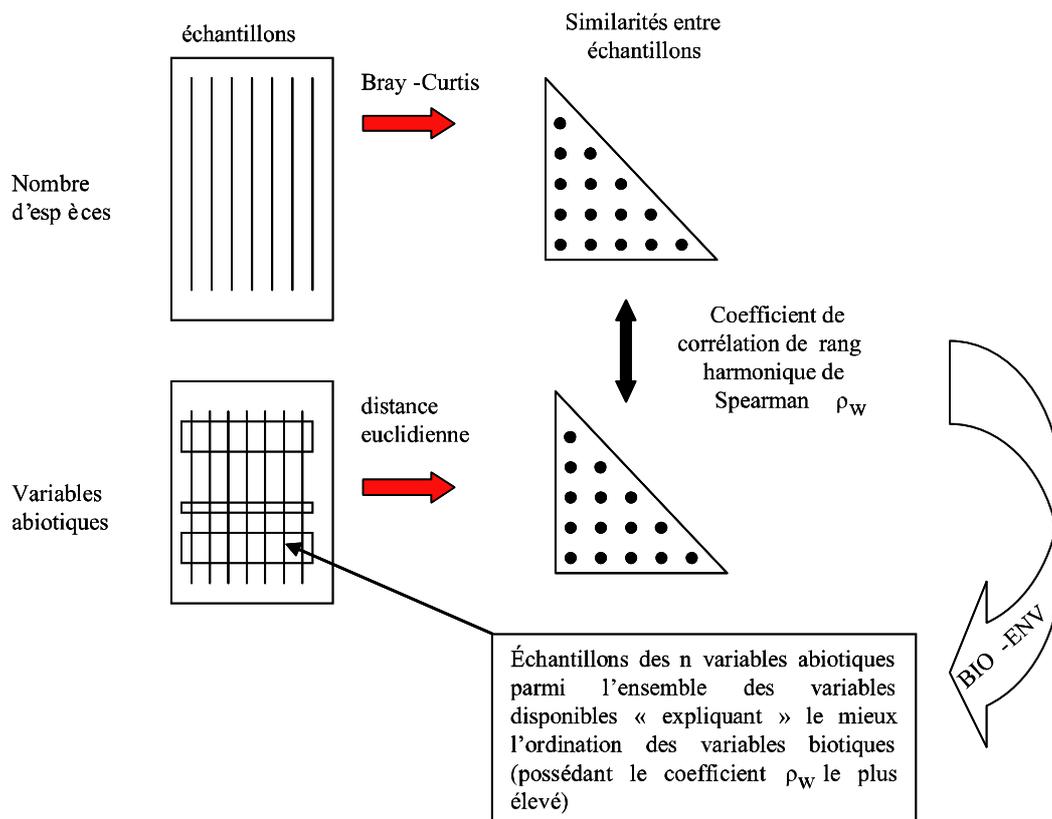


Figure 4.3. Schéma illustrant les différentes étapes de la procédure BIOENV du logiciel Primer v.5 (Clarke & Ainsworth 1993).

par la valeur du stress défini par :

$$stress = \sqrt{\frac{\sum_{i,j} (d_{ij} - \delta_{ij})^2}{\sum_{i,j} d_{ij}^2}}$$

avec d_{ij} (i et $j = 1, \dots, n$ observations) les distances écologiques entre paire de prélèvements et δ_{ij} les distances euclidiennes sur le graphe entre paire de prélèvements.

Si la valeur du stress est inférieure à 0,05, la représentation est excellente, alors qu'une valeur comprise entre 0,05 et 0,1 correspond à une bonne représentation et qu'une valeur comprise entre 0,1 et 0,2 correspond à une image potentielle de la réalité. Pour une valeur de stress supérieure à 0,3, l'ordination peut être considérée comme aléatoire et donc non satisfaisante.

Pour chaque assemblage faunistique ainsi mis en évidence, des courbes d'accumulation d'espèces ont été établies à partir des données d'abondances d'espèces à l'aide du logiciel EstimateS v.7.5 (Colwell 2005). Construites après 1000 permutations, elles permettent de comparer la diversité entre échantillons de taille très variables. En effet, l'existence d'une relation le plus souvent positive entre le nombre d'espèces et la surface de la zone échantillonnée (Rosenzweig 1995) fait que des échantillons provenant d'efforts de récolte variable sont problématiques pour le calcul des indices traditionnels de diversité α .

4.2.4 Relations entre assemblages faunistiques et environnement

L'influence des paramètres environnementaux sur la structure des communautés de gastéropodes a été évaluée grâce à la procédure BIO-ENV du logiciel Primer v.5 (Clarke & Ainsworth 1993). La méthode repose sur l'idée que des échantillons ayant un environnement semblable seront similaires en terme de composition faunistique ce qui devrait se traduire par une ressemblance dans les similarités entre échantillons, qu'elles soient calculées sur les variables environnementales ou les variables biologiques. Le principe repose donc sur la comparaison de deux matrices de similarité, une matrice de données biologiques et une matrice de données abiotiques. Les différentes étapes de la procédure sont les suivantes (Figure 4.3) :

- (1) mise en place d'une matrice de similarité sur les données biologiques à partir du calcul du coefficient de similarité de Bray-Curtis entre paires d'échantillons ;
- (2) mise en place d'une matrice de similarité sur les données environnementales à partir du calcul de la distance euclidienne entre paires d'échantillons ; alors que la matrice de similarité biologique est unique et calculée une seule fois, la matrice de similarité

environnementale est générée pour différents niveaux de complexité en faisant varier le nombre et la nature des variables de l'environnement considérée ;

(3) le lien entre les variables biologiques et les variables environnementales est calculé à l'aide du coefficient de corrélation de rang harmonique de Spearman, ρ_w , tel que :

$$\rho_w = 1 - \frac{6}{N(N-1)} \sum_{i=1}^N \frac{(r_i - s_i)^2}{(r_i + s_i)}$$

avec $\{r_i; i=1, \dots, N\}$, les rangs des valeurs des coefficients de similarité des données biotiques et $\{s_i; i=1, \dots, N\}$, les rangs des valeurs des coefficients de distance pour les données biotiques.

Pour chaque niveau de complexité de l'environnement physico-chimique, le coefficient de corrélation de rang harmonique est ainsi calculé : il permet d'identifier l'importance relative des différentes variables environnementales prises individuellement ou à des niveaux de complexité croissant. Habituellement, le coefficient de corrélation tend à augmenter avec le nombre de variables jusqu'à un certain seuil (i.e. combinaison optimale des variables) puis à légèrement chuter au delà (Clarke & Ainsworth 1993).

Les valeurs minimales de la température et des concentrations en sulfure et en fer, ainsi que la valeur maximale du pH ont été éliminées de l'analyse. En effet, il a été considéré que ces valeurs correspondaient à une caractérisation de l'eau de mer ambiante à quelques centimètres des colonies animales (Johnson *et al.* 1988b, Le Bris *et al.* 2006) et n'étaient pas déterminantes pour expliquer les patrons de distribution des organismes. Par ailleurs, une analyse de colinéarité entre les différentes variables environnementales restantes a permis d'exclure du traitement celles qui présentaient des coefficients de corrélation supérieurs à 0,75 avec d'autres variables (Clarke & Ainsworth 1993), à savoir la température moyenne et le pH minimum.

L'avantage de la procédure BIO-ENV par rapport à l'Analyse en Composantes Principales (ACP) repose sur le fait que deux méthodes différentes et indépendantes pour le calcul de la similarité des variables biologiques et environnementales peuvent être utilisées. Le facteur déterminant dans l'analyse est alors le choix des coefficients de similarité qui doivent être les plus adéquats possibles à la nature des variables analysées. De plus, cette méthode nécessite peu d'hypothèses quant aux conditions d'application préliminaires (Clarke & Ainsworth 1993). Il convient cependant de noter qu'il ne s'agit que d'un outil exploratoire et que la valeur du coefficient de corrélation de rang harmonique de Spearman ne peut pas faire l'objet d'un test statistique.

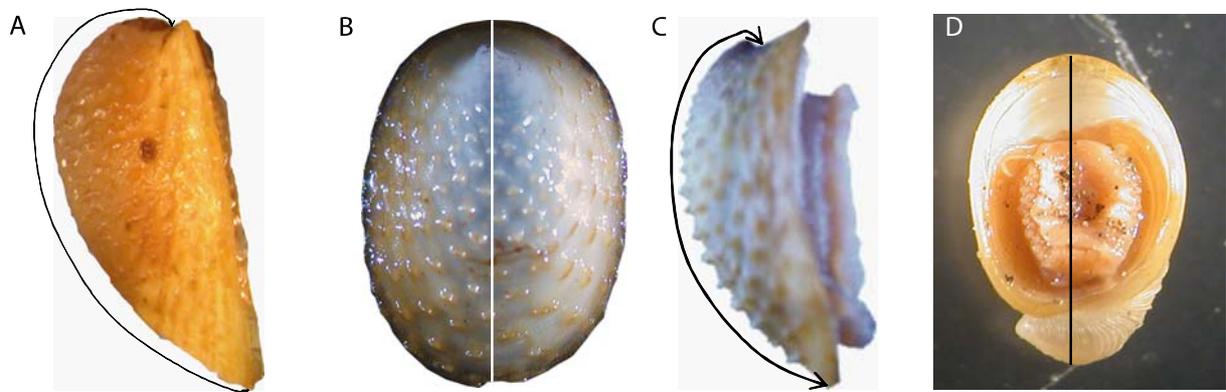


Figure 4.4. Mesures des caractéristiques biométriques chez les différents gastéropodes. **A.** *Lepetodrilus elevatus* ; mesure de la longueur curvilinéaire de l'apex à la partie antérieure. **B.** *Nodopelta heminoda* ; mesure de la longueur totale maximale. **C.** *Nodopelta heminoda* ; mesure de la longueur curvilinéaire. **D.** *Peltospira operculata* ; mesure de la longueur totale.

4.2.5 Structure démographique des 4 principales espèces de gastéropodes

La structure démographique de *Lepetodrilus elevatus* a été analysée pour les prélèvements issus du site Genesis et de l'édifice PP-Ph05(1) de Parigo où cette espèce était présente en nombre suffisant (i.e. >100). La longueur curvilinéaire L_{curv} , définie depuis la partie antérieure de la coquille jusqu'à l'apex (figure 4.4A), a été choisie comme indice biométrique, ce paramètre étant fortement corrélé avec le poids sec de l'animal (DW) tel que (Sadosky *et al.* 2002) :

$$DW=0,0053.L_{curv}^{2,923} (r = 0,9665 ; n = 90)$$

Tous les spécimens ont été mesurés pour chaque échantillon excepté pour les deux récoltés dans les bouquets de *Riftia pachyptila* pour lesquels un sous échantillonnage d'environ 500 individus a été effectué. Les individus ont d'abord été photographiés individuellement à la loupe binoculaire, puis mesurés grâce au logiciel d'analyse d'images 'Image Tool' (University of Texas, <http://www.uthsca.edu/dig/download/html>) avec une erreur fixée à 0,10 mm. Les histogrammes de distribution de fréquences de taille ont été établis avec une classe de taille de 0,4 mm choisie selon les 3 critères définis par Jollivet *et al.* (2000).

Pour les trois espèces de peltospiridés, seuls les échantillons comprenant au moins 18 individus ont été pris en compte. Dans le cas de *Nodopelta heminoda* et *N. subnoda*, la longueur totale (L_{tot}) et la longueur curvilinéaire ont été mesurées (Figure 4.4B, C). Toutefois, ces deux variables étant très significativement corrélées ($p < 0,001$), seule la longueur curvilinéaire a été conservée pour la suite des analyses. En raison de la configuration enroulée de la coquille de *Peltoispira operculata*, la longueur totale de la coquille a été mesurée chez cette espèce (Figure 4.4D). Comme pour *L. elevatus*, l'ensemble des mesures a été acquis grâce au logiciel d'analyse d'images 'Image Tool'. En raison des faibles effectifs de ces 3 espèces dans les échantillons, des histogrammes de distribution de fréquences de taille ont été construits dans un unique but d'illustration lorsque les effectifs dépassaient 50 individus. La classe de taille a alors été fixée à 0,8 mm.

Pour toutes les espèces, les distributions de fréquences de taille ont été comparées à une distribution normale à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov pour variables continues après la correction de Lilliefors (Lilliefors 1967). Cette correction est appropriée dans le cas où la moyenne et la variance sont estimées à partir des données.

Les distributions de fréquence de taille ont été comparées entre échantillons à l'aide d'une analyse de variance à un facteur (ANOVA) lorsque les données étaient distribuées

Tableau 4.2. Caractéristiques des échantillons utilisés pour les analyses histologiques de la reproduction des gastéropodes. * échantillons prélevés dans les bouquets de *Riftia pachytila*.

Espèces	Site	Edifice	Échantillon	Nombre de femelles examinées
<i>Lepetodrilus elevatus</i>	Genesis	PP12	G12a-b	5
		Hot 2*	G2a	7
	Parigo	PP-Ph05 (1)	P1a	11
			P1b	5
			P1c	6
			P1d	10
		P1e*	5	
		P1f	11	
<i>Nodopelta heminoda</i>	Elsa	Hot 3	E3a-b	6
	Genesis	PP12	G12a-b	5
	Parigo	PP-Ph05	P1c	5
<i>Nodopelta subnoda</i>	Elsa	Hot 3	E3b	8
	Genesis	PP12	G12a-b	5
<i>Peltoospira operculata</i>	Elsa	PP-Ph01	E1a	5
		Hot 3	E3b	5
	Genesis	PP12	G12a	5
	Elsa	PP-Ph01	E1a	7
		Hot 3	E3a	6

normalement et qu'un test de Levene ne rejetait pas l'hypothèse d'homoscédasticité. Dans le cas contraire, un test de Kruskal-Wallis était réalisé. A l'issue de ces analyses, des tests *a posteriori* de comparaisons multiples ont été effectués afin d'identifier le ou les échantillons responsables des différences significatives observées dans les distributions de fréquence de taille. Il s'agissait du test de Student-Newman-Keuls suite à l'ANOVA ou du test de Dunn-Nemenyi suite au test de Kruskal-Wallis (Zar 1999).

4.2.6 Biologie reproductive des 4 principales espèces de gastéropodes

La gamétogenèse des femelles a été décrite pour *Lepetodrilus elevatus*, *Nodopelta heminoda*, *N. subnoda* et *Peltoispira operculata* à partir de coupes histologiques effectuées dans la gonade. En fonction de la taille des échantillons, 5 à 11 femelles par édifice hydrothermal ont été analysées (Tableau 4.2). Au total, 66 femelles ont été analysées pour *L. elevatus*, 18 pour *N. heminoda*, 15 pour *N. subnoda* et 18 pour *P. operculata*. Dans un premier temps, les individus de *L. elevatus* préalablement conservés dans de l'éthanol à 70% ont été retirés de leur coquille puis déshydratés dans de l'alcool absolu pendant 6h. Dans un second temps, afin de les nettoyer et de permettre une meilleure fixation, les individus ont été placés pendant 5h dans du xylène avant d'être plongés dans de la paraffine pendant 14h à l'étuve à 70°C et coulés dans un moule. En raison de la grande taille des individus, les temps ont été doublés pour le traitement des trois espèces de peltospiridés. Après quelques heures de séchage, les blocs de paraffine ont été conservés 20 minutes dans de la glace avant que soient réalisées des coupes de 7 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome. Les sections sont transférées sur des lames et séchées sur un électrotherme pendant au moins 15 minutes. Finalement, les sections ont été colorées par la méthode du picro-indigo-carmin qui colore le cytoplasme en jaune/vert couplée à une contre coloration à l'hématoxyline qui colore les noyaux en brun (Gabe 1968).

Deux à trois lames, selon la taille de l'individu, ont servi à mesurer la taille des ovocytes afin d'avoir une image la plus complète possible des ovaires. Quand cela était possible, un minimum de 100 ovocytes a été mesuré pour chaque femelle à partir de captures d'images sous microscope. Afin d'obtenir le diamètre maximal des ovocytes, seuls ceux dont le nucleus était visible ont été mesurés. Dans la mesure où la fixation et le protocole mis en oeuvre entraînent une compaction et donc une déformation des ovocytes (Kelly & Metaxas 2007, Pendlebury 2004), leur diamètre a été déterminé à partir de la mesure de leur surface à l'aide du logiciel Lucia[®] version 4.6 (Laboratory Imaging) en supposant les ovocytes de

Tableau 4.3. Température (moyenne ± écart-type) et paramètres chimiques (moyenne) des différents échantillons provenant du champ hydrothermal 13°N/EPR. La gamme des valeurs obtenues est fournie entre parenthèses. Pour chaque échantillon, la température a été mesurée en différents points (voir Tableau 4.1) alors que les paramètres chimiques ont été calculés à partir de modèles géochimiques. Voir le texte pour plus de détails. nd : non déterminé. * indique les échantillons prélevés dans les bouquets de *Riftia pachyptila*.

Site	Genesis			Parigo								Elsa		
Edifice	PP12		Hot 2	PP-Ph05(1)						PP-Ph05(2)		PP-Ph01	PP-Hot3	
Echantillon	G12-a	G12-b	G2-a*	P1-a	P1-b	P1-c	P1-d	P1-e*	P1-f	P2-a	P2-b	E1-a	E3-a	E3-b
Température (°C)	32,3±11,2 (22,0-48,0)	25,4±19,8 (5,0-69,0)	4,9±1,20 (2,5-7,9)	12,4±3,7 (2,7-18,1)	9,5±2,3 (2,7-18,1)	7,3±1,8 (3,7-12,2)	7,1±0,9 (5,2-8,5)	8,0±3,7 (2,8-16,1)	11,2±6,5 (2,0-29,0)	16,0±4,0 (7,0-25,0)	15,0±3,0 (7,0-20,0)	6,2±2,3 (2,0-22,0)	23,8±12,6 (5,5-50,3)	20,4±12,9 (4,4-50,3)
pH	6,0 (5,8-6,2)	6,1 (5,5-7,1)	nd	7,5 (7,2-8,0)	7,5 (7,2-8,0)	7,8 (7,5-7,9)	7,8 (7,7-7,9)	7,7 (7,3-8,0)	7,6 (6,4-8,0)	7,4 (6,8-7,8)	7,4 (7,1-7,8)	7,4 (6,7-8,0)	6,5 (6,0-7,5)	6,6 (6,0-7,7)
S-II (μmol.l ⁻¹)	394 (263-594)	306 (46-861)	nd	315 (39-477)	234 (39-477)	169 (68-310)	164 (111-204)	191 (42-421)	282 (20-788)	404 (167-667)	385 (156-534)	53 (0-600)	406 (45-927)	339 (24-927)
Fe II (μmol.l ⁻¹)	0	0	nd	22 (0-35)	15 (0-35)	9 (0-21)	9 (4-12)	11 (0-31)	19 (0-62)	29 (9-52)	28 (8-40)	6 (0-581)	339 (0-867)	270 (0-867)

forme sphérique. Ainsi, à partir de la mesure de la surface (S), le diamètre de l'ovocyte (D) est calculé selon la formule suivante :

$$D = \sqrt{\frac{4S}{\pi}}$$

Les histogrammes de distribution de fréquences de taille des ovocytes ont été construits pour chaque femelle et chaque échantillon, avec un intervalle de classe de 10 µm. L'histogramme obtenu pour chaque échantillon correspond à une distribution moyenne pour les femelles le composant.

La synchronie du développement reproducteur des femelles intra- et inter-échantillons a été testée grâce à un test de Kruskal-Wallis de comparaison de distributions. Dans le cas de différences significatives, un test a posteriori de comparaisons multiples (test de Dunn-Nemenyi) a été appliqué (Zar 1999).

L'état de maturité des femelles a également été estimé à partir du pourcentage d'ovocytes vitellogéniques par rapport au nombre total d'ovocytes mesurés.

Pour l'espèce *Lepetodrilus elevatus*, tous les individus mesurés lors de l'analyse des structures démographiques et ayant une longueur curvilinéaire supérieure à 3 mm ont été sexés. Le mâle se différencie aisément de la femelle par la présence d'un large pénis situé au niveau de la tête à proximité du tentacule céphalique gauche. Le sexe ratio obtenu a alors été comparé à un ratio théorique de 1:1 grâce à un test de conformité du χ^2 .

4.3 Résultats

4.3.1 Environnement physico-chimique

La caractérisation physico-chimique des sites est relative à l'environnement des peuplements de gastéropodes étudiés. Elle se limite aux conditions rencontrées en surface des colonies et ne reflète pas l'intégralité de l'habitat formé par les colonies d'*Alvinella pompejana* (voir revue Le Bris & Gaill 2007).

Les températures moyennes varient entre 6 et 32°C (Tableau 4.3). Elles sont globalement plus élevées pour les prélèvements de Genesis PP12, avec des valeurs moyennes comprises entre 25 et 32°C, et plus faibles pour le site de Parigo, variant entre 7 et 12°C pour l'édifice PP-Ph05(1) et entre 15 et 16°C pour l'édifice PP-Ph05(2). Pour le site Elsa, les résultats sont très contrastés entre les deux édifices avec des valeurs n'excédant pas 6°C à PP-

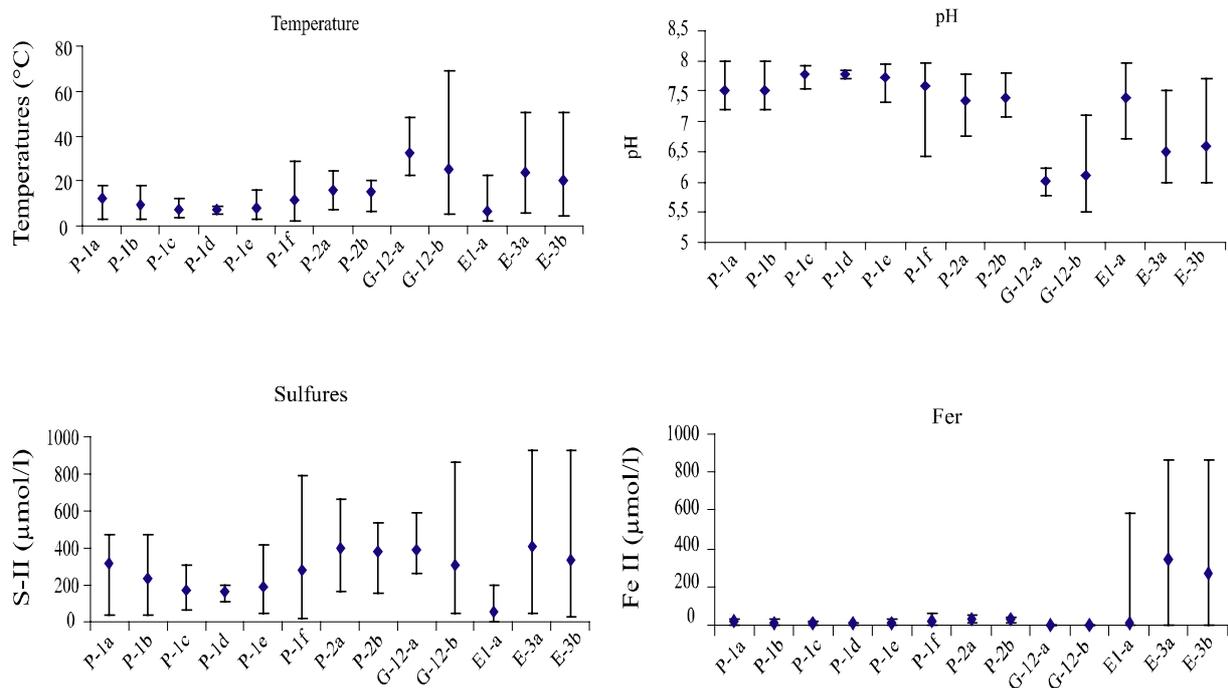


Figure 4.5 : Valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques mesurés *in situ* au niveau des différents édifices des sites hydrothermaux de la dorsale du Pacifique oriental à 13°N. Les barres représentent la gamme de variation du paramètre avec les valeurs minimale et maximale. (*) habitat à *Riftia pachytila*.

Ph01 contre des valeurs atteignant respectivement 20 et 24°C pour les deux échantillons de PP-Hot3. La température moyenne n'apparaît toutefois pas suffisante pour décrire les conditions thermiques que subissent les organismes comme l'atteste la variabilité temporelle des températures mesurées pour chacun des prélèvements (Figure 4.5). Les gammes d'amplitude de température sont très variables dans le temps, mais apparaissent cependant d'autant plus étendues que les prélèvements présentent des températures moyennes élevées. Ainsi, au niveau de l'édifice Genesis PP12, caractérisé par la plus forte valeur moyenne, la température fluctue entre 5 et 69°C en quelques minutes. De même, la variation de température à Elsa PP-Hot3 atteint 45°C alors qu'elle ne dépasse pas 27°C pour les prélèvements de Parigo. L'amplitude des fluctuations de température est en revanche indépendante de la durée des séries d'observations ($R^2 = 0,0629$; $n = 14$; $p = 0,3872$) à l'échelle de notre étude. Une telle dispersion dans les données peut s'expliquer en partie par de faibles différences dans le positionnement de la sonde au-dessus des colonies, les gradients physico-chimiques étant très prononcés à l'échelle des colonies d'*Alvinella* (Le Bris *et al.* 2005). En effet, le visionnage des vidéos montre que la sonde se situe en alternance dans une zone miroitante et dans une zone limpide assimilée à l'eau de mer ambiante. La dispersion observée peut également être attribuée au mélange turbulent entre le fluide chaud et l'eau de mer froide au-dessus de l'ouverture des tubes d'*Alvinella pompejana*.

Le pH moyen calculé est globalement plus faible que celui de l'eau de mer ambiante avec des valeurs légèrement acides (i.e. 6,0-6,6) à Genesis PP12 et Elsa PP-Hot3, et des valeurs quasi-neutres voire alcalines (i.e. 7,4-7,8) pour le site Parigo et Elsa PP-Ph01 (Tableau 4.3 ; Figure 4.5).

Les concentrations moyennes en sulfure varient entre 53 et 406 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ avec les plus fortes valeurs obtenues pour Genesis PP12 (i.e. 306 et 394 $\mu\text{mol.l}^{-1}$), Parigo PP-PPh05(2) (i.e. 385 et 404 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) et Elsa PPHot3 (i.e. 339 et 406 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) (Tableau 4.3). Les gammes de variation les plus fortes sont observées pour ces mêmes édifices avec des concentrations maximales pouvant excéder 800 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (Figure 4.5).

Les concentrations moyennes en fer sont fortement réduites pour les prélèvements de Genesis (en dessous du seuil de détection égal à 5 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) et Parigo (inférieures à 29 $\mu\text{mol.l}^{-1}$). A l'inverse, elles atteignent de fortes concentrations pour les prélèvements de Elsa PP-Hot3 (i.e. 270 et 339 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) (Tableau 4.3). Bien que la valeur moyenne estimée à Elsa PP-Ph01 soit très faible, la gamme de variation montre que la concentration en fer peut être ponctuellement élevée pour cet édifice (Figure 4.5).

Au sein de l'habitat à *Alvinella*, la variabilité des paramètres physico-chimiques moyens est relativement faible à l'échelle d'un unique édifice hydrothermal et se manifeste principalement entre les fumeurs d'un même site et, entre les sites. A titre d'exemple, deux types d'habitats distincts sont observés pour chacun des édifices de Parigo et Elsa. D'un côté le diffuseur PP-Ph05(1) de Parigo et le fumeur PP-Ph01 de Elsa présentent des températures relativement faibles, un pH quasi-neutre et des concentrations en sulfure modérées. De l'autre, le fumeur PP-Ph05(2) de Parigo et le fumeur PP-Hot3 de Elsa se caractérisent par de fortes température, un pH légèrement acide, des concentrations en sulfure élevées et une forte variabilité à micro-échelle des différents paramètres physico-chimiques. L'hétérogénéité entre sites est principalement due aux concentrations en fer.

Au niveau des bouquets de *Riftia pachyptila*, les valeurs des différents paramètres apparaissent plus faibles que dans l'habitat à *Alvinella pompejana*. Les températures sont de 5 et 8°C pour les prélèvements provenant de Genesis et de Parigo, les concentrations en sulfures ne dépassent pas 200 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ et le fer est quasi absent (Tableau 4.3). Cependant, bien que le prélèvement effectué dans la zone de diffusion Genesis Hot2 présente les plus faibles valeurs de température, la gamme des paramètres physico-chimiques rapportée pour le prélèvement récolté sur Parigo PP-Ph05(1) ne diffère pas de celle des échantillons voisins prélevés dans les colonies d'*Alvinella pompejana* (Tableau 4.3). Il est cependant à noter que le modèle permettant d'extrapoler les valeurs des paramètres chimiques à partir de la température a été défini spécifiquement pour l'habitat à alvinellidés, et n'est pas nécessairement valide pour l'habitat à *Riftia* étant donné les différences observées entre ces deux habitats dans les paramètres contrôlant la chimie du milieu (Le Bris *et al.* 2003, Le Bris *et al.* 2005).

Le dendrogramme réalisé à partir des paramètres physico-chimiques de chaque prélèvement permet de synthétiser l'ensemble des données et illustre parfaitement les propos détaillés ci-dessus. Il individualise ainsi 3 groupes majeurs de prélèvements (Figure 4.6):

- (1) les prélèvements de Elsa Hot3 (i.e. E3-a et E3-b) qui se caractérisent par des températures moyennes supérieures à 20°C, des concentrations moyennes en sulfures supérieures à 300 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ et de fortes teneurs en fer ;
- (2) le prélèvement de Elsa PP-Ph01 (i.e. E1-a) avec de faibles températures et concentrations en sulfures mais la présence ponctuelle de fer ;
- (3) les prélèvements effectués sur les sites Parigo et Genesis avec des concentrations en fer faibles ou nulles ; ce dernier ensemble peut être subdivisé en 3 sous ensembles :

Tableau 4.4. Composition spécifique des échantillons prélevés sur le champ hydrothermal 13°N/EPR.

	G12-a	G12-b	G2-a	E1-a	E3-a	E3-b	P1-a	P1-b	P1-c	P1-d	P1-e*	P1-f	P2-a	P2-b
<i>Lepetodrilus elevatus</i>	149	13	10 589	0	4	33	158	106	250	224	8 179	509	2	8
<i>Lepetodrilus pustulosus</i>	4	1	205	0	1	1	3	2	9	12	76	13	0	0
<i>Lepetodrilus cristatus</i>	0	1	13	1	1	7	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Nodopelta heminoda</i>	74	64	0	2	1	22	1	8	18	6	0	0	2	4
<i>Nodopelta subnoda</i>	89	68	0	18	5	22	0	7	2	2	0	0	5	0
<i>Peltopera operculata</i>	27	6	0	34	18	2	2	5	2	5	3	0	15	5
<i>Peltopera delicata</i>	1	1	1	0	2	2	0	0	0	0	0	0	3	0
<i>Cyathemia naticoides</i>	2	0	11	0	1	2	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pachydermia laevis</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hirtopelta hirta</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhynchopelta concentrica</i>	0	1	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	348	157	10847	55	33	91	164	129	281	250	8258	522	27	17
Richesse spécifique	8	9	6	4	8	8	4	6	6	6	3	2	5	3

- (i) un prélèvement de Parigo PP-PH05(1) (i.e. P1-f) et un de Genesis PP12 (i.e. G12-b) avec d'assez fortes valeurs maximales de température et de concentration en sulfure ;
- (ii) la majorité des prélèvements de Parigo PP-PH05(1) (i.e. P1-a à P1-e) avec des températures moyennes inférieures à 10°C et des concentrations en sulfures inférieures à 300 $\mu\text{mol.l}^{-1}$;
- (iii) les prélèvements Parigo PP-Ph05(2) (i.e. P2-a et P2-b), et un de Genesis PP12 (i.e. G12-a) avec des températures moyennes comprises entre 15 et 32°C et des teneurs en sulfures avoisinant les 400 $\mu\text{mol.l}^{-1}$.



Figure 4.6. Dendrogramme regroupant les échantillons selon leurs caractéristiques physico-chimiques à partir du calcul de la distance euclidienne. * habitat à *Riftia pachyptila*.

Ces différentes observations tendent clairement à prouver que la température seule peut être un mauvais proxy pour caractériser l'environnement physico-chimique des habitats hydrothermaux tel que le perçoivent les organismes.

4.3.2 Analyse des assemblages de gastéropodes

4.3.2.1 Composition faunistique

Un total de 11 espèces de gastéropodes a été identifié sur les 16 prélèvements disponibles (Tableau 4.4). Cinq espèces sont présentes dans 9 à 13 échantillons et représentent entre 87 et 100% de la totalité des individus dans chaque prélèvement. Il s'agit de 2 lepetodrilidés (i.e. *Lepetodrilus elevatus* et *L. pustulosus*) et de 3 peltospiridés (*Nodopelta*

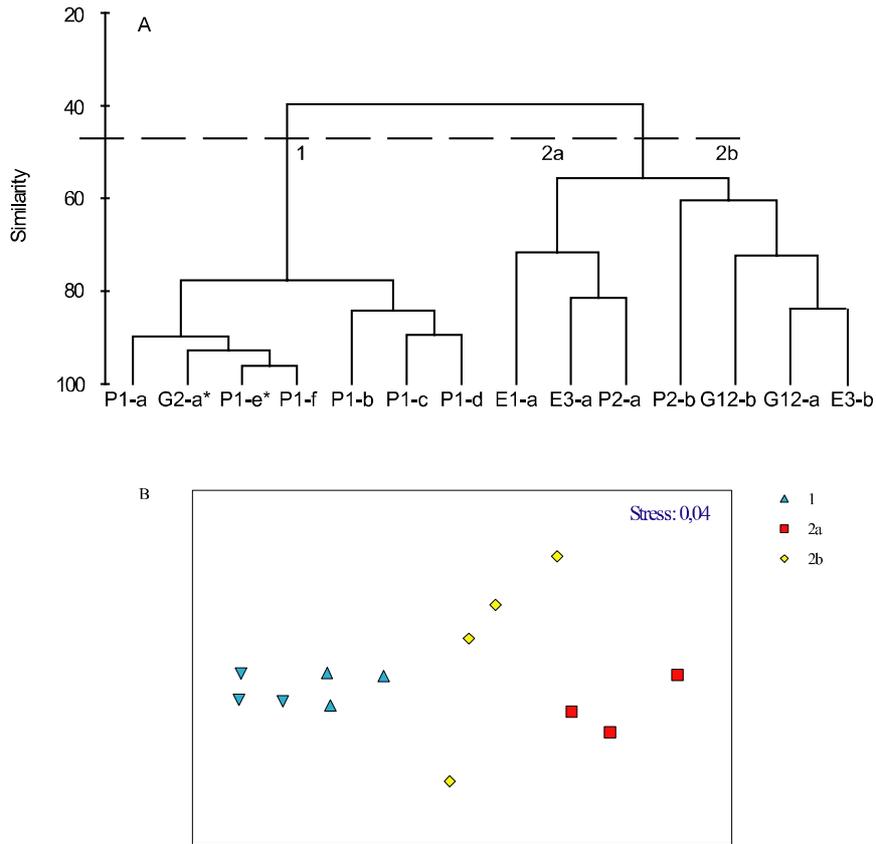


Figure 4.7. Dendrogramme (A) et cadrage multidimensionnel (MDS) (B) regroupant les prélèvements effectués à 13°N en fonction de leur composition en gastéropodes. Les analyses ont été effectuées à partir du calcul du coefficient de similarité de Bray-Curtis. Les données biologiques ont été standardisées et ont subi une transformation \sqrt{x} * habitat à *Riftia pachytila*.

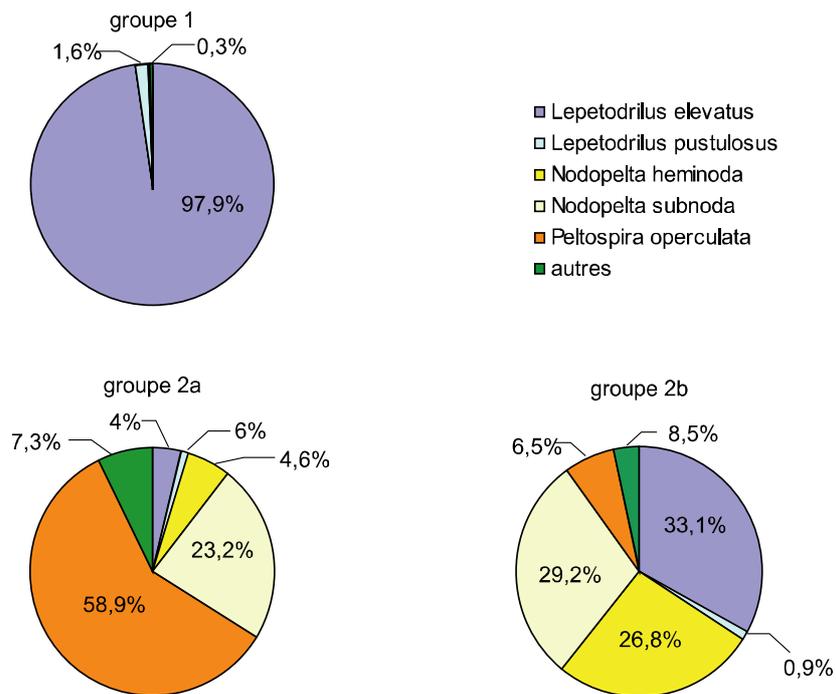


Figure 4.8. Composition faunistique des différents groupes faunistiques identifiés grâce au dendrogramme.

heminoda, *N. subnoda* et *Peltoispira operculata*). A l'opposé, 2 espèces sont présentes exclusivement dans un échantillon : *Pachydermia laevis* et *Hirtopelta hirta*.

Au sein de l'habitat à *Alvinella pompejana*, le nombre d'individus échantillonnés et la richesse spécifique varient sensiblement entre les échantillons : de 17 à 522 individus et de 2 à 9 espèces (Tableau 4.4). Les deux échantillons provenant de l'habitat à *Riftia pachyptila* présentent des effectifs considérables (8258 et 10847 individus) mais une richesse spécifique modeste (3 à 6 espèces).

4.3.2.2 Structure des assemblages faunistiques

Le dendrogramme et le MDS construits à partir de la matrice espèces –stations indiquent la présence de deux groupes faunistiques bien distincts (Figure 4.7). La faible valeur du stress calculée pour le MDS (i.e. 0,04) témoigne d'une excellente représentation graphique.

Le premier groupe inclut tous les échantillons du diffuseur Parigo PP-Ph05(1) ainsi que le prélèvement récolté dans les bouquets de *Riftia* à Genesis Hot2. Il est caractérisé par une très forte dominance de l'espèce *Lepetodrilus elevatus* qui représente entre 82,2 et 99,1 % des individus récoltés (Figure 4.8). Le niveau de similarité entre les prélèvements de ce groupe est fort et atteint pratiquement 80%.

Le deuxième groupe est constitué des échantillons provenant du diffuseur Genesis PP12, de la cheminée PP-Ph05(2) de Parigo et les deux fumeurs d'Elsa. S'il est surtout dominé par les gastéropodes de la famille des peltospiridés, le faible niveau de similarité entre les prélèvements, proche de 50%, témoigne d'une assez forte hétérogénéité faunistique au sein de ce groupe. Cependant, il peut être subdivisé en 2 sous-groupes à un niveau de similarité d'environ 60 % :

- (1) le sous-groupe 2a inclut les échantillons P2-a, E1-a, et E3-a ; il se distingue par une forte proportion de *Peltoispira operculata* (i.e. 54,5 à 61,8 % des individus) et la présence de *Nodopelta subnoda* (i.e. 15,2 à 32,7 % des individus) (Figure 4.8) ;
- (2) le sous-groupe 2b est constitué des deux échantillons de Genesis PP12 (i.e. G12-a, G12-b) et des échantillons P2-b et E3-b ; il est caractérisé par un mélange des deux espèces de *Nodopelta* (23,5 à 84,1 % des individus) et de *Lepetodrilus elevatus* (8,3 à 47,1 % des individus) (Figure 4.8).

Comme dans l'analyse précédente relative aux paramètres physico-chimiques, la composition faunistique apparaît cohérente au sein d'un même édifice et une variabilité se

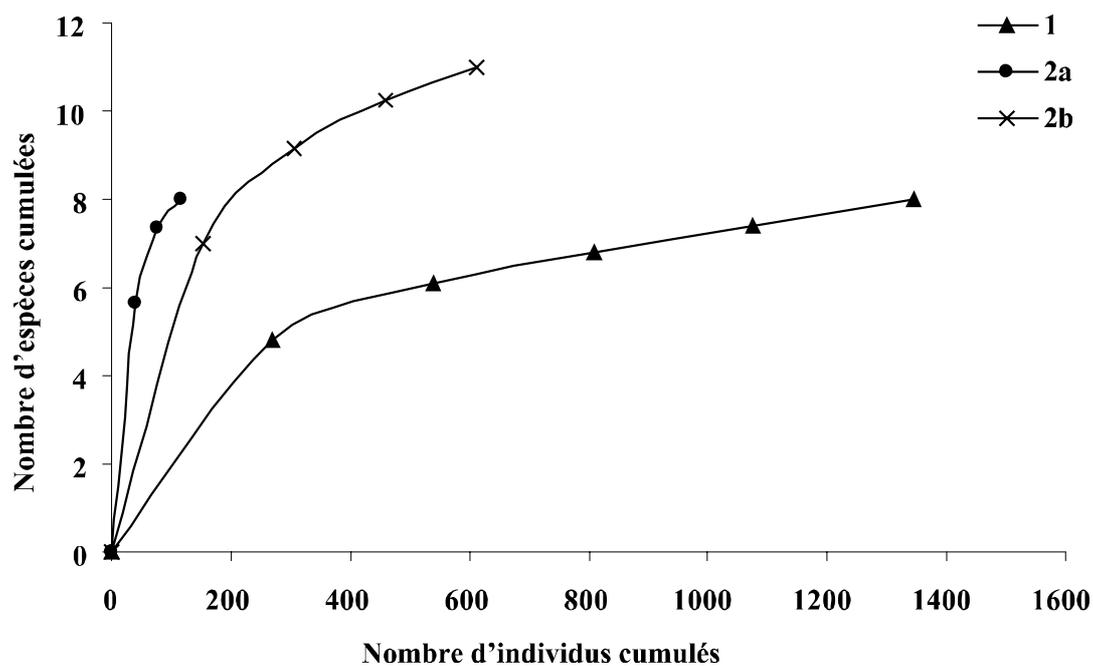


Figure 4.9. Courbes d'accumulation d'espèces pour chaque groupe faunistique identifiés à l'aide du dendrogramme. Les courbes ont été générées à partir de 100 permutations.

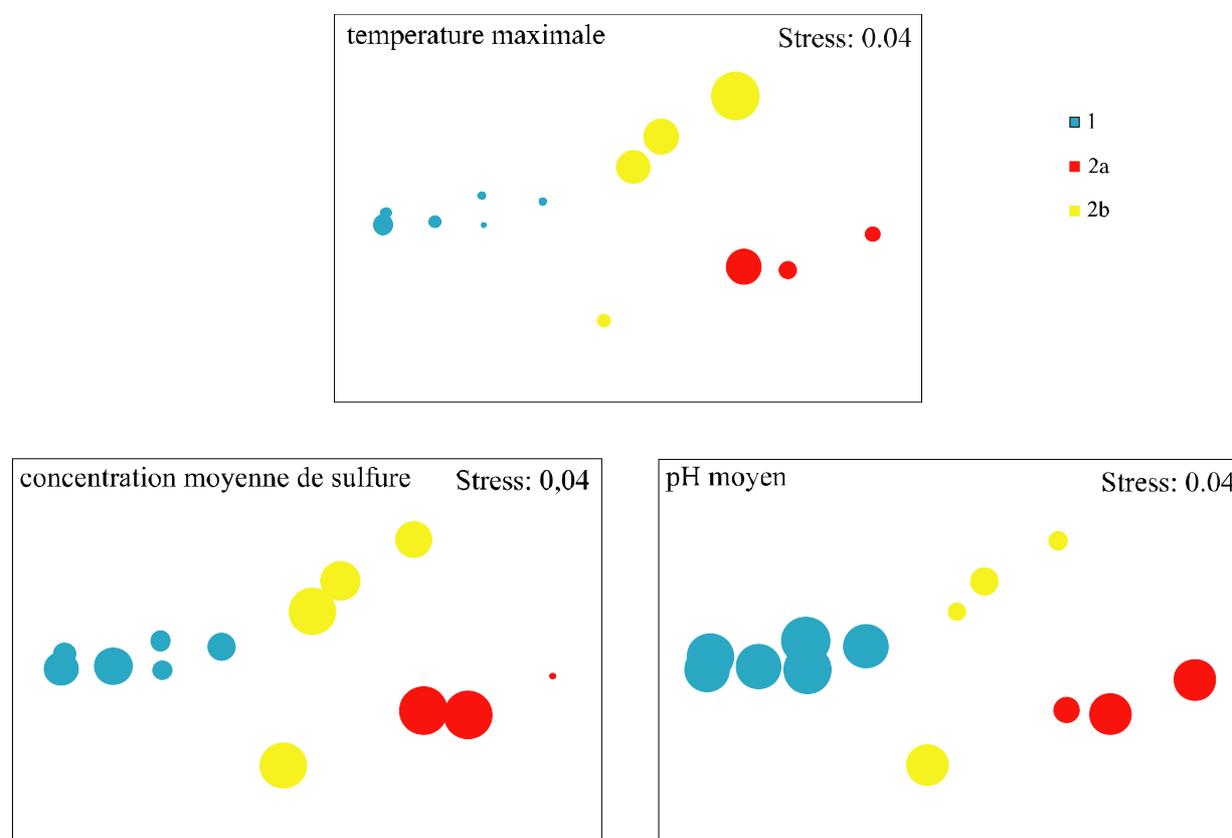


Figure 4.10. Cadrage multidimensionnel (MDS) regroupant les échantillons en fonction de leurs compositions faunistiques. Pour chaque prélèvement, la taille des bulles est proportionnelle à la valeur des paramètres physico-chimiques concernés. Voir texte et Figure 4.7B pour le détail des groupes.

manifeste principalement entre édifices et entre sites. Bien que les deux analyses, environnementale et biologique, tendent vers des résultats comparables, quelques différences majeures méritent d'être notées. En particulier, les prélèvements du fumeur de Parigo (i.e. P2-a et P2-b) et du diffuseur de Genesis PP12 (i.e. G12-a) se rapprochent d'un point de vue composition faunistique de ceux d'Elsa en dépit d'une chimie différente.

Les courbes d'accumulation d'espèces construites pour chaque groupe faunistique suggèrent que les habitats correspondant au groupe 2 et dominés par les peltospiridés possèdent une diversité plus élevée que les habitats associés au groupe 1 et largement dominés par *Lepetodrilus elevatus* (Figure 4.9). La plus forte diversité est observée pour le groupe 2a où *L. elevatus* est quasiment absent des échantillons. Il peut cependant être noté qu'aucune courbe ne s'approche d'une asymptote attestant d'un effort d'échantillonnage insuffisant.

4.3.2.3 Relation avec l'environnement

Quand une seule variable est prise en compte, le paramètre physico-chimique le plus explicatif est la concentration moyenne en sulfures ($\rho_w = 0,373$). Les deux variables explicatives suivantes sont le pH moyen ($\rho_w = 0,358$) et la température maximale ($\rho_w = 0,233$). La combinaison de variables présentant le plus fort coefficient de corrélation implique les 3 variables énoncées ci-dessus (i.e. concentration moyenne en sulfure, température maximale et pH moyen) avec un ρ_w de 0,401.

La superposition des données environnementales sur le MDS regroupant les échantillons en fonction de leur composition faunistique illustre le rôle de chaque paramètre physico-chimique dans la différenciation des différents assemblages (Figure 4.10). Le premier groupe est associé à des températures maximales et des concentrations moyennes en sulfure faibles, et un pH élevé. A l'inverse, le groupe 2 est plutôt relié à des températures maximales et des concentrations moyennes en sulfure élevées, et un pH plutôt acide. Le prélèvement E1-a récolté sur le fumeur PP-Ph01 de Elsa se distingue de ce patron général. En effet, alors qu'il présente une composition faunistique caractéristique du groupe 2 avec une dominance de peltospiridés, ses caractéristiques physico-chimiques sont plus proches de celles des prélèvements du premier groupe, à l'exception de la présence ponctuelle de fer.

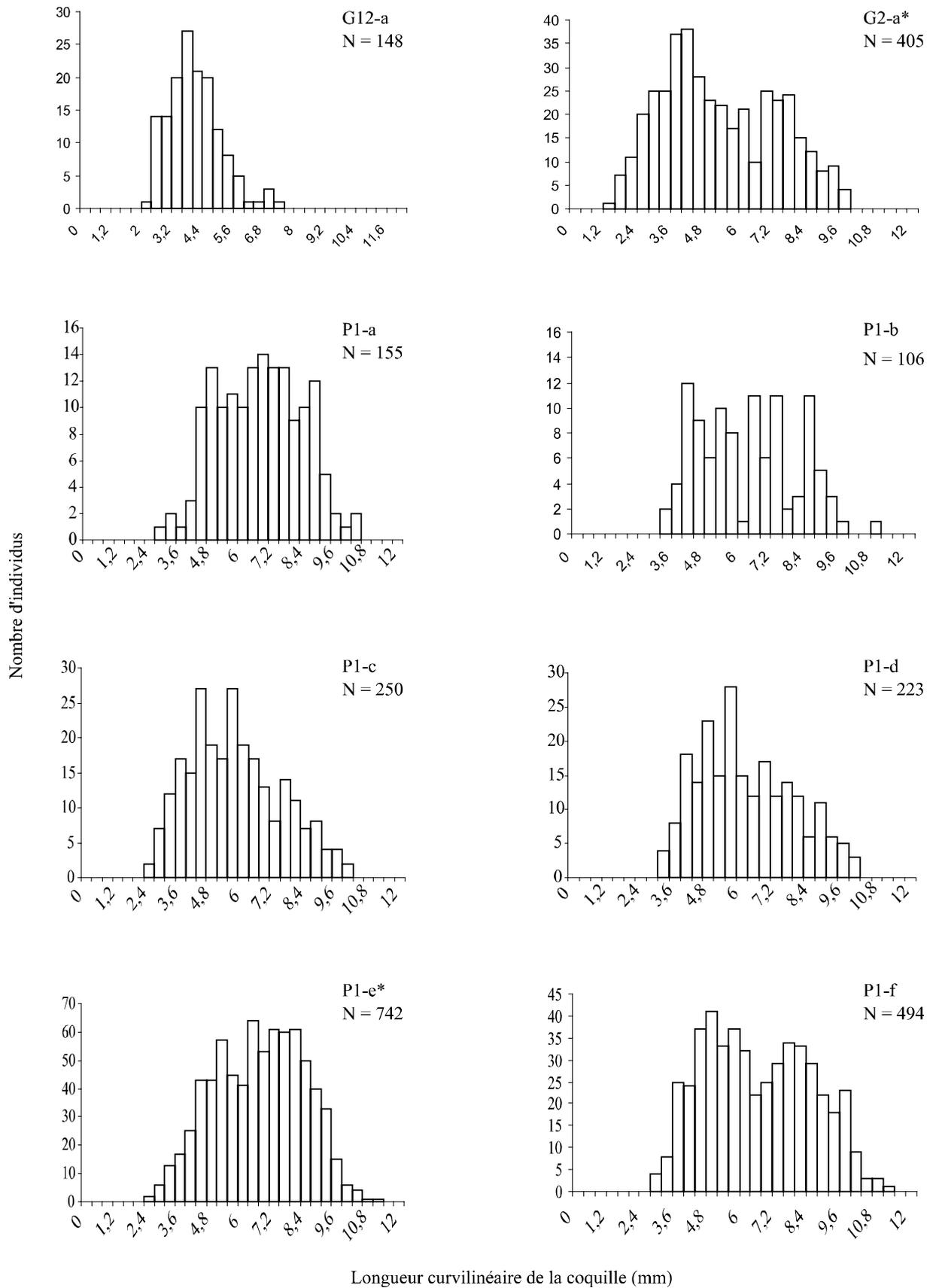


Figure 4.11. Distribution de fréquences de taille de *Lepetodrilus elevatus* pour différents échantillons du champ hydrothermal 13°N/EPR. N = nombre d'individus mesurés. * habitat à *Riftia pachyptila*.

4.3.3 Structure démographique des 4 principales espèces de gastéropodes

4.3.3.1. *Lepetodrilus elevatus*

La structure de la population de *Lepetodrilus elevatus* a été analysée pour 8 prélèvements provenant de 3 structures hydrothermales avec des environnements physico-chimiques contrastés (i.e. Parigo PP-Ph05(1), Genesis PP12 et Genesis Hot2), pour lesquels les individus étaient en nombre suffisant (Tableau 4.5). La longueur curvilinéaire de la coquille varie entre 1,09 et 11,27 mm. Toutes les distributions de fréquence de taille à l'exception de celles des échantillons G12-a et P1-a diffèrent significativement d'une distribution normale (test de Kolmogorov-Smirnov, $p < 0,05$; Figure 4.11) et peuvent être considérées comme plurimodales. Néanmoins, l'absence d'indication sur la fréquence des recrutements ou sur la croissance de ces organismes nous a amené à ne pas réaliser de décomposition modale sur ce jeu de données.

Tableau 4.5. Caractéristiques des échantillons de *Lepetodrilus elevatus* prélevés sur le champ hydrothermal 13°N/EPR. * habitat à *Riftia pachytila*. ET : écart-type.

Latitude	Longitude	Edifice	Date	Plongée	Taille de l'échantillon	Gamme de taille (mm)	Longueur (mm)	
							moyenne	ET
12°48,613 N	103°56,425 W	Parigo (1a)	19/05/02	159	158	3,08 - 11,27	6,89	1,67
		Parigo (1b)	20/05/20	160	106	2,92 - 10,79	6,00	1,82
		Parigo (1c)	22/05/02	162	250	2,55 - 10,11	5,89	1,73
		Parigo (1d)	22/05/02	162	224	3,28 - 10,19	6,35	1,69
		Parigo (1e*)	22/05/02	162	8179	1,09 - 11,24	6,82	1,73
		Parigo (1f)	23/05/02	163	509	2,59 - 11,09	6,27	1,92
12°48,67 N	103°56,43' W	Genesis PP12 (a)	24/05/02	164	149	2,35 - 7,21	4,07	1,01
		Genesis Hot2*	30/05/02	169	10589	1,57 - 9,90	5,32	1,88

Les distributions en fréquences de tailles sont très variables entre échantillons et diffèrent significativement les unes des autres (test de Kruskal-Wallis ; $H = 430,61$, ddl = 7, $p < 10^{-3}$). Les tests *a posteriori* de comparaisons multiples ont mis en évidence 4 groupes distincts d'échantillons: (i) G12-a, (ii) G2-a, (iii) P1-b, P1-c, P1-d et P1-f, et (iv) P1-a et P1-e. Ces deux derniers échantillons diffèrent des autres échantillons prélevés à Parigo par leur plus forte abondance d'individus de grande taille (> 7 mm). L'échantillon prélevé à Genesis PP12 se distingue des autres par une forte dominance des petits individus : la proportion de spécimens de taille inférieure à 5 mm atteint 85,8 % de cet échantillon contre 14,7 à 48,6 % dans les autres.

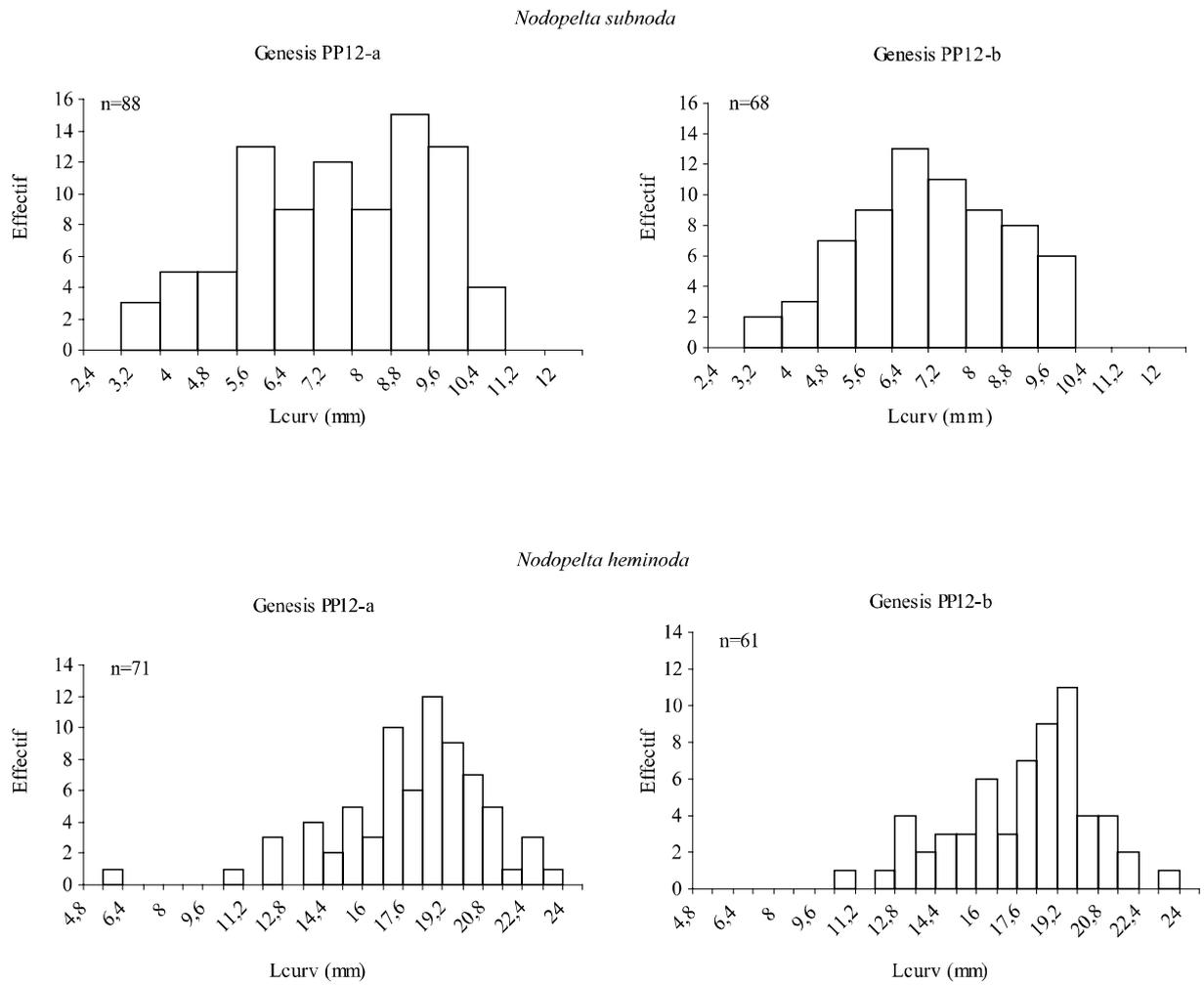


Figure 4.12. Distribution de fréquences de taille de *Nodopelta heminoda* et *N. subnoda* pour différents échantillons du champ hydrothermal 13°N/EPR. n = nombre d'individus mesurés.

4.3.3.2. Les peltospiridés

Seuls deux à quatre échantillons possédant un effectif supérieur à 18 ont été analysés pour chaque espèce (Tableau 4.6). La longueur curvilinéaire des coquilles varie entre 6,1 et 23,33 mm pour *Nodopelta heminoda*, et entre 3,44 et 11,07 mm pour *N. subnoda*, alors que la longueur totale fluctue entre 2,97 et 9,38 mm pour *Peltospira operculata*. Les distributions de fréquence de taille des trois espèces sont conformes à une distribution normale (test de Kolmogorov Smirnov ; $p > 0,05$; Figure 4.12).

Tableau 4.6. Caractéristiques des échantillons des 3 espèces de peltospiridés prélevés sur le champ hydrothermal 13°N/EPR.

Espèce	Edifice	Taille de l'échantillon	Gamme de taille (mm)	Longueur (mm)	
				Moyenne	Ecart-type
<i>Nodopelta heminoda</i>	Genesis PP12 (a)	73	6,1-23,33	18	2,95
	Genesis PP12 (b)	61	10,66-23,17	17,79	2,64
	Parigo (1c)	18	11,23-21,84	18,4	3,27
	Elsa Hot3 (3b)	22	9,41-17,04	14,46	1,78
<i>Nodopelta subnoda</i>	Genesis PP12 (a)	88	3,45-11,07	7,74	1,9
	Genesis PP12 (b)	68	3,44-10,31	7,21	1,67
	Elsa Ph01 (1a)	18	4,6-10,72	7,12	1,63
	Elsa Hot3 (3b)	20	4,36-10,81	7,66	1,6
<i>Peltospira operculata</i>	Genesis PP12 (a)	26	2,97-8	7,07	0,94
	Elsa Ph01 (1a)	33	4,85-9,38	6,79	1,09

Après vérification de l'homogénéité des variances entre échantillons, une ANOVA à un facteur a été effectuée pour comparer les tailles moyennes des deux espèces du genre *Nodopelta*. Alors qu'il n'y a aucune différence significative entre les échantillons pour *N. subnoda* (ANOVA ; $F = 1,48$; $dl = 3$; $p = 0,22$), les longueurs varient significativement pour *N. heminoda* (ANOVA ; $F = 10,57$; $dl = 3$; $p = 0,000$). Un test *a posteriori* de Student-Newman-Keuls indique que seul l'échantillon prélevé à Elsa Hot3 explique cette différence en raison de la présence d'individus de plus petite taille.

Un test de Student effectué sur les longueurs totales de la coquille de *Peltospira operculata* ne met pas en évidence de différence significative de la taille moyenne des individus entre les deux sites étudiés (Test de Student ; $t = -1,055$; $p = 0,148$).

4.3.4 Biologie reproductive des 4 principales espèces échantillonnées

4.3.4.1. *Lepetodrilus elevatus*

Aucun échantillon ne présente un sexe ratio significativement différent du sexe ratio théorique de 1:1 (test de conformité du χ^2 ; $p > 0,05$).

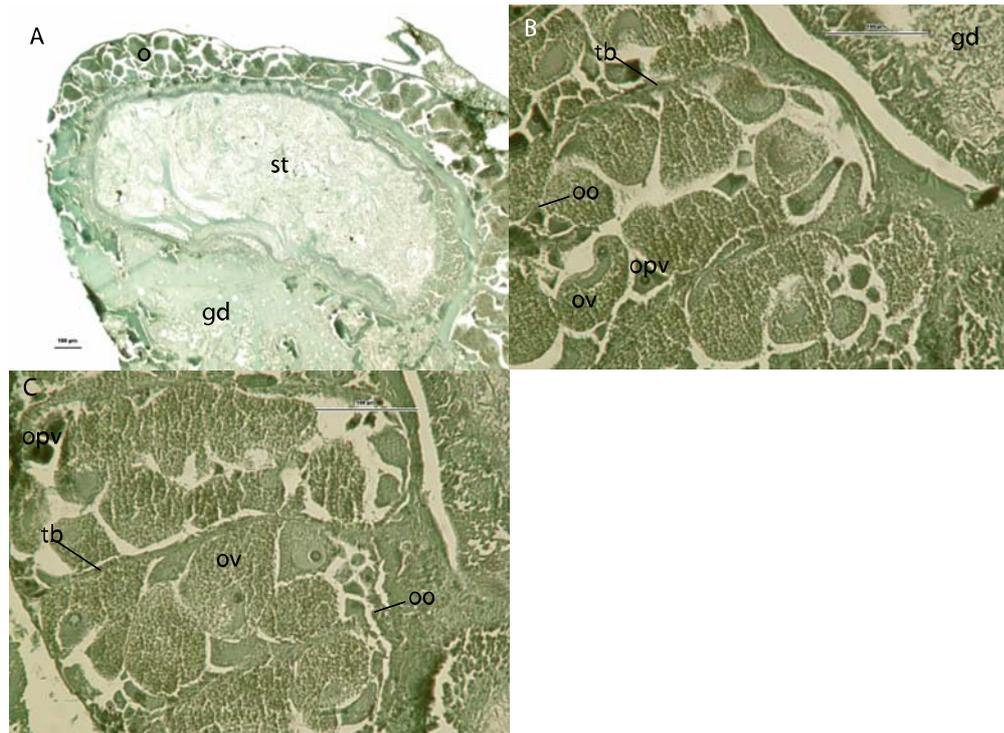


Figure 4.13 Morphologie de la gonade de *Lepetodrilus elevatus*. o : ovaire ; st : estomac ; gd : glande digestive ; tb : trabeculae ; ov : ovocyte vitellogénique ; opv : ovocyte prévitellogénique ; oo : oogonie.

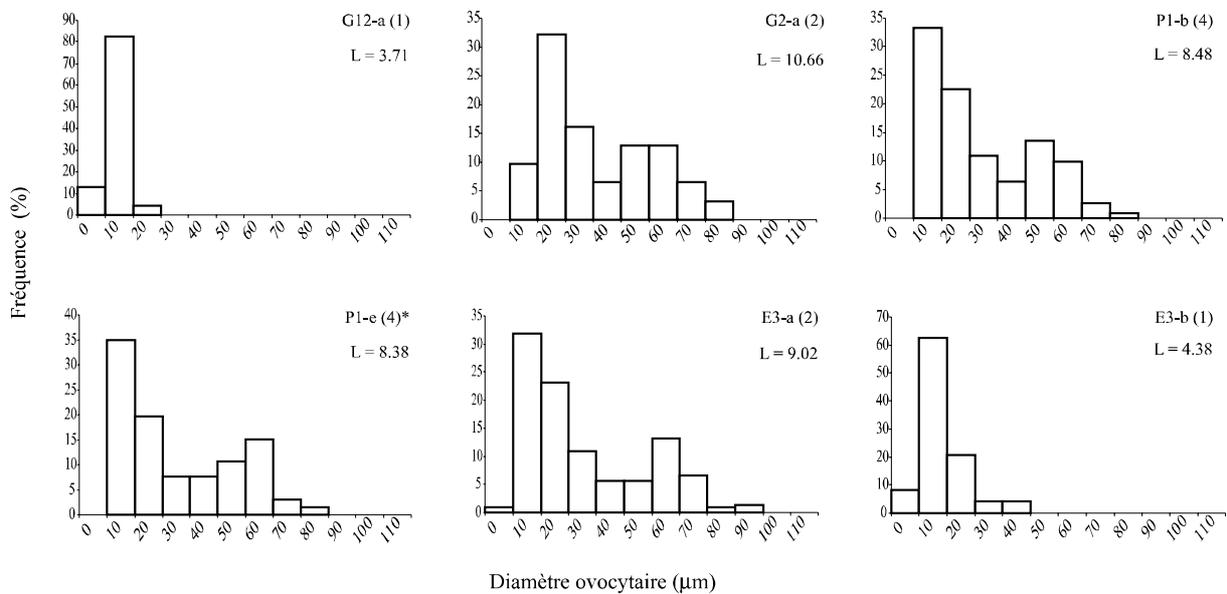


Figure 4.14 Distribution de fréquences de taille des ovocytes pour 6 femelles de *Lepetodrilus elevatus* provenant de différents échantillons prélevés à 13°N/EPR. Entre parenthèses : numéro de la femelle ; L : longueur curvilinéaire de la coquille.

Comme décrit chez Fretter (1988), la gonade de cette espèce est placée ventralement par rapport à l'estomac et à la glande digestive. Dorsalement, elle apparaît progressivement dans la partie postérieure et droite de l'animal, entre la glande digestive et les muscles de la coquille (Figure 4.13). L'épithélium germinale à partir duquel se développent les oogonies chez les femelles s'étend à l'intérieur des ovaires de sorte que celles-ci sont retrouvées à travers la gonade entière. Des structures similaires à des septums visibles dans la gonade correspondent à des protusions internes de tissu conjonctif appelées *trabeculae* (Pendlebury 2004 ; Figure 4.13b). Les femelles possèdent un réceptacle séminale (ou spermathèque) qui leur permet de stocker les spermatozoïdes jusqu'à la fécondation qui semble s'opérer dans la cavité palléale (Fretter 1988, Pendlebury 2004). La fécondation serait ainsi « pseudo-interne ».

Les coupes histologiques ont permis de facilement distinguer deux types d'ovocytes au microscope : (1) les oogonies de petite taille et les ovocytes prévitellogéniques de taille < 40 μm et reconnaissables à leur large nucléus et à leur cytoplasme basophile; (2) les ovocytes vitellogéniques de taille > 40 μm avec un large cytoplasme à aspect granuleux lié à la présence du vitellus (Figure 4.13).

Chez les différentes femelles analysées, le diamètre des ovocytes varie entre 7,3 et 113,9 μm . Chaque distribution se caractérise en général par la présence de deux modes, un premier correspondant à un pic d'ovocytes prévitellogéniques et un deuxième à un pic d'ovocytes vitellogéniques (Figure 4.14). Il existe alors une corrélation significative entre le pourcentage d'ovocytes vitellogéniques et la longueur curvilinéaire de la coquille ($R^2 = 0,2564$; $n = 72$; $p < 10^{-3}$; Figure 4.15). Toutefois, cette corrélation disparaît lorsque les individus de taille inférieure à 6 mm sont exclus de l'analyse ($R^2 = 0,015$, $n = 58$, $p = 0,363$). Ainsi, pour une taille excédant 6 mm, il semble que le degré de maturité des femelles soit indépendant de leur taille. La présence de tous les stades ovocytaires chez la majorité des individus confirme une gamétogénèse continue pour cette espèce.

Les distributions de fréquence de taille des ovocytes sont significativement différentes à toutes les échelles spatiales appréhendées : entre les sites, entre les édifices au sein d'un site, et entre les femelles au sein d'un même édifice (Figure 4.16). Entre les édifices, la différence significative observée (test de Kruskal-Wallis ; $H = 246,28$; $df = 4$; $p < 10^{-3}$) est principalement due aux individus de Genesis PP12 pour lesquels les ovocytes mesurés

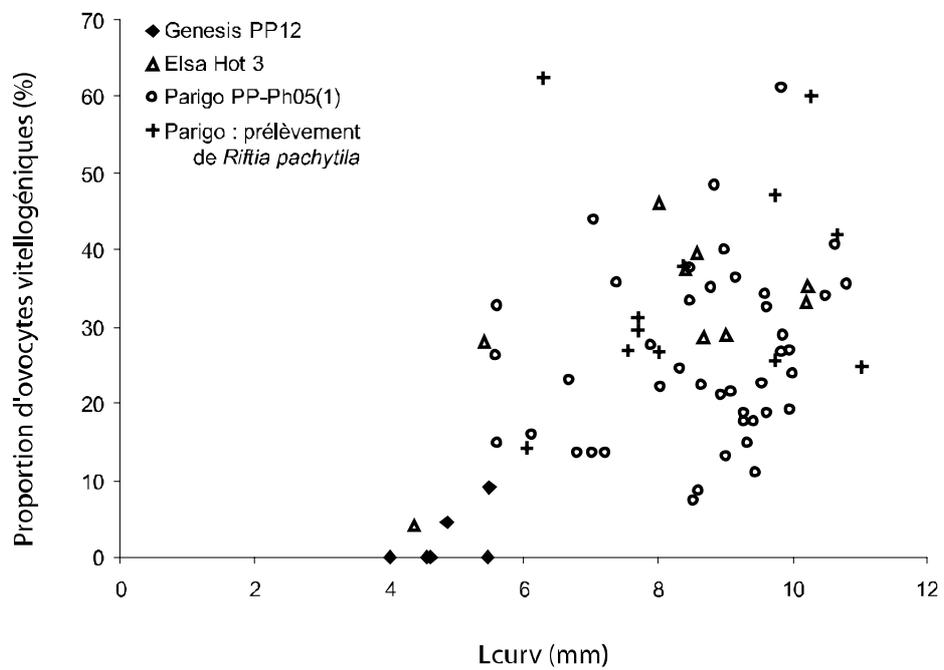


Figure 4.15 Relation entre la taille de l'animal (longueur curvilinéaire de la coquille) et la proportion d'ovocytes vitellogéniques chez *Lepetodrilus elevatus*.

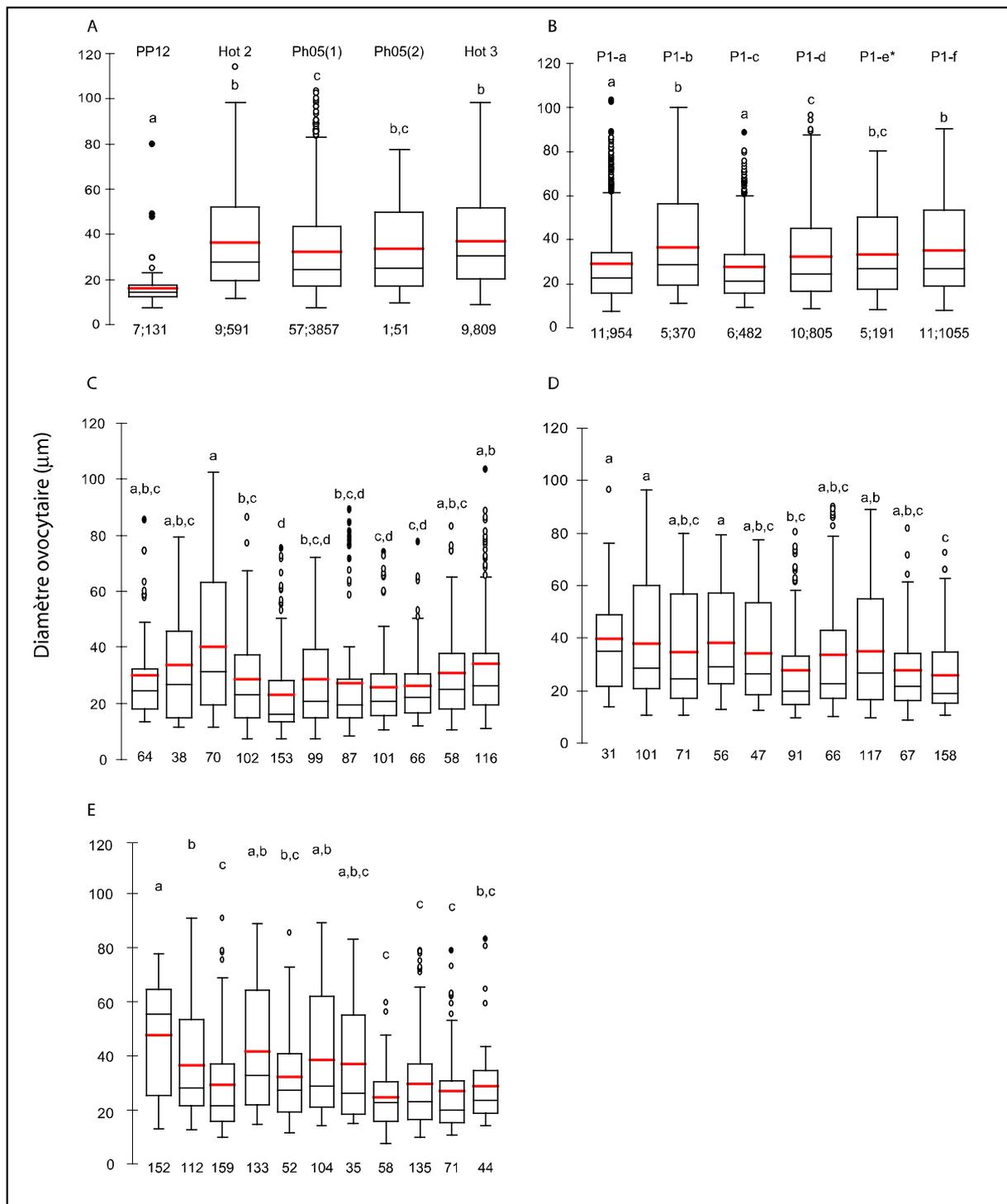


Fig. 4.16. Boîtes à moustaches illustrant la variation du diamètre ovocytaire à différentes échelles spatiales. A : entre édifices. B: entre échantillons du fumeur Parigo PP-Ph05(1). C, D et E, entre femelles issues respectivement des échantillons P1-a, P1-d et P1-f. Les nombres sous chaque boîte correspondent respectivement au nombre d'individus et au nombre d'ovocytes, analysés pour établir les boîtes à moustaches. Les lettres similaires indiquent l'absence de différences significatives entre les distributions de fréquence de taille des ovocytes ($p > 0,05$) suite aux tests de comparaisons multiples réalisés selon la procédure de Dunn-Nemenyi. * habitat à *Riftia pachyptila*.

Les boîtes à moustaches incluent la médiane, le premier et le troisième quartile, la moyenne (trait rouge), l'intervalle de confiance à 95% (μm) et les valeurs extrêmes.

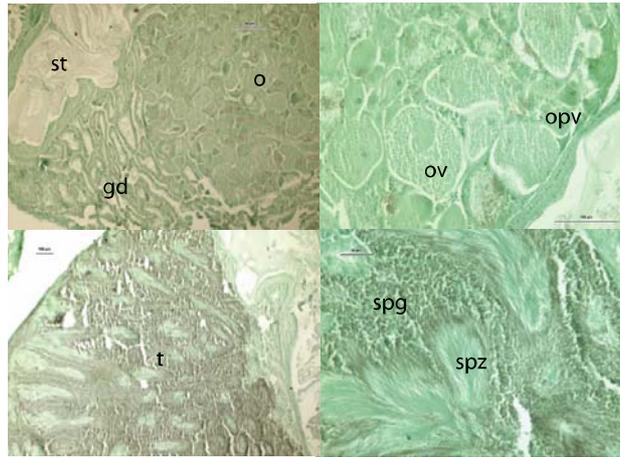


Figure 4.17. Morphologie de la gonade de *Nodopelta heminoda*. o : ovaire ; t : testicule ; st : estomac ; gd : glande digestive ; ov : ovocyte vitellogénique ; opv : ovocyte prévitellogénique ; oo : oogonie ; spg : spermatogonies ; spz : spermatozoïdes.

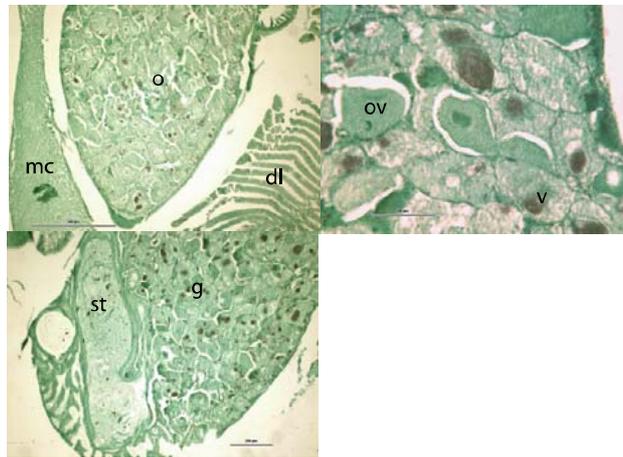


Figure 4.18. Morphologie de la gonade de *Nodopelta subnoda*. o : ovaire ; st : estomac ; dl : lamelles branchiales dorsales ; mc : muscles de la coquille ; ov : ovocyte vitellogénique ; v : vésicule.

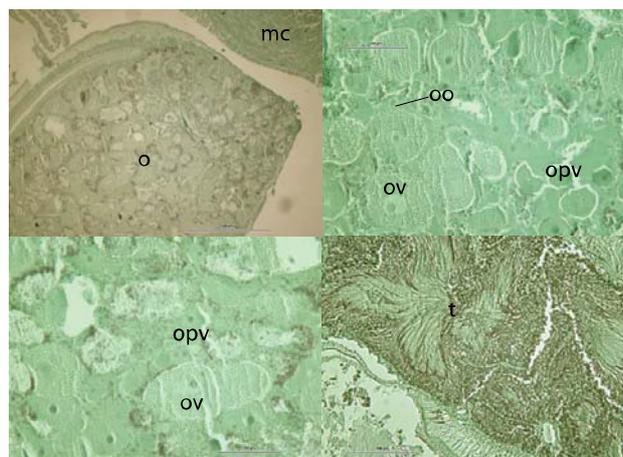


Figure 4.19. Morphologie de la gonade de *Peltospira operculata*. o : ovaire ; t : testicule ; mc : muscles de la coquille ; ov : ovocyte vitellogénique ; opv : ovocyte prévitellogénique ; oo : oogonie.

présentaient une taille bien inférieure aux autres. Ce résultat est à relier à la petite taille des 7 individus analysés sur ce diffuseur avec une longueur curvilinéaire comprise entre 3,71 et 5,48 mm. Les distributions sont également significativement différentes entre les prélèvements d'un même édifice comme le montre l'exemple du diffuseur PP-Ph05(1) (test de Kruskal-Wallis ; $H = 62,79$; $df = 5$; $p < 10^{-3}$) et entre les femelles d'un même prélèvement (Tableau 4.7). Cependant des tests *a posteriori* indiquent que 63 à 89% des femelles analysées dans chaque échantillon ne présentent pas de différences significatives dans leur distribution de fréquence de taille d'ovocytes.

Tableau 4.7. Résultats des tests de Kruskal-Wallis et des tests *a posteriori* (procédure de Dunn-Nemenyi) comparant les distributions des diamètres ovocytaires entre femelles d'un même site pour *Lepetodrilus elevatus*. * habitat à *Riftia pachyptila*.

Site	Edifice	Echantillon	Test de Kruskal-Wallis	Test de Dunn Nemenyi	Synchronie intra-échantillon (%)
Parigo	PP-Ph05 (1)	P1-a	$H = 70,97$; $p < 0,0001$ (10 dl)	3/11 différent	72,7
		P1-b	$H = 37,74$; $p = 0,000$ (4 dl)	2/5 différent	60
		P1-c	$H = 7,97$; $p = 0,158$ (5 dl)	-	100
		P1-d	$H = 51,61$; $p = 0,000$ (9 dl)	2/10 différent	80
		P1-e*	$H = 2,172$; $p = 0,704$ (4 dl)	-	100
		P1-f	$H = 150,36$; $p < 0,001$ (10 dl)	4/11 différent	63,6
Genesis	PP12	G12-(ab)	$H = 28,02$; $p = 0,000$ (4 dl)	1/5 diffère	80
	Hot 2	G2-a	$H = 33,295$; $p < 0,0001$ (8 dl)	1/9 diffère	88,9
Elsa	Hot 3	E3-(ab)	$H = 35,04$; $p = 0,000$ (5 dl)	1/6 différent	83,33

4.3.4.2. Les peltospiridés

La morphologie de l'appareil reproducteur est similaire pour les trois espèces de peltospiridés étudiées en accord avec les observations de Fretter (1989) (Figures 4.17 à 4.19). La gonade occupe un large volume de l'animal. Elle est située dorsalement entre les lamelles branchiales dorsales situées du côté gauche et la glande digestive qui apparaît progressivement dans la partie postérieure de l'animal. Les oogonies se forment à partir de l'épithélium germinale qui s'étend au sein de la gonade puis se développent en ovocytes prévitellogéniques vers une taille d'environ 20 μm . Quand les ovocytes prévitellogéniques atteignent une taille de 50-60 μm , la vitellogénèse est initiée. Les ovocytes vitellogéniques se reconnaissent par leur apparence granuleuse et le faible ratio noyau/cytoplasme. De nombreuses vésicules contenant des spermatozoïdes ont été observées dans la totalité de la gonade. Du sperme viable avait déjà été signalé en abondance dans des vésicules présentes dans l'ovaire qui libère du fluide séminale (Fretter 1989 ; Figure 4.18). La fécondation chez ces espèces se déroule dans l'ovaire et est donc interne.

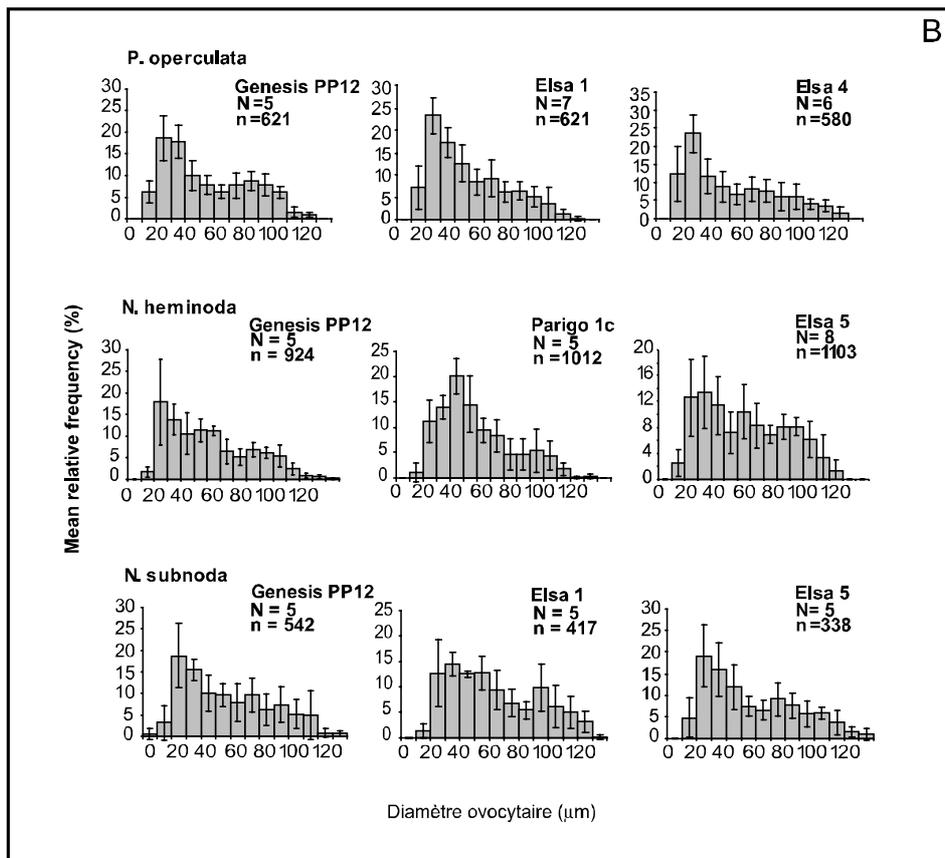
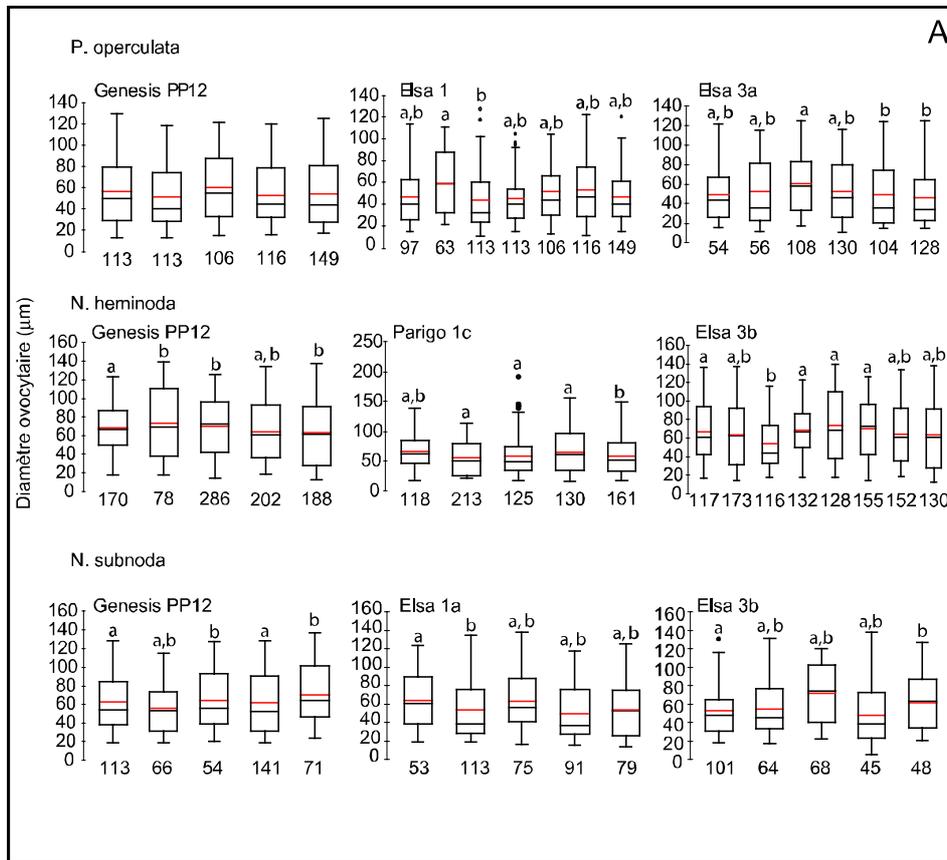


Figure 4.20. Distribution du diamètre ovocytaire chez *Nodopelta heminoda*, *N. subnoda* et *Peltospira operculata*. **A.** Boîtes à moustaches résumant la distribution de la taille des ovocytes pour chaque femelle. Les caractéristiques des boîtes à moustaches sont identiques à celles de la Figure 4.16. Le nombre sous chaque boîte indique le nombre d'ovocytes mesurés par femelle. Des lettres similaires indiquent l'absence de différences significatives entre les femelles suite aux tests de comparaisons multiples réalisés selon la procédure SNK. **B.** Histogrammes représentant les distributions moyennes de fréquences de taille pour chaque échantillon (\pm écart-type). N = nombre de femelles analysées ; n = nombre d'ovocytes mesurés.

Les diamètres ovocytaires couvrent une large gamme de taille avec des valeurs comprises entre 12,8 et 191,0 μm pour *Nodopelta heminoda*, 5,6 et 137,8 μm pour *N. subnoda* et 11,0 et 129,2 μm chez *Peltoospira operculata*. Toutes les distributions présentent une majorité d'ovocytes prévitellogéniques d'une taille inférieure à 60 μm , et un pic occasionnel d'ovocytes vitellogéniques d'une taille supérieure à 60 μm (Figure 4.20). Chez *P. operculata*, la vitellogénèse semble démarrer à une taille légèrement inférieure, soit 50 μm . Le pourcentage d'ovocytes vitellogéniques varie entre 28 et 64% pour *Nodopelta heminoda*, 30 et 59% pour *N. subnoda* et, 27 et 61% pour *P. operculata*. Il n'est pas corrélé à la longueur de la coquille dans la gamme de taille des individus analysés (Figure 4.21). Comme chez les lepetodrilidés, la présence de tous les stades ovocytaires dans une même gonade suggère une gamétogenèse continue chez ces espèces.

Une variabilité inter-sites du degré de maturité des femelles est observée pour toutes les espèces. Pour *Nodopelta subnoda*, des ovocytes significativement plus petits sont reportés à Genesis PP12 alors que des ovocytes de plus grande taille sont présents à Elsa PP-Ph01 (test de Kruskal-Wallis ; $H = 13,88$; $ddl = 2$; $p = 0,001$). Dans le cas de *N. heminoda*, les ovocytes sont significativement plus petits à Elsa Hot3 en comparaison de ceux de Genesis PP12 et Parigo PP-Ph05(1) (test de Kruskal-Wallis ; $H = 14,59$; $ddl = 2$; $p = 0,0007$). Enfin, chez *Peltoospira operculata* les individus provenant de Genesis PP12 possèdent des ovocytes significativement plus grands (test de Kruskal-Wallis, $H = 13,91$, $ddl = 2$; $p = 0,001$).

Tableau 4.8. Résultats des tests de Kruskal-Wallis et des tests *a posteriori* (procédure SNK) comparant les distributions des diamètres ovocytaires entre femelles d'un même site pour les 3 espèces de peltospiridés étudiées.

Species	Echantillon	Test de Kruskal-Wallis	Test SNK	Synchronie intra-échantillon (%)
<i>Nodopelta heminoda</i>	Parigo (P1-c)	$H = 23,46$; $p = 0,000$ (4 dl)	1/5 diffère	80
	Elsa Hot3 (E3-b)	$H = 28,48$; $p = 0,000$ (7 dl)	1/8 diffère	87,5
	Genesis (G12-a-b)	$H = 18,51$; $p = 0,000$ (4 dl)	1/5 diffère	80
<i>Nodopelta subnoda</i>	Elsa PP-Ph01 (E1-a)	$H = 11,84$; $p = 0,000$ (4 dl)	1/5 diffère	80
	Elsa Hot3 (E3-b)	$H = 14,49$; $p = 0,000$ (4 dl)	1/5 diffère	80
	Genesis (G12-a-b)	$H = 33,41$; $p = 0,000$ (4 dl)	2/5 différent	60
<i>Peltoospira operculata</i>	Elsa PP-Ph01 (E1-a)	$H = 23,31$; $p = 0,000$ (6 dl)	1/7 diffère	85,71
	Elsa Hot3 (E3-a)	$H = 21,02$; $p = 0,000$ (5 dl)	1/6 diffère	83,33
	Genesis (G12-a-b)	$H = 5,85$; $p > 0,05$ (4 dl)	-	-

Pour toutes les espèces, il existe une différence significative des distributions de fréquences de taille des ovocytes entre les femelles d'un même prélèvement (Tableau 4.8). La seule exception concerne *Peltoospira operculata* à Genesis-PP12. Il faut cependant relever que

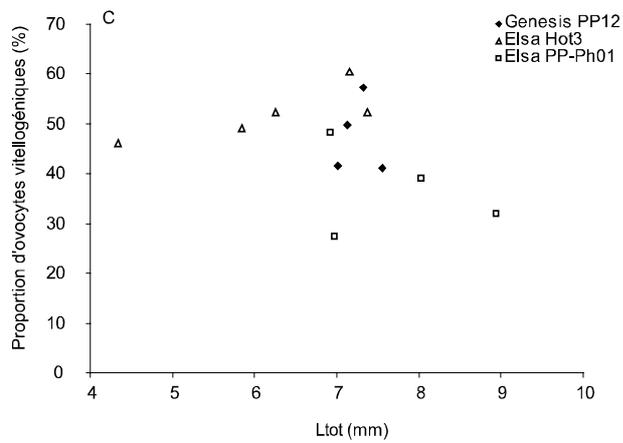
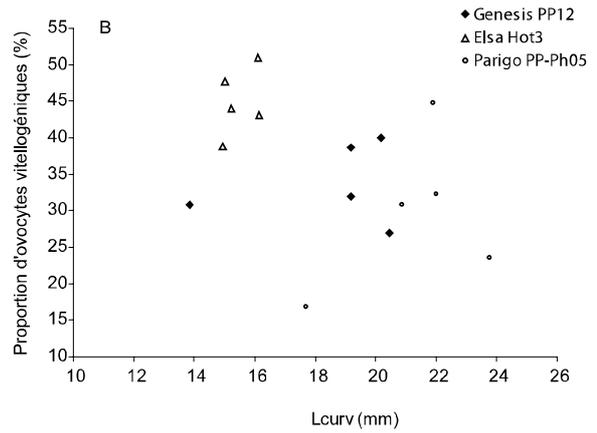
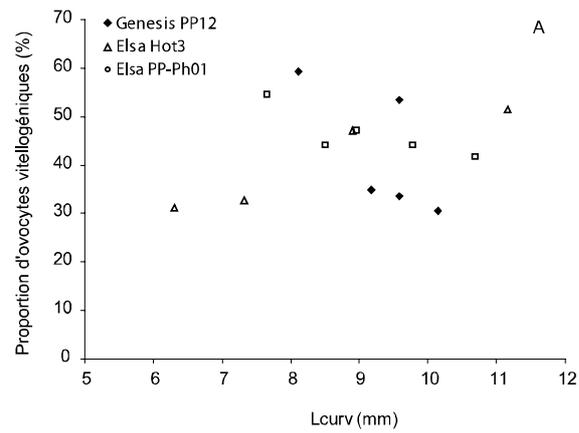


Figure 4.21. Relation entre la proportion d'ovocytes vitellogéniques et la longueur de la coquille chez les 3 espèces de peltospiridés. A : *Nodopelta subnoda* ; B : *N. heminoda* ; C : *P. operculata*.

peu de femelles contribuent à justifier ces différences. Dans la grande majorité des cas, plus de 80% des femelles d'un même site ne montrent pas de différences significatives de la distribution de taille des ovocytes.

4.4 Discussion

4.4.1 Environnement physico-chimique et structure de la communauté

L'habitat des gastéropodes associés à *Alvinella pompejana* se caractérise par une forte variabilité des conditions physico-chimiques à l'échelle des organismes. Ces résultats sont en accord avec de précédentes études rapportant la présence d'un fort gradient à microéchelle, dans l'espace comme dans le temps, et suggérant que les individus supportent occasionnellement de fortes températures (Chevaldonné *et al.* 1991), des concentrations en sulfure élevées et de faibles pH (Sarradin *et al.* 1998, Luther *et al.* 2001, Le Bris *et al.* 2003, Le Bris *et al.* 2005). Le visionnage des vidéos des plongées illustre bien les conditions dans lesquelles évoluent les organismes. La turbulence à petite échelle fait que les organismes se trouvent alternativement sous l'influence d'un fluide miroitant caractérisé par une forte signature hydrothermale et d'une eau de mer seulement légèrement modifiée par le mélange. Toutefois, certaines différences sont à signaler par rapport à ce qui est communément rapporté pour l'habitat à *Alvinella pompejana*. Ainsi, les températures ou les concentrations en sulfures indiquées dans la présente étude sont inférieures à ce qui est traditionnellement cité. Ceci s'explique par le fait que les mesures prises en compte ne concernent que la surface des colonies où vivent les gastéropodes dans des conditions nettement plus tamponnées et clémentes que ce qui peut être observé au cœur de la colonie (Le Bris & Gaill 2007). D'autre part, l'existence d'une faible variabilité des conditions physico-chimiques entre les observations d'un même édifice témoigne d'un habitat relativement homogène dans l'espace à courte échelle de temps. Si de fortes variations liées à la turbulence ont pu être mises en exergue précédemment, elles sont le plus souvent cantonnées à proximité immédiate du flux hydrothermal à travers la colonie d'alvinellidés (Le Bris *et al.* 2005). Or, les échantillons réalisés dans ce travail ne se sont pas focalisés sur une hétérogénéité à une si petite échelle d'espace, l'objectif principal étant de décrire 'une ambiance environnementale' de chaque prélèvement.

A l'inverse, un des résultats les plus marquants en termes de variations spatiales des caractéristiques physico-chimiques du milieu se rapporte aux différences entre les sites. Alors que le site Elsa est riche en fer, les sites Genesis et Parigo sont quasiment dépourvus de cet

élément. De telles différences ont déjà été observées à 13°N (Le Bris *et al.* 2003). En effet, les variations du rapport Fe:S dépendent surtout de la composition du fluide hydrothermal qui est connu pour être fortement variable dans le temps et l'espace à l'échelle d'un champ (Shank *et al.* 1998, Von Damm & Lilley 2004). Il existe également des différences entre les édifices au sein d'un site. A Parigo, le diffuseur PP-Ph05(1) se distingue du fumeur PP-Ph05(2) par des températures et concentrations en sulfure plus faible et un pH plus élevé. Une variation de même ampleur a également été observée entre les deux fumeurs du site Elsa, PP-Ph01 et Elsa-Hot3.

De manière analogue à la description chimique des environnements, la composition faunistique apparaît être cohérente entre les échantillons d'un même édifice mais variable entre les édifices et entre les sites. Deux grands types d'assemblages sont distingués : un assemblage avec une dominance des peltospiridés (i.e. *Peltospira operculata*, *Nodopelta heminoda* et *N. subnoda*) à Elsa, Genesis PP12 et Parigo PP-Ph05(2) et un assemblage avec une dominance des lepetodrilidés (i.e. *Lepetodrilus elevatus* et *L. pustulosus*) à Genesis Hot2 et Parigo PP-Ph05.

A partir d'analyses multivariées basées sur la présence-absence des espèces dans plusieurs habitats hydrothermaux, Jollivet (1996) a identifié différents groupes faunistiques en fonction des variations spatiales et temporelles des conditions physico-chimiques sur le champ hydrothermal 13°N/EPR :

- (1) une communauté à *Tevnia jerichonana* associée au gastéropode *Cyathermia naticoides* dans les zones de diffusion très actives et récemment colonisées ;
- (2) une communauté à *Riftia pachyptila* associée à la polychète *Amphisamytha galapagensis* et aux gastéropodes *Lepetodrilus elevatus*, *L. pustulosus*, *Rhyncopelta concentrica* dans des aires de diffusion bien établies ;
- (3) une communauté à *Alvinella pompejana* associée avec l'alvinellidé *Paralvinella grasslei* et les peltospiridés *Peltospira operculata* et *Nodopelta heminoda* sur les parois des fumeurs blancs ;
- (4) une communauté à *Alvinella caudata* associée avec un certain nombre de gastéropodes tels que *Melanodrymia aurantiaca*, *Lepetodrilus cristatus*, *Nodopelta subnoda*, *Peltospira operculata* ou *Hirtopelta hirta* sur les parois des fumeurs noirs.

Bien que la plupart des espèces énoncées ci-dessus étaient présentes dans nos prélèvements, à l'exception notable de *Melanodrymia aurantiaca*, certaines différences dans les associations faunistiques peuvent être relevées. Par exemple dans l'échantillon prélevé sur

le diffuseur Genesis PP12, *Nodopelta heminoda* et *N. subnoda* sont en association avec *Lepetodrilus elevatus* alors que ces trois espèces sont attribuées à trois groupes différents selon Jollivet (1996). Un tel mélange de différents groupes faunistiques dans les prélèvements peut s'expliquer en partie par la présence de plusieurs micro-habitats à très petite échelle (Mills *et al.* 2007). Les émissions de fluide étant généralement multiples sur une même édifice, l'apparition et la disparition de celles-ci combinées à la complexité tridimensionnelle de l'habitat (i.e. tubes de *Riftia* et d'*Alvinella*) et à la modification de l'environnement qu'entraînent les organismes, génèrent la formation de micro-habitats organisés en mosaïques plutôt qu'en cercles concentriques bien délimités (Le Bris *et al.* 2005). D'autre part, le mélange de plusieurs groupes faunistiques peut résulter de la dynamique séquentielle des successions faunistiques. Ainsi, le diffuseur PP-Ph05(1) de Parigo, largement dominé par *Lepetodrilus elevatus* en association avec quelques peltospiridés, est couvert de colonies d'alvinellidés dans lesquelles quelques *Riftia pachyptila* commencent à se développer. Ainsi, ce mélange de deux communautés semble correspondre à une zone de transition (écotone) entre deux habitats hydrothermaux successifs. Cette évolution pourrait alors permettre d'expliquer le fait qu'au niveau du diffuseur PP-Ph05(1), il n'existe que de très faibles différences entre le prélèvement effectué dans un bouquet de siboglinidés et ceux réalisés dans les colonies d'alvinellidés.

Les premières études sur les communautés macrobenthiques hydrothermales ont souvent décrits les propriétés du fluide (nature et intensité) comme le principal facteur contrôlant la structure des communautés (Bates *et al.* 2005, Hessler *et al.* 1988, Sarrazin *et al.* 1997, Shank *et al.* 1998, Sarrazin & Juniper 1999). Par ailleurs, la majorité des études a alors considéré que la température constituait un proxy fiable des conditions environnementales rencontrées par les organismes. La présente analyse confirme en partie ces observations antérieures par la mise en évidence d'un lien statistique entre les conditions environnementales et la structure des assemblages faunistiques de gastéropodes. Cependant, plusieurs points essentiels sont à souligner : (1) la variable environnementale la plus influente est non pas la température mais la concentration moyenne en sulfures ; (2) la combinaison environnementale la plus explicative de la structure des assemblages faunistiques implique 3 variables suggérant une action combinée de chacune d'entre elles (Luther *et al.* 2001, Le Bris *et al.* 2003, Le Bris *et al.* 2005, Le Bris *et al.* 2006) ; (3) la faible valeur du coefficient de corrélation de rang harmonique de Spearman indique une influence directe limitée de l'environnement physico-chimique sur la structuration des communautés et l'influence probable d'autres facteurs

biotiques ou historiques agissant en synergie (Mullineaux *et al.* 2003). Voyons donc maintenant comment les différentes variables environnementales peuvent agir individuellement ou de manière combinée sur les organismes, quelles sont les incertitudes dans nos observations qui sont à même d'altérer l'image que nous nous faisons du rôle des facteurs physico-chimiques et quels autres facteurs peuvent être mis en avant.

Le rôle des 3 variables environnementales mises en avant par la procédure BIO-ENV sur la distribution des organismes peut être lié aux adaptations physiologiques et aux besoins nutritionnels des organismes. La température maximale peut ainsi agir directement sur la faune hydrothermale en fonction de leur tolérance thermique, physiologique et/ou comportementale. A titre d'exemple, la tolérance aux fortes températures d'*Alvinella pompejana* a pu être expliquée par des adaptations biochimiques de sorte que l'activité de certaines enzymes telles que la malate déshydrogénase ou la phosphoénol pyruvate carboxykinase est optimale pour des températures comprises entre 40 et 50°C (Jollivet *et al.* 1995, Desbruyères *et al.* 1998). Par ailleurs, Le Bris *et al.* (2005) ont montré que la matrice formée par les enchevêtrements des tubes jouait un rôle protecteur pour les individus d'*A. pompejana*, les conditions physico-chimiques étant nettement contrastées entre l'intérieur et l'extérieur des tubes. Dans les colonies d'*Alvinella*, la polychète *Hesiolyra bergi* ne peut tolérer des températures supérieures à 40°C mais montre des comportements d'échappement quand les températures dépassent 35°C (Shillito *et al.* 2001). Bien que peu d'études expérimentales aient été réalisées chez les gastéropodes, Lee (2003) a montré à partir d'expérimentations en chambre pressurisée et thermorégulée que *Lepetodrilus fucensis* et *Depressigyra globulus*, 2 espèces communes dans les colonies d'alvinellidés de la dorsale Juan de Fuca (NE Pacifique), ne supportaient pas des températures respectivement supérieures à 30-35 et 35-40°C. D'autre part, Bates *et al.* (2005) ont suggéré à partir d'observations et d'expérimentations *in situ*, que la température était un facteur déterminant dans la distribution de 3 espèces de gastéropodes (i.e. *L. fucensis*, *D. globulus* et *Provanna variabilis*) de la dorsale Juan de Fuca. Alors que les deux premières espèces colonisent des habitats caractérisés par des températures variant entre 5 et 13°C, la dernière n'est pas observée à des températures supérieures à 11°C. Ainsi, une première raison pour expliquer la différence de distribution entre des lepetodrilidés et des peltospiridés au sein des colonies d'*Alvinella pompejana* serait une différence de tolérance thermique. En effet, *Lepetodrilus elevatus* est plus abondant dans les échantillons présentant des températures moyennes comprises entre 7,1 et 12,4°C alors que les peltospiridés sont plutôt présents lorsque les températures moyennes varient entre 15,0 et 32,3°C. Deux exceptions sont

cependant à noter : (1) les peltospiridés sont majoritaires dans le prélèvement du fumeur PP-Ph01 d'Elsa alors que la température moyenne n'excédait pas 6,2°C ; (2) *L. elevatus* est présent au niveau du diffuseur Genesis PP12 où la température maximale atteint 69°C, suggérant ainsi que cette espèce peut supporter une courte exposition à des températures élevées.

Les sulfures, comme donneur d'électrons pour la majorité des bactéries chimiosynthétiques, vont influencer l'intensité de la production primaire disponible pour des brouteurs comme des gastéropodes (Childress & Fisher 1992). A l'inverse, les sulfures sont toxiques pour la majorité des organismes aérobies (Visman 1991). Cette double influence des sulfures place ainsi les organismes face à des contraintes contradictoires vis-à-vis de ce composé. Toutefois, la concentration totale en sulfures n'est certainement pas le facteur le plus pertinent d'un point de vue biologique afin d'estimer la qualité du milieu. Celle-ci va plutôt se définir en fonction des proportions relatives des différentes formes de sulfures, elles-mêmes dépendantes du pH et de la concentration en fer (Luther *et al.* 2001, Le Bris *et al.* 2003). Ainsi, la qualité de l'habitat échantillonné dans notre étude peut être appréhendée en terme de toxicité relative en fonction des concentrations en sulfure, en fer et du pH. Pour de faibles concentrations en fer, les formes libres du sulfure (i.e. $H_2S + HS^-$) sont dominantes. La constante d'acidité (pKa) de H_2S étant proche de 7, le sulfure sera dominant sous sa forme supposée la plus toxique (H_2S) dans les habitats avec un pH acide (i.e. Genesis PP12) alors que la forme moins toxique (HS^-) primera dans les habitats avec un pH plus élevé (i.e. Parigo PP-Ph05(1)). A l'inverse, de fortes concentrations en fer telles qu'observées sur le site Elsa vont neutraliser le sulfure dans les habitats les plus acides par précipitation de sulfures de fer (FeS) et faire diminuer la toxicité de l'environnement. Par ailleurs, si les bactéries chimiosynthétiques libres utilisent une large gamme de donneurs d'électrons, dont le sulfure sous sa forme libre ou bien associé au fer (Jannasch 1985), il a été démontré que les bactéries chimiosynthétiques endosymbiotiques hébergées par *Riftia pachyptila* utilisaient préférentiellement les sulfures sous leur forme HS^- (Visman 1991, Goffredi *et al.* 1997, Le Bris *et al.* 2003). En admettant une telle préférence pour les bactéries chimiosynthétiques libres, l'environnement du fumeur PP-Hot3 d' Elsa, bien que moins toxique que le diffuseur de Genesis PP12, serait peu productif. Une meilleure connaissance de la diversité et de l'activité des bactéries chimioautotrophes libres demeure toutefois indispensable pour étayer cette hypothèse (voir Tunnicliffe *et al.* 2003).

En parallèle à la température, la résistance à la toxicité des sulfures pourrait contribuer à expliquer les patrons de distribution différents des lepetodrilidés et des peltospiridés. Ainsi, les espèces du genre *Nodopelta* sont généralement associées aux habitats où la forte contribution en sulfure libre (H_2S) induit une toxicité potentiellement élevée du milieu (i.e. Genesis PP12). Bien qu'aucun mécanisme de détoxification n'ait été décrit pour les gastéropodes hydrothermaux, différents processus physiologiques de défense aux sulfures ont déjà été mis en évidence chez d'autres espèces hydrothermales (revu dans Vismann 1991). A titre d'exemple, les épibiontes présents sur la cuticule d'*Alvinella pompejana* permettrait la détoxification des branchies par oxydation enzymatique du sulfure sous la forme de thiosulfate $S_2O_3^-$, forme beaucoup moins toxique pour l'organisme (Desbruyères *et al.* 1998). D'autre part, les lepetodrilidés apparaissent plutôt inféodés aux habitats caractérisés par des faibles concentrations en sulfures, le plus souvent sous sa forme la moins toxique (HS^-) comme pour le diffuseur PP-Ph05(1) de Parigo. Néanmoins, ces derniers sont absents du fumeur PP-Ph01 de Elsa caractérisé par un environnement proche de celui de Parigo PP-Ph05(1) concernant les sulfures.

Si la manière dont nous avons décrit l'environnement physico-chimique des organismes dans notre étude représente une véritable avancée au regard de nombreux travaux antérieurs, en particulier ceux basés sur la seule mesure de la température, de nombreuses incertitudes ou biais demeurent.

La température au niveau des colonies d'alvinellidés fluctue à différentes échelles de temps, en réponse aux turbulences liées au mélange du fluide chaud et de l'eau de mer ambiante à l'échelle de quelques secondes ou minutes, en fonction des marées et des courants de fond à l'échelle de quelques heures à plusieurs jours (Chevaldonné *et al.* 1991, Tivey *et al.* 2002). A titre d'exemple, un enregistrement en continu de la température toutes les 10 minutes durant une semaine dans une colonie d'*Alvinella pompejana* du fumeur Elsa PP-Hot3 a montré que la température variait généralement entre $10^\circ C$ et $20^\circ C$ mais pouvait occasionnellement atteindre des pics de $25^\circ C$ - $27^\circ C$ pendant quelques heures (Pradillon *et al.* 2005a). Dans notre étude les mesures de températures sont prises sur une durée de temps relativement courte (i.e. 1 à 44 minutes) et pourraient donc potentiellement mal décrire les conditions thermiques réellement subies par les organismes. Cependant, les données que nous avons utilisées intègrent des séries correspondant à différentes plongées et il n'existe aucune relation significative entre la gamme de variation de température et la durée des mesures. Il peut donc être admis que les mesures offrent une perception satisfaisante de la gamme de

variations de température lorsque les environnements sont suffisamment contrastés.

La variabilité spatiale de la température peut également être considérable à l'échelle du cm (Chevaldonné *et al.* 1991). Bien que le visionnage des vidéos des plongées ait permis de s'assurer d'une bonne description de l'environnement thermique des gastéropodes, quelques mesures ponctuelles sur une surface de 400-700 cm² ne rendent pas parfaitement compte des conditions rencontrés dans les micro-niches à l'échelle desquelles vivent les organismes (Bates *et al.* 2005 ; Le Bris *et al.* 2005 ; Mills *et al.* 2007).

Enfin, l'environnement physico-chimique global (i.e. pH, sulfures et fer) a été estimé à partir des mesures de températures selon des modèles géochimiques basés sur un mélange conservatif entre le fluide et l'eau de mer ambiante. D'autre part, les modèles géochimiques ont été mis en place à partir de mesures de températures effectuées uniquement dans l'habitat à *Alvinella pompejana* puis extrapolés par la suite à l'échelle d'un édifice. Or, en réponse à l'activité biologique des organismes, l'habitat à *Riftia pachyptila*, est appauvri en sulfures en comparaison de l'habitat à *A. pompejana* pour une température donnée (Le Bris *et al.* 2003). De même, des mécanismes de conduction thermique peuvent altérer la corrélation entre la température et la proportion de fluide hydrothermal (i.e. sulfures) à micro échelle dans les colonies d'*A. pompejana* (Le Bris *et al.* 2005). Le pH qui est en revanche un traceur beaucoup plus conservatif du mélange entre le fluide hydrothermal et l'eau de mer ne permet pas toutefois de mettre en évidence de fortes incohérences dans nos données.

Si les différents biais mentionnés ci-dessus peuvent influencer la qualité de la relation entre la distribution des organismes et les paramètres physico-chimiques, les interactions biotiques, telles que la compétition pour la ressource ou l'espace, la prédation, ou l'histoire de la colonisation du peuplement, peuvent également tenir un rôle prépondérant (Mullineaux *et al.* 1998, Mullineaux *et al.* 2003, Sancho *et al.* 2005). L'évolution sur 4 ans de communautés animales associées aux polychètes alvinellidés de la dorsale Juan de Fuca a été décrit comme le résultat d'interactions entre les changements locaux des conditions environnementales (caractéristiques du fluide, température) et des processus biologiques (recolonisation d'aires perturbées, modification de l'habitat par les organismes) (Sarrazin *et al.* 1997). Le long de la dorsale du Pacifique oriental, des expériences menées *in situ* à 9°50N le long d'un gradient environnemental, depuis les zones périphériques jusqu'aux zones de diffusion à *Riftia*, ont mis en évidence que de fortes interactions biologiques sont en mesure de modifier la structure de la communauté même en l'absence de changement temporel de la nature et de l'intensité du flux hydrothermal (Micheli *et al.* 2002, Mullineaux *et al.* 2003). Ainsi, dans les bouquets

de *Riftia*, *Lepetodrilus elevatus* limite la colonisation de l'habitat par les espèces sessiles ou peu mobiles en délogeant leurs recrues. Récemment, dans la même région, Mills et al. (2007) ont distingués 3 groupes d'espèces de gastéropodes : un groupe "froid" associé aux zones périphériques colonisées par les filtreurs, un groupe "chaud" associé aux bouquets de siboglinidés et un groupe "alvinellidés" associé aux colonies d'alvinelles. Toutefois, les espèces apparaissent ne pas être exclusives d'un habitat caractérisé par sa mégafaune et il existe au contraire des zones de chevauchements dans les distributions des espèces des 3 groupes. Deux hypothèses ont ainsi été proposées pour expliquer un tel résultat : (1) chaque espèce présenterait un micro-habitat préféré (en terme de température, concentration en sulfures, flore microbienne,...) vers lequel elle migre, ou bien une espèce occuperait un micro-habitat refuge pour se protéger des prédateurs ou compétiteurs potentiels (Mills et al. 2007). Dans les deux cas, le micro-habitat pourrait présenter des caractéristiques spécifiques différentes de celles utilisées pour décrire l'habitat moyen.

Dans une gamme donnée de conditions environnementales, l'abondance relative d'une espèce dépendra donc en partie de son potentiel compétitif, autrement dit de sa capacité à coloniser plus ou moins rapidement un habitat et à exclure les autres espèces. Un tel potentiel sera alors fonction des caractéristiques démographiques des espèces (croissance, mortalité ou reproduction) selon les propriétés de l'environnement.

4.4.2 Biologie de populations des 4 principales espèces de gastéropodes

Chez les 3 espèces de peltospiridés, les quelques structures démographiques établies dans le cadre de ce travail ne diffèrent pas significativement d'une distribution normale et peuvent donc être considérées comme unimodales. Par ailleurs, elles ne présentent généralement pas de différences significatives entre les échantillons et donc les habitats. Si ce résultat peut traduire une absence de réponse significative de ces espèces aux variations des conditions environnementales, il peut surtout être relié au petit nombre d'échantillons dont nous disposons et à leur faible taille.

Les données acquises sur *Lepetodrilus elevatus* sont en revanche plus pertinentes et informatives. La présence de structures plurimodales témoigne plutôt d'un recrutement discontinu en accord avec plusieurs études précédentes menées à 13°N et 9°50N dans l'habitat à *Riftia pachyptila* (Mullineaux et al. 1998, Sadosky *et al.* 2002) sur l'EPR. Ces structures apparaissent relativement cohérentes à l'échelle d'un édifice et donc d'un environnement physico-chimique, mais présentent des variations plus ou moins contrastées entre édifices ou entre sites. Les différences observées entre les distributions peuvent avoir

des causes multiples : (1) un biais d'échantillonnage lié à la petite taille de certains échantillons ; (2) des variations spatiales et temporelles du recrutement en relation avec une forte hétérogénéité des apports larvaires (Metaxas 2004, Mullineaux *et al.* 2005) ou l'évolution des conditions environnementales (Sarrazin *et al.* 1997, Shank *et al.* 1998, Sarrazin & Juniper 1999) ; (3) une variabilité des taux de croissance selon les environnements et la taille des organismes (Mullineaux *et al.*, 1998) ; (4) une variabilité des taux de mortalité selon les environnements et la taille des organismes (Sancho *et al.* 2005).

S'il est difficile de séparer ces différentes sources de variabilité, le résultat le plus frappant concerne la distribution de fréquences de taille de l'unique échantillon récolté dans un environnement caractérisé par de fortes températures, de fortes concentrations en sulfures et un pH acide (i.e. Genesis PP12). Celle-ci diffère significativement des autres prélèvements récoltés par une très forte proportion de petits individus et l'absence de grands individus. Cette différence pourrait résulter d'un compromis entre la croissance et la survie, avec les individus habitant les environnements les plus extrêmes allouant davantage d'énergie à la survie plutôt qu'à la croissance somatique ou au développement reproducteur. Bien que Mullineaux *et al.* (2003) aient suggéré que le métabolisme de *L. elevatus*, et par conséquent la croissance, étaient affectés par la température, il a été impossible dans cette étude de déterminer si l'environnement physico-chimique influait directement ou indirectement sur la croissance ou la structure de la population. D'autre part, la forte proportion de jeunes individus à Genesis PP12 pourrait témoigner d'une fenêtre de tolérance physiologique plus large et donc d'un taux de survie plus élevé chez les juvéniles que chez les adultes (Mullineaux *et al.* 1998).

L'existence d'une gamétogénèse continue semble être un trait commun à la majorité des espèces de gastéropodes hydrothermaux (Berg 1985, Fretter 1989, Gustafson & Lutz 1994, Pendlebury 2004, Kelly & Metaxas 2007), que nous retrouvons chez les 4 espèces que nous avons étudiées : tous les stades ovocytaires sont présents sur la même femelle dès lors que celle-ci a atteint une taille critique. Si cette taille critique reste indéterminée pour les peltospiridés, elle est de 5-6 mm chez *Lepetodrilus elevatus*.

La majorité des gastéropodes hydrothermaux sont des vétérogastéropodes, groupe pour lequel la reproduction continue n'est pas un mode exclusif (Webber 1977). Bien que la vitellogénèse soit un processus contraint phylogénétiquement (Eckelbarger 1994, Gustafson & Lutz 1994), la gamétogénèse continue semble être soit une adaptation commune chez la plupart des familles de gastéropodes spécifiques aux milieux hydrothermaux, soit une

condition indispensable au maintien des espèces dans un tel environnement. En effet, chaque espèce possède un ensemble unique de traits d'histoire de vie caractéristiques qui ont été compilés durant une longue histoire évolutive, et qui vont conférer à ces espèces des avantages ou désavantages sélectifs sous un ensemble de conditions environnementales données (Eckelbarger & Walting 1995). Dans un environnement éphémère et fragmenté comme les sources hydrothermales, caractérisé par un apport constant en énergie, la reproduction continue est plus à même d'être favorisée. En effet, une espèce à tout intérêt à se reproduire tant qu'une émission est active afin d'optimiser le nombre de descendants. Il est intéressant de noter que ce type d'adaptations n'est pas propre aux gastéropodes mais se retrouve également chez les polychètes (Faure et al. 2007). Par ailleurs, les peltospiridés et les lepetodrilidés présentent une fécondation interne (Fretter 1988, 1989), mécanisme permettant aux gamètes d'éviter une exposition directe à l'environnement potentiellement toxique (Fretter 1989, Warén & Bouchet 1989), ou augmentant la probabilité de rencontre entre gamètes.

La taille maximale des ovocytes matures varie légèrement entre les espèces et plus fortement entre les familles. Elle atteint 149,6 μm pour *Nodopelta heminoda* (hors une valeur extrême de 191,0 μm), 139,2 μm pour *Peltospira operculata*, 137,8 μm pour *N. subnoda* et 113,9 μm pour *Lepetodrilus elevatus*. Ces tailles par famille sont dans les mêmes gammes que celles déjà reportées par Pendlebury (2004) qui obtenait les résultats suivants : 232 μm chez *Eulepetopsis vitrea* (Neolepetopsidé), 184 μm chez *Rhyncopelta concentrica* (Peltospiridé), 123 μm chez *Cyathermia naticoides* (Neomphalidé) et 84 à 92 μm chez divers lepetodrilidés. Elles sont consistantes avec un développement lécithotrophe caractéristique de la majorité des gastéropodes hydrothermaux (Fretter 1989, Lutz et al. 1986).

La lécithotrophie, caractère également sous contraintes phylogénétiques (Gustafson & Lutz 1994), a traditionnellement été rattachée à une durée de vie larvaire limitée et donc une distance de dispersion réduite : une telle adaptation faciliterait la pérennité locale des populations mais limiterait les capacités de colonisation de nouveaux sites sur de longues distances (Thorson, 1946). Ce paradigme est toutefois fortement contesté de nos jours. Ainsi, il existe plusieurs exemples d'espèces à développement lécithotrophe qui présentent une forte homogénéité génétique sur des milliers de kilomètres en accord avec un fort potentiel de dispersion (Black et al. 1998, Craddock et al. 1995). Plusieurs auteurs ont suggéré que la dispersion dans une eau de mer abyssale à environ 2°C pourrait entraîner une réduction du

métabolisme des larves et ralentir ainsi leur développement (Gustafson & Lutz 1994, Mullineaux *et al.* 1998, Young 2003). De plus, Pradillon *et al.* (2001) ont montré que des embryons de la polychète *Alvinella pompejana* étaient capables d'arrêter leur développement dans une eau froide jusqu'à qu'ils rencontrent de nouveau une eau plus chaude.

En contrôlant la quantité d'énergie disponible pour la gamétogenèse, l'environnement physico-chimique peut affecter directement ou indirectement la reproduction des espèces hydrothermales et leur succès reproducteur (Ramirez Llodra 2002). Néanmoins, le long de la dorsale Juan de Fuca, le degré de maturité de *Lepetodrilus fucensis* a été décrit comme non variable entre différents sites actifs (Kelly & Metaxas, 2007). Pour *Peltospira operculata*, les femelles prélevées sur le diffuseur Genesis PP12 présentaient des ovocytes significativement plus grands que ceux des femelles issues des fumeurs de Elsa. A l'inverse, les ovocytes de *Nodopelta heminoda* sont significativement plus gros sur le fumeur Elsa Hot3 par rapport aux diffuseurs de Genesis PP12 et Parigo PP-Ph05(1). Enfin, *Nodopelta subnoda* possède des ovocytes significativement plus petits à Genesis PP12 en comparaison de Elsa PP-Ph01 alors qu'aucune différence n'est relevée avec Elsa Hot3. Les variations entre sites sont ainsi extrêmement variables selon les espèces. Elles ne permettent pas de dégager un schéma cohérent en fonction du niveau d'abondances des espèces, potentiel indicateur du caractère plus ou moins favorable du milieu, ou en fonction d'un type d'environnement physico-chimique. Dans le cas de *Lepetodrilus elevatus*, la relation entre la taille des individus et leur degré de maturité suggère néanmoins qu'un habitat peu favorable comme Genesis PP12 comprend essentiellement des individus de petite taille et immatures qui contribuent peu ou pas à l'effort de reproduction local.

Chez *Lepetodrilus elevatus*, l'existence d'une gamétogénèse continue et d'un recrutement discontinu peut paraître paradoxal. Plusieurs hypothèses peuvent néanmoins être proposées. D'une part, les femelles gardant en réserve les spermatozoïdes dans un réceptacle séminal (Fretter 1988), le recrutement discontinu pourrait être le résultat d'événements de fécondation et de pontes ponctuels indépendamment du caractère continu de la gamétogenèse. Bien que le temps de conservation du sperme dans le réceptacle séminal de la femelle soit inconnu, ce phénomène pourrait permettre une synchronisation de la ponte entre les différentes femelles. Certaines études ont montré que des signaux environnementaux agissant à différentes échelles spatiales étaient à l'origine d'évènements de ponte synchrone chez les espèces hydrothermales comme le signal tidal pour les polychètes *Paralvinella grasslei* (Zal

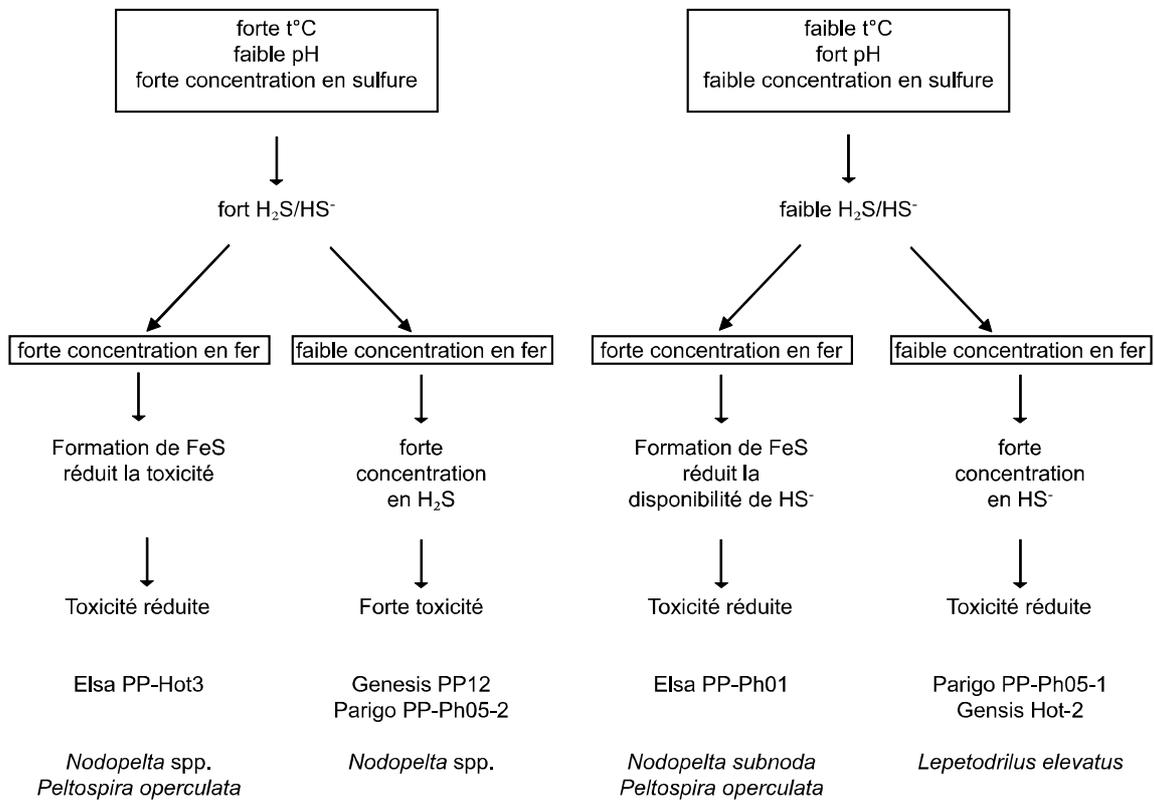


Figure 4.22. Représentation schématique de l'influence des variables physico-chimiques sur la structure des communautés de gastéropodes pour les différents fumeurs étudiés à 13°N sur l'EPR. La toxicité des différents habitats a été déterminée à partir des interactions entre les concentrations en sulfure total, le pH et les concentrations en fer. Les espèces de gastéropodes dominantes sont indiquées pour chaque habitat.

et al. 1995) et *P. palmiformis* (Copley *et al.* 2003) ou des signaux physico-chimiques (i.e. température) chez le bivalve *Calyptogena soyoae* (Fujiwara *et al.* 1998). D'autre part, des apports larvaires épisodiques dans le temps et l'espace, en relation avec des variations des processus de transport (Chevaldonné *et al.* 1997, Metaxas 2004) peuvent être à l'origine du recrutement discontinu.

4.5 Conclusion

Peu d'études jusqu'à ce jour ont tenté de définir les paramètres physico-chimiques à une échelle représentative de celle des organismes dans le but d'identifier les processus responsables de la structuration des communautés. Malgré l'impossibilité actuelle d'effectuer des échantillonnages quantitatifs dans les habitats à alvinellidés, cette étude rapporte pour la première fois dans cet environnement l'influence de tels paramètres sur les assemblages de gastéropodes d'un champ hydrothermal de la dorsale Est Pacifique. La température apparaît comme un descripteur insuffisant de la variabilité des conditions environnementales rencontrées par les organismes. A l'inverse, une approche combinée incluant température, pH, concentration en sulfures et concentrations en fer permet de mieux rendre compte du niveau de toxicité des habitats pour les organismes (Figure 4.22). Ainsi, les gastéropodes de la famille des peltospiridés (i.e. *Nodopelta* spp., *Peltospira operculata*) sont dominants dans les habitats les plus acides avec une concentration en sulfures et une température plus élevées que les gastéropodes de la famille des lepetodrilidés (i.e. *Lepetodrilus elevatus*) abondants dans les environnements caractérisés par la présence de HS⁻. Ce patron de distribution peut-être mis en relation avec les tolérances physiologiques et les besoins nutritionnels spécifiques à chacune des espèces. Toutefois, la présence de toutes les espèces communes dans plusieurs habitats présentant des conditions physico-chimiques contrastées, ainsi que la faible corrélation entre la structure de la communauté et les paramètres environnementaux suggèrent que d'autres facteurs sont également responsables de la distribution des espèces de gastéropodes dans les colonies d'alvinellidés. Un résultat marquant est la faible diversité observée dans les échantillons largement dominés par *Lepetodrilus elevatus* suggérant que cette espèce serait capable d'exclure les autres espèces sous certaines conditions environnementales, dans les colonies d'*Alvinella* comme dans les bouquets de *Riftia*.

La gamétogénèse continue chez les 4 espèces analysées semble être une adaptation commune à de nombreuses espèces hydrothermales qui occupent un environnement fragmenté, éphémère et caractérisé par un apport continu en énergie. La variabilité spatiale

dans les distributions de fréquence de taille des gamètes ne permet pas de mettre en évidence un effet tranché de la qualité du milieu sur la gamétogenèse. Toutefois, les conditions les plus extrêmes ne semblent permettre que le maintien de jeunes individus immatures de *Lepetodrilus elevatus*. La réduction du potentiel compétitif de *L. elevatus* dans certaines conditions pourrait alors profiter au développement d'autres espèces.

DISCUSSION GENERALE

CONCLUSION

PERSPECTIVES



Discussion générale - Conclusion - Perspectives

Les communautés biologiques marines ou continentales présentent une hétérogénéité spatiale sur une large gamme d'échelles. Comprendre les patrons de distribution des organismes aux différentes échelles est une question centrale en écologie (Levin 1992). Tout au long de ce travail, nous avons tenté de définir les processus influençant la distribution de la diversité de la macrofaune benthique hydrothermale à différentes échelles spatiales, de l'échelle de la dorsale du Pacifique oriental à celle d'un édifice. La combinaison d'une approche à la fois écologique et génétique a permis de prendre en compte différents processus biotiques et abiotiques susceptibles d'influencer la biogéographie des espèces hydrothermales, leur distribution au sein d'un champ, les mécanismes de spéciation, ou encore les flux de gènes intra-spécifiques, reflet des processus de colonisation et de différenciation génétique entre populations. Les principaux objectifs consistaient donc à déterminer quels étaient les processus expliquant au mieux les patrons de diversité observés, et à estimer leurs rôles relatif aux différentes échelles appréhendées. L'idée centrale était de définir une hiérarchie spatiale cohérente appliquée à l'écosystème hydrothermal, indispensable à la compréhension de la mise en place de la diversité : quel processus majeur à quelle échelle (Huston 1999).

1. De l'échelle globale à l'échelle régionale

Dans le domaine benthique côtier, Spalding *et al.* (2007) ont proposé une classification hiérarchique du milieu marin selon 3 principes : (1) celle-ci doit présenter une base biogéographique solide ; (2) son utilité doit être pratique ; et (3) elle doit être parcimonieuse. La classification proposée inclut trois échelles spatiales :

- (1) **Les domaines**, définis comme des régions caractérisées par une unique et même histoire évolutive. Ils présentent un fort taux d'endémisme en terme de genres voire de familles pour certains groupes. Les facteurs gouvernant la mise en place de ces vastes entités sont principalement l'isolement historique ;
- (2) **Les provinces biogéographiques**, définies par la présence de 'biotopes' distincts présentant une certaine cohésion sur des temps évolutifs. Ces provinces se caractérisent par un certain taux d'endémisme au niveau de l'espèce. La mise en place de ses limites est souvent le résultat de processus abiotiques tels que les caractéristiques géomorphologiques ou les influences géochimiques ;

(3) **Les écorégions**, constituant la plus petite unité, et définies comme des aires homogènes en terme de composition faunistique entre des systèmes adjacents différents. Les forces biogéographiques dominantes sur la mise en place des écorégions varient d'une localité à l'autre et peuvent inclure l'apport de nutriments, l'isolement géographique, les régimes de températures, les caractéristiques du sédiment, les courants hydrodynamiques, et les complexités bathymétriques.

Si les critères établis ci-dessus sont propres à la zone côtière, ce sont néanmoins ces définitions que nous considérerons par la suite afin d'identifier les cohérences spatiales en terme de structure des communautés et de flux géniques le long de la dorsale du Pacifique oriental.

L'étude de la structure génétique de l'une des principales espèces de gastéropodes associées aux sites hydrothermaux de la dorsale du Pacifique oriental, *Lepetodrilus elevatus*, a montré la présence d'au moins deux espèces cryptiques sur 3000 km entre 13°N et 17°S. La spéciation pourrait être d'origine allopatrique en relation avec les événements tectoniques de la dorsale (Mammerickx *et al.* 1980), corroborant le rôle primordial des événements de vicariance dans la spéciation en milieu hydrothermal (Tunnicliffe & Fowler 1996). Celle-ci a probablement été renforcée par une spécialisation par l'habitat résultant d'une adaptation à des niches particulières (moulières à *Bathymodiolus thermophilus* vs. bouquets de siboglinidés). Bien que les échantillons à notre disposition ne nous aient pas permis de déterminer les limites géographiques des deux espèces cryptiques identifiées, les analyses préliminaires sur d'autres espèces de gastéropodes, ainsi que des résultats déjà mis en évidence pour d'autres taxons (Won *et al.* 2003, Hurtado *et al.* 2004), supportent l'hypothèse d'un rôle clef de la microplaque de Bauer (Mammerickx *et al.* 1980) sur la distribution de la biodiversité actuelle. Ce rôle passé pourrait être comparable au rôle joué actuellement par la microplaque de l'île de Pâques. Si cette rupture géographique s'avère être commune à de nombreux taxons associés à la dorsale du Pacifique oriental, celle-ci devrait être détectée lors de la comparaison à grande échelle de la composition faunistique des communautés.

Contrairement à nos attentes, la forte dominance d'espèces communes avec la partie nord de la dorsale suggère que l'ensemble de la dorsale EPR constituerait, selon les termes de Spalding *et al.* (2007), une unique province biogéographique. La composition spécifique en terme d'espèces rares offre cependant une toute autre image. L'exploration de cette portion de la dorsale encore très peu étudiée (voir Van Dover 2002, 2003) a en effet conduit à la découverte de nouvelles espèces de gastéropodes et de polychètes à 21°S appartenant à des

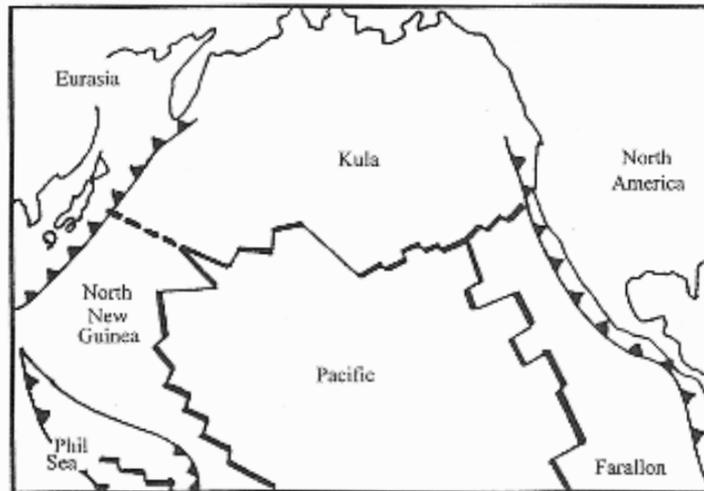


Figure c.1. Schéma illustrant les limites qui ont pu exister au niveau de la plaque Pacifique nord pendant l'éocène, montrant un système de plaque multiple et une dorsale médio-océanique active dans le Pacifique ouest (de Tunnicliffe et al. 1996).

genres déjà connus dans le milieu hydrothermal (*Phymorhyncus* sp. n., *Melanodrymia* sp. n., *Paralvinella* sp. n. et *Nicomache* sp. n.), mais aussi à la découverte d'une espèce de gastéropode (*Haloceras* sp.) et d'une espèce de polychète (*Sphaerodopsis* sp. n.) appartenant à des genres non décrits dans cet écosystème. De plus, la présence entre 17°25'S et 21°33'S des gastéropodes *Eosipho auzendei*, observé aussi le long de la dorsale Pacifique Antarctique (Warén & Bouchet 2001), et *Shinkailepas* sp., genre décrit jusqu'à présent dans les bassins arrière-arc du Pacifique ouest et le long de la dorsale médio-atlantique (Desbruyères *et al.* 2006b), suggère le mélange de faunes caractéristiques de différents bassins océaniques. Ces résultats corroborent les observations effectuées durant la mission BIOSPEEDO sur le site Grommit qui était caractérisé par la présence de cheminées colonisées par des essaims de crevettes du genre *Chorocaris*, abondantes au niveau des dorsales médio-atlantique et indienne et des bassins arrière-arc, et d'autres recouvertes par des colonies d'alvinellidés, typiques de l'EPR nord (Jollivet *et al.* 2004). Des comparaisons de champs hydrothermaux de la dorsale Est Pacifique, centrale indienne, médio-atlantique et des bassins arrière-arc, basées sur 530 espèces ou 281 genres, ont montré que les champs hydrothermaux de 17°S et 21°S se différenciaient partiellement de l'ensemble EPR nord/Galapagos (Desbruyères *et al.* 2006a). Dans ce contexte, il semble que la région située aux alentours de 17°25'S constitue une zone de transition entre la faune de l'EPR nord et celle de la dorsale Pacifique Antarctique, de la dorsale médio-atlantique, voire des bassins arrière-arc du Pacifique ouest. Si la présence des espèces rares reflète un réel endémisme local plutôt qu'un artefact lié à un effort d'échantillonnage insuffisant, cette partie sud de la dorsale constituerait une écorégion distincte de la partie nord selon la terminologie de Spalding *et al.* (2007).

La morphologie et l'évolution des dorsales, en contrôlant les événements de spéciation, apparaissent donc comme les principaux moteurs à l'origine des grandes entités biogéographiques associées au milieu hydrothermal (Hessler & Lonsdale 1991, Tunnicliffe & Fowler 1996, Desbruyères *et al.* 2006a). Actuellement, l'existence d'une route de dispersion dans le Pacifique sud *via* la ride Pacifique Antarctique et le complexe de la dorsale des Macquaries pourrait rendre compte des échanges entre les bassins arrière arc du Pacifique ouest et la dorsale du Pacifique oriental (Tunnicliffe & Fowler 1996, Kojima *et al.* 2003, Desbruyères *et al.* 2006a). La présence possible durant l'Eocène (i.e. 55,8 à 37,2 Ma) d'une dorsale (i.e. la dorsale de Kula) traversant le Pacifique d'est en ouest, depuis la plaque nord américaine jusqu'au Japon, et séparant ainsi la plaque de Kula et celle du Pacifique, aurait également permis des échanges entre les deux côtés de l'océan Pacifique il y a plus de 50 millions d'années (Figure c.1) (Hessler & Lonsdale 1991, Tunnicliffe *et al.* 1998,

Desbruyères *et al.* 2006a). Un cas similaire bien connu est celui de la connexion entre le Nord-Est Pacifique et la dorsale EPR qui a disparu durant le Cénozoïque (~ 30 Ma) suite à la subduction de la plaque Farallon sous la plaque Nord-Américaine. Cet évènement a permis d'expliquer les phénomènes de vicariance survenus entre ces deux dorsales (Tunnicliffe & Fowler 1996). Enfin, l'existence d'une dorsale située au nord de la Nouvelle Guinée aurait constitué un lien entre l'Océan Pacifique et l'Océan Indien il y a 55 Ma (Hessler & Lonsdale 1991, Desbruyères *et al.* 2006a).

Ainsi, l'apparition, la disparition et le mouvement de dorsales et de segments de dorsales, fréquents le long de l'EPR ces 30 derniers millions d'années (Mammerickx *et al.* 1980, Mammerickx & Klitgord 1982), complexifient l'approche historique permettant de définir les grandes provinces biogéographiques. Si les isolements géographiques ont entraîné des évènements de spéciation par allopatrie, des remises en contact secondaire peuvent générer des phénomènes d'hybridation si la barrière reproductive entre les espèces n'est pas complètement installée.

L'hybridation peut aussi constituer un moteur de la spéciation (Dowling & Secor 1997). Les cas d'hybridation et d'introgession ont été peu considérés en milieu hydrothermal alors que ces derniers, par la production de variants génétiques, permettent une augmentation du taux d'évolution et peuvent entraîner des évènements de spéciation (Dowling & Secor 1997). Si les cas de spéciation sympatrique sont favorisés par une forte hétérogénéité de l'environnement (Dowling & Secor 1997), on peut s'attendre à ce que ce processus soit fréquent dans le milieu hydrothermal. Dans notre étude, les résultats obtenus chez *Lepetodrilus elevatus* ont montré qu'il existait probablement de l'hybridation entre les deux espèces mises en évidence (Matabos *et al.* 2008). D'autre part, les nouveaux marqueurs moléculaires recherchés chez ce taxon semblent indiquer que les différentes espèces de *L. elevatus* présenteraient des introgessions d'allèles résultant de processus d'hybridation. Le niveau d'hybridation va dépendre de la dispersion des formes parentales d'une part et de la sélection contre les hybrides d'autre part (Barton & Hewitt 1985).

Chez *Lepetodrilus elevatus*, l'analyse de chaque clade n'a pas permis de détecter d'isolement par la distance en relation avec une durée de vie larvaire limitée suggérée par la présence d'une larve lécithotrophe (Lutz *et al.* 1986). Au contraire, les écarts significatifs à l'équilibre mutation-dérive sous le modèle de mutation en nombre infini d'allèles reflètent le rôle des processus démographiques sur la diversité génétique. Par ailleurs, l'analyse de la

structure génétique des populations de *L. elevatus* à mésoéchelle a montré une faible différenciation génétique sur 400 km entre 17°25'S et 21°33'S. L'apparition et la disparition fréquentes d'habitats sur cette portion de la dorsale, en relation avec le taux d'accrétion rapide, permettraient une homogénéisation des populations à grande échelle indépendamment des distances de dispersion larvaire. Ce résultat supporte ainsi l'importance des phénomènes d'extinction – recolonisation sur la structure génétique des populations en relation avec la dynamique des habitats (Jollivet *et al.* 1999).

Alors que dans le milieu marin la capacité de dispersion des individus a communément été considérée comme déterminante pour expliquer les aires de distribution des espèces, il a récemment été montré que l'étendue de ces dernières étaient en réalité faiblement corrélées à la durée de vie larvaire et aux distances parcourues par les larves (Lester *et al.* 2007). Dans le cas particulier que représente le milieu hydrothermal, la dynamique de l'habitat est plus à même de contrôler la structure génétique des populations dans la mesure où le nombre de zones disponibles pour le recrutement d'une espèce est fonction de sa position dans la dynamique successionale en lien avec l'hétérogénéité de l'habitat d'un site (Vrijenhoek 1997).

2. L'échelle locale

A l'échelle d'un site, il a longtemps été suggéré que les espèces se distribuaient le long d'un gradient physico-chimique en fonction de leur tolérance physiologique et de leurs besoins trophiques. Une analyse complète des conditions environnementales rencontrées à la surface des colonies de la polychète *Alvinella pompejana* à l'échelle d'un champ a été conduite afin de tester statistiquement la validité de cette assertion sur les peuplements de gastéropodes. L'analyse de la distribution des espèces à micro-échelle a permis de mettre en évidence le manque de mesures précises des paramètres physico-chimiques à une échelle représentative des conditions rencontrées par les organismes. Alors que la température a été communément utilisée comme proxy des conditions environnementales, nos résultats montrent que celle-ci n'est pas suffisante pour caractériser la complexité des conditions environnementales. Ainsi, la distribution des gastéropodes au sein des colonies d'alvinellidés est mieux expliquée par la combinaison de plusieurs paramètres incluant la température, la concentration en sulfure et le pH : les gastéropodes de la famille des peltospiridés dominent dans un habitat caractérisé par des températures et des concentrations en sulfure plus élevées et un pH plus acide en comparaison des gastéropodes de la famille des lepetodrilidés. Cependant, la présence d'individus de plusieurs espèces sur toute la gamme des conditions

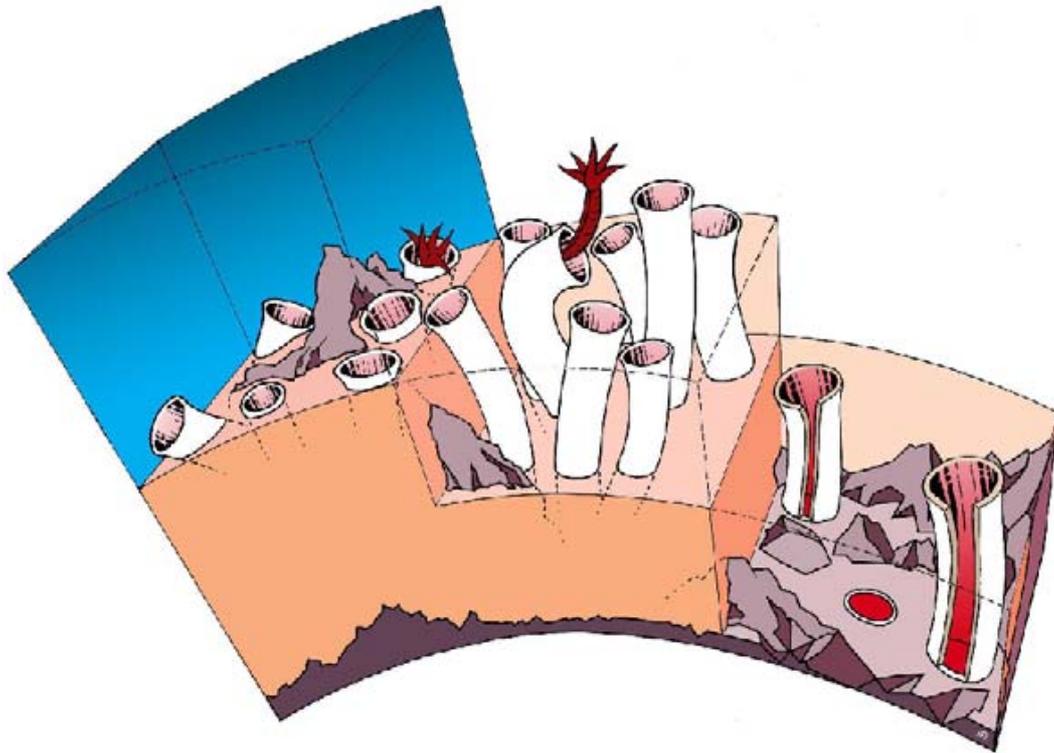


Figure c.2. Illustration schématique de la structure tridimensionnelle qui caractérise les colonies d'*Alvinella pompejana*. La partie supérieure (en bleue, à gauche) est la zone de mélange entre le fluide et l'eau de mer à l'ouverture des tubes. La seconde couche (au centre) illustre la matrice formée par l'enchevêtrement des tubes, avec une influence prédominante du fluide hydrothermal. La 3^{ème} couche (à droite) illustre la zone de forte température localisée à la surface de la paroi de la cheminée. L'intérieur du tube constitue un quatrième micro-environnement au sein de la colonie. (De Le Bris *et al.* 2005).

rencontrées (incluant à la fois les colonies d'alvinellidés et les bouquets de siboglinidés) suggère que les organismes peuvent supporter occasionnellement différents niveaux de toxicité. Ainsi, les espèces ne sont pas exclusives à une communauté spécifique définie par sa mégafaune mais plutôt à des micro-habitats particuliers présents dans plusieurs zones (Mills *et al.* 2007). En effet, la structure tridimensionnelle des espèces de la mégafaune offre autant de micro-niches à coloniser (Cordes *et al.* 2005).

Dans les colonies d'*Alvinella pompejana*, les conditions physico-chimiques sont très variables entre les différents compartiments incluant le milieu environnant à la surface de la colonie, la partie interne de la matrice formée par l'enchevêtrement des tubes et l'intérieur des tubes (Figure c.2). Il a été supposé que *A. pompejana* pouvait contrôler les gradients chimiques et thermiques et donc influencer les processus de minéralisation à l'interface entre la paroi des fumeurs et l'eau de mer ambiante, créant ainsi une mosaïque de micro-environnements à l'échelle de la colonie (Le Bris *et al.* 2005, Le Bris & Gaill 2007). Ainsi, les conditions environnementales rencontrées par les organismes ne sont pas identiques en fonction de la micro-zone qu'ils exploitent au sein de la colonie, même si nous avons admis que les gastéropodes occupaient principalement la surface de celle-ci. A titre de comparaison, la distribution des organismes n'est pas homogène au sein d'une moulière en réponse à de fortes variations des conditions environnementales entre son centre et sa périphérie (Comtet & Desbruyères 1998, Bergquist *et al.* 2005). Les conditions physico-chimiques sont également variables entre la base et le panache branchial du siboglinidé *Riftia pachyptila*, ce dernier étant capable de modifier l'environnement chimique par prélèvement de sulfure et d'oxygène dans le milieu (Johnson *et al.* 1988b). En réponse, il semblerait que le gastéropode *Cyathernia naticoides* ait tendance à se regrouper à la base du tube, alors que les individus de *L. elevatus* seraient plus abondants vers le haut du tube à proximité du panache (Mills *et al.* 2007). Ainsi, l'existence de micro-habitats peut constituer une réponse plus valide pour expliquer la distribution des espèces de l'épifaune vagile comme les gastéropodes et les polychètes que la définition de communautés en fonction de la mégafaune.

D'autre part, la faible corrélation entre la structure des communautés et les paramètres physico-chimiques suggère que d'autres facteurs sont responsables de la distribution des espèces dans les colonies d'alvinellidés. La faible diversité observée dans les échantillons dominés par *Lepetodrilus elevatus* laisse à supposer que cette espèce serait capable d'exclure les autres espèces sous certaines conditions environnementales. L'absence de peltospiridés dans certains échantillons pourrait être le résultat d'une exclusion par compétition exercée par *L. elevatus*, repoussant ainsi les autres espèces dans un environnement moins favorable sur le

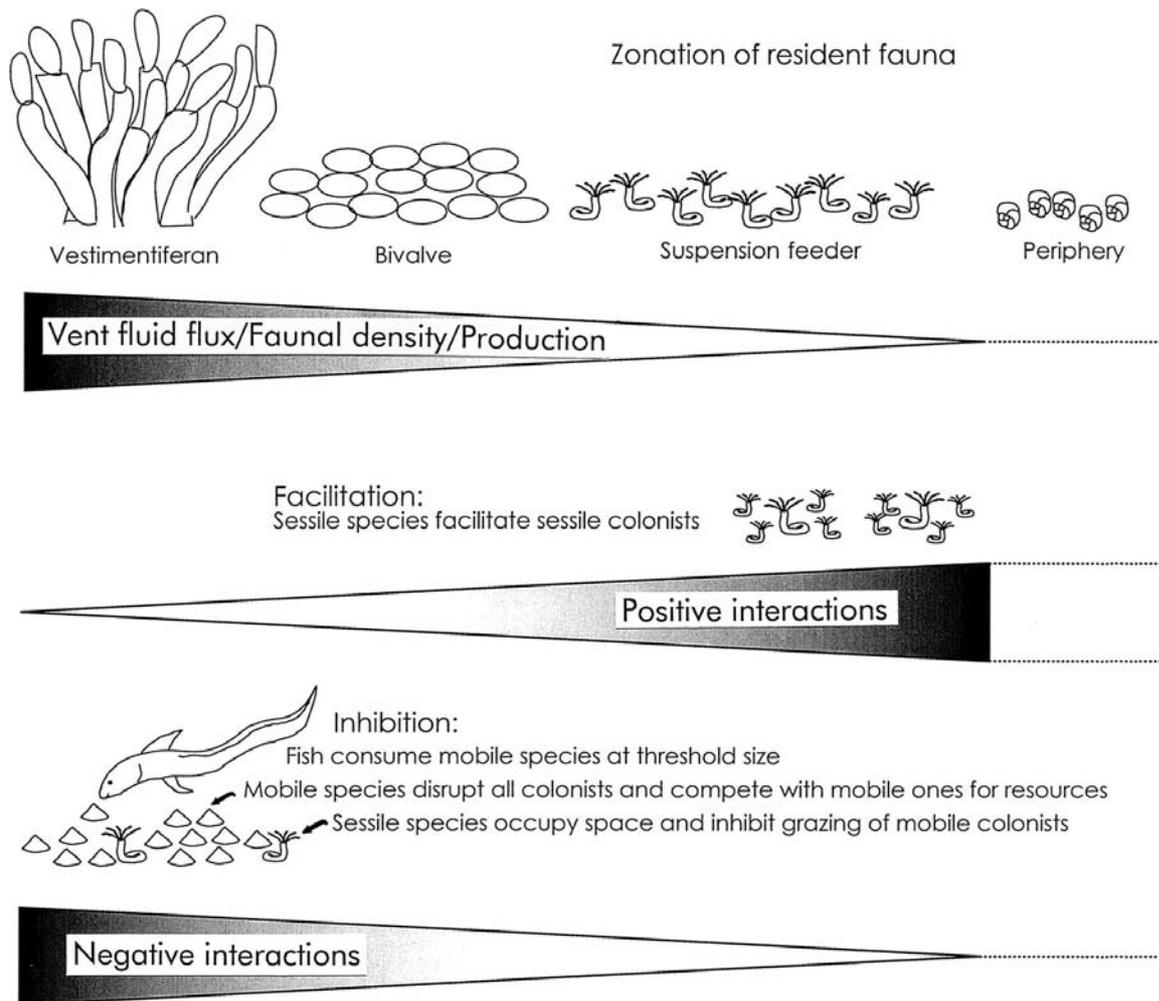


Figure c.3. Schéma proposant les différents mécanismes d'interaction entre espèces le long d'un gradient de production au niveau d'un site hydrothermal. Les flèches représentent l'intensité relative du flux hydrothermal (inféré à partir de mesures de température) et des interactions positives et négatives. La zonation des différentes communautés mégafaunistiques est indiquée le long du gradient avec les communautés de vestimentifères (*Riftia pachyptila*, *Tevnia jerichonana*, and *Oasisia alvinae*), de bivalves (*Bathymodiolus thermophilus*), de suspensivores (*Laminatubus alvini*) et la zone périphérique. (De Mullineaux *et al.* 2003).

modèle des interactions décrites dans un autre environnement « extrême », le milieu intertidal. Pour les substrats durs intertidaux, la limite supérieure de distribution des espèces serait déterminée par leur tolérance physiologique alors que la limite inférieure serait due à des interactions biotiques (Connell 1972). Plusieurs études ont démontré le rôle joué par les interactions biotiques sur la structuration des communautés hydrothermales, telles que la prédation (Sancho *et al.* 2005), la compétition (Micheli *et al.* 2002) ou la facilitation (Mullineaux *et al.* 2000). La colonisation de nouveaux sites par le siboglinidé *Riftia pachyptila* semblerait facilitée par la présence d'un autre siboglinidé, *Tevnia jerichonana* (Mullineaux *et al.* 2000). À l'identique, sur les substrats rocheux côtiers, les interactions positives (facilitation) jouent un rôle important sur la structuration des communautés, les premiers colonisateurs étant capables de réduire le stress grâce à des mécanismes divers (réduction de l'évaporation, créations de micro-habitats fournissant un abri contre le vent, le soleil ou les prédateurs) et de faciliter ainsi l'arrivée de nouveaux colonisateurs. Sur ce modèle, Mullineaux *et al.* (2000) ont proposé que la présence de *T. jerichonana* constituait un signal de l'existence d'un habitat favorable pour la sédentarisation des larves de *R. pachyptila*. Un schéma présentant une zonation des facteurs biotiques le long du gradient de production et d'intensité du flux hydrothermal a été proposé avec des processus de facilitation prédominants dans les zones sous faible influence du fluide hydrothermal et des processus d'inhibition gouvernant les zones sous forte influence du fluide (Figure c.3 ; Mullineaux *et al.* 2003). Ce schéma s'apparente aux processus régulant la zonation des espèces côtières le long du gradient d'immersion. Cependant, à l'inverse de la zone intertidale, le système hydrothermal diffère dans la mesure où la zone caractérisée par un degré de toxicité plus élevé, en relation avec une forte variabilité des conditions environnementales, correspondrait également à la zone de plus forte production. Néanmoins, à ce jour, aucune mesure de la production n'est disponible dans la littérature, et la distribution spatiale de celle-ci demeure totalement inconnue.

3. Limites et perspectives

Si nos résultats ont apporté des informations pertinentes afin de déterminer l'échelle appropriée à l'étude d'un processus, certaines limites méthodologiques ainsi qu'un relatif manque d'informations constituent des obstacles pour tester différentes hypothèses évaluant la part relative des processus locaux et régionaux sur la mise en place de la diversité à différentes échelles. Tsurimi & Tunnicliffe (2003) avaient déjà mis en avant plusieurs lacunes dans les études en écologie hydrothermale que nous n'avons que partiellement pu résoudre :

- (1) l'absence de réplicats ;
- (2) le manque d'une information systématique complète ;
- (3) la nécessité de mesures abiotiques détaillées à l'échelle des organismes ;
- (4) le besoin d'une description spatio-temporelle de l'habitat en terme de productivité et des conditions environnementales en parallèle avec une description des réponses des organismes.

Le premier point est à mettre en relation avec des limites liées aux moyens mis en œuvre et au temps de manipulation sur le fond. Dans ce travail, le faible nombre d'échantillons obtenus le long du gradient latitudinal de la partie sud de la dorsale du Pacifique oriental ainsi que l'absence de réplicats pour chaque champ ne nous a pas permis de déterminer la part relative des facteurs régionaux et des facteurs locaux sur la mise en place de la biodiversité le long de la dorsale. Par ailleurs, comme cela a été mentionné dans le chapitre 2, l'échantillonnage sur une surface restreinte reflète une image ponctuelle plutôt que l'ensemble de la communauté en place et ne prend pas en compte l'hétérogénéité présente en réalité à toutes les échelles. Ainsi, afin de pouvoir comparer les communautés à une échelle régionale, un grand nombre de réplicats par localité est nécessaire ce qui peut être envisagé à travers l'analyse des résultats partiels accumulées dans les bases de données.

L'identification d'espèces cryptiques ainsi que les doutes rencontrés dans la détermination de certaines espèces sur une zone encore peu explorée ont permis de mettre en avant la nécessité de combiner à la fois une approche écologique et une approche phylogéographique. Tant que le statut des espèces ne sera pas clarifié et que leurs aires de distribution ne seront pas connues, il sera difficile de comprendre les processus responsables des événements de spéciation et donc de la mise en place de la diversité. Des analyses moléculaires et morphologiques des espèces le long de la dorsale couplées à une analyse de la structure des communautés semblent donc indispensables. Cependant, une des principales limites réside dans le faible nombre d'individus à notre disposition pour les espèces les moins communes et peut-être les plus informatives. Récemment, l'emploi d'analyses de coalescence s'appuyant sur un petit nombre d'individus provenant de nombreuses localités a permis d'appréhender le rôle de la dispersion sur la distribution de plusieurs taxons entre provinces biogéographiques autour de l'Afrique du Sud (Teske *et al.* 2007). De telles méthodes appliquées aux espèces hydrothermales pourraient permettre de palier le fait de disposer d'échantillons de petite taille. Ceci implique donc de poursuivre le travail de phylogéographie



Lepetodrilus sp.



"Pointy apex"



Gorgolettis



Neomphalidae



Neomphalidae



Peltospira spp.



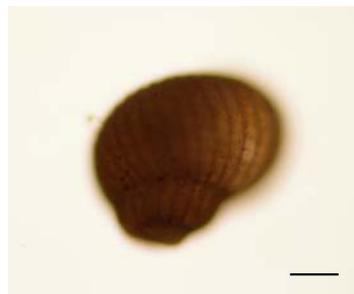
Eulepetopsis vitrea



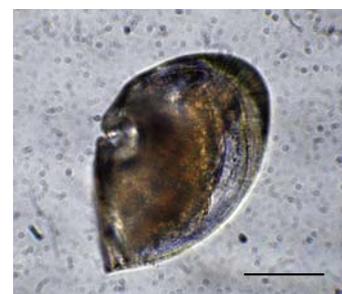
Cyathernia cf. naticoides



Melanodrymia cf. aurantiaca



Leaviphitus sp.



Peltospiridae

Figure c.4. Photos des larves récoltées à l'aide d'un filet traîné par le Nautilé à quelques mètres au-dessus du fond sur les champs hydrothermaux de 17°25'S et 21°33'S. L'identification a été réalisée en collaboration avec T. Comtet (Station Biologique de Roscoff) et Susan Mills (Woods Hole Oceanographic Institute). Trait : 100µm.

amorcé sur plusieurs espèces de gastéropodes dans le chapitre 1 en résolvant les problèmes d'amplification et en augmentant le nombre d'échantillons.

Le rôle de la dispersion sur la mise en place des communautés hydrothermales à mésoéchelle n'a toujours pas été élucidé à ce jour. Une approche écologique combinée à des analyses moléculaires pourrait permettre de mieux comprendre la relation entre la dispersion et les populations établies. Une hypothèse amorcée dans le cadre de ce travail consistait à comparer la structure génétique de larves de *Lepetodrilus elevatus* prélevées sur différents champs hydrothermaux à celle des populations locales dans le but de les assigner ou non à leurs populations sources. Deux conditions étaient indispensables à la mise en place d'une telle analyse : (1) l'existence de populations différenciées génétiquement et (2) la définition de marqueurs moléculaires ultra variables nécessaire à la réalisation de tests d'assignation suffisamment puissants. Lors de la mission BIOSPEEDO, des prélèvements de mésozooplancton avaient été effectués à l'aide d'un filet traîné par le Nautilé à quelques mètres au-dessus du fond sur les champs hydrothermaux de 17°25'S et 21°33'S (Comtet, comm. pers.). Le dépouillement partiel de ces échantillons a permis d'isoler une quarantaine de larves appartenant à différents taxons dont 18 larves de *Lepetodrilus* sp. sur lesquelles pourrait être réalisé le développement méthodologique (Figure c.4). De plus, dans la mesure où cette espèce présente un recrutement discontinu avec la présence de 'cohortes' (Mullineaux *et al.* 1998, Sadosky *et al.* 2002), l'analyse de la différenciation génétique entre 'cohortes' au sein d'une population pourrait permettre de mettre en évidence une éventuelle structure génétique temporelle entre les individus. L'obstacle majeur à ce jour à ces différentes approches demeure le manque de variabilité et de fiabilité des marqueurs moléculaires testés. Le travail préliminaire de génétique des populations initié dans le chapitre 3 devra nécessairement être approfondi.

Si la compréhension du rôle des processus locaux sur la distribution de la diversité impose une définition fine de l'environnement physico-chimique dans lequel se développent les organismes, elle nécessite également une connaissance de l'autoécologie des espèces qui demeure encore souvent insuffisante aujourd'hui. L'étude de la croissance des principales espèces de gastéropodes permettrait de disposer d'un paramètre essentiel, aussi bien pour comprendre la dynamique des populations (e.g. estimation de l'âge à la maturité, intervalle de temps entre deux recrutements successifs), que pour analyser la variabilité de la réponse des organismes à différentes conditions environnementales et les capacités de colonisation

d'environnements divers. De plus, l'examen comparatif des croissances permettrait alors une quantification indirecte de l'intensité des interactions biotiques entre espèces en fonction des propriétés du milieu. Des techniques de marquage par incorporation de divers fluorochromes ont été développées chez les mollusques (Day *et al.* 1995, Kaehler & MacQuaid 1999, Fujikura *et al.* 2003) et testées avec succès lors de cette thèse sur des végastéropodes côtiers voisins des lepetodrilidés. L'application de ces méthodes pourra être envisagée lors d'une prochaine mission sur la dorsale du Pacifique oriental en combinant des incubations *in situ* et en aquarium pressurisé sur des périodes de quelques jours à plusieurs semaines.

Références Bibliographiques



Références

A

- Alt, J.C., 1995. In: Seafloor hydrothermal vents: physical, chemical, biological and geological interactions (eds. SE Humphris, RA Zierenberg, LS Mullineaux & LN Thomas). Washington, DC: Geophysical monograph, **91**: 85-114.
- Auzende, J.-M., Ballu, V., Batiza, R., Bideau, D., Cormier, M.-H., Fouquet, Y., Geistdoerfer, P., Lagabrielle, Y., Sinton, J. & Spadea, P., 1994. Activité magmatique, tectonique et hydrothermale actuelle sur la Dorsale Est Pacifique entre 17°S et 19°S (campagne NAUDUR). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, série II*, **319**: 811-818.
- Avise, J.C. & Wollenberg, K., 1997. Phylogenetics and the origin of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **94**: 7748-7755.

B

- Baker, E.T. & Urabe, T., 1996. Extensive distribution of hydrothermal plumes along the superfast spreading East Pacific Rise, 13°30'-18°40'S. *Journal of Geophysical Research*, **101**: 8685-8695.
- Bandelt, H.J., Forster P. & Röhl, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biological Evolution*, **16**: 37-48.
- Barton, N.H. & Hewitt, G.H., 1985. Analysis of hybrid zones. *Annual review of ecology and systematics*, **16**:113-148.
- Bates, A.E., Tunnicliffe, V. & Lee, R.W., 2005. Role of thermal conditions in habitat selection by hydrothermal vent gastropods. *Marine Ecology Progress Series*, **305**: 1-15.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. & Bonhomme, F., 2004 GENETIX 4.05, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations.
- Berg, C.J.J., 1985. Reproductive strategies of mollusks from abyssal hydrothermal vent communities. *Bulletin of the biological society of Washington*, **6**: 185-197.
- Bergquist, D.C., Fleckenstein, C., Knisel, J., Begley, B., MacDonald, I.R. & Fisher, C.R., 2005. Variations in seep mussel bed communities along physical and chemical environmental gradients. *Marine Ecology Progress Series*, **293**: 99-108.
- Bierne, N., David, P., Langlade, A. & Bonhomme, F., 2002. Can habitat specialisation maintain a mosaic hybrid zone in marine bivalves. *Marine Ecology Progress Series*, **245**: 157-170.
- Bierne, N., Borsa, P., Daguin, C., Jollivet, D., Viard, F., Bonhomme, F. & David, P., 2003. Introgression patterns in the mosaic hybrid zone between *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*. *Molecular Ecology*, **12**: 447-461.
- Bisby, F.A., 1995. In: Global Biodiversity Assessment (eds. VH Heywood). Cambridge: University Press, 21-104.
- Black, M.B., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 1994. Gene flow among vestimentiferan tube worm (*Riftia pachyptila*) populations from hydrothermal vents of the eastern Pacific. *Marine Biology*, **120**: 33-39.
- Black, M.B., Trivedi, A., Maas, P.A.Y., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 1998. Population genetics and biogeography of vestimentiferan tube worms. *Deep Sea Research II*, **45**: 365-382.
- Both, R., Crook, K., Taylor, B., Brogan, S., Chappel, B., Frankel, E., Liu, L., Sinton, J. & Tiffin, D., 1986. Hydrothermal chimneys and associated fauna in the Manus back-arc basin, Papua New Guinea. *Eos*, **67**: 489-490.
- Bradbury, I.R. & Snelgrove, V.R., 2001. Contrasting larval transport in demersal fish and benthic invertebrates: the roles of behaviour and advective processes in determining spatial pattern. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **58**: 811-823.
- Bright, M., 2006. In: Handbook of deep-sea hydrothermal vent fauna (eds. D Desbruyères, M Segonzac & M Bright). Denisia, 27-28.

C

- Campton D.E., 1987. Natural hybridization and Introgression in Fishes. In: Population Genetics in Fisheries Management (eds. Ryman, N., Utter, F.). University Washington Press, Seattle: 161-192.
- Canadian American Seamount Expedition, Chase, M.R., Delaney, J.R., Karsten, J.L., Johnson, H.P., Juniper, S.K., Lupton, J.E., Scott, S.D., Tunnicliffe, V., Hammond, S.R. & McDuff, R.E., 1985. Hydrothermal vents on axis seamount of the Juan de Fuca. *Nature*, **313**: 212-214.

- Cavanaugh, C.M., Gardiner, S.L., Jones, M.L., Jannasch, H.W. & Waterbury, J.B., 1981. Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* Jones: possible chemoautotrophic symbionts. *Science*, **213**: 340-342.
- Chevaldonné, P., Desbruyères, D. & Le Haître, M., 1991. Time-series of temperature from three deep-sea hydrothermal vent sites. *Deep Sea Research*, **38**: 1417-1430.
- Chevaldonné, P., Jollivet, D., Vangriesheim, A. & Desbruyères, D., 1997. Hydrothermal-vent alvinellid polychaete dispersal in the eastern Pacific. 1. Influence of vent site distribution, bottom currents, and biological patterns. *Limnology and Oceanography*, **42**: 67-80.
- Chevaldonné, P., Jollivet, D., Desbruyères, D., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 2002. Sister-species of eastern Pacific hydrothermal vent worms (Ampharetidae, Alvinellidae, Vestimentifera) provide new mitochondrial COI clock calibration. *Cahier de Biologie Marine*, **43**: 367-370.
- Childress, J.J., 1988. *Hydrothermal vents : a case study of the biology and chemistry of a deep-sea hydrothermal vent of the Galapagos Rift : the Rose Garden in 1985*. Oxford: Pergamon Press, iv, 1677-1849.
- Childress, J.J. & Fisher, C.R., 1992. The biology of hydrothermal vent animals: physiology, biogeochemistry, and autotrophic symbioses. *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*, **30**: 31-104.
- Clarke, K.R. & Ainsworth, M., 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. *Marine Ecology Progress Series*, **92**: 205-219.
- Clarke, K.R. & Warwick, R.M., 1998. A taxonomic distinctness index and its statistical properties. *Journal of Applied Ecology*, **35**: 523-531.
- Clarke, K.R. & Warwick, R.M., 1999. The taxonomic distinctness measure of biodiversity: weighting of step lengths between hierarchical levels. *Marine Ecology Progress Series*, **184**: 21-29.
- Clarke, K.R. & Warwick, R.M., 2001. *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth, UK.
- Colwell, R.K., 2005 EstimateS v7.5. Statistical estimation of species richness and shared species from samples.
- Comtet, T. & Desbruyères, D., 1998. Population structure and recruitment in mytilid bivalves from the Lucky Strike and Menez Gwen hydrothermal vent fields (37°17'N and 37°50'N on the Mid-Atlantic Ridge). *Marine Ecology Progress Series*, **163**: 165-177.
- Connell, J.H., 1972. Community interactions on marine rocky intertidal shores. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **3**:169-192.
- Copley, J.T.P., Tyler, P.A., Van Dover, C.L. & Philip, S.J., 2003. Spatial variation in the reproductive biology of *Paralvinella palmiformis* (Polychaeta: Alvinellidae) from a vent field on the Juan de Fuca Ridge. *Marine Ecology Progress Series*, **255**: 171-181.
- Cordes, E.E., Hourdez, S., Predmore, B.L., Redding, M.L. & Fisher, C.R., 2005. Succession of hydrocarbon seep communities associated with the long-lived foundation species *Lamellibrachia luymesii*. *Marine Ecology Progress Series*, **305**: 17-29.
- Cordes, E.E., Bergquist, D.C., Redding, M.L. & Fisher, C.R., 2007. Patterns of growth in cold-seep vestimentiferans including *Seepiophila jonesi*: a second of long-lived tubeworm. *Marine Ecology*, **28**: 1-9.
- Corliss, J.B., Dymond, J., Gordon, L.I., Edmond, J.M., von Herzen, R.P., Ballard, R.D., Green, K., Williams, D., Bainbridge, A., Crane, K. & van Andel, T.H., 1979. Submarine Thermal Springs on the Galapagos Rift. *Science*, **203**: 1073-1083.
- Cormier, M.-H., Scheirer, D.S. & Macdonald, K.C., 1996. Evolution of the East Pacific Rise at 16°-19°S since 5 Ma : bisection of overlapping spreading centers by new, rapidly propagating ridge segments. *Marine Geophysical Research*, **18**: 53-8
- Cornuet, J. & Luikart, G., 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, **144**: 2001-2014.
- Cornuet, J. & Luikart, G., 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, **144**: 2001-2014.
- Craddock, C., Hoeh, W.R., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 1995. Extensive gene flow among mytilid (*Bathymodiolus thermophilus*) populations from hydrothermal vents of the eastern Pacific. *Marine Biology*, **124**: 137-146.
- Craddock, C., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 1997. Patterns of dispersal and larval development of archaeogastropod limpets at hydrothermal vents in the eastern Pacific. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **210**: 37-51.

D

- Day, R.W., Williams, M.C. & Hawkes, G.P., 1995. A comparison of fluorochromes for making abalone shells. *Marine and Freshwater Research*, **46**: 599-605.
- De Barry, G., 2000. Flux génique et dispersion chez une espèce inféodée aux sources hydrothermales profondes : le cas du gastéropode *Lepetodrillus elevatus*. *Rapport de maîtrise. Université de Montpellier II*.

- Desbruyères, D., Crassous, P., Grassle, J.F., Khripounoff, A., Reyss, D., Rio, M. & Van Praet, M., 1982. Biological observations on new submarine thermal springs on East Pacific Rise. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, série III*, **295**: 489-494.
- Desbruyères, D., Alayse-Danet, A.-M., Ohta, S. & Cruises, S.P.o.B.a.S., 1994. Deep-sea hydrothermal communities in Southwestern Pacific back-arc basins (the North Fiji and Lau Basins): Composition, microdistribution and food web. *Marine Geology*, **116**: 227-242.
- Desbruyères, D., Chevaldonné, P., Alayse-Danet, A.-M., Jollivet, D., Lallier, F., Jouin-Toulmond, C., Zal, F., Sarradin, P.-M., Cosson, R., Caprais, J.-C., Arndt, C., O'Brien, J., Guezennec, J., Hourdez, S., Riso, R., Gaill, F., Laubier, L. & Toulmond, A., 1998. Biology and ecology of the "Pompeii worm" (*Alvinella pompejana* Desbruyères and Laubier), a normal dweller of an extreme deep-sea environment: A synthesis of current knowledge and recent developments. *Deep Sea Research part II*, **45**: 383-422.
- Desbruyères, D., Almeida, A., Biscoito, M., Comtet, T., Khripounoff, A., Le Bris, N., Sarradin, P.-M. & Segonzac, M., 2000. A review of the distribution of hydrothermal vent communities along the northern Mid-Atlantic Ridge: dispersal vs. environmental controls. *Hydrobiologia*, **440**: 201-216.
- Desbruyères, D., Hashimoto, J. & Fabri, M.-C., 2006a. Composition and Biogeography of hydrothermal vent communities in western pacific back-arc basins. *Geophysical monograph series*, **166**: 215-234.
- Desbruyères, D., Segonzac, M. & Bright, M., 2006b. *Handbook of deep-sea hydrothermal vent fauna*. Denisia, 544.
- Desmarais, E., Lanneluc, I. & Lagnel, J., 1998. Direct amplification of length polymorphism (DALP), or how to get and characterise new genetic markers in many species. *Nucleic Acids Research*, **26**: 1458-1465.
- Dinet, A., Grassle, J.F. & Tunnicliffe, V., 1988. First observations on the meiofauna from hydrothermal vents of the East Pacific Rise (Guaymas, 21°N) and Explorer Ridge. *Oceanologica Acta*, **8**: 7-14.
- Dixon, D.R., Lowe, D.M., Miller, P.I., Villemin, G.R., Colaço, A., Serrão-Santos, R. & Dixon, L.R.J., 2006. Evidence of seasonal reproduction in the Atlantic vent mussel *Bathymodiolus azoricus*, and an apparent link with the timing of photosynthetic primary production. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, **86**: 1363-1371.
- Dowling, T.E. & Secor, C.L., 1997. The role of hybridization and introgression in the diversification of animals. *Annual review of ecology and systematics*, **28**: 593-619.
- Dreyer, J.C., Knick, K.E., Flickinger, W.B. & Van Dover, C.L., 2005. Development of macrofaunal community structure in mussel beds on the northern East Pacific Rise. *Marine Ecology Progress Series*, **302**: 121-134.

E

- Eckelbarger, K.J., 1994. Diversity of metazoan ovaries and vitellogenic mechanisms: implication for life history theory. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, **107**: 193-218.
- Eckelbarger, K.J. & Walting, L., 1995. Role of phylogenetic constraints in determining reproductive patterns in deep-sea invertebrates. *Invertebrate Biology*, **114**: 256-269.
- Edgomb, V.P., Kysela, D.T., A., V.G. & Sogin, M.L., 2002. Benthic eukaryotic diversity in the Guaymas Basin hydrothermal vent environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99**: 7658-7662.
- El Mousadik, A. & Petit, R.J., 1996. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L. Skeels)] endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics* **92**: 832-836.
- Embley, R.W., Lupton, J.E., Massoth, G.J., Urabe, T., Tunnicliffe, V., Butterfield, D.A., Shibata, T., Okano, O., Kinoshita, M. & Fujioka, K., 1998. Geological, chemical, and biological evidence for recent volcanism at 17.5°S: East Pacific Rise. *Earth and Planetary Science Letters*, **163**: 131-147.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., and Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**: 479-491.

F

- Fauchald, K. & Jumars, P.A., 1979. The diet of worms: a study of polychaete feeding guilds. *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*, **17**: 193-284.
- Faure, B., Chevaldonné, P., Pradillon, F., Thiébaud, E. & Jollivet, D., 2007. Spatial and temporal dynamics of reproduction and settlement in the Pompeii worm *Alvinella pompejana* (Polychaeta: Alvinellidae). *Marine Ecology Progress Series*, **348**: 197-211.
- Felsenstein, J., 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, **17**: 368-376.
- Folmer, O., Black, M.B., Hoeh, W.R., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 1994. DNA primers for the amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine*

Biology and Biotechnology, **3**: 294-299.

- Fornari, D.J. & Embley, R.W., 1995. In: Seafloor hydrothermal systems (eds. SE Humphris, RA Zierenberg, LS Mullineaux & RE Thomson). Washington DC: Geophysical monograph, **91**: 1-46.
- Fouquet, Y., Auzende, J.-M., Ballu, V., Batiza, R., Bideau, D., Cormier, M.-H., Geistdoerfer, P., Lagabrielle, Y., Sinton, J. & Spadea, P., 1994. Variabilité des manifestations hydrothermales actuelles le long d'une dorsale ultra-rapide: Exemple de la Dorsale Est Pacifique entre 17°S et 19°S (campagne NAUDUR). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, série II*, **319**: 1399-1406.
- Fretter, V., Graham, A. & Mc Lean, J., 1981. The anatomy of the Galapagos rift limpet, *Neomphalus fretterae*. *Malacologia*, **21**: 337-361.
- Fretter, V., 1988. New archaegastropod limpets from hydrothermal vents; Superfamily Lepetodrilacea II. Anatomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences.*, **319**: 33-82.
- Fretter, V., 1989. The anatomy of some archaegastropod limpets (Superfamily Peltospiracea) from hydrothermal vents. *Journal of zoology, London*, **218**: 123-169.
- Fu, Y.-X. & Li, W.-H., 1993. Statistical test of neutrality of mutations. *Genetics*, **33**: 693-709.
- Fujikura, K., Okoshi, K. & Naganuma, T., 2003. Strontium as a marker for estimation of microscopic growth rates in a bivalve. *Marine Ecology Progress Series*, **257**: 295-301.
- Fujioka, K., Massoth, G.J., de Ronde, C., Tanaka-Nakano, A., Gendron, J., Kinoshita, M., Nishizawa, A., Okano, O., Paradis, G., Roe, K.J., Shinohara, M., Shitashima, K., Tsunogai, U. & Ytow, N., 1995. Active hydrothermal systems of a super-fast spreading ridge, southern East Pacific Rise (13°58'S to 18°26'S). *InterRidge News*, **4**: 7-10.
- Fujiwara, Y., Tsukahara, J., Hashimoto, J., Fujikura, K., 1998. *In situ* spawning of a deep-sea vesicomyd clam: evidence for an environmental cue, **45**: 1881-1889.
- Fustec, A., Desbruyères, D. & Juniper, S.K., 1987. Deep-sea hydrothermal communities at 13°N on the East Pacific Rise: Microdistribution and Temporal Variations. *Biological Oceanography*, **4**: 121-164.

G

- Gabe, M., 1968. *Techniques histologiques*. Paris: Masson.
- Gaston, K.J., 2000. Global patterns in biodiversity. *Nature*, **405**: 220-227.
- Gardner, J.P.A., 1997. Hybridization in the sea. *Advances in Marine Biology*, **31**:1-78.
- Gardiner, S.L., Shrader, S.E. & Jones, M.L., 1992. Preliminary observations on oogenesis in the tubeworm *Riftia pachyptila* Jones (Vestimentifera). *American Zoologist*, **32**: 124A.
- Gebruk, A.V., Galkin, S.V., Vereshchaka, A.L., Moskalev, L.I. & Southward, A.J., 1997. Ecology and biogeography of the hydrothermal vent fauna of the mid-atlantic ridge. *Advances in Marine Biology*, **32**: 93-144.
- Geistdoerfer, P., Auzende, J.-M., Batiza, R., Bideau, D., Cormier, M.-H., Fouquet, Y., Lagabrielle, Y., Sinton, J. & Spadea, P., 1995. Hydrothermalisme et communautés animales associées sur la dorsale du Pacifique oriental entre 17°S et 19°S (Campagne Naudur, décembre 1993). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, série II*, **320**: 47-54.
- Goffredi, S.K., Childress, J.J., Desaulniers, N.T. & Lallier, F., 1997. Sulfide acquisition by the vent worm *Riftia pachyptila* appears to be *via* uptake of HS⁻, rather than H₂S. *The journal of experimental Biology*, **200**: 2609-2616.
- Goffredi, S.K., Hurtado, L.A., Hallam, S. & Vrijenhoek, R.C., 2003. Evolutionary relationships of deep-sea vent and cold seep clams (Mollusca: Vesicomidae) of the "*pacifica/lepta*" species complex. *Marine Biology*, **142**: 311-320.
- Goodacre, S.L. & Wade, C.M., 2001. Patterns of genetic variation in Pacific island land snails: the distribution of cytochrome b lineages among Society Island *Partula*. *Biological Journal of the Linnean Society*, **73**: 131-138.
- Goudet, J., 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3).
- Govenar, B.W., Freeman, M., Bergquist, D.C., Johnson, G.A. & Fisher, C.R., 2004. Composition of a one-year-old *Riftia pachyptila* community following a clearance experiment: insight to succession patterns at deep-sea hydrothermal vents. *Biological Bulletin*, **207**: 177-182.
- Govenar, B.W., Le Bris, N., Gollner, S., Glanville, J., Aperghis, A.B., Hourdez, S. & Fisher, C.R., 2005. Epifaunal community structure associated with *Riftia pachyptila* aggregations in chemically different hydrothermal vent habitats. *Marine Ecology Progress Series*, **305**: 67-77.
- Gray, J.S., 2000. The measurement of marine species diversity, with an application to the benthic fauna of the Norwegian continental shelf. *Journal of Experimental Biology and Ecology*, **250**: 23-49.
- Guinot, D. & Hurtado, L.A., 2003. Two new species of hydrothermal vent crabs of the genus *Bythogrea* from the southern East Pacific Rise and from the Galapagos rift (Crustacea Decapoda Brachyura Bythograeidae).

Comptes-rendus de Biologies, **326**: 423-439.

Gustafson, R.G. & Lutz, R.A., 1994. In: Reproduction, Larval Biology, and Recruitment of the Deep-Sea Benthos. Columbia University Press. 76-97.

H

Halanych, K.M., Tieger, M., O'Mullan, G.D., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 1999. Brief description of biological communities at 7°S on the East Pacific Rise. *International Ridge-Crest Research: Biological studies*, **8**: 23-27.

Hannington, M.D., Jonasson, I.R., Herzig, P.M. & Petersen, S., 1995. In: Seafloor hydrothermal systems: physical, chemical, biological, and geological interactions (eds. SE Humphris, RA Zierenberg, LS Mullineaux & RE Thomson). Washington: Geophysical Monograph, **91**:115-157.

Harper, J.L., Hawksworth, D.L., 1994. Biodiversity: measurement and estimation. Preface. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, **345**: 5-12.

Harrison, R.G., 1993.(Ed.) Hybrid zones and the evolutionary process. Oxford University Press, Oxford, UK.

Hashimoto, J., Ohta, S., Gamo, T., Chiba, H., Yamaguchi, T., Tsuchida, S., Okudaira, T., Watabe, H., Yamanaka, T. & Kitasawa, M., 2001. First Hydrothermal Vent Communities from the Indian Ocean Discovered. *Zoological science*, **18**: 717-721.

Haszprunar, G., 1989. New slit-limpets (Scissurellacea and fissurellacea) from hydrothermal vents. Part 2. Anatomy and relationships. *Contributions in science*, **408**: 1-17.

Hawksworth, D.L. & Kalin-Arroyo, M.T., 1995. In: Global Biodiversity Assessment (ed. VH Heywood). Cambridge: University Press, 107-192.

Haymon R.M., Fornari, D.J., Edwards, M.H., Carbotte, S., Wright, D. & McDonald, K.C., 1991. Hydrothermal vent distribution along the East Pacific Rise Crest (9°09'-54'N) and its relationship to magmatic and tectonic processes on fast-spreading mid-ocean ridges. *Earth and Planetary Science letters*, **104**: 513-534.

Haymon, R., Fornani, D.J., Von Damn, K.L., Lilley, M.D., Perfit, M.R., Edmond, J.M., Shanks, W.C., Lutz, R.A., Grebmeier, J.M., Carbotte, S., Wright, D., McLaughlin, E., Smith, M., Beedle, N. & Olson, E., 1993. Volcanic eruption of the mid-ocean ridge along the East Pacific Rise crest at 9°45-52'N: Direct submersible observations of seafloor phenomena associated with an eruption event in April, 1991. *Earth and Planetary Science Letters*, **119**: 85-101.

Hekinian, R., Février, M., Avedik, F., Cambon, P., Charlou, J.-L., Needham, H.D., Raillard, J., Boulegue, J., Merlivat, L., Moinet, A., Manganini, S. & Lange, J., 1983. East Pacific Rise Near 13°N: Geology of New Hydrothermal Fields. *Science*, **219**: 1321-1324.

Hessler, R.R., Smithey, W.M. & Keller, C.H., 1985. Spatial and temporal variation of giant clams, tube worms and mussels at deep-sea hydrothermal vents. *Bulletin of the biological society of Washington*, **6**: 411-428.

Hessler, R.R., Smithey, W.M., Boudrias, M.A., Keller, C.H., Lutz, R.A. & Childress, J.J., 1988. Temporal change in megafauna at the Rose Garden hydrothermal vent (Galapagos Rift; eastern tropical Pacific). *Deep Sea Research*, **35**: 1681-1709.

Hessler, R.P., & Lonsdale, P.F., 1991. Biogeography of Mariana Trough hydrothermal vent communities. *Deep-Sea Research*, **38**: 185-199.

Hudson, R.R., 2000. A new statistic for detecting genetic differentiation. *Genetics*, **155**: 2011-2014.

Hurtado, L.A., Mateos, M., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 2002. Molecular evidence for multiple species of *Oasisia* (Annelida: Siboglinidae) at Eastern Pacific hydrothermal vents. *Cahier de Biologie Marine*, **43**: 377-380.

Hurtado, L.A., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 2004. Distinct patterns of genetic differentiation among annelids of eastern Pacific hydrothermal vents. *Molecular Ecology*, **13**: 2603-2615.

Hurlbert, S.H., 1971. The non-concept of species diversity: A critique and alternative parameters. *Ecology*, **54**: 427-432.

Huston, M.A., 1999. Local processes and regional patterns: appropriate scales for understanding variation in the diversity of plants and animals. *Oikos*, **86**: 393-401.

I

Izsak, C. & Price, A.R.G., 2001. Measuring b-diversity using a taxonomic similarity index, and its relation to spatial scale. *Marine Ecology Progress Series*, **215**: 69-77.

J

- Jackson, D.J., Ellemor, N. & Degnan B.M., 2005. Correlating gene expression with larval competence, and the effect of age and parentage on metamorphosis in the tropical abalone *Haliotis asinina*. *Marine Biology*, **147**:681-697.
- Jannasch, H.W., 1985. The chemosynthetic support of life and the microbial diversity at deep-sea hydrothermal vents. *Proceedings of the Royal Society of London, série B*, **225**:277-297.
- Jeanthon, C., 2000. Molecular ecology of hydrothermal vent microbial communities. *Antonie van Leeuwenhoek*, **77**: 117-133.
- Johnson, K.S., Childress, J.J. & Beehler, C.L., 1988a. Short-term temperature variability in the Rose Garden hydrothermal vent field: an unstable deep-sea environment. *Deep Sea Research*, **35**: 1711-1721.
- Johnson, K.S., Childress, J.J., Hessler, R.R., Sakamoto-Arnold, C.M. & Beehler, C.L., 1988b. Chemical and biological interactions in the Rose Garden hydrothermal vent field, Galapagos spreading center. *Deep Sea Research*, **35**: 1723-1744.
- Johnson, K.S., Childress, J.J., Beehler, C.L. & Sakamoto-Arnold, C.M., 1994. Biogeochemistry of hydrothermal vent mussel communities: the deep-sea analogue to the intertidal zone. *Deep Sea Research I*, **41**: 993-1011.
- Johnson, S.B., Young, C.R., Jones, W.J., Warén, A. & Vrijenhoek, R.C., 2006. Migration, isolation and speciation of hydrothermal vent limpets (Gastropoda; Lepetodrilidae) across the blanco transform fault. *Marine Biological Laboratory*, **210**: 140-157.
- Jollivet, D., 1993. Distribution et évolution de la faune associée aux sources hydrothermales profondes à 13°N sur la dorsale du Pacifique oriental: le cas particulier des polychètes Alvinellidae. Thèse de doctorat, Université de Bretagne occidentale, Brest, France.
- Jollivet, D., Desbruyères D., Moraga D., & Bonhomme, F., 1995. Genetic differentiation of deep-sea hydrothermal vent anellid populations (Annelida: Polychaeta) along the East Pacific Rise. *Heredity*, **74**: 376-391.
- Jollivet, D., 1996. Specific and genetic diversity at deep-sea hydrothermal vents: an overview. *Biodiversity and Conservation*, **5**: 1619-1653.
- Jollivet, D., Chevaldonné, P. & Planque, B., 1999. Hydrothermal Vent Alvinellid Polychaete Dispersal in the Eastern Pacific. 2. A Metapopulation Model Based on Habitat Shifts. *Evolution*, **53**: 1128-1142.
- Jollivet, D., Empis, A., Baker, M.C., Hourdez, S., Comtet, T., Jouin-Toulmond, C., Desbruyères, D. & Tyler, P.A., 2000. Reproductive biology, sexual dimorphism, and population structure of the deep-sea hydrothermal vent scale-worm, *Branchipolynoe seepensis* (Polychaeta: Polynoidae). *Journal of the Marine Biological Association of UK*, **80**: 55-68.
- Jollivet, D. and the shipboard scientific party, 2004. The BIOSPEEDO cruise: a new survey of hydrothermal vents along the South East Pacific Rise from 7°24S to 21°33S. *InterRidge News*, **13**: 20-26.
- Juniper, S.K. & Tunnicliffe, V., 1997. Crustal accretion and the hot vent ecosystem. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A*, **355**: 459-474.

K

- kaehler, S. & MacQuaid, C.D., 1999. Use of the fluorochrome calcein as *in situ* growth marker in the brown mussel *Perna perna*. *Marine Biology*, **133**: 455-460.
- Karl, D.M., Brittain, A.M. & Tilbrook, B.D., 1989. Hydrothermal and microbial processes at Loihi Seamount, a mid-plate hot-spot volcano. *Deep Sea Research A*, **36**: 1655-1673.
- Karl, S.A., Schutz, S.J., Desbruyères, D., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 1996. Molecular analysis of gene flow in the hydrothermal-vent clam *Calyptogena magnifica*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **5**: 193-202.
- Kazmierczak, J.B., 1985. analyse logarithmique, deux exemples d'application. *Revue de statistique Appliquée*, **33**: 13-24.
- Kelly, N.E. & Metaxas, A., 2007. Influence of habitat on the reproductive biology of the deep-sea hydrothermal vent limpet *Lepetodrilus fucensis* (Vetigastropoda: Mollusca) from the Northeast Pacific. *Marine Biology*, **151**: 649-662.
- Kim, S.L. & Mullineaux, L.S., 1998. Distribution and near-bottom transport of larvae and other plankton at hydrothermal vents. *Deep-sea Research II*, **45**: 423-440.
- Kimura, M. & Weiss, G.H., 1964. The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics*, **49**: 561-576.
- Knowlton, N., 1993. Sibling species in the sea. *Annual review of ecology and systematics*, **24**: 189-216.
- Knowlton, N., 2000. Molecular genetic analyses of species boundaries in the sea. *Hydrobiologia*, **420**: 73-90.

- Kojima, S., Ohta, S., Yamamoto, T., Miura, T., Fujiwara, Y. & Hashimoto, J., 2001. Molecular taxonomy of vestimentiferans of the western Pacific and their phylogenetic relationship to species of the eastern Pacific. I. Family Lamellibrachiidae. *Marine Biology*, **139**: 211-219.
- Kojima, S., Ohta, S., Yamamoto, H., Miura, T., Fujiwara, Y., Fujikura, K. & Hashimoto, J., 2002. Molecular taxonomy of vestimentiferans of the western Pacific and their phylogenetic relationship to species of the eastern Pacific. *Marine Biology*, **141**: 57-64.
- Kojima, S., Ohta, S., Yamamoto, H., Yamaguchi, T., Miura, T. & Fujiwara, Y., 2003. Molecular taxonomy of vestimentiferans of the western Pacific, and their phylogenetic relationship to species of the eastern Pacific III. Alaysia-like vestimentiferans and relationships among families. *Marine Biology*, **142**: 625-635.
- Kumar, S., Tamura, K & Nei, M., 2004. MEGA3.1: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* **5**:150-163.w

L

- Lalou, C., 1991. Deep-sea hydrothermal venting: a recently discovered marine system. *Journal of Marine Systems*, **1**: 403-440.
- Lalou, C., Reyss, J.E, Arnold, M., Thompson, G., Fouquet, Y. & Rona, P.A., 1993a. New age dating for Mid-Atlantic Ridge hydrothermal sites: TAG and Snake Pit chronology revisited. *Journal of Geophysical Research*, **98**(B3), 9705-9713.
- Lalou, C., Reyss, J.E., Bricchet, E., Arnold, M., Thompson, G., Fouquet, Y. & Rona, P.A., 1993b. Geochronology of TAG and Snake Pit hydrothermal vent fields, Mid-Atlantic Ridge: Witness to a long and complex hydrothermal history. *Earth and Planetary Science Letters*, **97**: 113-128.
- Le Bris, N., Sarradin, P.-M., Birot, D. & Alayse-Danet, A.-M., 2000. A new chemical analyzer for in situ measurement of nitrate and total sulfide over hydrothermal vent biological communities. *Marine Chemistry*, **72**: 1-15.
- Le Bris, N., Sarradin, P.-M. & Pennec, S., 2001. A new deep-sea probe for in situ pH measurement in the environment of hydrothermal vent biological communities. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic research papers.*, **48**: 1941-1951.
- Le Bris, N., Sarradin, P.-M. & Caprais, J.-C., 2003. Contrasted sulphide chemistries in the environment of 13°N EPR vent fauna. *Deep Sea Research I*, **50**: 737-747.
- Le Bris, N., Zbinden, M. & Gaill, F., 2005. Processes controlling the physico-chemical micro-environments associated with Pompeii worms. *Deep Sea Research part I*, **52**: 1085-1092.
- Le Bris, N., Rodier, P., Sarradin, P.-M. & Le Gall, C., 2006. Is temperature a good proxy for sulfide in hydrothermal vent habitats? *Cahiers de Biologie Marine*, **47**: 465-470.
- Le Bris, N. & Gaill, F., 2007. How does the annelid *Alvinella pompejana* deal with an extreme hydrothermal environment? *Reviews in environmental science and biotechnology*, **6**: 197-221.
- Lee, R.W., 2003. Thermal tolerance of deep-sea hydrothermal vent animals from the northeast pacific. *Biological bulletin*, **205**: 98-101.
- Legendre, P. & Legendre, L., 1998. *Numerical Ecology*. Elsevier,
- Lester, S., Ryttenberg, B.I., Gaines, S.D. & Kinlan, B.P., 2007. The relationship between dispersal ability and geographic range size. *Ecology Letters*, **10**: 745-758.
- Levin, L.A., Etter, R.J., Rex, M.A., Gooday, J., Smith, C.R., Pineda, J., Stuart, C.T., Hessler, R.R. & Pawson, D., 2001. Environmental influences on regional deep-sea species diversity. *Annual review of ecology and systematics*, **32**: 51-93.
- Levin, S.A., 1992. The problem of pattern and scale in ecology, *Ecology*, **73**:1943–1967.
- Lilliefors, H.W., 1967. On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *journal of the american statistical association*, **62**: 399-402.
- Lister, 1972. On the thermal balance of a mid-ocean ridge. *Geophysical Journal of the royal astronomical society*, **26**: 515-535.
- Lonsdale, P., 1977. Clustering of suspension-feeding macrobenthos near abyssal hydrothermal vents at oceanic spreading centers. *Deep Sea Research*, **24**: 857-863.
- Lonsdale, P. & Becker, B.J., 1985. Hydrothermal plumes, hot springs, and conductive heat flow in the southern trough of Guaymas Basin. *Earth and Planetary Science Letters*, **73**: 211-225.
- Luikart, G., Allendorf, F., Cornuet, J. & Sherwin, W., 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent populations bottlenecks. *Journal of Heredity*, **89**: 238-247.
- Luther, G.W., Rozan, T.F., Martial, T., Nuzzio, D.B., Di Meo, C., Shank, T.M., Lutz, R.A. & Cary, S.C., 2001. Chemical speciation drives hydrothermal vent ecology. *Nature*, **410**: 813-816.

- Lutz, R.A., Fritz, L.W. & Rhoads, D.C., 1985. Molluscan growth at deep-sea hydrothermal vents. *Bulletin of the biological society of Washington*, **6**: 199-210.
- Lutz, R.A., Bouchet, P., Jablonski, D., Turner, R.D. & Warén, A., 1986. Larval ecology of mollusks at deep-sea hydrothermal vents. *American Malacological Bulletin*, **4**: 49-54.

M

- Mammerickx, J., Herron, E. & Dorman, L., 1980. Evidence for two fossil spreading ridges in the southeast Pacific. *Geological Society of America Bulletin, Part I*, **91**: 263-271.
- Mammerickx, J. & Klitgord, K.D., 1982. Northern East Pacific Rise: Evolution from 25 m.y. B.P. to the present. *Journal of Geophysical Research*, **87**: 6751-6759.
- Marsh, A.G., Mullineaux, L.S., Young, C.M. & Manahan, D.T., 2001. Larval dispersal potential of the tubeworm *Riftia pachyptila* at deep-sea hydrothermal vents. *Nature*, **411**: 77-80.
- Matabos, M., Le Bris, N., Pendlebury, S., Thiébaud, E., 2008. Role of physico-chemical environment on gastropods assemblage at hydrothermal vents on the East Pacific Rise (13°N/EPR). *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. (sous presse).
- Matabos, M., Thiébaud, E., Le Guen, D., Sadosky, F., Jollivet D. & Bonhomme F., 2008. Geographic clines and stepping-stone patterns detected along the East Pacific Rise in the vetigastropod *Lepetodrilus elevatus* reflect crypticism. *Marine biology*, **153**: 545-563.
- May, R.M., 1994. Conceptual aspects of the quantification of the extent of biological diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **345**: 13-20.
- Mayden, R.L., 1997. In: Species: the units of biodiversity (eds. MFD Claridge, H. A. and Wilson, M. R.). London: Chapman & Hall, 381-424.
- Maynard Smith, J., & Haigh, J., 1974. Hitch-hiking effect of a favorable gene. *Genetical Research*, **23**:23-35.
- McHugh, D., 1989. Population structure and reproductive biology of two sympatric hydrothermal vent polychaetes, *Paralvinelle pandorae* and *P. palmiformis*. *Marine Biology*, **103**: 95-106.
- McHugh, D. & Tunnicliffe, V., 1994. Ecology and reproductive biology of the hydrothermal vent polychaete *Amphisamytha galapagensis* (Amphraretidae). *Marine Ecology Progress Series*, **106**: 111-120.
- McLean, J.H., 1988. New archaeogastropod limpets from hydrothermal vents : superfamily lepetodrilacea. I. systematic descriptions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences.*, **319**: 1-32.
- Metaxas, A., 2004. Spatial and temporal patterns in larval supply at hydrothermal vents in the northeast Pacific ocean. *Limnology and Oceanography*, **49**: 1949-1956.
- Micheli, F., Peterson, C.H., Mullineaux, L.S., Fisher, C.R., Mills, S.W., Sancho, G., Johnson, G.A. & Lenihan, H.S., 2002. Predation structures communities at deep-sea hydrothermal vents. *Ecological monographs*, **72**: 365-382.
- Mills, S.W., Mullineaux, L.S. & Tyler, P.A., 2007. Habitat Associations in Gastropod Species at East Pacific Rise Hydrothermal Vents (9°50'N). *Biological Bulletin*, **212**: 185-194.
- Minic, Z., Serre, V. & Hervé, G., 2006. Adaptation of organisms to extreme conditions of deep-sea hydrothermal vents. *Comptes Rendus Biologies*, **329**: 527-540.
- Mosimann, J.E., 1970. Size allometry: size and shape variables with characterizations of the lognormal and generalized gamma distributions. *journal of the american statistical association*, **65**: 930-945.
- Mosimann, J.E. & James, F.C., 1979. New statistical methods for allometry with application to Florida red-winged blackbirds. *Evolution*, **33**: 444-459.
- Mullineaux, L.S. & France, S.C., 1995a. Dispersal mechanisms of deep-sea hydrothermal vent fauna. In: Seafloor hydrothermal systems (eds. SE Humphris, RA Zierenberg, LS Mullineaux & RE Thomson). Washington: American Geophysical Union,
- Mullineaux, L.S., Wiebe, P.H. & Baker, E.T., 1995b. Larvae of benthic invertebrates in hydrothermal vent plumes over Juan de Fuca Ridge. *Marine Biology*, **122**: 585-596.
- Mullineaux, L.S., Mills, S.W. & Goldman, E., 1998. Recruitment variation during a pilot colonization study of hydrothermal vents (9°50'N, East Pacific Rise). *Deep Sea Research II*, **45**: 441-464.
- Mullineaux, L.S., Fisher, C.R., Peterson, C.H. & Schaeffer, S.W., 2000. Tubeworm succession at hydrothermal vents: use of biogenic cues to reduce habitat selection error? *Oecologia*, **123**: 275-284.
- Mullineaux, L.S., Peterson, C.H., Micheli, F. & Mills, S.W., 2003. Successional mechanism varies along a gradient in hydrothermal fluid flux at deep-sea vents. *Ecological monographs*, **73**: 523-542.
- Mullineaux, L.S., Mills, S.W., Sweetman, A.K., Beaudreau, A.H., Metaxas, A. & Hunt, H.L., 2005. Vertical, lateral and temporal structure in larval distributions at hydrothermal vents. *Marine Ecology Progress Series*, **293**: 1-16.

N

- Naar, D.F. & Hey, R.N., 1989. In: Evolution of mid-ocean ridges (ed. J Sinton). American Geophysical Union, **96**:7961-7993.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY.
- Nei, M. & Li, W.-H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **76**:5269-5273.
- Nelson, K. & Fisher, C. R., 2000. Absence of cospeciation in deep-sea vestimentiferan tube worms and their bacterial endosymbionts. *Symbiosis*, **28**: 1-15.
- Neubert, M.G., Mullineaux, L.S. & Hill, M.F., 2006. In: Marine metapopulations (eds. P Kritzer & PF Sale). Elsevier, Academic Press. 321-350.
- Newman, W.A., 1985. The abyssal hydrothermal vent invertebrate fauna, a glimpse of antiquity? *Bulletin of the Biological Society of Washington*, **6**:231-242.

O

- O'Dor, R., Crist, D.T. & Ottensmeyer, A., 2007. In: Encyclopedia of Biodiversity. Elsevier: 1-17.
- O'Mullan, G.D., Maas, P.A.Y., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 2001. A hybrid zone between hydrothermal vent mussels (Bivalvia: Mytilidae) from the Mid-Atlantic Ridge. *Molecular Ecology*, **10**: 2819-2831.

P

- Palumbi, S.R., 1992. Marine speciation on a small planet. *Trends in Ecology and Evolution*, **7**:114–118.
- Palumbi, S.R., 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual review of ecology and systematics*, **25**: 547-572.
- Pasteur, N., Pasteur, G., Bonhomme, F., Catalan, J. & Britton-Davidan, J., 1987. *manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines*. Paris:
- Peek, A.S., Gustafson, R.G., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 1997. Evolutionary relationships of deep-sea hydrothermal vent and cold-water seep clams (Bivalvia: Vesicomidae): results from the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I. *Marine Biology*, **130**: 151-161.
- Peek, A.S., Gaut, B.S., Feldman, R.A., Barry, J.P., Kochevar, R.E., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 2000. Neutral and Nonneutral Mitochondrial Genetic Variation in Deep-Sea Clams from the Family Vesicomidae. *Journal of Molecular Evolution*, **50**: 141-153.
- Pendlebury, S.J.D., 2004. Ecology of hydrothermal vent gastropods. PhD thesis. University of Southampton, School of Ocean and Earth Science, Southampton, UK.
- Piccino, P., Viard, F., Sarradin, P.-M., Le Bris, N., Le Guen, D. & Jollivet, D., 2004. Thermal selection of PGM allozymes in newly founded populations of the thermotolerant vent polychaete *Alvinella pompejana*. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **271**: 2351-2359.
- Posada, D. & Crandall, K.A., 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, **14**: 817-818.
- Plouviez, S., 2006. Divergence et polymorphisme nucléotidiques chez les *Lepetodrilidae*, complexe d'espèces hydrothermales partiellement sympatriques inféodées à des microhabitats différents. *Rapport de Master 2. Université de Montpellier II*.
- Pradillon, F., Shillito, B., Young, C.M. & Gaill, F., 2001. Development arrest in vent worm embryos. *Nature*, **413**: 698-699.
- Pradillon, F., Le Bris, N., Shillito, B., Young, C.M. & Gaill, F., 2005a. Influence of environmental conditions on early development of the hydrothermal vent polychaete *Alvinella pompejana*. *The Journal of Experimental Biology*, **208**: 1551-1561.
- Pradillon, F., Zbinden, M., Millineaux, L.S. & Gaill, F., 2005b. Colonisation of newly-opened habitat by a pioneer species, *Alvinella pompejana* (Polychaeta : Alvinellidae), at East Pacific Rise vent sites. *Marine Ecology Progress Series*, **302**: 147-157.

R

- Ramirez-Llodra, E., Tyler, P.A. & Copley, J.T.P., 2000. Reproductive biology of three caridean shrimp, *Rimicaris exoculata*, *Chorocaris chacei* and *Mirocaris fortunata* (Caridea: Decapoda), from hydrothermal vents. *Journal of the Marine Biological Association of UK*, **80**: 473-484.
- Ramirez-Llodra, E., 2002. Fecundity and Life-history Strategies in Marine Invertebrates. *Advances in Marine Biology*, **43**: 87-170.
- Ramos-Onsins, S.E. & Rozas, J., 2002. Statistical properties of new neutrality against population growth.

- Molecular Biology and Evolution*, **19**: 2092-2100 Reid, J.L., 1997. On the total geostrophic circulation of the South-Pacific ocean: flow patterns, tracers, and transports. *Progress in Oceanography*, **39**: 263-352.
- Renard, V., Hekinian, R., Francheteau, J., Ballard, R.D. & Backer, H., 1985. Submersible observations at the axis of the ultra-fast-spreading East Pacific Rise (17°20' to 21°20'S). *Earth and Planetary Science Letters*, **75**: 339-353.
- Rice, W.R., 1984. Disruptive selection on habitat preference and the evolution of reproductive isolation: a simulation study. *Evolution*, **38**: 1251-1260.
- RISE project group: Spiess, F.N., Macdonald, K.C., Atwater, T., Ballard, R., Carranza, A., Cordoba, D., Cox, C., Diaz Garcia, V.M., Francheteau, J., Guerrero, J., Hawkins, J., Haymon, R., Hessler, R., Juteau, T., Kastner, M., Larson, R., Luyendyk, B., Macdougall, J.D., Miller, S., Normark, W., Orcutt, J. & Rangin, C., 1980. East Pacific Rise: Hot Springs and Geophysical Experiments. *Science*, **207**: 1421-1433.
- Rona, P.A., Klinkhammer, G., Nelsen, T.A., Trefry, J.H. & Elderfield, H., 1986. Black smokers, massive sulphides and vent biota at the Mid-Atlantic Ridge. *Nature*, **321**: 33-37.
- Rona, P.A., Denlinger, R.P., Fisk, M.R., Howard, K.J., Taghon, G.L., Klitgord, K.D., McClain, C.R., McMurray, G.R. & Wiltshire, J.C., 1990. Major off-axis hydrothermal activity on the northern Gorda Ridge. *Geology*, **18**: 493-496.
- Rosenzweig, M.L. (Ed.), 1995. Species diversity in space and time. Cambridge University Press, Cambridge: 1-436.
- Rouse, G.W. & Pleijel, F., 2001. *Polychaetes*. New York: Oxford University Press, 346.
- Rozas, J., Sanchez-Del Barrio, J.C., Messeguer, X. & Rozas, R., 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, **19**: 2496-2497.
- Roy, K., Jablonski, D., Valentine, J.W. & Rosenberg, G., 1998. Marine latitudinal diversity gradients: tests of causal hypotheses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **95**: 3699-3702.

S

- Sadosky, F., Thiébaud, E., Jollivet, D. & Shillito, B., 2002. Recruitment and population structure of the vetigastropod *Lepetodrilus elevatus* at 13°N hydrothermal vent sites on East Pacific Rise. *Cahiers de Biologie Marine*, **43**: 399-402.
- Samadi, S. & Barberousse, A., 2006. The tree, the network, and the species. *Biological Journal of the Linnean Society*, **89**: 509-521.
- Samadi, S., Quéméré, E., Lorion, J., Tillier, A., Von Cosel, R., Lopez, P., Cruaud, C., Couloux, A. & Boisselier-Dubayle, M.-C., 2007. Molecular phylogeny in mytilids supports the wooden steps to deep-sea vents hypothesis. *Comptes Rendus Biologies*, **330**: 446-456.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T., 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New-York.
- Sancho, G., Fisher, C.R., Mills, S.W., Micheli, F., Johnson, G.A., Lenihan, H.S., Peterson, C.H. & Mullineaux, L.S., 2005. Selective predation by the zoarcid fish *Thermarces cerberus* at hydrothermal vents. *Deep Sea Research I*, **52**: 837-844.
- Sanders, H.L., 1968. Marine benthic diversity: a comparative study. *American Naturalist*, **102**: 243-282.
- Sarradin, P.-M., Caprais, J.-C., Briand, P., Gaill, F., Shillito, B. & Desbruyères, D., 1998. Chemical and thermal description of the environment of the Genesis hydrothermal vent community (13°N, EPR). *Cahier de Biologie Marine*, **39**: 159-167.
- Sarrazin, J., Robigou, V., Juniper, S.K. & Delaney, J.R., 1997. Biological and geological dynamics over four years on a high-temperature sulfide structure at the Juan de Fuca Ridge hydrothermal observatory. *Marine Ecology Progress Series*, **153**: 5-24.
- Sarrazin, J. & Juniper, S.K., 1999. Biological characteristics of a hydrothermal edifice mosaic community. *Marine Ecology Progress Series*, **185**: 1-19.
- Sarrazin, J., Juniper, S.K., Massoth, G.J. & Legendre, P., 1999. Physical and chemical factors influencing species distributions on hydrothermal sulfide edifices of the Juan de Fuca Ridge, northeast Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, **190**: 89-112.
- Sarrazin, J., Walter, C., Sarradin, P.-M., Brind'amour, A., Desbruyères, D., Briand, P., Fabri, M.-C., Van Gaever, S., Vanreusel, A., Bachraty, C. & Thiébaud, E., 2006. Community structure and temperature dynamics within a mussel assemblage in the southern East Pacific Rise. *Cahiers de Biologie Marine*, **47**: 483-490.
- Scherrer, B., 1984. *Biostatistique*. Boucherville, Québec, Canada: 850.
- Schöne, B.R. & Giere, O., 2005. Growth increments and stable isotope variation in shells of the deep-sea hydrothermal vent bivalve mollusk *Bathymodiolus brevior* from the North Fiji Basin, Pacific Ocean. *Deep Sea Research I*, **52**: 1896-1910.
- Schluter, D. & Ricklefs, R.E., 1993. In: Species diversity in ecological communities (eds. RE Ricklefs & D Schluter). Chicago: The university of Chicago press, 1-10.
- Schneider, S., Roessli, D. & Excoffier, L., 2000. Arlequin: a software for population genetics data analysis. User

manual version 2.000. Genetics and Biometry Lab, Department of Anthropology, University of Geneva, Geneva.

- Shank, T.M., Fornari, D.J., Von Damn, K.L., Lilley, M.D., Haymon, R.M. & Lutz, R.A., 1998. Temporal and spatial patterns of biological community development at nascent deep-sea hydrothermal vents (9°50'N, East Pacific Rise). *Deep Sea Research II*, **45**: 465-515.
- Shank, T.M. & Halanych, K.M., 2007. Toward a mechanistic understanding of larval dispersal: insights from genomic fingerprinting of the deep-sea hydrothermal vent tubeworm *Riftia pachyptila*. *Marine Ecology*, **28**: 25-35.
- Shedden, M., Van Dover, C.L. & Thurston, M.H., 2004. Reproductive ecology of *Bouvierella curtirama* (Amphipoda: Eusiridae) from chemically distinct vents in the Lucky Strike vent field, Mid-Atlantic Ridge. *Marine Biology*, **144**: 503-514.
- Shillito, B., Jollivet, D., Sarradin, P.M., Rodier, P., Lallier, F., Desbruyères, D. & Gaill, F., 2001. Temperature resistance of *Hesiolyra bergi*, a polychaetous annelid living on deep-sea vent smoker walls. *Marine Ecology Progress Series*, **216**: 141-149.
- Sibuet, M. & Olu, K., 1997. Biogeography, biodiversity and fluid dependence of deep-sea cold-seep communities at active and passive margins. *Deep Sea Research part II*, **45**: 517-567.
- Slatkin, M., 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, **47**: 264-279.
- Southward, E.C., Tunnicliffe, V. & Black, M.B., 1995. Revision of the species of *Ridgeia* from northeast Pacific hydrothermal vents, with a redescription of *Ridgeia piscesae* Jones (Pogonophora: obstrata=vestmentifera). *Canadian Journal of zoology*, **73**: 264-279.
- Spalding, M.D., Fox, H.E., Allen, G.R., Davidson, N., Ferdeña, Z.A., Finlayson, M., Halpern, B.S., Jorge, M.A., Lombeana, A., Lourie, S.A., Martin, K.D., McManus, E., Molnar, J., Recchia, C.A. & Robertson, J., 2007. Marine ecoregions of the world: a bioregionalisation of coastal and shelf areas. *BioScience*, **57**:573-583.
- Stöhr, S. & Segonzac, M., 2006. Two new genera and species of ophiuroid (echinodermata) from hydrothermal vents in the east pacific. *Species diversity*, **11**: 7-32.
- Swofford, D.L., 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), Version 4. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts.
- Sysoev, A.V. & Kantor, Y.I., 1995. Two new species of *Phymorhyncus* (Gastropoda, Conoidea, Conidae) from the hydrothermal vents. *Ruthenica*, **5**: 17-26.

T

- Talwani, M., Windish, C.C. & Langseth, M.G.J., 1971. Reykjanes ridge crest: a detailed geophysical study. *Journal of Geophysical Research*, **76**: 473-517.
- Taylor, C.D., Wirsen, C.O. & Gaill, F., 1999. Rapid microbial production in filamentous sulfur mats at hydrothermal vents. *Applied and Environmental Microbiology*, **35**: 2253-2255.
- Thorson, G., 1946. Reproduction and larval development of Danish marine bottom invertebrates, with special reference to the planktonic larvae in the Sound (Øresund). *Meddelelser fra Kommissionen for Danmarks Fiskeri- Og Havundersøgelser, Serie: Plankton*, **4**: 1-523.
- Teske, P.R., Papadopoulos, I., Zardi, G.I., McQuaid, C.D., Edkins, M.T., Griffiths, C.L., Barker, N.P., 2007. Implications of life history for genetic structure and migration rates of southern African coastal invertebrates: planktonic, abbreviated and direct development. *Marine Biology*, **152**: 697-711.
- Tivey, M.K., Bradley, A.M., Joyce, T.M. & Kadkod, D., 2002. Insights into tide-related variability at seafloor hydrothermal vents from time-series temperature measurements. *Earth and Planetary Science Letters*, **202**: 693-707.
- Tsurimi, M. & Tunnicliffe, V., 2001. Characteristics of a hydrothermal vent assemblage on a volcanically active segment of Juan de Fuca Ridge, northeast Pacific. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences*, **58**: 530-542.
- Tsurimi, M., 2003. Diversity at hydrothermal vents. *Global Ecology and Biogeography*, **12**: 181-190.
- Tsurimi, M. & Tunnicliffe, V., 2003. Tubeworm-associated communities at hydrothermal vents on the Juan de Fuca Ridge, northeast Pacific. *Deep-sea Research I*, **50**: 611-629.
- Tunnicliffe, V., Juniper, S.K. & de Burgh, M.E., 1985. The hydrothermal vent community on axial seamount, Juan de Fuca ridge. *Bulletin of the biological society of Washington*, **6**: 453-464.
- Tunnicliffe, V., Botros, M., de Burgh, M.E., Dinert, A., Johnson, H.P., Juniper, S.K. & McDuff, R.E., 1986. Hydrothermal vents of Explorer ridge, northeast Pacific. *Deep Sea Research part I*, **33**: 401-412.
- Tunnicliffe, V., 1988. Biogeography and evolution of hydrothermal-vent fauna in the eastern Pacific Ocean. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **233**: 347-366.
- Tunnicliffe, V., 1991. The biology of hydrothermal vents: ecology and evolution. *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*, **29**: 319-407.

- Tunncliffe, V. & Fowler, C.M.R., 1996. Influence of sea-floor spreading on the global hydrothermal vent fauna. *Nature*, **379**: 531-533.
- Tunncliffe, V., Fowler, C.M.R. & McArthur, A.G., 1996. Plate tectonic history and hot vent biogeography. In: Tectonic, Magmatic, Hydrothermal and Biological Segmentation of Mid-Ocean Ridges (eds. C.J., MacLeod, P.A., Tyler & C.L. Walker), *Special publication*, Geological Society, London, **118**: 225-238.
- Tunncliffe, V., McArthur, A.G. & McHugh, D., 1998. A biogeographical perspective of the deep-sea hydrothermal vent fauna. *Advances in Marine Biology*, **34**: 353-442.
- Tunncliffe, V., Juniper, S.K. & Sibuet, M., 2003. Reducing environments of the deep-sea floor. In: Ecosystems of the deep oceans (ed. PA Tyler). Elsevier. 40-81.
- Turnipseed, M., Knick, K.E., Lipcius, R.N., Dreyer, J.C. & Van Dover, C.L., 2003. Diversity in mussel beds at deep-sea hydrothermal vents and cold seep. *Ecology letters*, **6**: 518-523.
- Turnispeed, M., Jenkins, C.D. & Van Dover, C.L., 2004. Community structure in Florida Escarpment seep and Snake Pit (Mid-Atlantic Ridge) vent mussel beds. *Marine Biology*, **145**: 121-132.
- Tyler, P.A., Paterson, G.J.L., Sibuet, M., Guille, A., Murton, B.J. & Segonzac, M., 1995. A new genus of ophiuroid (echinodermata: ophiuroidea) from hydrothermal mounds along the mid-atlantic ridge. *Journal of the Marine Biological Association of UK*, **75**: 977-986.
- Tyler, P.A. & Young, C.M., 1999. Reproduction and dispersal at vents and cold seeps. *Journal of the Marine Biological Association of UK*, **79**: 193-208.
- Tyler, P.A., German, C.R., Ramirez-Llodra, E. & Van Dover, C.L., 2003. Understanding the biogeography of chemosynthetic ecosystems. *Oceanologica Acta*, **25**: 227-241.

U

- Urabe, T., Baker, E.T., Ishibashi, J., Feely, R.A., Marumo, K., Massoth, G.J., Marumaya, T., Shitashima, K., Okamura, K., Lupton, J.E., Sonoda, A., Yamazaki, T., Aoki, M., Gendron, J., Greene, R.R., Kaiho, Y., Kisimoto, K., Lebon, G., Matsumoto, T., Nakamura, K., Nishizawa, A., Okano, O., Paradis, G., Roe, K.J., Shibata, T., Tennant, D., Vance, T., Walker, S.L., Yabuki, T. & Ytow, N., 1995. The Effect of Magmatic Activity on Hydrothermal Venting Along the Superfast-Spreading East Pacific Rise. *Science*, **269**: 1092-1095.

V

- Van Dover, C.L., (ed.) 2000. *The ecology of Deep-Sea Hydrothermal Vents*. University Press, Princeton.
- Van Dover, C. & Trask, J.L., 2000. Diversity at deep-sea hydrothermal vent and intertidal mussel beds. *Marine Ecology Progress Series*, **195**: 169-178.
- Van Dover, C., Homphris, S.E., Fornari, D.J., Cavanaugh, C.M., Collier, R., Goffredi, S.K., Hashimoto, J., Lilley, M.D., Reysenbach, A.L., Shank, T., Von Damm, K., Banta, A., Gallant, R.M. & Vrijenhoek, R.C., 2001. Biogeography and Ecological Setting of Indian Ocean Hydrothermal Vents. *Science*, **294**: 818-823.
- Van Dover, C.L., 2002. Community structure of mussels beds at deep-sea hydrothermal vents. *Marine Ecology Progress Series*, **230**: 137-158.
- Van Dover, C., German, C.R., Speer, K.G., Parson, L.M. & Vrijenhoek, R.C., 2002. Evolution and biogeography of deep-sea vent and seep invertebrates. *Science*, **295**: 1253-1257.
- Van Dover, C.L., 2003. Variation in community structure within hydrothermal vent mussel beds of the East Pacific Rise. *Marine Ecology Progress Series*, **253**: 55-66.
- Van Dover, C.L. & Doerries, M.B., 2005. Community structure in mussel beds at Logatchev hydrothermal vents and a comparison of macrofaunal species richness on slow- and fast-spreading mid-ocean ridges. *Marine Ecology*, **26**: 110-120.
- Vanreusel, A., Van den Bossche, I. & Thiermann, F., 1997. Free-living marine nematodes from hydrothermal sediments similarities with communities from diverse reduced habitats. *Marine Ecology Progress Series*, **157**: 207-219.
- Visman, B., 1991. Sulfide tolerance: physiological mechanisms and ecological implications. *Ophelia*, **34**: 1-27.
- Vollmer, S.V. & Palumbi, S.R., 2002. Hybridization and the evolution of reef coral diversity. *Science*, **296**: 2023-2025.
- Von Damm, K. & Lilley, M.D., 2004. In: The seafloor biosphere at Mid-Ocean Ridges (eds. WSD Wilcock, EF DeLong, DS Kelley, JA Baross & SC Cary). Washington DC: American Geophysical Union Monograph 144, 243-266.
- Vrijenhoek, R.C., Schutz, S.J., Gustafson, R.G. & Lutz, R.A., 1994. Cryptic species of deep-sea clams (Mollusca: Bivalvia: Vesicomidae) from hydrothermal vent and cold-water seep environments. *Deep Sea Research II*, **41**: 1171-1189.

- Vrijenhoek, R.C., 1997. Gene flow and genetic diversity in naturally fragmented metapopulations of deep-sea hydrothermal vents animals. *The journal of heredity*, **88**: 285-293.
- Vrijenhoek, R.C., Shank, T.M. & Lutz, R.A., 1998. Gene flow and dispersal in deep-sea hydrothermal vent animals. *Cahier de Biologie Marine*, **39**: 363-366.

W

- Ward, M.E., Jenkins, C.D. & Van Dover, C.L., 2003. Functional morphology and feeding strategy of the hydrothermal-vent polychaete *Archinome rosacea* (family Archinomidae). *Canadian Journal of zoology*, **81**: 582-590.
- Warén, A. & Bouchet, P., 1989. New gastropods from East Pacific hydrothermal vents. *Zoologica Scripta*, **18**: 67-102
- Warén & Bouchet, 1991. Systematic position and revision of *Haloceras Dall, 1889* (Caenogastropoda, Haloceratidae fam. nov.). In: Résultats des Campagnes MUSORSTOM, Volume 7 (eds. A. Crosnier & P. Bouchet). *Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle [Paris]* (A), **150**: 111-161
- Warén, A. & Bouchet, P., 2001. Gastropoda and Monoplacophora from hydrothermal vents and seeps: new taxa and records. *The Veliger*, **44**: 116-231.
- Warwick, R.M. & Clarke, K.R., 1995. New 'biodiversity' measures reveal a decrease in taxonomic distinctness with increasing stress. *Marine Ecology Progress Series*, **129**: 301-305.
- Warwick, R.M. & Clarke, K.R., 2001. Practical measures of marine biodiversity based on relatedness of species. *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*, **39**: 207-231.
- Webber, H.H., 1977. In: Reproduction of marine invertebrates. (eds. AC Giese & JS Pearse). New York: Academic, 1-97.
- Weir, B.S. & Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**: 1358-1370.
- Whittaker, R.H., 1960. Vegetation of the Siskiyou Mountains. Oregon and California. *Ecological Monograph*, **30**: 279-338.
- Whittaker, R.H., 1972. Evolution and measurement of species diversity. *Taxon*, **21**: 213-251.
- Williams, A.B. & Dobbs, F.C., 1995. A new genus and species of caridean shrimp (Crustacea: Decapoda: Brsiliidae) from hydrothermal vents on Loihi Seamount, Hawaii. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, **108**: 228-237.
- Won, Y., Young, C.R., Lutz, R.A. & Vrijenhoek, R.C., 2003. Dispersal barriers and isolation among deep-sea mussel populations (Mytilidae: *Bathymodiololus*) from eastern Pacific hydrothermal vents. *Molecular Ecology*, **12**: 169-184.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, **28**: 114-138.

Y

- Young, C.M., 2003. Reproduction, development and life-history traits. In: Ecosystems of the world, Ecosystems of the deep oceans. Elsevier Science: 381-426.

Z

- Zal, F., Jollivet, D., Chevaldonné, P. & Desbruyères, D., 1995. Reproductive biology and population structure of the deep-sea hydrothermal vent worm *Paralvinella grasslei* (Polychaeta: Alvinellidae) at 13°N on the East Pacific Rise. *Marine Biology*, **122**: 637-648.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, N. J.
- Zavalova, L.L., Baskova, I.P., Lukyanov, S.A., Sass, A.V., Suezkhov, E.V., Akopov, S.B., Artamonova, I.I., Archipova, V.S., Nesmeyanov, V.A., Kozlov, D.G., Benevolensky, S.V., Kiseleva, V.I. Poverenny, A.M., Sverdlov, E.D., 2000. Destabilase from the medicinal leech is representative of a novel family of lisozymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1478**: 69-77.
- Zekely, J., Van Dover, C.L., Nemeschkal, H.L. & Bright, M., 2006. Hydrothermal vent meiobenthos associated with mytilid mussel aggregations from the Mid-Atlantic Ridge and the East Pacific Rise. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, **53**: 1363-1378.

Liste des Tableaux

- Tableau 1.1. Sites d'échantillonnage, type d'habitat et nombre d'individus traités pour chaque marqueur génétique. Les échantillons analysés pour la COI correspondent à un sous ensemble des individus traités par les marqueurs *Lep*. Les plongées ont été effectuées à bord du Nautille (Ifremer). * Alvin (WHOI)
- Tableau 1.2. Nombre de séquences obtenues par localité pour chaque espèce de gastéropode traitée pour la COI le long de la dorsale du Pacifique oriental.
- Tableau 1.3. Fréquences alléliques calculées pour les locus allozymiques et les locus ADN nucléaires anonymes (DALP). Les individus des 8 populations ont été génotypés pour 7 locus enzymatiques. Pour les populations de 9°50'N et 17°S, 3 locus supplémentaires ont été génotypés. N = taille de l'échantillon.
- Tableau 1.4. Valeurs des Fis aux locus enzymatiques et DALP (* $p < 0,05$ ** $p < 0,001$) et variabilité génétique pour chaque population. N_{all} : nombre moyen d'allèles par population. Hétérozygoties observée (H_o) et attendue (H_{NB} ; Nei 1987) (SD) ; R_s : richesse allélique.
- Tableau 1.5. Déséquilibres de liaison observés entre les locus enzymatiques pour chaque population. N = nombre total de combinaisons possibles entre locus.
- Tableau 1.6. Variabilité génétique des séquences de la COI par population. N_{HAP} : nombre d'haplotypes dans la population ; H_{eHAP} : diversité haplotypique ; π : diversité nucléotidique ; ^aclade nord ; ^bclade sud.
- Tableau 1.7. Valeurs des Fis aux locus enzymatiques pour chaque clade (* $p < 0,05$ ** $p < 0,001$) et variabilité génétique pour chaque clade. N_{all} : nombre moyen d'allèles par population. Hétérozygoties observée (H_o) et attendue (H_{NB} ; Nei 1987) (SD) ; R_s : richesse allélique.
- Tableau 1.8. Valeurs de F_{st} entre paire de populations calculées à partir des données allozymiques pour le clade nord (diagonale supérieure) et le clade sud (diagonale inférieure). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.
- Tableau 2.1. Caractéristiques des échantillons prélevés au niveau des moulières de la dorsale du Pacifique oriental sud (SEPR).
- Tableau 2.2. Liste des espèces récoltées dans les 10 moulières échantillonnées le long de l'EPR sud.
- Tableau 2.3. Indices de diversité calculés pour chaque moulière échantillonnée le long de la dorsale EPR sud. S, H' , λ , J' et $ES_{(n)}$ ont été calculés à partir des données d'abondances standardisées par rapport à la surface échantillonnée. Δ^+ et Λ^+ ont été calculés à partir des données exprimées en présence/absence.
- Tableau 2.4. Groupes trophiques des familles échantillonnées au niveau des moulières. Les espèces-types correspondent aux espèce référence dans l'étude ayant permis de définir le régime alimentaire des différentes familles.
- Tableau 2.5. Comparaison de différents indices de diversité pour des assemblages faunistiques associés aux moulières provenant de différents environnements chimiosynthétiques. * épifaune mobile et mégafaune exclus.
- Tableau 3.1. Caractéristiques des échantillons de *Lepetodrilus elevatus* récoltés le long de l'EPR sud et utilisés pour l'étude la structure génétique des populations à méso-échelle.

- Tableau 3.2. Séquences des amorces définies pour chaque locus de chaque gène avec le nombre N d'allèles identifiés pour chaque locus à partir des séquences (voir texte).
- Tableau 3.3. Séquences des amorces définies dans des régions UTR de gènes codant pour les locus microsatellites.
- Tableau 3.4. Température d'hybridation des amorces pour les différents locus nucléaires testés.
- Tableau 3.5. Décomposition de la variance totale lors de la réalisation d'une Analyse MOléculaire de VAriance (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992) dans le cas de données haplotypiques. P = nombre de populations. N = nombres d'individus.
- Tableau 3.6. Fréquences alléliques pour chaque locus et chaque population de *Lepetodrilus elevatus*. N : nombre d'individus analysés
- Tableau 3.7. Valeurs des Fis aux 7 locus nucléaires (* p<0,05 ** p<0,001) et variabilité génétique pour chaque population. N_{all} : nombre moyen d'allèles par population. Hétérozygoties observée (H_o) et attendue (H_{NB} ; Nei 1987) (±SD). R_s : richesse allélique.
- Tableau 3.8. Déséquilibres de liaisons pour chaque population et pour toutes les populations regroupées. Le tableau indique la valeur de p. * p<0,05 ** p<0,001.
- Tableau 4.1 Caractéristiques des échantillons de gastéropodes prélevés dans les colonies d'*Alvinella pompejana* à 13°N sur la dorsale du Pacifique oriental (EPR). * échantillons prélevés dans les bouquets de *Riftia pachyptila*.
- Tableau 4.2. Caractéristiques des échantillons utilisés pour les analyses histologiques de la reproduction des gastéropodes. * échantillons prélevés dans les bouquets de *Riftia pachyptila*.
- Tableau 4.3. Température (moyenne ± écart-type) et paramètres chimiques (moyenne) des différents échantillons provenant du champ hydrothermal 13°N/EPR. La gamme des valeurs obtenues est fournie entre parenthèses. Pour chaque échantillon, la température a été mesurée en différents points (voir Tableau 4.1) alors que les paramètres chimiques ont été calculés à partir de modèles géochimiques. Voir le texte pour plus de détails. nd : non déterminé. * indique les échantillons prélevés dans les bouquets de *Riftia pachyptila*.
- Tableau 4.4. Composition spécifique des échantillons prélevés sur le champ hydrothermal 13°N/EPR.
- Tableau 4.5. Caractéristiques des échantillons de *Lepetodrilus elevatus* prélevés sur le champ hydrothermal 13°N/EPR. * habitat à *Riftia pachyptila*. SD : écart-type.
- Tableau 4.6. Caractéristiques des échantillons des 3 espèces de peltospiridés prélevés sur le champ hydrothermal 13°N/EPR.
- Tableau 4.7. Résultats des tests de Kruskal-Wallis et des tests *a posteriori* (procédure de Dunn-Nemenyi) comparant les distributions des diamètres ovocytaires entre femelles d'un même site pour *Lepetodrilus elevatus*. * habitat à *Riftia pachyptila*.
- Tableau 4.8. Résultats des tests de Kruskal-Wallis et des tests *a posteriori* (procédure SNK) comparant les distributions des diamètres ovocytaires entre femelles d'un même site pour les 3 espèces de peltospiridés étudiées.

Liste des Figures

Figure i.1. Répartition des sites hydrothermaux actifs le long des dorsales médio-océaniques, dans les bassins arrière arc et au niveau de quelques monts sous-marins (d'après Desbruyères *et al.* 2006b).

Figure i.2. Représentation schématique de la circulation hydrothermale au niveau d'une dorsale océanique. (1) pénétration de l'eau de mer dans les crevasses et les fissures ; (2) l'eau de mer perd sa charge en potassium (K^+) et en oxygène (O_2) au contact de la roche chaude ; (3) le fluide altéré perd sa charge en calcium (Ca^{2+}), magnésium (Mg^{2+}) et sulfates (SO_4^{2-}) ; (4) enrichissement du fluide en sodium (Na^+), Calcium (Ca^{2+}) et potassium (K^+) ; (5) la zone de température maximale est atteinte, le cuivre (Cu^{2+}), le zinc (Zn^{2+}), le fer (Fe^{2+}) et les sulfures (H_2S) sont dissous dans le fluide ; (6) remontée du fluide chargé en métaux dissous ; (7) mélange du fluide pur avec l'eau de mer ambiante. (extrait du site web de la Woods Hole Oceanographic Institution, <http://www.divediscover.whoi-edu/vents>).

Figure i.3. Illustrations des 4 principales communautés identifiées en fonction de leur mégafaune le long du gradient de mélange entre le fluide et l'eau de mer au niveau de la dorsale du Pacifique oriental (EPR). A : communauté à *Alvinella pompejana* ; B : communauté à Siboglinidés (*Riftia pachyptila*) ; C : communautés à bivalves (*Bathymodiolus thermophilus*) ; D : communauté à serpulidés (© IFREMER).

Figure i.4. Evolution du nombre d'espèces hydrothermales décrites depuis la découverte des écosystèmes hydrothermaux. Les chiffres correspondent au nombre d'espèces de la macrofaune décrites au moment de la publication des principales revues par Newman (1985), Tunnicliffe (1991), Tunnicliffe *et al.* (1998) et Desbruyères *et al.* (2006b). Adapté de Neubert *et al.* 2006.

Figure 1.1. Localisation des sites d'études à 13°N, 9°50'N et 17°S le long de la dorsale du Pacifique oriental (EPR).

Figure 1.2. Illustration des huit mesures effectuées sur les coquilles de *Lepetodrilus elevatus*. A : vue latérale. B : vue du dessus ; ant = extrémité antérieure de l'animal. L_{curv} : longueur curvilinéaire depuis la partie antérieure de l'animal jusqu'à l'apex ; H : hauteur maximale de la coquille ; L_{em} : longueur de l'empreinte depuis la partie antérieure de l'animal jusqu'à la partie postérieure ; L_1 : longueur du point le plus élevé de la coquille jusqu'à son extrémité antérieure ; L_2 : longueur du point le plus élevé de la coquille jusqu'à son extrémité postérieure ; L_{tot} : longueur totale de la coquille ; L_{ob} : longueur oblique maximale de la coquille ; Larg : largeur maximale de la coquille.

Figure 1.3. Isolement par la distance mis en évidence chez *Lepetodrilus elevatus* à partir des locus allozymiques et des locus ADN nucléaires anonymes (DALP).

Figure 1.4. Clines dans les fréquences alléliques pour quelques locus allozymiques et pour les deux locus DALP chez *Lepetodrilus elevatus*.

Figure 1.5. Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) effectuée à partir des fréquences alléliques de chaque individu de *Lepetodrilus elevatus* (données allozymiques). Représentation des individus (a) et des allèles (b) dans le plan factoriel formé par les axes 1 et 2.

Figure 1.6. Arbre consensus généré selon la méthode du Maximum de Vraisemblance (ML) à partir des 31 haplotypes identifiés chez *Lepetodrilus elevatus* et *Lepetodrilus* spp. Les nombres à proximité des nœuds correspondent aux valeurs de bootstrap et les valeurs

entre parenthèses au nombre d'individus des différentes localités. D_{moy} = distance génétique moyenne entre clades.

Figure 1.7. Analyse en Composante Principale (ACP) effectuée sur les caractéristiques morphologiques de la coquille de *Lepetodrilus elevatus* et *L. galriflensis*. Les données ont été transformées selon la méthode du « log-shape ratio ». a : cercle des corrélations et b : coordonnées des individus dans le plan factoriel formé par les axes 1 et 2 pour les deux clades identifiés par les allozymes chez *L. elevatus*; c : cercle des corrélations et d : coordonnées des individus dans le plan factoriel formé par les axes 1 et 2 pour les deux clades identifiés par les séquences de la COI chez *L. elevatus*. L_{curv} : longueur curvilinéaire ; L_{tot} : longueur totale ; L_{em} : longueur de l'empreinte ; L_1 : longueur du point le plus élevé de la coquille jusqu'à son extrémité antérieure ; L_2 : longueur du point le plus élevé de la coquille jusqu'à son extrémité postérieure ; L_{ob} : longueur oblique maximale de la coquille ; H : hauteur ; larg : largeur.

Figure 1.8. Réseau d'haplotypes montrant les relations évolutives entre les haplotypes de *Lepetodrilus elevatus* appartenant au clade nord. Les ronds représentent les haplotypes et leur taille est proportionnelle à leur fréquence au sein de toutes les populations.

Figure 1.9. Courbes de « mismatch » représentant les différences nucléotidiques observées entre paires d'haplotypes de *Lepetodrilus elevatus* pour chaque clade et comparées aux valeurs attendues sous un modèle de population de taille infinie (gauche) et sous un modèle de population en expansion (droite).

Figure 1.10. Réseau d'haplotypes montrant les relations évolutives entre les haplotypes de *Lepetodrilus elevatus* appartenant au clade sud. Les ronds représentent les haplotypes et leur taille est proportionnelle à leur fréquence au sein de toutes les populations.

Figure 1.11. Arbre consensus généré selon la méthode du plus proche voisin et basé sur 29 haplotypes de 7 espèces de gastéropodes. Le nombre à proximité des nœuds correspond à la valeur des bootstraps. Ge : *Gorgoleptis emarginatus* ; Gs : *Gorgoleptis spiralis* ; Cd : *Clypeosectus delectus* ; Pl : *Pachydermia laevis* ; Pp : *Planorbidella planispira* ; Ns : *Nodopelta subnoda* ; Rc : *Rhyncopelta concentrica*.

Figure 2.1. Localisation des sites d'études à 7°S, 14°S, 17°25'S, 17°34'S, 18°36'S et 21°33'S le long de la dorsale du Pacifique oriental sud (SEPR).

Figure 2.2. Mesure de la longueur antéro-postérieure (L_t) chez *Bathymodiolus thermophilus*.

Figure 2.3. Relation entre la longueur antéro-postérieure de la coquille et sa surface chez *Bathymodiolus thermophilus*. La relation a été calculée à partir de 106 moules.

Figure 2.4. Exemples d'arbres taxonomiques illustrant la classification possible de 7 espèces en différents niveaux hiérarchiques successifs (espèce, genre, famille, ordre) et le calcul des indices de diversité taxonomique associés. Les valeurs de l'« Average Taxonomic Distinctness » (Δ^+) et de la « Variation in Taxonomic Distinctness » (Λ^+) ont été calculées pour chacune des configurations. Les configurations a et c ont la même topologie mais des chemins plus longs et donc des valeurs de Δ^+ différentes. Les configurations b et c ont la même valeur de Δ^+ , mais la topologie b est plus complexe ce qui se traduit par une valeur de Λ^+ plus élevée.

Sur cet exemple, le poids ω_{ij} reliant deux niveaux hiérarchiques successifs a été fixé à 33,33.

Figure 2.5. Photos des 8 sites échantillonnés sur 6 champs hydrothermaux. A: Sarah's spring (7°25'S); B: Lucky Eric (14°S); C: Rehu Marka (17°24'S); D: Oasis - BS6 (17°25'S); E: Oasis-BS13 (17°25'S); F: Susie (17°34'S); G: Animal Farm (18°36'S); H: Grommit (21°33'S). © IFREMER

Figure 2.6. Structure démographique de *Bathymodiolus thermophilus* pour les 10 échantillons de moulières Figure 2.7. Composition taxonomique des échantillons de la macrofaune

prélevée dans les moulières : A : en terme de nombre d'espèces ; B : en terme de nombre d'individus.

- Figure 2.8. Richesse spécifique en fonction de la surface des moules échantillonnée lors de chaque prélèvement Figure 2.9. Intervalle de confiance à 95% de la valeur de la diversité taxonomique moyenne Δ^+ pour des valeurs théoriques de m espèces générées à partir d'un sous-échantillonnage aléatoire du pool régional d'espèces.
- Figure 2.10. Distribution des espèces de la macrofaune des moulières échantillonnées le long du gradient latitudinal. NB : la présence des espèces est ponctuelle, les zones entre deux points n'ayant pas été échantillonnées,
- Figure 2.11. Dendrogramme illustrant la similarité de la composition faunistique entre les dix moulières échantillonnées. La similarité a été calculée à l'aide du coefficient de similarité de Bray-Curtis sur les données exprimées en présence/absence. La classification ascendante hiérarchique a été effectuée selon la méthode du groupement moyen.
- Figure 2.12. Analyse factorielle des correspondances (AFC) effectuée sur les abondances de la macrofaune de chaque moulière échantillonnée le long de la dorsale du Pacifique oriental sud. Les données ont subi une transformation $\log(X+1)$.
- Figure 2.13. Composition en groupe trophique des différents groupes identifiés par le dendrogramme. Les valeurs correspondent au pourcentage moyen (\pm écart-type) d'individus appartenant à un groupe donné.
- Figure 2.14. Dendrogramme illustrant la similarité de la composition faunistique entre les moulières échantillonnées le long de la dorsale du Pacifique oriental. Les données incluent celles obtenues dans cette étude et les données de Van Dover (2002 ; 2003). A.F. : Animal Farm (18°36'S) ; BV : Biovent (9°N) ; TS: Train Station (9°N) ; EW : Eastwall (9°N). La similarité a été calculée à l'aide du coefficient de similarité de Bray-Curtis sur les données exprimées en présence/absence. La classification ascendante hiérarchique a été effectuée selon la méthode du groupement moyen. Les * indiquent des échantillons quantitatifs.
- Figure 3.1. Localisation des sites de prélèvement le long de la dorsale du Pacifique oriental sud.
- Figure 3.2. Représentation schématique illustrant le protocole de mise en place des marqueurs nucléaires à partir des séquences totales des gènes sélectionnés sur l'exemple de la *Destabilase*. Les 3 séquences illustrées correspondent à 3 allèles d'un même gène. Plusieurs paires d'amorces ont été définies par gène sur différents introns présentant des indels.
- Figure 3.3. Photos de gel de polyacrylamide illustrant le génotypage du locus *destabilase pol 3*. L'allèle 187 présente une intensité plus faible que l'allèle 225. 1 : présence de l'allèle 187 et absence de l'allèle 225 indiquant que l'allèle 187 ne correspond pas à un écho de l'allèle 225. 3 : absence de l'allèle 187 et présence de l'allèle 225. 2 : individu « multibandes » caractérisé par la présence de 3 « allèles ».
- Figure 3.4. Arbre d'individus en étoile obtenu selon la méthode d'UPGMA le logiciel PHYLIP (Felsenstein, 1981), à partir du calcul de la métrique de Nei & Li (1979) $F = \text{nb de bandes communes} / \text{nb total de bandes}$. Les différents groupes ont été définis arbitrairement. Les camemberts représentent la proportion de chacune des populations dans les différents groupes.
- Figure 3.5. Variations des fréquences alléliques observées entre le long du gradient latitudinal.
- Figure 3.6. Photos d'un édifice illustrant la proximité de différents microhabitats : moulières à *Bathymodiolus thermophilus*, colonies d'*Alvinella pompejana* et bouquets de vestimentifères. (site de Miss Wormwood à 17°34'S/EPR). © Ifremer.

- Figure 4.1. Localisation des sites d'échantillonnage sur le champ hydrothermal de 13°N/EPR.
- Figure 4.2. Sites d'échantillonnage sur le champ hydrothermal de 13°N/EPR (© IFREMER).
- Figure 4.3. Schéma illustrant les différentes étapes de la procédure BIOENV du logiciel Primer v.5 (Clarke & Ainsworth 1993).
- Figure 4.4. Mesures des caractéristiques biométriques chez les différents gastéropodes. **A.** *Lepetodrilus elevatus* ; mesure de la longueur curvilinéaire de l'apex à la partie antérieure. **B.** *Nodopelta heminoda* ; mesure de la longueur totale maximale. **C.** *Nodopelta heminoda* ; mesure de la longueur curvilinéaire. **D.** *Peltoospira operculata* ; mesure de la longueur totale.
- Figure 4.5 : Valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques mesurés *in situ* au niveau des différents édifices des sites hydrothermaux de la dorsale du Pacifique oriental à 13°N. Les barres représentent la gamme de variation du paramètre avec les valeurs minimale et maximale. (*) habitat à *Riftia pachyptila*.
- Figure 4.6. Dendrogramme regroupant les échantillons selon leurs caractéristiques physico-chimiques à partir du calcul de la distance euclidienne. * habitat à *Riftia pachyptila*.
- Figure 4.7. Dendrogramme (A) et cadrage multidimensionnel (MDS) (B) regroupant les prélèvements effectués à 13°N en fonction de leur composition en gastéropodes. Les analyses ont été effectuées à partir du calcul du coefficient de similarité de Bray-Curtis. Les données biologiques ont été standardisées et ont subi une transformation \sqrt{x} * habitat à *Riftia pachyptila*.
- Figure 4.8. Composition faunistique des différents groupes faunistiques identifiés grâce au dendrogramme.
- Figure 4.9. Courbes d'accumulation d'espèces pour chaque groupe faunistique identifiés à l'aide du dendrogramme. Les courbes ont été générées à partir de 100 permutations.
- Figure 4.10. Cadrage multidimensionnel (MDS) regroupant les échantillons en fonction de leurs compositions faunistiques. Pour chaque prélèvement, la taille des bulles est proportionnelle à la valeur des paramètres physico-chimiques concernés. Voir texte et Figure 4.7B pour le détail des groupes.
- Figure 4.11. Distribution de fréquences de taille de *Lepetodrilus elevatus* pour différents échantillons du champ hydrothermal 13°N/EPR. N = nombre d'individus mesurés. * habitat à *Riftia pachyptila*.
- Figure 4.12. Distribution de fréquences de taille de *Nodopelta heminoda* et *N. subnoda* pour différents échantillons du champ hydrothermal 13°N/EPR. n = nombre d'individus mesurés.
- Figure 4.13 Morphologie de la gonade de *Lepetodrilus elevatus*. o : ovaire ; st : estomac ; gd : glande digestive ; tb : trabeculae ; ov : ovocyte vitellogénique ; opv : ovocyte prévitellogénique ; oo : oogonie.
- Figure 4.14 Distribution de fréquences de taille des ovocytes de quelques femelles de *Lepetodrilus elevatus* provenant de différents échantillons prélevés à 13°N/EPR. Entre parenthèses : numéro de la femelle ; L : longueur curvilinéaire de la coquille.
- Figure 4.15 Relation entre la taille de l'animal (longueur curvilinéaire de la coquille) et la proportion d'ovocytes vitellogéniques chez *Lepetodrilus elevatus*.
- Fig. 4.16. Boîtes à moustaches illustrant la variation du diamètre ovocytaire à différentes échelles spatiales. A : entre édifices. B: entre échantillons du fumeur Parigo PP-Ph05(1). C, D et E, entre femelles issues respectivement des échantillons P1-a, P1-d et P1-f. Les nombres sous chaque boîte correspondent respectivement au nombre d'individus et au nombre d'ovocytes, analysés pour établir les boîtes à moustaches. Les lettres similaires indiquent l'absence de différences significatives entre les distributions de fréquence de taille des ovocytes ($p > 0,05$) suite aux tests de

comparaisons multiples réalisés selon la procédure de Dunn-Nemenyi. * habitat à *Riftia pachyptila*.

Les boîtes à moustaches incluent la médiane, le premier et le troisième quartile, la moyenne (trait rouge), l'intervalle de confiance à 95% (μm) et les valeurs extrêmes.

Figure 4.17. Morphologie de la gonade de *Nodopelta heminoda*. o : ovaire ; t : testicule ; st : estomac ; gd : glande digestive ; ov : ovocyte vitellogénique ; opv : ovocyte prévitellogénique ; oo : oogonie ; spg : spermatogonies ; spz : spermatozoïdes.

Figure 4.18. Morphologie de la gonade de *Nodopelta subnoda*. o : ovaire ; st : estomac ; dl : lamelles branchiales dorsales ; mc : muscles de la coquille ; ov : ovocyte vitellogénique ; v : vésicule.

Figure 4.19. Morphologie de la gonade de *Peltospira operculata*. o : ovaire ; t : testicule ; mc : muscles de la coquille ; ov : ovocyte vitellogénique ; opv : ovocyte prévitellogénique ; oo : oogonie.

Figure 4.20. Distribution du diamètre ovocytaire chez *Nodopelta heminoda*, *N. subnoda* et *Peltospira operculata*. **A.** Boîtes à moustaches résumant la distribution de la taille des ovocytes pour chaque femelle. Les caractéristiques des boîtes à moustaches sont identiques à celles de la Figure 4.16. Le nombre sous chaque boîte indique le nombre d'ovocytes mesurés par femelle. Des lettres similaires indiquent l'absence de différences significatives entre les femelles suite aux tests de comparaisons multiples réalisés selon la procédure SNK. **B.** Histogrammes représentant les distributions moyennes de fréquences de taille pour chaque échantillon (\pm écart-type). N = nombre de femelles analysées ; n = nombre d'ovocytes mesurés.

Figure 4.21. Relation entre la proportion d'ovocytes vitellogéniques et la longueur de la coquille chez les 3 espèces de peltospiridés. A : *Nodopelta subnoda* ; B : *N. heminoda* ; C : *P. operculata*.

Figure c.1. Schéma illustrant les limites qui ont pu exister au niveau de la plaque Pacifique nord pendant l'éocène, montrant un système de plaque multiple et une dorsale médio-océanique active dans le Pacifique ouest (de Tunncliffe et al. 1996).

Figure c.2. Illustration schématique de la structure tridimensionnelle qui caractérise les colonies d'*Alvinella pompejana*. La partie supérieure (en bleue, à gauche) est la zone de mélange entre le fluide et l'eau de mer à l'ouverture des tubes. La seconde couche (au centre) illustre la matrice formée par l'enchevêtrement des tubes, avec une influence prédominante du fluide hydrothermal. La 3^{ème} couche (à droite) illustre la zone de forte température localisée à la surface de la paroi de la cheminée. L'intérieur du tube constitue un troisième micro-environnement au sein de la colonie. (De Le Bris et al. 2005).

Figure c.3. Schéma proposant les différents mécanismes d'interaction entre espèce le long d'un gradient de production au niveau d'un site hydrothermal. Les flèches représentent l'intensité relative du flux hydrothermal (inféré à partir de mesures de température) et des interactions positives et négatives. La zonation des différentes communautés mégafaunistiques est indiquée le long du gradient avec les communautés de vestimentifères (*Riftia pachyptila*, *Tevnia jerichonana*, and *Oasisia alvinae*), de bivalves (*Bathymodiolus thermophilus*), de suspensivores (*Laminatubus alvini*) et la zone périphérique. (De Mullineaux et al. 2003).

Figure c.4. Photos des larves récoltées à l'aide d'un filet traîné par le Nautilé à quelques mètres au-dessus du fond sur les champs hydrothermaux de 17°25'S et 21°33'S. L'identification a été réalisée en collaboration avec T. Comtet (Station Biologique de Roscoff) et Susan Mills (Woods Hole Oceanographic Institute).

ANNEXES



Geographic clines and stepping-stone patterns detected along the East Pacific Rise in the vetigastropod *Lepetodrilus elevatus* reflect species crypticism

M. Matabos · E. Thiébaud · D. Le Guen · F. Sadosky ·
D. Jollivet · F. Bonhomme

Received: 2 March 2007 / Accepted: 21 September 2007 / Published online: 25 October 2007
© Springer-Verlag 2007

Abstract Three different molecular markers (i.e. seven allozyme loci, two nuclear gene loci and, mtCOI DNA sequences) were used to assess the genetic structure of the vent gastropod *Lepetodrilus elevatus* collected from three vent fields along the East Pacific Rise (13°N, 9°50'N and 17°S). While allozymes and nuclear loci suggested a strong stepping-stone pattern, a multivariate analysis performed on allozymic frequencies showed the presence of two distinct evolutionary lineages: the first situated in the north from 13°N to 9°50'N and the second in the south from 9°50'N to 17°S. The analysis of mitochondrial DNA sequences confirmed the separation of *L. elevatus* into two distinct clades with a divergence of 6.5%, which is consistent with the interspecific level of sequence variation in other vent species. A divergence time of 6–14 Mya was

estimated between the two clades from previous clock calibrations. Our results suggest that these taxa followed an allopatric speciation between the northern and southern parts of the EPR with a recent demographic expansion of the southern clade to the north and a subsequent secondary contact (clade hybridisation). This speciation was probably reinforced by a habitat specialisation of the two cryptic species because the southern clade was mainly found associated with mussel-dominated communities and the northern clade with tubeworm-dominated communities. However, the analysis of shell morphology failed to separate the two cryptic species based on this sole criterion although they differed from *Lepetodrilus elevatus galriftensis* (Galapagos population) by a higher shell elevation. Within each clade, genetic differentiation was not related to the distance across populations and could be within vent field as important as between fields. While both clades appear to be in expansion since their speciation, significant excesses in heterozygotes suggest a very recent and local bottleneck at 17°S, probably due to massive site extinction in this region.

Communicated by S.A. Poulet.

M. Matabos (✉) · F. Sadosky
Muséum National d'Histoire Naturelle,
Département Milieux et Peuplements Aquatiques,
UMR BOME 5178 (MNHN, UPMC, CNRS),
61 rue Buffon, CP53, 75231 Paris Cedex 05, France
e-mail: mmatabos@mnhn.fr

E. Thiébaud · D. Le Guen · D. Jollivet
Station Biologique de Roscoff,
CNRS, UMR 7144, BP 74, Place Georges Teissier,
29682 Roscoff Cedex, France

E. Thiébaud · D. Le Guen · D. Jollivet
Université Pierre et Marie Curie-Paris 6,
UMR 7144, Station Biologique de Roscoff,
29682 Roscoff Cedex, France

F. Bonhomme
Biologie Intégrative, ISEM, CNRS-Université Montpellier II,
UMR 5554, Station Méditerranéenne de l'Environnement
Littoral, 1 quai de la Daurade, 34200 Sète, France

Introduction

Hydrothermal vents are scattered along the mid-ocean ridge systems, back-arc basins and off-axis submarine volcanoes where they host dense benthic communities characterised by a high level of endemism, a patchily distribution around vent sites separated by few hundred metres to thousand kilometres, and an ephemeral life time related to tectonic events and volcanic activities (Van Dover 2000). Such spatio-temporal fluctuations in vent activity can result in local extinction creating large gaps in

species distribution, or in the establishment of new habitats for colonisation. Dispersal abilities of larvae are then essential to maintain regional populations. Although several authors have shown that larvae could be transported by either neutrally buoyant hydrothermal plumes (Mullineaux et al. 1995) or near-bottom flows (Metaxas 2004; Mullineaux et al. 2005), spatial scales of dispersal remain poorly known due to the lack of knowledge of larval life-span for most species (but see Marsh et al. 2001 for the sole well-documented example concerning the vestimentiferan tubeworm *Riftia pachyptila* and Pradillon et al. 2001 for the worm *Alvinella pompejana*).

Recently, molecular genetics tools appeared to be a valuable indirect method to infer larval dispersal of hydrothermal species (Vrijenhoek 1997). With the exception of some off-axis seamounts, hydrothermal vents are confined to the axial graben, which is 100–500 m wide along the ridge. Thus, genetic structures of vent organisms should be in agreement with the level of gene flow estimated under assumptions of one-dimensional population models (Chevaldonné et al. 1997). In the classical island model, which is characteristic of organisms with high dispersal abilities, dispersing individuals are drawn from a well-mixed pool of migrants, and estimated rates of gene flow are independent of geographical distances (Slatkin 1993). In the stepping-stone model, genetic differentiation should increase with distance between individuals of disjoint populations (Wright 1943; Kimura and Weiss 1964). Gene flow and geographical distance are then correlated and species are expected to exhibit patterns of isolation-by-distance (Slatkin 1993). From these theoretical considerations, a stepping-stone pattern is expected to be widespread for the majority of hydrothermal organisms given their potentially limited dispersal abilities (Jollivet 1996; Vrijenhoek et al. 1998). Reported along NEPR for vestimentiferan tubeworms (Black et al. 1994, 1998), no pattern of isolation-by-distance was observed for different species including bivalves (Karl et al. 1996), alvinellid polychaetes (Jollivet et al. 1995) or gastropods (Craddock et al. 1997).

Deviations of hydrothermal species from theoretical assumptions of population models could be explained by the migration modes of vent organisms that do not exactly fit the stepping-stone or island models but also to extinction/recolonisation events (Jollivet et al. 1999). Thus, migration and drift may not have the time to equilibrate if dispersal is not homogeneous in space or if populations are highly fluctuating in size over time. The shifting of hydrothermal activity along the ridge axis generates numerous patchy and ephemeral vents subjected to rapid and frequent extinction and recolonisation events (Chevaldonné et al. 1997), which can either, increase or decrease genetic differentiation between populations (Vrijenhoek 1997; Jollivet et al. 1999). Vrijenhoek et al. (1998) indeed

showed that the level of genetic diversity was highly related to the proportion of empty habitats in a given vent field and not proportional to the estimated migration rate. Topographic features such as transform faults, ridge offsets, bathymetric inflation and intersecting microplates, can also alter along-axis dispersal efficiency over large distances and form geographic barriers to gene flow (Vrijenhoek et al. 1998; Van Dover et al. 2002).

On the other hand, apparent isolation-by-distance patterns may also be the result of a clinal admixture of well-differentiated genetic populations and/or sibling species. The genetic survey of individuals from both the sides of a hybrid zone, more or less marked depending on selective pressure, also induces a cline in allelic frequencies that may be interpreted as a decline in gene flow with geographical distance (O'Mullan et al. 2001). Alternatively, the mixing of partially sympatric sibling species displaying a spatial gradient of abundance can also produce an apparent stepping-stone pattern of dispersal. Occurrence of sibling species is widespread in marine environments (Knowlton 1993) and has been reported at hydrothermal vents for many marine taxa including vesicomid clams (Goffredi et al. 2003), mussels (Won et al. 2003), crustaceans (Guinot and Hurtado 2003) and polychaetes (Hurtado et al. 2004).

The vetigastropod *Lepetodrilus elevatus* is one of the main gastropod species present on the East Pacific Rise (EPR), from 21°N to 21°S, and on the Galapagos Rift (GAR) (McLean 1988; Warén and Bouchet 2001; Jollivet et al. 2005; Desbruyères et al. 2006). While McLean (1988) identified two discrete subspecies, *L. e. elevatus* on the EPR and *L. e. galriftensis* on the GAR, Craddock et al. (1997) suggested from genetic data that they should represent two discrete species. They reported the presence of *L. galriftensis* from 21°N to 9°N in sympatry with *L. elevatus*. However, while *L. e. galriftensis sensu* McLean was described from the Galapagos Rift, Craddock et al. (1997) did not include specimens from this locality in their analyses. On the other hand, these authors pointed out an apparent decline of gene flow with increasing distances on a portion of the NEPR, for both species, although the number of sampled populations was insufficient to reject the null hypothesis that genetic structure is independent of geographical distance. To clarify the status of *Lepetodrilus elevatus* along the EPR, we investigated its genetic structure from 13°N to 17°S using three kind of molecular markers. First, ten allozyme and two nuclear DNA loci were analysed in nine populations sampled at 13°N, 9°50'N and 17°S to check for genetic heterogeneities within the species at a global scale. Second, a partial fragment of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene (mtCOI) was sequenced from 77 individuals sampled over 5 representative populations to investigate the occurrence of phylogeographic breaks along the EPR. Finally, an analysis of

shell morphology was performed to discriminate between putative sibling species and *L. e. galriftensis sensu* McLean.

Materials and methods

Collection of samples

Lepetodrilus elevatus specimens were collected in April 1999 and April–May 2004 from three hydrothermal vent fields along the EPR (i.e. 13°N, 9°50'N and 17°S) using the submersibles Nautille (IFREMER) and Alvin (WHOI) (Table 1). At each vent field, two to four discrete vent sites were sampled within vestimentiferan clumps, mussel beds or an admixture of the two kinds of taxa. At 13°N, three samples were located inside the axial valley (i.e. Julie, Genesis and Elsa sites) while the Caldera sample came from an off-axis site. After sampling, individuals were stored in liquid nitrogen or ethanol until DNA or protein extractions. All shells were kept for morphological analyses. Additional individuals of *L. pustulosus* and *L. cristatus* were also sampled from the Caldera site at 13°N in order to be used as outgroups. As the whole limpet body was necessary for protein extraction, individuals screened for allozymes were not available for further DNA analysis.

Allozyme genotyping

Enzyme electrophoreses were conducted on 12% starch gel and electrophoretic procedures were performed according

to Pasteur et al. (1987). Each frozen sample of the whole limpet body were homogenized in a grinding buffer (0.01 M Tris, 0.002 M EDTA, 0.05% β -mercaptoethanol, 0.0001 M phenylmethylsulphonyl fluoride, 0.25 M sucrose, pH 6.8) before centrifugation at 13,500g for 25 min. The supernatant was then absorbed onto 4 × 12 mm filter-paper wicks (Whatman No. 1) and electrophoresed using the following buffers: (1) Tris–citrate pH 8 (TC8), for phosphoglucosmutase (*Pgm*, E.C. 2.7.5.1), mannose phosphate isomerase (*Mpi*, E.C. 5.3.1.8), Leu-Tyr peptidase (*Pep*, E.C. 3.4.11.x) and aspartate amino-transferase (*Aat*, E.C. 2.6.1.1); (2) Tris–citrate, electrodes pH 6.3, gel pH 6.7 (TC6.7) for malate deshydrogenase (*Mdh*, E.C. 1.1.1.37), glucose-6-phosphate isomerase (*Gpi*, E.C. 5.3.1.9), and isocitrate deshydrogenase (*Idh*, E.C. 1.1.1.42); (3) Tris–citric–boric–lithium hydroxide, electrodes pH 8.1, gel pH 8.3, (LiOH8.3), for malic enzyme (*Me*, E.C. 1.1.1.40). Buffer system (1) was run at 80 mA for 4 h, buffer system (2) at 60 mA for 4 h and buffer system (3) at 250 mA for 4 h. All eight enzyme systems encoded by ten gene loci were visualised using enzyme-specific stains according to Pasteur et al. (1987). Only seven loci (six enzymes) were consistently interpretable and were scored for all populations. Three additional loci (not scorable for one clade) were considered for five out of the eight populations, involving ten enzyme loci overall. Loci were numbered according to the decreasing anodal electromorph mobility in multi-loci systems, and alleles were assigned given to their relative distance to the most frequent allele (100).

Table 1 Locations of the *Lepetodrilus elevatus* populations sampled along the East Pacific Rise with the types of habitat and the number of individuals (*N*) analysed for each genetic marker

Vent field	Vent site	Latitude	Longitude	Dive no.	Date	Habitat	<i>N</i> _{Allozymes}	<i>N</i> _{Lep1}	<i>N</i> _{Lep3}	<i>N</i> _{COI}
13°N	Caldera	12°42.70'N	103°54.40'W	1,364	20.04.99	<i>R. pachyptila</i> dominated and some <i>B. thermophilus</i>	–	64	63	8
	Elsa	12°48.11'N	103°56.33'W	1,359	15.04.99	<i>R. pachyptila</i>	34	91	50	11
	Genesis	12°48.67'N	103°56.43'W	1,357–1,361	12–17.04.99	<i>R. pachyptila</i>	52	116	61	4
	Julie	12°49.05'N	103°56.56'W	1,360	16.04.99	<i>R. pachyptila</i> dominated and some <i>B. thermophilus</i>	45	80	80	–
9°50'N	Biotransect	9°50.44'N	104°17.52'W	4,002	14.04.04	<i>R. pachyptila</i> and <i>B. thermophilus</i>	19	–	–	–
	East-wall	9°50.54'N	104°17.51'W	1,377	08.05.99	<i>R. pachyptila</i> and <i>B. thermophilus</i>	44	50	27	27
	BioVent	9°50.79'N	104°17.60'W	1,372	03.05.99	<i>R. pachyptila</i> and <i>B. thermophilus</i>	53	–	–	–
17°S	Oasis-BS6	17°25.38'S	113°12.29'W	1,579	19.05.04	<i>C. magnifica</i> and <i>B. thermophilus</i>	34	30	18	27
	Oasis-BS13	17°25.42'S	113°12.28'W	1,590	01.05.04	<i>B. thermophilus</i> dominated and <i>R. pachyptila</i>	49	–	–	–

Nuclear DNA loci genotyping

Polymorphic anonymous nuclear DNA markers were developed for *Lepetodrilus elevatus* using direct amplification of length polymorphism (DALP, Desmarais et al. 1998). First, a multiple-loci scan (DNA fingerprint) was performed from lepetodrilid genomic DNA using “universal” M13 derived-primers and standard PCR amplification (see Desmarais et al. 1998 for PCR conditions). DNA fragments were then run on a polyacrylamide gel and, bands associated with putative polymorphic loci were removed from the gel. PCR-products were purified using a QIAquick™ PCR purification kit, T/A-end ligated into a BlueScript™ T-vector plasmid at 16°C overnight and subsequently cloned into DH5 α competent cells. Positive clones were then sequenced using a VISTRATM 725 automatic sequencer in order to identify alleles within each locus. Two loci (i.e. *Lep1* and *Lep3*) displaying an indel polymorphism were then selected and, specific primers were designed from the allele alignments. Primer sequences are: (*Lep1*-R: 5'-AAAGATCCTCCCTTTGTAATGG-3'; *Lep1*-F: 5'-CTAAACCTTAAAGTTCGA-3'; *Lep3*-R: GA AAGATCCTCCCTTTGTAATGG; *Lep3*-F: TAAACCT TAAAGTTCGAGAC).

For all individuals, total genomic DNA was extracted from a piece of muscle by phenol–chloroform protocol (Sambrook et al. 1989). Amplification reactions were performed in a 25 μ l mixture containing 5 μ l of template DNA, 1 \times PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.4 μ M of each primer, 3.5 U Taq DNA polymerase, 0.14 mM of each dNTP, and sterile H₂O to final volume. Reverse primers were labelled with the 6-FAM fluorochrome. Amplifications corresponded to a 2 min initial denaturation step at 94°C followed by 35 cycles of 30 s of denaturation at 91°C, 30 s of annealing at 55°C and 1 min of extension at 72°C with a 5 min of final elongation at 72°C. PCR products were electrophoresed at 50 W for 1 h 45 min on a denaturing polyacrylamide gel (8%, 0.5 \times) in 0.5 \times Tris–Borate–EDTA buffer, and then read with the FMBIO II HITACHI scanner.

Statistical analyses

For each population, allele frequencies, mean number of allele per locus (N_{all}), observed (H_o) and expected (H_{NB}) heterozygosities were estimated using Genetix 4.05 (Belkhir et al. 2004); allelic richness (R_S) was estimated using Fstat 2.9 (Goudet 2001). The null hypothesis of independence between loci was tested using Genetix 4.05. Deviations from Hardy–Weinberg equilibrium were analysed for each population, at each locus, by the calculation of Wright’s fixation index F_{is} as estimated by Weir and

Cockerham’s (1984) f . The level of genetic differentiation between pairwise combinations of populations was estimated by calculating the Weir and Cockerham’s (1984) estimator $\hat{\theta}$ of Wright’s F_{st} index for each locus and across loci. Deviations from 0 of F_{is} and F_{st} indexes were then tested by permuting genotypes in populations using Genetix 4.05 (Belkhir et al. 2004). Isolation-by-distance was assessed by testing the correlation between pairwise genetic distances estimated by $\hat{\theta}/(1 - \hat{\theta})$ and the shortest geographical distance between the samples using a Mantel test conducted with Genetix 4.05 software. Distances between sites were calculated using the “Great Circle Distance Calculator” (available at <http://www.gb3pi.org.uk/great.html>). To illustrate the relationships among individuals, a correspondence analysis on allozyme data based on genotypic frequencies was performed using Genetix 4.05 (Belkhir et al. 2004).

The Bottleneck software was used in order to test demographic disequilibria (Cornuet and Luikart 1996). In a recently bottlenecked or founded population, the observed Hardy–Weinberg gene diversity (H_e) is higher than the expected gene diversity (H_{eq}), computed from the number of alleles (k), at the mutation-drift equilibrium under the assumption of a constant-size population (Cornuet and Luikart 1996; Luikart et al. 1998). Conversely, an expanding population is characterised by a decrease in H_e compared to H_{eq} . To test such a deviation, a Wilcoxon test was performed under the infinite allele model (IAM) following the recommendations of Cornuet and Luikart (1996).

Mitochondrial DNA analyses

DNA was extracted and purified using a phenol–chloroform procedure (Sambrook et al. 1989). For most individuals, partial sequences of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene (mtCOI) sequence were amplified with the universal primers LCO1490 and HCO2198 described by Folmer et al. (1994). The 50 μ l amplification mixture contained 3 μ l of template DNA, 1 \times PCR buffer, 2 mM MgCl₂, 0.4 μ M of each primer, 40 μ M of each dNTP, 2 U Taq DNA polymerase, and sterile H₂O to final volume. Polymerase chain reactions (PCR) were performed as follows: (a) a 3 min initial denaturation step at 94°C, (b) 40 cycles of 45 s of denaturation at 94°C, 45 s of annealing at 50°C and 90 s of elongation at 72°C and, (c) a 7 min final elongation at 72°C. For Elsa, Genesis and several 9°50'N samples, a “nested PCR” was conducted due to DNA amplification difficulties. First, DNA was pre-amplified with universal primers (Folmer et al. 1994) and used as a target (1 μ l of PCR-product) for slightly degenerated specific primers obtained from a COI alignment of

lepetodrilid sequences (*COI-R*: 5'-TAACTTCAGGGT GACCAAAAAATCA-3'; *COI-F*: 5'-GTTCAAATCAT AAAGATATTGG-3'). Amplifications were carried out using (a) a 3 min initial elongation step at 94°C, (b) 30 cycles with a 35 s initial denaturation at 94°C, a 35 s annealing at 56°C and 80 s of elongation at 72°C, and (c) a final 10 min elongation step at 72°C. The PCR products were purified and sequenced on ABI 3100 using BigDye[®] terminator chemistry (Applied Biosystems) following the manufacturer's protocol. Sequences were proofread in Chromas 2.3 and aligned manually using BioEdit Sequence Alignment 7.0.1.

To analyse phylogenetic relationships between the individuals, a maximum-likelihood (ML) tree was constructed using PAUP 4.0b10 (Swofford 2002). The optimal substitution model was selected using the hierarchical likelihood ratio test (hLRTs) implemented by Modeltest 3.07 (Posada and Crandall 1998). The ML analysis was performed with heuristic searches using 50 stepwise random sequences addition and TBR branch swapping. Bootstrap support values were calculated from a 50% majority-rule consensus tree, based on 1,000 resampling of the data set. Sequences of *Lepetodrilus cristatus* and *L. pustulosus* were used as outgroups while published mtCOI sequences from *L. elevatus* (Genbank Accession nos AY923923, U56846) were included.

A measure of genetic diversity of each population was calculated using the haplotype (H_{e-HAP}), and nucleotide (π) diversities with DNAsp 4.0 (Rozas et al. 2003). Fu and Li's F statistic was used to test the null hypothesis of the mutation-drift equilibrium (Fu and Li 1993). Mismatch curves were also drawn for each population and each lineage and observed values were compared to the expected curves fitted for constant population size model and for the population growth/decline model. The Ramos-Onsins and Rozas R_2 test was used to detect population expansion, which is most powerful for small samples size than the Fu's F_s test (Ramos-Onsins and Rozas 2002). The observed R_2 value was compared to a theoretical value simulated assuming a constant population size using DNAsp 4.0 (Rozas et al. 2003). Median-joining networks were constructed using Network v. 4.1.0.9 (Bandelt et al. 1999) to infer the most parsimonious branch connections between the sampled haplotypes. Pairwise F_{st} values were computed from haplotype frequencies and exact tests of genetic differentiation between populations were conducted using Arlequin 2.0 (Schneider et al. 2000).

Morphometry

As variations in shell proportions were reported among *Lepetodrilus* species and subspecies (McLean 1988), shell

morphometrics were obtained on 415 *L. elevatus* individuals from the nine sample sites for which allozyme and/or mtDNA analyses were performed. An additional sample of 85 *L. elevatus galriftensis* from the Galapagos Rift (collection from the Los Angeles County Museum of Natural History, LACM 2528) was included. Individuals with undamaged shells were only considered in the analysis. Eight shell characters were measured using the "Image tool" image analysis software (University of Texas; <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>) (Fig. 1).

A principal component analysis (PCA) was performed on log-shape ratios after elimination of allometric changes following Mosimann (1970) and, Mosimann and James (1979). All variables were first log-transformed and size for each individual was defined as the arithmetic mean of all variables. The log-shape ratio was calculated by subtracting the log-size value from each variable for each individual.

Results

Deviation to Hardy–Weinberg equilibrium and allelic clines

Heterozygote deficiencies

Allele frequencies per population at the ten polymorphic enzyme loci are given in Table 2. Populations from 17°S were monomorphic at two loci (*Gpi* and *Idh2*) for Oasis-BS13 and at three loci (*Gpi*, *Idh1* and *Idh2*) for Oasis-BS6.

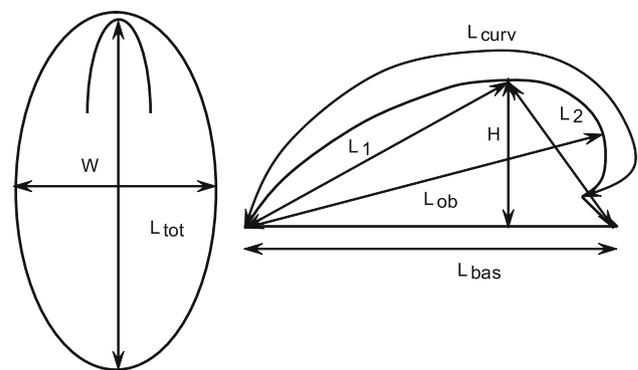


Fig. 1 Shell morphometrics of *Lepetodrilus elevatus*. L_{curv} curvilinear shell length (total length from the anterior edge of the shell to the lip of the protoconch); H shell height (greatest vertical distance from the apex of the shell to the plane of the aperture); L_{bas} basal length (length of the aperture); L_1 anterior length (distance from the anterior edge of the shell to the apex); L_2 posterior length (distance from the posterior edge of the shell to the apex); L_{ob} oblique length (maximal distance from the anterior edge of the shell to the posterior part of the shell); L_{tot} total shell length (greatest distance between posterior and anterior end); W shell width (greatest distance perpendicular to the anterior–posterior axis)

Table 2 Allele frequencies at enzyme and anonymous nuclear loci

Locus allele	13°N				9°50'N			17°S	
	Caldera 0	Elsa 34	Genesis 52	Julie 45	Biotransect 19	BioVent 53	East Wall 44	Oasis-BS6 34	Oasis-BS13 49
<i>Gpi</i>									
10	–	0.029	–	0.956	0.368	0.623	0.227	1.000	1.000
100	–	0.485	0.567	0.033	0.395	0.151	0.432	–	–
140	–	0.088	0.038	–	0.026	0.028	0.034	–	–
180	–	0.397	0.394	0.011	0.211	0.198	0.307	–	–
<i>Idh1</i>									
70	–	–	0.077	–	0.053	0.010	0.011	–	–
80	–	0.030	0.038	0.033	–	0.010	–	–	0.010
100	–	0.970	0.885	0.967	0.947	0.980	0.989	1.000	0.990
<i>Idh2</i>									
10	–	0.029	–	0.022	0.684	0.075	–	1.000	1.000
80	–	–	–	–	0.105	–	–	–	–
100	–	0.559	0.558	0.522	0.211	0.745	0.611	–	–
115	–	–	0.010	–	–	0.047	–	–	–
130	–	0.412	0.433	0.433	–	0.132	0.389	–	–
145	–	–	–	0.022	–	–	–	–	–
<i>Mdh</i>									
70	–	0.227	0.327	0.433	0.079	0.059	0.200	–	–
85	–	0.106	0.038	–	0.342	0.373	0.089	0.500	0.429
100	–	0.667	0.635	0.533	0.553	0.529	0.678	0.500	0.571
120	–	–	–	0.033	0.026	0.039	0.033	–	–
<i>Aat2</i>									
50	–	–	–	–	0.071	0.094	0.044	0.382	0.347
75	–	0.029	–	0.034	0.357	0.811	0.267	0.603	0.633
100	–	0.971	1.000	0.966	0.571	0.094	0.689	0.015	0.020
<i>Mpi</i>									
80	–	–	0.029	–	–	0.009	–	–	–
90	–	0.050	0.019	0.025	0.026	0.019	0.022	–	–
100	–	0.700	0.692	0.788	0.526	0.057	0.467	–	–
105	–	–	–	–	0.342	0.170	0.100	0.515	0.500
110	–	0.250	0.260	0.188	0.026	0.009	0.200	–	–
115	–	–	–	–	0.079	0.736	0.211	0.485	0.500
<i>Pgm2</i>									
80	–	–	–	–	–	0.010	–	–	–
90	–	0.125	0.130	0.410	0.158	0.029	0.224	–	–
95	–	–	–	–	–	0.404	0.066	0.485	0.296
100	–	0.813	0.870	0.564	0.132	0.058	0.474	–	–
105	–	–	–	–	0.316	0.423	0.158	0.353	0.510
110	–	0.063	–	0.026	0.211	–	0.039	–	–
115	–	–	–	–	0.105	0.077	0.039	0.162	0.194
<i>Pgm1</i>									
90	–	–	–	–	0.033	0.039	–	–	–
95	–	–	–	–	–	–	–	–	0.010
100	–	–	–	–	0.800	0.856	0.868	1.000	0.970
105	–	–	–	–	–	–	–	–	0.010
110	–	–	–	–	0.167	0.077	0.053	–	0.010

Table 2 continued

Locus allele	13°N				9°50'N			17°S	
	Caldera 0	Elsa 34	Genesis 52	Julie 45	Biotranssect 19	BioVent 53	East Wall 44	Oasis-BS6 34	Oasis-BS13 49
120	–	–	–	–	–	0.029	0.079	–	–
<i>Leu-Tyr</i>									
40	–	–	–	–	0.250	0.726	0.188	0.300	0.355
60	–	–	–	–	0.625	0.179	0.146	0.400	0.307
90	–	–	–	–	0.125	0.024	0.042	0.300	0.339
100	–	–	–	–	–	0.048	0.542	–	–
110	–	–	–	–	–	0.012	0.083	–	–
120	–	–	–	–	–	0.012	–	–	–
<i>Me1</i>									
40	–	–	–	–	–	–	–	–	0.016
60	–	–	–	–	–	–	–	–	0.016
95	–	–	–	–	0.286	0.028	–	0.183	0.594
100	–	–	–	–	0.714	0.953	0.967	0.550	0.219
105	–	–	–	–	–	0.019	0.033	0.267	0.156
<i>lep1</i>									
<i>N</i>	64	91	116	80	0	0	50	30	0
50	0.016	0.011	0.009	0.013	–	–	0.010	0.017	–
100	0.617	0.560	0.509	0.556	–	–	0.440	0.333	–
200	–	0.006	0.013	0.013	–	–	–	0.017	–
300	0.047	0.066	0.095	0.069	–	–	0.130	0.083	–
400	0.188	0.181	0.181	0.194	–	–	0.150	0.183	–
450	0.008	0.017	0.022	0.006	–	–	–	–	–
500	0.117	0.148	0.168	0.144	–	–	0.220	0.067	–
550	–	–	–	–	–	–	0.010	0.300	–
600	0.008	0.011	–	0.006	–	–	0.040	–	–
700	–	–	0.004	–	–	–	–	–	–
<i>lep3</i>									
<i>N</i>	63	50	61	80	–	–	27	18	–
190	–	–	–	0.006	–	–	–	–	–
192	0.119	0.130	0.123	0.081	–	–	0.185	0.111	–
193	0.008	0.030	0.066	0.069	–	–	–	–	–
194	0.016	0.020	0.008	0.006	–	–	–	–	–
195	0.175	0.190	0.139	0.131	–	–	0.056	0.250	–
196	0.008	0.200	0.066	0.063	–	–	–	–	–
197	0.048	0.030	0.082	0.044	–	–	0.074	0.111	–
198	–	0.010	0.008	0.019	–	–	0.019	0.028	–
200	0.587	0.560	0.492	0.569	–	–	0.630	0.444	–
201	0.040	0.010	0.008	0.006	–	–	0.037	0.056	–
202	–	–	–	0.006	–	–	–	–	–
206	–	–	0.008	–	–	–	0.010	–	–

Individuals from eight samples were genotyped at seven enzyme loci. In addition, samples from 9°50'N and 17°S were genotyped at three additional loci (only scorable for the southern clade). Additional specimens were also genotyped at both nuclear loci for six populations because of the small sample size of Biovent, Biotranssect and Oasis-BS13 collections. *N* sample size at each population

Table 3 Fis values at enzyme and anonymous nuclear loci (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$), and allozyme and nuclear genetic variability for each population

Locus	13°N				9°50'N			17°S		
	Caldera	Elsa	Genesis	Julie	Biotransect	BioVent	East Wall	Oasis-BS6	Oasis-BS13	All
Allozymes										
Fis										
<i>Gpi</i>	–	–0.215	–0.171	0.746***	0.543***	0.797***	0.430***	–	–	0.300***
<i>Idh1</i>	–	–0.016	0.094	–0.023	–0.029	–0.005	0.000	–	0.000	0.040
<i>Idh2</i>	–	0.218	0.051	0.227	0.789***	0.601***	0.215	–	–	0.298***
<i>Mdh</i>	–	–0.030	–0.329**	–0.001	0.378	–0.353***	–0.119	–1.000***	–0.745***	–0.311***
<i>Aat2</i>	–	–0.015	–	–0.018	1.000***	0.541***	0.807***	0.234	0.242	0.483***
<i>Mpi</i>	–	0.192	0.159	0.068	0.578***	0.168	0.459***	–0.941***	–1.000***	–0.051
<i>Pgm2</i>	–	–0.155	–0.140	0.063	–0.163	–0.387***	0.102	–0.425***	–0.186	–0.174***
All	–	0.002	–0.068	0.112	0.461***	0.164***	0.311***	–0.527***	–0.408***	0.033
N_{ALL}	–	2.8	2.7	2.8	3.7	4.3	3.7	1.8	2	
H_o	–	0.360	0.370	0.275	0.301	0.36	0.349	0.462	0.426	
H_{NB}	–	0.361	0.346	0.309	0.550	0.430	0.504	0.305	0.304	
		(±0.241)	(±0.236)	(±0.218)	(±0.314)	(±0.346)	(±0.224)	(±0.478)	(±0.436)	
R_s	–	2.621	2.453	2.33	3.691	3.411	3.332	1.773	1.825	
Nuclear DNA										
<i>Lep1</i>										
N_{ALL}	7	8	8	8	–	–	7	7	–	
H_o	0.562	0.648	0.664	0.600	–	–	0.660	0.567	–	
H_{NB}	0.572	0.630	0.674	0.631	–	–	0.724	0.753	–	
R_s	5.637	6.128	6.083	5.967	–	–	6.177	7.000	–	
Fis	0.017	–0.030	0.014	0.050	–	–	0.089	0.264**	–	0.042
<i>Lep3</i>										
N_{ALL}	8	9	10	11	–	–	6	6	–	
H_o	0.571	0.640	0.705	0.588	–	–	0.519	0.778	–	
H_{NB}	0.611	0.637	0.714	0.646	–	–	0.570	0.732	–	
R_s	5.725	6.388	7.039	7.115	–	–	5.517	6.000	–	
Fis	0.065	–0.005	0.013	0.091	–	–	0.091	–0.065	–	0.042

N_{all} mean number of alleles per population; H_o and H_{NB} observed and expected multilocus heterozygosity (±SD); R_s allelic richness

“Private alleles” were found at three loci (*Idh2*, *Pgm2* and *Leu-Tyr*) for three northern populations (Julie, Biovent and Biotransect) and at two loci (*Pgm1* and *Me1*) for one sample from 17°S (Oasis-BS13). All of them except one at the *Idh2* locus corresponded to rare alleles ($q < 0.05$). Five loci (*Idh1*, *Idh2*, *Mdh*, *Mpi* and *Pgm1*) displayed at least one rare allele that occurred in two populations or more. Estimated allelic richness (R_s) and multilocus heterozygosity (H_{NB}) ranged from 1.773 to 3.691 and from 0.304 to 0.550, respectively, with minimal values at populations from 17°S and maximal values at populations from 9°50'N (Table 3). Except for populations from 13°N, genotypic frequencies did not conform to Hardy–Weinberg expectations for almost all loci (Table 3). At 13°N, significant single-locus Fis values were only reported at one locus (i.e. *Gpi* and *Mdh*) for Julie and Genesis populations,

respectively. Multi-locus Fis values showed significant heterozygote deficiencies for populations from 9°50'N and a slight excess at 17°S (Table 3). When mixing all samples from a single vent field, Fis values were all significantly different from zero for the three vent fields. Numerous linkage disequilibria were also observed among samples and appear concentrated at 9°50'N and to a lesser extent at 17°S when considering each population individually (Table 4). Anonymous nuclear (DALP) loci were considered separately. Nine and 12 alleles were detected for the *lep1* and *lep3* loci respectively, including 5 rare alleles each ($q < 0.05$, Table 2). Each population displayed a high number of alleles which ranged from 7 to 8 alleles for *lep1* and 6 to 11 alleles for *lep3* (Table 3). For both loci, allelic richness (R_s) ranged from 5.64 to 7.12 while multilocus heterozygosity (H_{NB}) varied from 0.57 to 0.75. Population

Table 4 Number of linkage disequilibrium observed between allozyme loci for each population

	13°N			9°50' N			17°S		ALL
	Elsa	Genesis	Julie	Biotransect	Biovent	East Wall	Oasis BS13	Oasis BS6	
Number of linkage disequilibrium (<i>N</i>)	2	1	2	7	8	15	5	4	7
	(21)	(15)	(20)	(21)	(21)	(21)	(10)	(6)	(21)

N Number of possible combinations between all loci

from Oasis-BS6 presented a high gene diversity due to the high frequency of allele 550 which was often found in homozygous condition. At 13°N, both allelic richness and heterozygosity were higher for populations situated in the axial valley (i.e. Julie, Genesis and Elsa) than for the off-axis population (i.e. Caldera). Genotypic frequencies generally conformed to random mating expectations within each population except for Oasis-BS6 at *lep 1* locus which displayed a heterozygote deficiency (Table 3).

Overall genetic differentiation between populations

For allozymes, the global test for genetic differentiation among populations exhibited an unexpectedly high and significant level of heterogeneity in allele frequencies ($F_{st} = 0.356$, $P = 0.000$). A significant isolation-by-distance across fields (Mantel test; $R^2 = 0.5661$; $P < 0.01$) was evidenced (Fig. 2) and corresponds to a clinal variation of allele frequencies from north to south at the *Aat2*, *Mpi*, *Idh2*, *Pgm2* and *Mdh* loci (Table 2; Fig. 3). Populations from 9°50'N showed the largest variations in their relative allele frequencies between the nearby sites of the field. A similar clinal variation was also observed at the *Gpi* locus (*Gpi-100*, *-180* vs. *Gpi-10*) except for Julie (13°N), which exhibited allele frequencies similar to 17°S populations. Within-field F_{st} values greatly vary between the fields with significant values at 13°N ($F_{st} = 0.030$, $P < 0.01$) and 9°50'N vent fields ($F_{st} = 0.228$, $P < 0.01$) but with no genetic differentiation at 17°S vent field

($F_{st} = 0.011$, $P > 0.05$). The high level of differentiation observed within fields correlates with the heterozygote deficiencies which were maximum at the 9°50'N vent field.

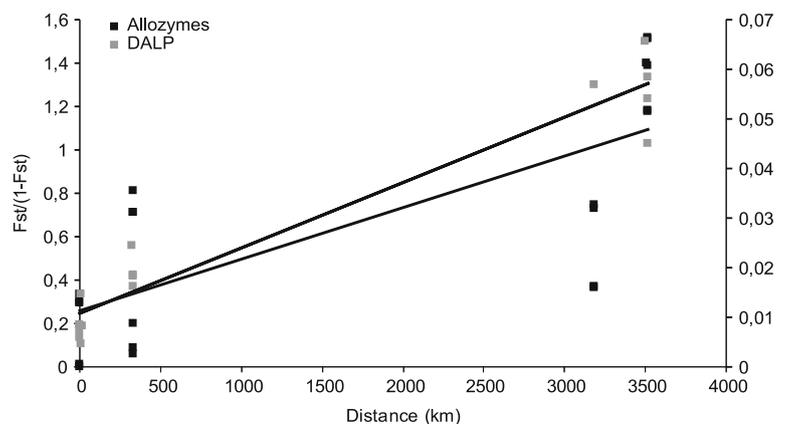
For the DALP loci, the overall genetic differentiation was not significantly different from zero for both the loci within ($F_{st} = 0.000$; $P = 1.000$) and between ($F_{st} = 0.011$, $P > 0.05$) the vent fields. A Mantel test computed on both the loci, however, provided evidence for a significant isolation-by-distance between 13°N and 17°S ($R^2 = 0.9333$; $P = 0.033$) (Fig. 2). This was mainly associated with a clinal variation of the allele frequencies at *lep 1* locus (Table 2; Fig. 3). Absent from 13°N samples, the *lep1-550* allele was present at a low frequency at East Wall and balanced the more frequent *lep1-100* allele at Oasis-BS6 suggesting that selection may affect this locus or that a proportion of individuals came from another differentiated population.

Evidence of crypticism in *Lepetodrilus elevatus*

Genetic evidence from molecular data

A correspondence analysis performed on allozyme data distinguished two groups on the first axis which accounted for 26.41% of the total variance: one grouping all individuals from 13°N and some individuals from 9°50'N, principally from East Wall (hereafter called the northern clade), and one clustering all individuals from 17°S and most individuals from 9°50'N (hereafter called the southern

Fig. 2 Isolation-by-distance for enzyme and anonymous nuclear (DALP) loci. Axes on the *left* and *right* stand for the allozymes and the anonymous nuclear loci, respectively



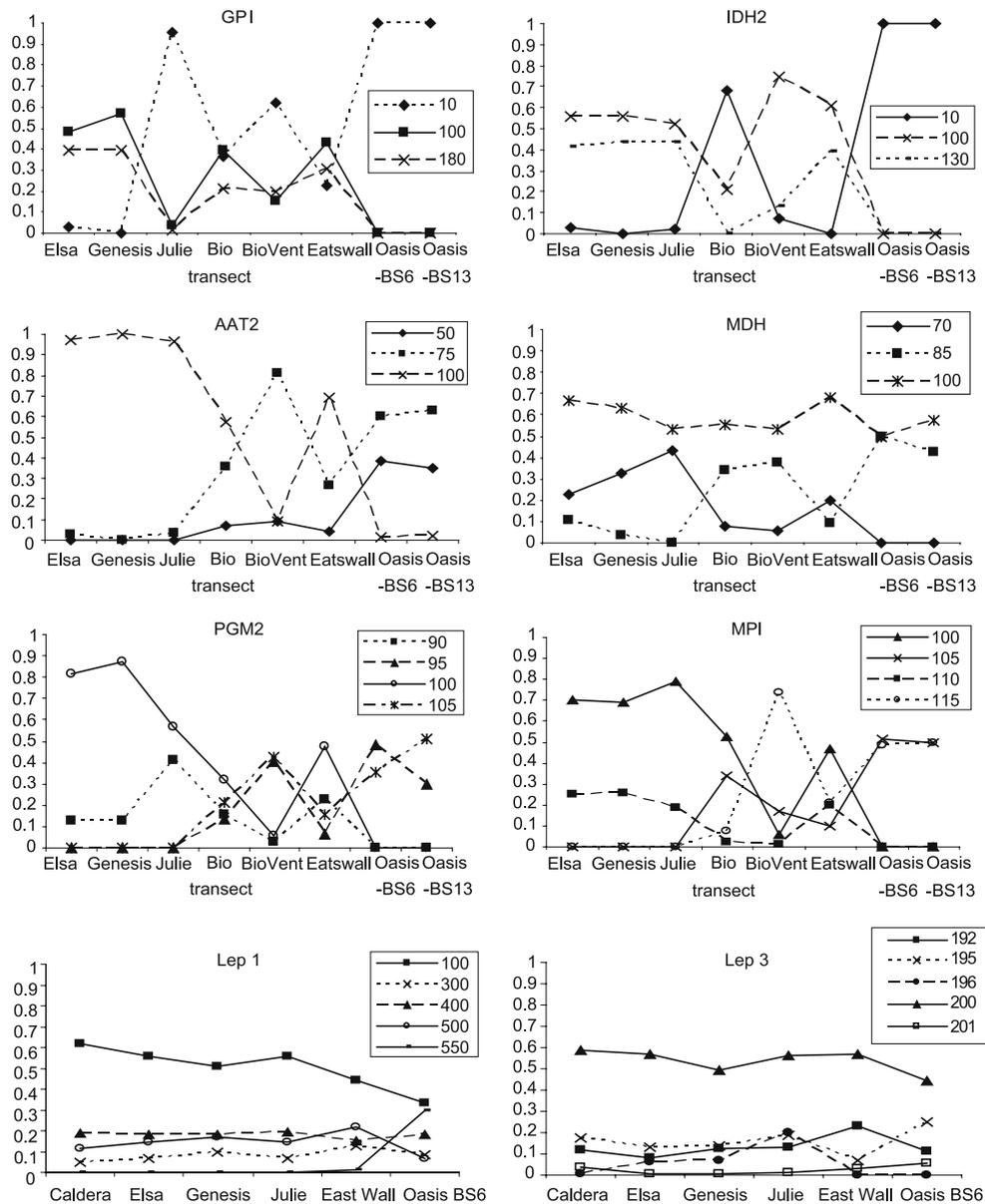


Fig. 3 Clinal distribution of allele frequencies for enzymes and anonymous nuclear loci between 13°N and 17°S

clade) (Fig. 4). Within the northern clade, Julie was slightly separated from Elsa–Genesis, while in the southern clade, the second axis separated 17°S populations from the 9°50′N ones (Fig. 4). On the first factorial plane, few individuals displayed an intermediate situation between the two principal groups and may be attributed to the presence of hybrids. They correspond to four specimens from 9°50′N and one specimen from Julie site (13°N).

Because two genetically-distinct groups of individuals have been distinguished from the correspondence analysis, a 361-bp fragment of the mitochondrial COI gene was examined from 79 specimens of *Lepetodrilus elevatus* coming from 17°S, 9°50′N and 13°N, 7 *L. cristatus* and 3 *L. pustulosus*. These COI sequences correspond to the

accession numbers from EF486360 to EF486445 in Genbank. From *L. elevatus* individuals, a total of 31 haplotypes were identified that revealed 108 polymorphic sites including 9 singletons and 99 parsimoniously informative sites. The maximum likelihood tree revealed two distinct lineages highly supported by bootstraps values (Fig. 5). The two lineages were separated by 15 fixed nucleotide substitutions that did not lead to any fixed amino acid substitutions according to the invertebrate translation code. This leads to an average divergence ($K2P_{avg}$) of 6.5% between lineages. The two lineages are geographically well-discriminated: a northern lineage with *Lepetodrilus elevatus* populations from 13°N and a southern lineage with populations from 17°S. Only one individual belonging

Fig. 4 Factorial correspondence analysis of enzyme loci. *Ellipses* symbolize vent fields (13°N, 9°50'N and 17°S)

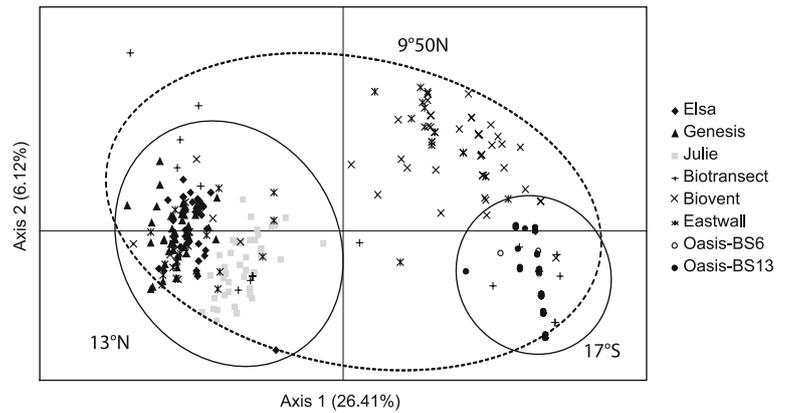
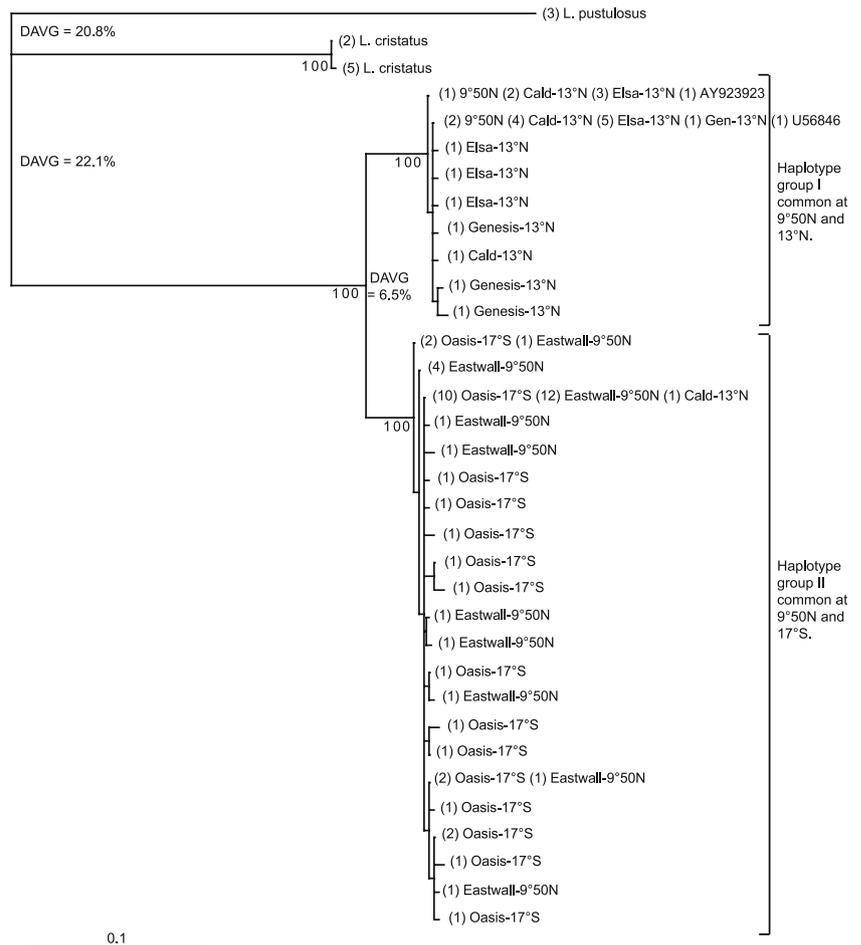


Fig. 5 Maximum likelihood tree based on the 31 *Lepetodrilus elevatus* haplotypes and *Lepetodrilus* spp. outgroups. *Number* next to nodes corresponds to the bootstrap values. *Number in brackets* corresponds to the number of individuals from the different locations



to the off-axis Caldera site at 13°N and several specimens from 9°50'N (i.e. East Wall) clustered with the southern lineage.

Genetic variation for each population is given in Table 5. Total haplotype diversity (H_{c-HAP}) and nucleotide diversity (π) were 0.882 ± 0.027 and 0.0306 ± 0.002 , respectively. The individuals from Caldera and East Wall exhibited the highest nucleotidic diversities, but this was due to the admixture of the two lineages at these sites.

Lack of evidence from morphological data

To discriminate individuals from the two different clades as identified by allozyme and mtCOI data using shell morphology, two principal component analyses (PCA) were carried out on the log-shape ratio for each type of markers (Fig. 6). Individuals of *Lepetodrilus galriftensis* were used as a control. Potential hybrids identified from the correspondence analysis performed on allozyme data were

Table 5 Mitochondrial COI genetic variability for each population

	13°N			9°50' N	17°S
	Elsa	Genesis	Caldera	East Wall	Oasis
<i>MtCOI</i>					
N_{HAP}	5	4	4	10	15
H_{eHAP}	0.764	1.000	0.750	0.800	0.863
	(±0.107)	(±0.177)	(±0.139)	(±0.069)	(±0.062)
π	0.0027	0.0074	0.0165	0.0212	0.0060
π intra clade	0.0027 ^a	0.0074 ^a	0.0021 ^a	0.0036 ^b	0.0060 ^b

N_{HAP} Number of haplotypes, H_{eHAP} haplotypic diversity, π nucleotide diversity

^a Northern clade

^b Southern clade

removed to improve the discrimination between the two clades.

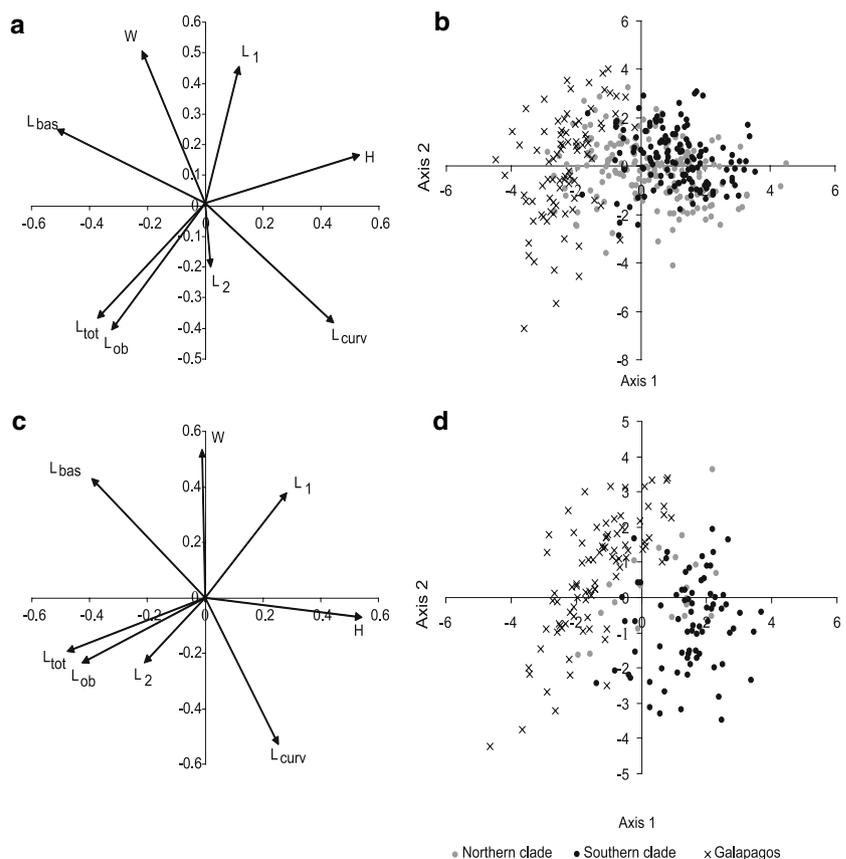
In the PCA on individuals used in the allozyme analysis, axis 1 explained 39.03% and axis 2, 28.77% of the total variance. In the second PCA, axes 1 and 2 explained 38.46 and 32.63 % of the variation, respectively, for the individuals used in the mtCOI analysis. For both the analyses, total length, basal length and height (L_{tot} , L_{bas} and H) provided the heaviest loading on axis 1 while shell width

(W) has the heaviest loading on axis 2. Axis 1 separated partially *L. elevatus galriftensis* from *L. elevatus* according to the flatter shell morphology of the former species. PCAs however failed to clearly discriminate between the northern and southern clades of *L. elevatus* when using shell morphology.

Demographic analyses within each clade

To test genetic homogeneity within clades, each clade was then analysed separately. Although the Gpi locus appeared to be of great interest to discriminate the two evolutionary lineages, large gaps in the data for this locus lead us to remove it for the intra clade analysis. The high number of alleles observed at 9°50'N in the global analysis (i.e. $N_{\text{all}} = 3.7\text{--}4.3$, see Table 3) was no longer observed when considering each clade separately. Likewise, when each lineage was considered separately, the nucleotide diversity of mitochondrial sequences ranged between 0.0027 and 0.0074 and was quite homogeneous among populations. For allozymes, heterozygote deficiencies greatly decreased in the northern clade with no more Fis values significantly different from zero (Table 6) and genotypic disequilibria were no longer detected for both clades. Significant

Fig. 6 Principal component analysis on the log-shape ratio (LSR) of shell morphology. **a** Eigenvalues and **b** individual scores in the plane F1 × F2 for the two clades identified by allozymes. **c** Eigenvalues and **d** individual scores in the plane F1 × F2 for the two clades identified by mtCOI. On both analyses, *Lepetodrilus elevatus galriftensis* individuals were added



heterozygote excesses as compared to Hardy–Weinberg equilibrium only remained for the southern clade. Both populations deviated from the null hypothesis of demographic equilibrium with a significant excess of heterozygotes according to Cornuet and Luikart (1996) (Wilcoxon test, $P < 0.05$) supporting a recent bottleneck in those populations.

The northern clade

In the northern clade, pairwise F_{st} values from allozymes data indicated that the Julie (13°N) and Biotranssect (9°50'N) samples differed from all other samples (Table 7).

However, pairwise F_{st} values estimated between the vent fields 9°50'N and 13°N as a whole revealed no significant differentiation ($F_{st} = 0.010$, $P > 0.05$). Similarly, pairwise F_{st} estimated from haplotype frequencies were also significant between the Elsa population and all the other populations from 13°N and 9°50'N vent fields (Table 8). The haplotype network based on nine haplotypes showed the occurrence of two equally-frequent haplotypes that are not geographically specific (Fig. 7). Mismatch distribution exhibited a unimodal shape with an excess of rare variants when compared to the expected fitting curve for stable populations but fitted well with the expected curve obtained under the population growth/decline model (Fig. 8). This result was further confirmed by the Ramos-

Table 6 Fis values at enzyme loci for each clade (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$), and allozyme and nuclear genetic variability

Locus	13°N			9°50' N			17°25' S		
	Elsa	Genesis	Julie	Biotranssect	BioVent	East Wall	Oasis-BS6	Oasis-BS13	All
Northern clade									
Fis									
<i>Gpi</i>	-0.215	-0.171	0.746***	0.048	0.543	0.46*	-	-	0.058
<i>Idh1</i>	-0.016	-0.094	-0.012	-0.059	-0.000	-0.000	-	-	0.045
<i>Idh2</i>	0.218	0.051	0.252*	0.714**	0.272	-0.085	-	-	0.166**
<i>Mdh</i>	-0.030	-0.329**	-0.019	-0.125	-0.200	-0.223	-	-	-0.156**
<i>Aat2</i>	-0.015	-	-0.018	-	-	-	-	-	-0.014
<i>Mpi</i>	0.192	0.159	0.068	0.000	0.077	0.167	-	-	0.143
<i>Pgm2</i>	-0.155	-0.140	0.068	-0.500*	-0.391	-0.290	-	-	-0.156*
All	0.002	-0.068	0.116	0.048	0.104	0.036	-	-	0.017
N_{ALL}	2.9	2.7	2.9	2.3	2.7	2.6	-	-	
H_o	0.360	0.370	0.272	0.329	0.429	0.359	-	-	
H_{NB}	0.361	0.346	0.307	0.344	0.473	0.372	-	-	
	(±0.223)	(±0.202)	(±0.234)	(±0.270)	(±0.280)	(±0.252)			
R_s	2.146	1.975	1.865	2.072	2.7	2.04	-	-	
Southern clade									
Fis									
<i>Gpi</i>	-	-	-	1.000	0.863***	0.402	-	-	0.750***
<i>Idh1</i>	-	-	-	-	0.000	-	-	0.000	0.063***
<i>Idh2</i>	-	-	-	-	0.579***	1.000*	-	-	0.626***
<i>Mdh</i>	-	-	-	-0.018	-0.426***	-0.072	-1.000***	-0.745***	-0.600***
<i>Aat2</i>	-	-	-	1.000	0.113	-0.143	0.234	0.243	0.221**
<i>Mpi</i>	-	-	-	-0.167	-0.071	0.189	-0.941***	-1.000***	-0.634***
<i>Pgm2</i>	-	-	-	-0.577*	-0.580***	-0.029	-0.425*	-0.186	-0.373***
All	-	-	-	0.106	0.017	0.155	-0.527***	-0.408***	-0.237***
N_{ALL}	-	-	-	2	2.9	2.6	1.9	2	
H_o	-	-	-	0.268	0.353	0.332	0.462	0.426	
H_{NB}	-	-	-	0.295	0.359	0.390	0.305	0.304	
				(±0.243)	(±0.205)	(±0.255)	(±0.288)	(±0.281)	
R_s	-	-	-	1,917	2.172	2.262	1.712	1.736	

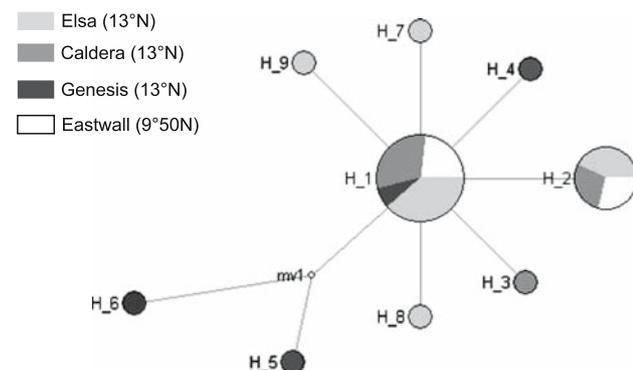
N_{all} mean number of alleles per population; H_o and H_{NB} observed and expected multilocus heterozygosity (±SD); R_s allelic richness

Table 7 Pairwise F_{st} values based on enzyme loci for the northern clade (above diagonal) and the southern clade (below diagonal) (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$)

		13°N			9°50 N			17°S
		Elsa	Genesis	Julie	Biotransect	BioVent	East Wall	Oasis-BS6
13°N	Elsa		-0.002	0.231***	0.093***	0.007	0.008	-
	Genesis	-		0.251**	0.118***	0.040	0.021*	-
	Julie	-	-		0.298**	0.138*	0.172***	-
9°50 N	Biotransect	-	-	-		0.074	0.102***	-
	BioVent	-	-	-	0.321***		-0.006	-
	East Wall	-	-	-	0.349**	0.038*		-
17°S	Oasis-BS6	-	-	-	0.070*	0.296***	0.370***	
	Oasis-BS13	-	-	-	0.072*	0.296***	0.357***	0.011

Table 8 Pairwise F_{st} values based on haplotype frequencies for the northern clade (above diagonal) and the southern clade (below diagonal) (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$)

		13°N		9°50 N
		Genesis	Caldera	East Wall
13°N	Elsa	0.145*	0.249***	0.267*
	Genesis		0.149	0.148
	Caldera	-		0.291
9°50N	East Wall	-	-	
17°S	Oasis-BS6	-	-	0.212***

**Fig. 7** Haplotype network showing the evolutionary relationships between mitochondrial haplotypes of *Lepetodrilus elevatus* for the northern clade. Circles represent haplotypes with the surface of each circle representative of the frequency with which it occurred in the total sample

Onsins and Rozas R_2 test that rejected the null hypothesis of constant size (i.e. observed $R_2 = 0.0597$; $P = 0.006$). If the global Fu and Li's F statistics was negative and deviated significantly from neutral expectations (i.e. $F = -2.899$; $P < 0.05$), this statistics was not significant for the Caldera and Elsa–Genesis populations ($P > 0.1$ and $0.05 < P < 0.1$, respectively).

The southern clade

Based on allozyme data, pairwise F_{st} values in the southern clade showed a significant level of differentiation between all samples except the two samples within the 17°S field (Table 7). These values were maximal between the southern and northern vent fields (average F_{st} estimate = 0.243, $P < 0.01$). Haplotype frequencies indicated that populations from East Wall and Oasis-BS6 were significantly differentiated (Table 8). As only one sequence represented the Caldera population, this latter was not included in the analysis. The haplotype network established from 22 haplotypes indicated that the southern lineage displayed a unique ancestral haplotype from which several variants derived by two to three substitutions (Fig. 9). Mismatch distribution showed a unimodal shape with an excess of rare variants when compared to the expected fitting curve for stable populations and rather followed the expected curve drawn under the population growth/decline model (Fig. 8). The Ramos-Onsins and Rozas R_2 test rejected the null hypothesis of constant population size ($R_2 = 0.0361$; $P = 0.000$). Fu and Li's F statistics was negative and deviated significantly from neutral expectations (i.e. $F = -3.926$; $P < 0.05$).

Discussion

Identification of cryptic species

The analysis of allele frequencies at allozyme and anonymous nuclear loci along the East Pacific Rise, from 13°N to 17°S, for the vetigastropod *Lepetodrilus elevatus* showed that significant patterns of isolation-by-distance together with high significant F_{is} values and linkage disequilibrium for allozymes are the result of a clinal admixture of two distinct lineages. Craddock et al. (1997) reported the existence of two species genetically differentiated along

Fig. 8 Observed and simulated match-mismatch curves for both northern and southern *Lepetodrilus elevatus* clades under constant population size (left) and population growth/decline model (right)

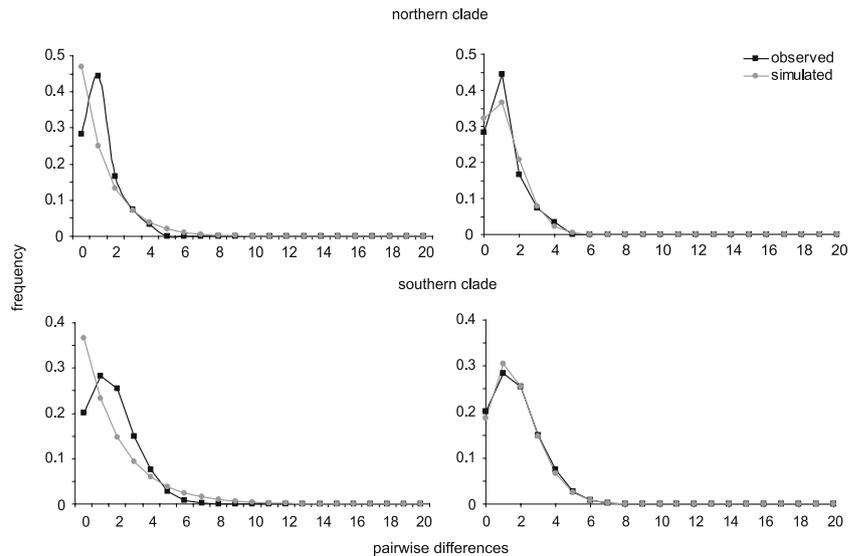
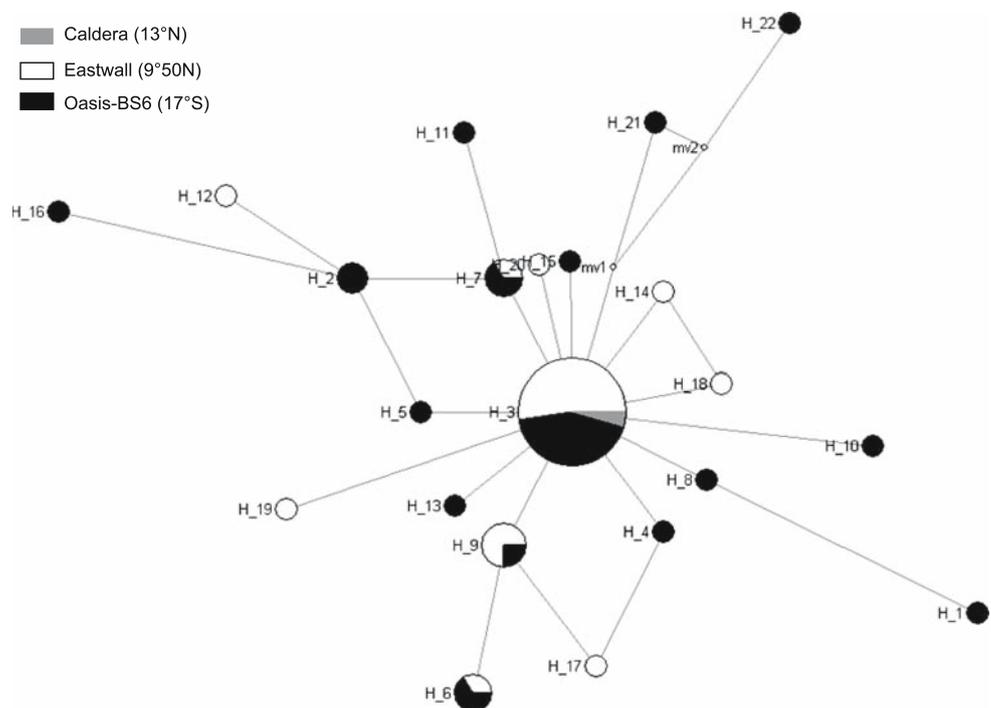


Fig. 9 Haplotypic network showing the evolutionary relationships between mitochondrial haplotypes of *Lepetodrilus elevatus* for the southern clade. Circles represent haplotypes with the surface of each circle representative of the frequency with which it occurred in the total sample



the EPR between 21°N and 9°N which were tentatively identified as *L. elevatus* and *L. galriftensis*. These authors indeed stated that no allozymes (i.e. electrophomorphs) were shared between these two morphological forms of *Lepetodrilus*. In the present study, all enzyme loci display shared alleles [loci are similar to those analysed by Craddock et al. (1997), see Table 2] and thus do not correspond to the species referred as *L. galriftensis* by Craddock et al. (1997) nor to *L. e. galriftensis sensu* McLean on the basis of the shell morphology. These results demonstrate therefore the occurrence of two cryptic species within *L. elevatus sensu stricto* that were not detected previously.

The first lineage is restricted to the northern part of the EPR, from 13°N to 9°50'N, while the second lineage is mostly found in the south, from 9°50'N to 17°S. Only one individual from the off-axis Caldera site at 13°N was assigned to the southern lineage. This assertion was highly supported by both mitochondrial haplotypes and allozyme frequencies. The two clades of mtCOI haplotypes, separated by 15 substitutions on the ML tree were concordant with groups already discriminated by the correspondence analysis performed on the allozyme dataset. If no diagnostic allele has been detected in the present study, latitudinal clines in allele frequencies are observed for five

out of seven allozyme loci. Linkage disequilibria at enzyme loci as well as highly significant heterozygote deficiencies for the whole 9°50'N sample, confirmed the admixture of two differentiated genetic entities in this region. Conversely, the two nuclear loci failed to be diagnostic for the discrimination of these two clades but displayed a significant isolation-by-distance relationship related to an allelic cline at the *lep1* locus. Two hypotheses can explain this result. On one hand, indels that cause allelic differentiation may have the same size but different positions in the sequence and, thus could represent homoplasious states between the clades. On the other hand, this may indicate gene flow across a semi-permeable barrier for neutral alleles, while other genetic markers would be counter-selected and not traverse the barrier. Lastly, indel polymorphisms found at these two loci may have been present in the ancestor predating the speciation and (re)colonisation events. Several evolutionary mechanisms have been proposed to explain the retention of ancestral polymorphism. First, selection can maintain specific allelic forms despite different speciation events. Second, alleles behaving neutrally can also persist if effective population size is large enough to limit their elimination by genetic drift (Goodacre and Wade 2001). Only one allele (i.e. *lep1-550*) restricted to the population from 17°S seemed to have appeared after the lineage separation. At any rate, the different status of *lep* and allozymes alleles as regards ancestral polymorphism, secondary exchanges and allelic frequency shifts, remains a pending question.

Divergence between mtCOI sequences ranged from 0 to 1.1% within the northern clade, and from 0 to 2.8% within the southern clade, but reached 6.5% between the two clades. Although Knowlton (2000) pointed out that the degree of genetic divergence between the distinct species can be highly variable, these distances correspond to intra- and inter-specific levels of divergence previously reported in other vent species. In the *Lepetodrilus* genus, a divergence of 7.3% was observed between mtCOI sequences of *L. fuscensis* and *L. gordensis* in the northeastern Pacific (Johnson et al. 2006). In bivalves, such a divergence ranged from 3.9 to 10.3% between distinct lineages of two species-complex of vesycomid clams (Goffredi et al. 2003) whereas a 4.4% divergence separated cryptic species of *Bathymodiolus* sp. across the Eastern microplate (Won et al. 2003). Multiple cryptic species of *Oasisia* tubeworms along the EPR exhibited a divergence ranging 2.6–9.7% (Hurtado et al. 2002). The two lineages of *L. elevatus* observed along the EPR could therefore be recognized as two sibling species. Even if criteria to erect new species are diverse, the fact that these lineages can be distinguished from multiple and independent genes, increase our confidence that they correspond to two discrete evolutionary units (Avice and Wolleberg 1997). Nevertheless, the

presence of a few intermediate individuals on nuclear genes suggested that these lineages may hybridise at 9°50'N and probably, locally, at 13°N (Julie and Caldera sites). This was confirmed by the presence of one individual from 9°50'N assigned to the southern clade from mitochondrial DNA and to the northern clade from allozymes.

Even if there is an overlap between the three species, the morphological analysis indicated that the shell of the two sibling species of *L. elevatus* differed from that of *L. e. galriftensis*. As reported by McLean (1988), *L. e. galriftensis* is characterised by a lower shell elevation. By contrast, no difference has been detected between the two sibling species in their shell morphology. This absence of difference supported previous genetic studies on other vent species that led to the unexpected discovery of highly divergent sympatric taxa with the same morphology (Peek et al. 1997; Goffredi et al. 2003; Won et al. 2003). For mollusks, differences in shell shape and morphology can be phylogenetically constrained but can also reflect an environmental morphological plasticity which appears to be a common trait for vent endemic organisms (Black et al. 1994; Southward et al. 1996). Although differences in shell morphology like shape, decoration and colour, are diagnostic for the identification of *Lepetodrilidae* species, observations of the soft part of the body could be essential to discriminate between sibling species (Johnson et al. 2006).

Speciation processes

Vicariance plays an important role in the differentiation of hydrothermal vent populations through topographical barriers and global deep-sea oceanic circulation that alter along axis larval dispersal (Van Dover et al. 2002). A shift between NEPR and SEPR with various distributional limits has been already described along the East Pacific Rise in relation to different dispersal filters for a number of vent species like mussels (Won et al. 2003) and polychaetes (Hurtado et al. 2004). These filters included (1) a strong westward current that crosses the ridge axis at 15°S, (2) strong eastward deep-sea equatorial currents that create abrupt northern and southern gyres on both sides of the Equator, (3) the triple junction between the Galapagos Rift (GAR) and the EPR and (4) the succession of large transform faults reported between 17°S and the triple junction between GAR and EPR (e.g. Garrett, Wilkes and Discovery; see Chevaldonné et al. 1997). In the present study, the presence of the southern lineage of *L. elevatus* at 9°50'N suggests that dispersal filters mentioned above are probably inefficient to explain the speciation processes among the *L. elevatus* complex.

Tectonic history of mid-ocean ridges could also be responsible for vicariant events on the hydrothermal fauna that often led to genetic breaks in numerous species (Tunnicliffe and Fowler 1996). A tectonic model proposed for the evolution of the southern East Pacific Rise from the end of the Oligocene till recent days highlighted (1) a major reorganisation and reorientation of the spreading centre between 20 and 18.5 Mya, which remains active until the present south to 13°S, and (2) the formation of a temporary plate (i.e. Bauer plate) between 8.2 and 6.5 Mya north of 13°S (Mammerickx et al. 1980). Similar to the present-day Easter Microplate which is an important geographical barrier to gene flow (Won et al. 2003, Hurtado et al. 2004), this temporary plate could have led to a vicariant event that might account for allopatric speciation of the two lineages. Different molecular rates have been used to estimate the time of divergence between the two lepetodrilid lineages. With a substitution rate of 0.23% defined for vent annelids on the basis of the age separation of the EPR from the northern ridge complex (i.e. Juan de Fuca/Gorda/Explorer), (Chevaldonné et al. 2002), the separation would have occurred 14 Mya. Using the same period, Johnson et al. (2006) refined a substitution rate of 0.56% for mtCOI in *Lepetodrilidae* species, which in our case, decreases the time of divergence to 6 Mya. Although evolutionary rates can vary greatly through time and among taxa, and should be cautiously interpreted, a divergence time ranging between 6 and 14 Mya since the separation of the two evolutionary lineages of *L. elevatus* would corroborate the role of the Bauer plate in the lineages differentiation. Following that the southern population has, in a recent past, undergone a demographic expansion, colonising progressively new venting areas, this may explain why a secondary contact actually occurs at the 9°50'N with potential hybridisation.

Moreover, this vicariant event has been probably reinforced by a partial habitat specialisation of each lineage as suggested by the differences in the fauna they were associated with. While both lineages were sampled at 9°50'N, their mixing was found highly dependant on the proportion of mussels and vestimentiferan tubeworms in the assemblages. The southern clade was mainly reported from mussel beds and colonies of clams at 17°S and communities dominated by mussel beds at 9°50'N. Conversely, the northern clade was highly dominant at 13°N where communities were mainly composed of *Riftia pachyptila* clumps with some scarce mussels. Then, the geographical expansion of the southern lineage to the north could be limited to mussel-dominated habitats for which the individuals may be pre-adapted.

Given the high spatial and temporal heterogeneity of hydrothermal environment, organisms are likely to adapt to a particular resource and/or physico-chemical environment. The hypothesis of sympatric speciation between the two

Lepetodrilus elevatus lineages can therefore not be ruled out, and different processes could be proposed to explain such a speciation: (1) habitat preferences may split a species by strong diversifying selective processes if gene flow is reduced and/or populations greatly fluctuate in size, (2) disruptive selection combined with habitat-based assortative mating can rapidly lead to reproductive isolation (Palumbi 1994). More geographic samples are therefore needed to discriminate between these alternative speciation processes.

Past and recent demographic histories in the southern and northern clades

According to a faster evolution rate in mitochondrial genes as compared to enzyme genes, contrasting patterns in allozyme and mitochondrial diversities occurred when populations deviate from the mutation-drift equilibrium in response to continuous population reduction and expansion as reported for different vent species (Hurtado et al. 2004). Both the mitochondrial nucleotidic diversity and gene heterozygosity were almost similar between populations of the two clades, suggesting that these clades are still expanding since speciation. Nevertheless, significant deviation from neutral expectation could also be the result of nearly simultaneous selective sweep since mtDNA can be subjected to recurrent adaptative selection (Bazin et al. 2005). However, the 17°S samples displayed a low allelic richness, a significant excess of heterozygotes at almost all loci and the presence of fixed alleles that may indicate the occurrence of a very recent and local bottleneck in populations of the southern EPR. This assumption is greatly strengthened by significant departure to the mutation-drift equilibrium under the Infinite Allele model of mutations. This fits well with in situ observations of the southern venting fields during the Biospedo cruise that indicated the occurrence of numerous vent extinctions in the vicinity of 17°S as compared to previous observations made on deep-sea assemblages in 1993 (Naudur cruise, chief scientist: J.M. Auzende) and 1999 (SEPR Alvin cruise, chief scientists: R.C. Vrijenhoek and J. Lupton). Such demographic changes could be then explained by frequent volcanic eruptions which favour the local extinction of existing vent communities and the recolonisation of new vents along ultra fast-spreading ridge systems like SEPR (Haymon et al. 1991). However, these metapopulation processes are likely to alter the relationship between genetic differentiation and gene flow by influencing *F* Statistics (Jollivet et al. 1999).

For each clade, genetic differentiation between nearby vents distant from 0.1 to 1 km was as important as between vent fields distant from 330 to 3,000 km, suggesting that

dispersal processes may be greatly balanced by extinction/recolonisation processes and thus may play a minor role in structuring populations or can be locally biased by hybridisation between lineages. Such result is coherent with previous observations showing a relative genetic homogeneity in *Lepetodrilus elevatus* populations from 21°N to 9°50'N (Craddock et al. 1997). Although these authors suggested a potential “stepping-stone” dispersal pattern, their analysis could be partly biased by either recolonisation processes or the mixing of the two sibling species in samples from 9°50'N.

Little is known about larval life span and dispersal of lepetodrilids although previous records supported the hypothesis of reduced effective dispersal capabilities. Morphological analyses of the larval shell suggested that these species possess a nonplanktotrophic mode of development and dispersal limitation even if numerous factors may affect larval life span (Lutz et al. 1986; Craddock et al. 1997). Furthermore, most *Lepetodrilus* spp. larvae being confined within a few meters above the seafloor could be mainly transported by relatively slow near-bottom currents (Mullineaux et al. 2005). By contrast, megaplumes associated with frequent seafloor volcanic eruptions could favour pulses of communication between vent invertebrate populations along ridge segments of fast-spreading ridges like the SEPR (Chevaldonné et al. 1997; Jollivet et al. 1999) and could then promote genetic homogenisation of populations at a large scale.

Acknowledgements We thank the crew and pilots of the *RV Atalante* and the *DSV Nautille* for their assistance and technical support during the cruises HOPE'99 and BioSpeedo'04. We also thank François Lallier, chief scientist of the HOPE'99 cruise who allowed us to collect material. We are indebted to T. Shank and J.H. McLean who provided samples from the 9°50'N vent field and Galapagos Rift, respectively. We also thank the platform GENOMER for sequences acquisition and P. Labbe and J. de Barry for their help in DALP markers production. This work was partly funded by the programme Dorsales and the GDR Ecchis (Ifremer, CNRS). It is a part of M.M. PhD thesis supported by a grant from the French Ministry of National Education and Research.

References

Avisé JC, Wollenberg K (1997) Phylogenetics and the origin of species. *Proc Biol Soc Wash* 94:7748–7755

Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16:37–48

Bazin E, Glemin S, Galtier N (2005) Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals. *Science* 312:570–572

Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (1996–2004) GENETIX 4.05, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France)

Black MB, Lutz RA, Vrijenhoek RC (1994) Gene flow among vestimentiferan tube worm (*Riftia pachyptila*) populations from hydrothermal vents of the eastern Pacific. *Mar Biol* 120:33–39

Black MB, Trivedi A, Maas PAY, Lutz RA, Vrijenhoek RC (1998) Population genetics and biogeography of vestimentiferan tube worms. *Deep Sea Res II* 45:365–382

Chevaldonné P, Jollivet D, Vangriesheim A, Desbruyères D (1997) Hydrothermal-vent alvinellid polychaete dispersal in the eastern Pacific. 1. Influence of vent site distribution, bottom currents, and biological patterns. *Limnol Oceanogr* 42:67–80

Chevaldonné P, Jollivet D, Desbruyères D, Lutz RA, Vrijenhoek RC (2002) Sister-species of eastern Pacific hydrothermal vent worms (Ampharetidae, Alvinellidae, Vestimentifera) provide new mitochondrial COI clock calibration. *Cah Biol Mar* 43:367–370

Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001–2014

Craddock C, Lutz RA, Vrijenhoek RC (1997) Patterns of dispersal and larval development of archaeogastropod limpets at hydrothermal vents in the eastern Pacific. *J Exp Mar Biol Ecol* 210:37–51

Desbruyères D, Segonzac M, Bright M (2006) Handbook of deep-sea hydrothermal vent fauna, 2nd edn. *Denisia* 18:1–544

Desmarais E, Lanneluc I, Lagnel J (1998) Direct amplification of length polymorphism (DALP), or how to get and characterise new genetic markers in many species. *Nucleic Acids Res* 26:1458–1465

Folmer O, Black MB, Hoeh WR, Lutz RA, Vrijenhoek RC (1994) DNA primers for the amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol* 3:294–299

Fu YX, Li WH (1993) Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* 133:693–709

Goffredi SK, Hurtado LA, Hallam S, Vrijenhoek RC (2003) Evolutionary relationships of deep-sea vent and cold seep clams (Mollusca: Vesicomidae) of the “*pacifica/lepta*” species complex. *Mar Biol* 142:311–320

Goodacre SL, Wade CM (2001) Patterns of genetic variation in Pacific Island land snails: the distribution of cytochrome b lineages among Society Island *Partula*. *Biol J Linn Soc* 73:131–138

Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet J (1995) FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate *F*-statistics. *J Hered* 86:485–486

Guinot D, Hurtado LA (2003) Two new species of hydrothermal vent crabs of the genus *Bythogrea* from the southern East Pacific Rise and from the Galapagos rift (Crustacea Decapoda Brachyura Bythograeidae). *C R Biol* 326:423–439

Haymon RM, Fornari DJ, Edwards MH, Carbotte S, Wright D, McDonald KC (1991) Hydrothermal vent distribution along the East Pacific Rise Crest (9°09'–54'N) and its relationship to magmatic and tectonic processes on fast-spreading mid-ocean ridges. *Earth Planet Sci Lett* 104:513–534

Hurtado LA, Mateos M, Lutz RA, Vrijenhoek RC (2002) Molecular evidence for multiple species of *Oasisia* (Annelida: Siboglinidae) at eastern Pacific hydrothermal vents. *Cah Biol Mar* 43:377–380

Hurtado LA, Lutz RA, Vrijenhoek RC (2004) Distinct patterns of genetic differentiation among annelids of eastern Pacific hydrothermal vents. *Mol Ecol* 13:2603–2615

Johnson SB, Young CR, Jones WJ, Warén A, Vrijenhoek RC (2006) Migration, isolation, and speciation of hydrothermal vent limpets (Gastropoda; Lepetodrilidae) across the Blanco Transform Fault. *Biol Bull* 210:140–157

- Jollivet D (1996) Genetic diversity and biodiversity at deep-sea hydrothermal vents: an overview. *Biodivers Conserv* 5:1619–1653
- Jollivet D, and the Shipboard Scientific Party (2005) The BIOSPE-EDO cruise: a new survey of hydrothermal vents along the South East Pacific Rise from 7°24'S to 21°33'S. *InterRidge News* 13:20–26
- Jollivet D, Desbruyères D, Moraga D, Bonhomme F (1995) Genetic differentiation of deep-sea hydrothermal vent alvinellid populations (Annelida: Polychaeta) along the East Pacific Rise. *Heredity* 74:376–391
- Jollivet D, Chevaldonné P, Planque B (1999) Hydrothermal-vent alvinellid polychaete dispersal in the eastern Pacific. 2. A metapopulation model based on habitat shifts. *Evolution* 53:1128–1142
- Karl SA, Schutz SJ, Desbruyères D, Lutz RA, Vrijenhoek RC (1996) Molecular analysis of gene flow in the hydrothermal-vent clam *Calypptogena magnifica*. *Mol Mar Biol Biotech* 5:193–202
- Kimura M, Weiss GH (1964) The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics* 49:561–576
- Knowlton N (1993) Sibling species in the sea. *Annu Rev Ecol Syst* 24:189–216
- Knowlton N (2000) Molecular genetic analyses of species boundaries in the sea. *Hydrobiologia* 420:73–90
- Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM, Sherwin WB (1998) Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *J Hered* 89:238–247
- Lutz RA, Bouchet P, Jablonski D, Turner RD, Warén A (1986) Larval ecology of molluscs at deep-sea hydrothermal vents. *Am Malacol Bull* 4:49–54
- McLean JH (1988) New archaeogastropod limpets from hydrothermal vents: superfamily Lepetodrilacea. I. Systematic descriptions. *Philos Trans R Soc Lond B* 319:1–32
- Mammerickx J, Herron E, Dorman L (1980) Evidence for two fossil spreading ridges in the southeast Pacific. *Geol Soc Am Bull* 91:263–271
- Marsh AG, Mullineaux LS, Young CM, Manahan DT (2001) Larval dispersal potential of the tubeworm *Riftia pachyptila* at deep-sea hydrothermal vents. *Nature* 411:77–80
- Metaxas A (2004) Spatial and temporal patterns in larval supply at hydrothermal vents in the northeast Pacific ocean. *Limnol Oceanogr* 49:1949–1956
- Mosimann JE (1970) Size allometry: size and shape variables with characterizations of the lognormal and generalized gamma distributions. *J Am Stat Assoc* 65:930–945
- Mosimann JE, James FC (1979) New statistical methods for allometry with application to Florida red-winged blackbirds. *Evolution* 33:444–459
- Mullineaux LS, Wiebe PH, Baker ET (1995) Larvae of benthic invertebrates in hydrothermal vent plumes over Juan de Fuca Ridge. *Mar Biol* 122:585–596
- Mullineaux LS, Mills SW, Sweetman AK, Beaudreau AH, Metaxas A, Hunt HL (2005) Vertical, lateral and temporal structure in larval distributions at hydrothermal vents. *Mar Ecol Prog Ser* 293:1–16
- O'Mullan GD, Maas PAY, Lutz RA, Vrijenhoek RC (2001) A hybrid zone between hydrothermal vent mussels (Bivalvia: Mytilidae) from the Mid-Atlantic Ridge. *Mol Ecol* 10:2819–2831
- Palumbi SR (1994) Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annu Rev Ecol Syst* 25:547–572
- Pasteur N, Pasteur G, Bonhomme F, Catalan J, Britton-Davidan J (1987) Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines. Lavoisier, Paris
- Peek AS, Gustafson RG, Lutz RA, Vrijenhoek RC (1997) Evolutionary relationships of deep-sea hydrothermal vent and cold-water seep clams (Bivalvia: Vesicomidae): results from the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I. *Mar Biol* 130:151–161
- Posada D, Crandall KA (1998) MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14:817–818
- Pradillon F, Shillito B, Young CM, Gaill F (2001) Developmental arrest in vent worm embryos. *Nature* 413:698–699
- Ramos-Onsins SE, Rozas J (2002) Statistical properties of new neutrality against population growth. *Mol Biol Evol* 19:2092–2100
- Rozas J, Sanchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19:2496–2497
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd Edn. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) Arlequin (V2.0): Software for population genetics data analysis. Genetics and biometry laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva, Geneva
- Slatkin M (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47:264–279
- Southward EC, Tunnicliffe V, Black M (1996) Revision of the species *Ridgeia* from northeast Pacific hydrothermal vents, with a redescription of *Ridgeia piscesae* Jones (Pogonophora: Obturata = Vestimentifera). *Can J Zool* 73:282–295
- Swofford DL (2002) PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts
- Tunnicliffe V, Fowler CMR (1996) Influence of sea-floor spreading on the global hydrothermal fauna. *Nature* 379:531–533
- Van Dover CL (2000) The ecology of deep-sea hydrothermal vents. Princeton University Press, Princeton
- Van Dover C, German CR, Speer KG, Parson LM, Vrijenhoek RC (2002) Evolution and biogeography of deep-sea vent and seep invertebrates. *Science* 295:1253–1257
- Vrijenhoek RC (1997) Gene flow and genetic diversity in naturally fragmented metapopulations of deep-sea hydrothermal vents animals. *J Hered* 88:285–293
- Vrijenhoek RC, Shank TM, Lutz RA (1998) Gene flow and dispersal in deep-sea hydrothermal vent animals. *Cah Biol Mar* 39:363–366
- Warén A, Bouchet P (2001) Gastropoda and Monoplacophora from hydrothermal vents and seeps; new taxa and records. *Veliger* 44:116–231
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358–1370
- Won Y, Young CR, Lutz RA, Vrijenhoek RC (2003) Dispersal barriers and isolation among deep-sea mussel populations (Mytilidae: *Bathymodiolus*) from eastern Pacific hydrothermal vents. *Mol Ecol* 12:169–184
- Wright S (1943) Isolation by distance. *Genetics* 28:114–138

1 **Running head: Physico-chemical habitat and hydrothermal fauna**

2
3
4 **Role of physico-chemical environment on gastropod assemblages at**
5 **hydrothermal vents on the East Pacific Rise (13°N/EPR)**
6

7
8
9 Marjolaine Matabos¹, Nadine Le Bris², Sophie Pendlebury³ and Eric Thiébaud^{4*}

10
11
12 ¹ Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Milieux et Peuplements Aquatiques,
13 UMR 5178 BOME (MNHN, UPMC, CNRS), CP53, 61 rue Buffon,
14 F-75231 Paris cedex 05, France

15 ² Ifremer, Département Etude des Ecosystèmes Profonds, BP70, F-29280 Plouzané, France

16 ³ Southampton Oceanography Centre, European Way, Southampton, SO14 3ZH, UK

17 ⁴ Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Station Biologique de Roscoff, UMR 7144 (CNRS,
18 UPMC), BP 74, F-29682 Roscoff cedex, France

19
20
21
22
23 * Corresponding author: Eric THIEBAUT

24 Tel: + 33 (0)2 98 29 25 31

25 Fax: + 33 (0)2 98 29 23 24

26 e-mail: thiebaut@sb-roscoff.fr

27 **Abstract**

28 Deep-sea hydrothermal vents display extreme and highly variable environmental conditions
29 that are expected to be among the most important factors structuring associated benthic
30 populations and communities. We tested this assumption, focusing on the distribution of
31 gastropods, as well as on the demographic population structure and reproductive biology of
32 one dominant gastropod species in zones characterized by alvinellid polychaetes and
33 vestimentiferan tubeworms. A total of 14 biological samples from both types of habitats were
34 collected at three sites on the East Pacific Rise 13°N vent field in May 2002. At all vents
35 except one, the physico-chemical environment was described in two steps: (1) pH, total
36 sulphide and reduced iron concentrations have been measured *in situ* in *Alvinella* habitats and
37 correlations to temperature were assessed at the scale of each sampled vent; (2) assuming the
38 consistency of these relationships within a single edifice, ranges of physico-chemical factors
39 were estimated for each biological sample from the corresponding fine scale temperature
40 measurements. A total of 11 gastropod species were identified from all samples and 2 main
41 faunal assemblages were distinguished: one dominated by *Lepetodrilus elevatus* in the
42 alvinellid zone as well as in the vestimentiferan zone, and one dominated by the the
43 peltospirids *Nodopelta heminoda*, *N. subnoda*, and *Peltoospira operculata* confined to the
44 alvinellid zone. Peltospirid gastropods were dominant over lepetodrilid gastropods in the
45 more acidic, sulphide-richer, and hotter environments. Although this pattern could be related
46 to specific physiological tolerances to temperature and sulphide toxicity, the weak correlation
47 between community structure and physico-chemical variables suggests that additional factors
48 are also involved. Particularly, the low species richness and the overwhelming dominance of
49 *L. elevatus* in one faunal assemblage suggest that this species may outcompete peltospirids
50 and greatly affect community structure. This hypothesis is supported by large differences in

51 the demographic structure and reproductive biology of *L. elevatus* between the 2 faunal
52 assemblages.

INTRODUCTION

53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77

Deep-sea hydrothermal vents host highly productive communities fueled primarily by chemosynthetic microbial production and characterized by low species richness but high proportion of endemic species, and a large biomass in contrast with the surrounding deep-sea floor. The limited lifespan of vent sites, related to sea-floor spreading rate and frequent volcanic eruptions, leads to the creation of ephemeral and transient habitats, patchily distributed around vent sites separated from 10s of meters to 100s of kilometers. Within a single vent site, the high spatio-temporal variability of environmental conditions in terms of temperature, pH, and concentrations of oxygen, sulphide and metals (Johnson et al., 1994; Sarradin et al., 1998; Le Bris et al., 2003, 2006b) produces a mosaic of habitats with contrasted biological characteristics (Sarrazin et al., 1997; Shank et al., 1998; Sarrazin & Juniper, 1999). Organisms are distributed in different assemblages around the vent, and their composition varies in space and time in relation with the decreasing gradient of fluid exposure, the physical structure of the mineral substrate and the temporal dynamics of vent colonization (Sarrazin et al., 1997; Shank et al., 1998). On the East Pacific Rise (EPR), 4 main megafaunal assemblages have been described: (i) alvinellid polychaete colonies restricted to the most active areas of chimney walls with high-temperature emissions, (ii) vestimentiferan tubeworm assemblages in recent and active diffuse flow areas, (iii) bivalve assemblages in moderate and older diffuse flow areas and (iv) suspension-feeder assemblages dominated by serpulid polychaetes and barnacles at the periphery of vents in seawater with little or no hydrothermal influence (Jollivet, 1996; Shank et al., 1998).

The influence of environmental factors in shaping hydrothermal communities appears quite complex, and some non-exclusive hypotheses are still debated. According to the correspondence between physico-chemical gradients and faunal zonation, several ecological studies have related the variability of faunal composition in space and time to changes in

78 environmental conditions, putting much emphasis on physiological tolerances and nutritional
79 requirements of organisms (Sarrazin et al., 1997; Shank et al., 1998). In this context, two
80 physico-chemical parameters were commonly referred to as potentially determinant:
81 temperature (Bates et al., 2005; Mills et al., 2007), and sulphide which is both a major
82 electron donor for chemoautotrophic microbes and a potent poison for aerobic organisms
83 (Childress & Fisher, 1992). However, more than total sulphide concentration, it was pointed
84 out that differences in chemical speciation of sulphide among habitats may be a key-factor
85 driving the distribution of species (Luther et al., 2001). Although total acid-volatile sulphide
86 concentrations ($\text{H}_2\text{S} + \text{HS}^- + \text{FeS}(\text{aq})$) was shown to be at least 5 times higher in an *Alvinella*
87 *pompejana* colony than in a *Riftia pachyptila* clump, these authors found that $\text{FeS}(\text{aq})$ was the
88 dominant sulphide phase in the former habitat while free sulphide ($\text{H}_2\text{S} + \text{HS}^-$) was the major
89 form in the latter. FeS formation was therefore proposed to act as a sulphide detoxification
90 mechanism in *Alvinella* colonies. The importance of this process depends largely on the
91 dissolved iron to sulphide ratio which is known to be highly variable among habitats (Le Bris
92 & Gaill, 2007; Le Bris et al., 2006a), resulting of end-member fluid composition variability in
93 space and time (Von Damm & Lilley, 2004). Conversely, Govenar et al. (2005) showed that
94 the structure and composition of the epifaunal community associated with different *R.*
95 *pachyptila* clumps were remarkably similar between sites and independent of sulphide and
96 iron concentrations. Likewise, Mullineaux et al. (2000) suggested that the settlement of the
97 two vestimentiferan species, *R. pachyptila* and *Oasisia alvinae*, was independent of tolerances
98 to physico-chemical conditions but rather facilitated by the occurrence of *Tevnia jerichonana*.
99 While biotic interactions between organisms (i.e. facilitation, competition, predation) could be
100 major determinants of community structure (Micheli et al., 2002), they were shown to vary
101 along the gradient of flow intensity with facilitation processes occurring at the periphery of
102 vents, where animal density is lower, and inhibition processes occurring in the high diffuse

103 vent flow areas (Mullineaux et al., 2003). More recently, Mills et al. (2007) suggested that
104 most hydrothermal gastropod species are not exclusive to a specific megafaunal zone as they
105 may occupy specific microhabitats.

106 In other respects, physico-chemical conditions could also play a significant role on
107 population dynamics of deep-sea hydrothermal species (e.g. growth, survivorship,
108 reproduction) although very few studies addressed directly these questions (Mullineaux et al.,
109 1998; Copley et al., 2003; Kelly & Metaxas, 2007). While reproductive cycles of lepetodrilids
110 were described to be quasi-continuous within females and asynchronous among females
111 (Pendlebury, 2004), Kelly & Metaxas (2007) reported that the rate of gametogenesis of
112 *Lepetodrilus fucensis* could vary between habitat types. By controlling the abundance and the
113 turnover of local populations, one can expect that these spatial variations in biological
114 features may affect the intensity of biological interactions and the structure of benthic
115 communities.

116 On hydrothermal vents of the East Pacific Rise, the alvinellid polychaetes *A.*
117 *pompejana* and *A. caudata* inhabit the surface of active sulphide structures, presumably in the
118 most hypoxic and toxic conditions found in these environments (Le Bris & Gaill, 2007), and
119 are known as the very first macrofaunal colonizers of new chimney habitats (Pradillon et al.,
120 2005b; Taylor et al., 1999). In these extreme environmental conditions, biological adaptations
121 and community structure are expected to be mostly driven by biogeochemical processes
122 (Luther et al., 2001). However, most studies on processes involved in hydrothermal
123 community structure were conducted on mussel beds or vestimentiferan clumps (Micheli et
124 al., 2002; Mullineaux et al., 2003; Tsurimi & Tunnicliffe, 2003; Van Dover, 2003; Govenar et
125 al., 2004; Dreyer et al., 2005) and faunal distribution in *Alvinella* colonies remains poorly
126 known (Desbruyères et al., 1998). Focusing on gastropods, which represent a major part of
127 vent fauna in terms of density and diversity in different habitats (Jollivet, 1996; Mills et al.,

128 2007) the aims of the present study were: (1) to better characterize the physico-chemical
129 variability of habitats at the surface of *A. pompejana* colonies from the 13°N-EPR vent field,
130 from the assessment of, both, fine scale temperature ranges and correlations of temperature
131 with chemical factors that were measured *in situ*; pH, sulphide and iron concentrations ranges
132 were thus determined over spatial scales as relevant as possible to the conditions experienced
133 by gastropods; (2) to relate these environmental ranges to the variability in the composition of
134 faunal assemblages at different scales; and (3) to assess the relationships between population
135 biology and environmental conditions with *Lepetodrilus elevatus* as an example. This species
136 was chosen as it displayed a wide distribution in hydrothermal habitats (Mills et al., 2007) and
137 was reported to be a highly competitive species in hydrothermal faunal assemblages (Micheli
138 et al., 2002). Additional samples from *R. pachyptila* clumps were also analysed for
139 comparison with *Alvinella* habitats.

140

141 MATERIALS AND METHODS

142 *Study sites*

143 All physico-chemical and biological data were collected using the ROV Victor 6000
144 during the PHARE cruise carried out in May 2002 on the 13°N vent field along the East
145 Pacific Rise (EPR). A hierarchical sampling method involving three spatial scales was
146 undertaken for biological sampling (Table 1): (1) three vent sites, Genesis, Parigo and Elsa
147 located at a depth of ~ 2620 m and spaced by 100s of meters, (2) two active sulphide
148 structures (here referred to as ‘vents’) within each site at a scale of 10s of meters, and (3) one
149 to six samples within each structure at a scale of meters. On the Genesis site, the PP12 vent is
150 a small diffuser colonized by dense colonies of *Alvinella pompejana* at the top and *Riftia*
151 *pachyptila* clumps around. On the opposite, the Hot 2 vent consisted in a large diffuse flow
152 area on the side of a cliff with dense colonies of *R. pachyptila* and no *A. pompejana* colony

153 present. The Parigo site was composed of three sulphide edifices including two small
154 diffusers and one tall chimney. The PP-Ph05(1) diffuser is covered by dense *A. pompejana*
155 colonies largely mixed with *R. pachyptila* tubes while the PP-Ph05(2) vent is a high chimney
156 with large colonies of *A. pompejana* or uncolonized surfaces on the upper half and *R.*
157 *pachyptila* clumps on its basis. On the Elsa site, PP-Ph01 vent is a massive black smoker
158 inhabited by large colonies of *A. pompejana*, at the top and intermediate height, and the
159 occurrence of large uncolonized surfaces. The Hot 3 vent is a 3 meter diameter white smoker
160 with dense colonies of *A. pompejana* at the top and *R. pachyptila* clumps around (Pradillon et
161 al., 2005a).

162

163 *Chemical analysis and definition of environmental parameters*

164 In a first step, extensive *in situ* measurements of temperature, pH, total sulphide and
165 reduced iron in the environment surrounding the gastropods, were conducted for each vent
166 during different dives, using the submersible flow analyser Alchimist (AnaLyseur CHIMIQUE
167 In SiTu) combined to temperature and pH probes (Le Bris et al., 2000). Colorimetric flow
168 injection analysis (FIA) methods were used to detect the most labile fraction of acid volatile
169 sulphide S(-II) and labile forms of ferrous iron, Fe(II). S(-II) includes free sulphide forms,
170 aqueous iron sulphide forms and freshly precipitated iron sulphide colloids (i.e. HS⁻, H₂S,
171 FeS(aq), Fe(HS)⁺, FeS(am)) (Le Bris et al., 2003). *In situ* pH measurements were made using
172 an autonomous deep-sea sensor (MICREL, France) equipped with a combined glass electrode
173 and a miniaturized thermocouple that was specifically designed for these hydrothermal
174 environments (Le Bris et al., 2001). Due to logistical constraints, no chemical data was
175 available for the *Riftia* zone at Genesis Hot 2 vent which was therefore excluded from the
176 analysis on the relationships between biological and environmental data.

177 For each vent, this first step allowed to assess the relationships between temperature
178 and sulphide, iron, and pH respectively, assuming the conservative mixing of a local
179 hydrothermal fluid and seawater for a single alvinellid aggregation. This conservative mixing
180 assumption was shown to be consistent for the water layer at the surface of an alvinellid
181 colony in the vicinity of a local source (Le Bris et al., 2005). Hence, iron and sulphide
182 concentrations could be estimated for each sample using the linear correlations established for
183 the corresponding hydrothermal structure. Similarly, pH was estimated from empirical
184 logarithmic correlations. In a second step, just before biological sampling, time-series
185 measurements of temperature over duration ranging from 1 to 50 min were performed at 1 to
186 5 sampling locations in the biological sampling area using the Pt100 temperature probe of the
187 ROV Victor 6000 (Table 1). To ensure that they are representative of the micro-habitats
188 surrounding the organisms, time-series were selected from the close-up video imagery
189 acquired simultaneously, and only data corresponding to a probe position ~ 0-2 cm above the
190 surface of the *Alvinella* colony were retained. For each biological sample, mean, maximum
191 and minimum temperature were then defined while mean, minimal and maximal values of
192 pH, sulphide and iron were calculated from the correlations previously established for each
193 vent.

194

195 *Biological samples collection*

196 All biological samples were obtained from *Alvinella pompejana* colonies, except two
197 of them which corresponded to the collection of *Riftia pachyptila* clumps. Fauna was
198 collected using the hydraulic arm of the ROV, occasionally completed with the ROV suction
199 device, on an area from ~ 400 to 700 cm². On board, samples were washed on a 1 mm mesh
200 sieve and fixed with 10% neutral formalin in seawater. In the laboratory, all gastropods

201 specimens were sorted, identified to the species level when possible and then transferred to
202 70° ethanol.

203

204 *Analysis of community structure*

205 Multivariate analyses were performed with the software Primer v.5 in order to group
206 the samples according to their faunal composition using the Bray-Curtis similarity index
207 calculated from standardized and square-root transformed species-abundance data. The initial
208 standardization consists in calculating the relative abundance of each species by dividing each
209 count by the total abundance of all individuals in the sample, and consequently removes any
210 effect due to differences in sample volumes (Clarke & Warwick, 2001). Data were presented
211 using two complementary graphic approaches: cluster using group-average linking, and non-
212 metric multi-dimensional scaling (NMDS). For each faunal assemblage, species-effort
213 accumulation curves with 95% confidence intervals were generated from species-abundance
214 data using EstimateS v.7.5 (Colwell, 2005) to compare biodiversity distribution from samples
215 of very different size.

216 In order to assess the environment influence on the community structure, faunal data
217 were linked to environmental factors using the BIO-ENV procedure within the Primer
218 program (Clarke & Ainsworth, 1993). The different steps of this procedure are as follows. A
219 biotic matrix based on Bray-Curtis similarity index from faunal data and abiotic matrices
220 based on the Euclidian distance from environmental factors are established. While the among-
221 samples similarity matrix was calculated once, the equivalent matrix on abiotic data was
222 computed many times at different levels of complexity (i.e. k variables at a time, where $k =$
223 1,2,3,..., n). The best matches of biological and environmental matrices at increasing levels of
224 complexity were measured using the Spearman rank correlation coefficient (ρ_w). Minimal
225 values of temperature, S(-II) and Fe(II), and maximal pH were excluded from the analysis as

226 they were assumed to not be significant for organisms distribution. The natural turbulence of
227 the environment and the difficulties for precise positioning of probes restricted the reliable
228 definition of these extrema at the organism-scale. It can be reasonably assumed that they
229 should represent surrounding seawater conditions, as shown in other vent habitats where
230 background seawater conditions are recovered within a few centimeters from invertebrate
231 aggregations (Johnson et al., 1988; Le Bris et al., 2006b). To ensure that colinearity among
232 the 8 remaining environmental variables (i.e. mean and maximal values of temperature, S(-II)
233 and Fe(II), and mean and minimal pH) did not affect results, 2 of them which have mutual
234 correlations above 0.75 were excluded from the analysis: minimal pH and mean temperature.

235

236 *Population biology of Lepetodrilus elevatus*

237 The demographic population structure of *Lepetodrilus elevatus* was analysed for the
238 Genesis site and the Parigo PP-Ph05(1) vent where this species was in sufficient number (i.e.
239 > 100 individuals). The curvilinear shell length (L_{curv}), defined as the total length from the
240 anterior edge of the shell to the lip of the protoconch, was used as a size index (Sadosky et al.,
241 2002). Measurements were conducted under the 'Image tool' image analysis software
242 (University of Texas, <http://www.uthscsa.edu/dig/download/html>) with an error fixed at 0.14
243 mm. All specimens in a sample were measured except for the two very large samples from the
244 collection of *Riftia pachyptila* clumps for which a random subsample of ~500 individuals was
245 used. Size-frequency histograms were constructed using a size class of 0.4 mm according to
246 three criteria (Jollivet et al., 2000) : (1) most size-classes must contain at least 5 individuals;
247 (2) the number of empty adjacent classes must be minimized; and (3) the size-class interval
248 has to be much greater than the error of measurement. Size-frequency distributions were
249 compared among samples using a Kruskal-Wallis multi-sample test (Zar, 1999).

250 All previously measured individuals with a curvilinear length > 3mm were sexed to
251 determine the sex-ratio which was compared to a theoretical sex-ratio 1:1 with a χ^2 goodness-
252 of-fit test. Males were identified by the presence of a large penis, modified from the left
253 cephalic tentacle. In addition, sexual maturity of females was assessed from histological
254 examination of gonads (Pendlebury, 2004; Kelly & Metaxas, 2007). Depending on the sample
255 size, 1 to 11 females per vent were analysed. Body of females stored in 70° ethanol were
256 removed from their shell, dehydrated in 100° ethanol for at least 6 hours, cleared in xylene for
257 6 hours and embedded in paraffin wax in a 70°C oven for approximately 12 hours. Individuals
258 were then set in wax blocks and 2 to 3 serial sections of 7 μm thickness were obtained with a
259 microtome. Sections were stained using the picro indigo carmin method which stains nucleus
260 in brown and cytoplasm in green (Gabe, 1968). For each female, 14 to 229 oocytes, in which
261 the nuclei were visible, were measured from images captured under a microscope. As packing
262 of the oocytes can severely distort the oocyte shape, Feret diameter was calculated from the
263 measure of the oocyte area using the Lucia software (Laboratory Imaging Ltd.). Intra- and
264 intersample synchrony of female reproductive development was determined using a Kruskal-
265 Wallis multi-sample test to compare the oocyte size-frequency distributions. When significant
266 differences occurred, a multiple range test using the Dunn-Nemenyi procedure was performed
267 (Zar, 1999).

268

269

RESULTS

270

Physico-chemical environment

271 At the surface of alvinellid colonies, the mean temperature varied from 6 to 32°C
272 among samples (Table 2). It was globally higher for the Genesis PP12 samples, varying
273 between 25 and 32°C, and lower for the Parigo samples, ranging between 7 and 12°C at PP-
274 Ph05(1), and 15 and 16°C at PP-Ph05(2). At the Elsa site, large differences in mean

275 temperature were observed between the samples from the two vents. While it did not exceed
276 6°C at PP-Ph01, it reached 24 and 20°C respectively for the 2 samples from PP-Hot3. The
277 range of temperature oscillations was highly variable but tended to be wider as the average
278 temperature increased. Thus, for the Genesis PP12 vent, which displayed the highest mean
279 value, the temperature fluctuated between 5 and 69°C over a few minutes. Likewise, at the
280 Elsa PP-Hot3 vent, temperature variations could reach 45°C whereas they did not exceed
281 27°C for the Parigo site samples. As discussed in Le Bris & Gaill (2007), such dispersion of
282 temperature data can be easily explained by, both, turbulent mixing of hot fluid and cold
283 seawater above the openings of *Alvinella* tubes and weak instabilities in the position of the
284 probe within the steep gradients characterizing these habitats. Note that temperature variations
285 recorded in the present study were independent of time series duration ($R^2 = 0.0629$; $n = 14$; p
286 $= 0.3872$).

287 Estimated mean pH corresponding to samples were lower than regular seawater pH
288 with acidic to slightly acidic values (i.e. 6.0-6.6) at the Genesis PP12 and Elsa PP-Hot3 vents
289 and near-neutral to alkaline values (i.e.7.4-7.8) at the Parigo site and the Elsa PP-Ph01 vent
290 (Table 2). Estimated mean sulphide concentrations ranged from 164 to 406 $\mu\text{mol l}^{-1}$ with the
291 highest values corresponding to samples of Parigo PP-Ph05(2), Genesis PP12 and Elsa PP-
292 Hot3 vents. Reflecting temperature variability, large sulphide ranges were defined for each
293 sample (e.g. ranging between 24 and 927 $\mu\text{mol l}^{-1}$ for the sample E3-b). Iron concentrations
294 greatly differed among sites with a large contrast between the Genesis-Parigo sites and the
295 Elsa site. While iron was strongly depleted in the habitat sampled at Genesis (below the level
296 of detection of our *in situ* analysis method) and displayed only moderate concentration in the
297 environment of Parigo (less than 29 $\mu\text{mol l}^{-1}$), this compound reached much higher
298 concentrations at the Elsa PP-Hot 3 vent (between 270 and 339 $\mu\text{mol l}^{-1}$). At Elsa PP-Ph01,
299 the estimated average concentration revealed to be low but the large range of iron content

300 indicated that it could be found punctually at high concentrations. Rather than a iron-depleted
301 fluid such as observed at Genesis, the low mean iron level in this case reflected a weak
302 contribution of the hydrothermal fluid to the environment, on average, as indicated by a low
303 mean temperature.

304 As compared to the large variability of physico-chemical conditions encountered when
305 considering the whole architecture of the alvinellid aggregation (Le Bris et al., 2005), the
306 variability of physico-chemical parameters was quite low within a vent at the surface of the
307 alvinellid zone. Conversely, substantial variability in habitat physico-chemical conditions
308 could be observed among different vents within a site. As an example, two types of habitat
309 were considered at the Parigo and Elsa sites: one with lower temperature, near neutral pH and
310 moderate sulphide concentrations (PP-Ph05-1 and PP-Ph01) versus one with higher
311 temperature, slightly acidic pH and higher sulphide concentrations (PP-Ph05-2 and PP-Hot3).
312 Major differences among sites were due to variations in iron concentrations.

313 In *Riftia* clumps, if the sample from Genesis Hot 2 displayed the lowest mean value of
314 temperature, the thermal range in sample P1-e from Parigo site did not differ from
315 neighbouring samples collected in *Alvinella* colonies on the same vent (Table 2). According
316 to our model assuming that temperature correlation with chemical parameters is conserved at
317 site scale, similar chemical features for these two environments at Parigo were inferred from
318 similar temperatures.

319

320 *Faunal composition*

321 A total of 11 gastropod species were identified in the 14 samples (Table 3). Five
322 species (i.e. *Lepetodrilus elevatus*, *L. pustulosus*, *Nodopelta heminoda*, *N. subnoda* and
323 *Peltoispira operculata*) were found in 9 to 13 samples and represented between 87 and 100%

324 of the total number of individuals in each sample. By contrast, only 2 species (i.e.
325 *Pachydermia laevis* and *Hirtopelta hirta*) were found in only one sample.

326 The cluster analysis showing the percentage similarity of faunal composition for each
327 sample is given on Figure 1A. Samples separated into two well-defined faunal groups. The
328 cluster 1 included all the samples from the Parigo PP-Ph05(1) vent as well as the G2-a sample
329 collected in a *Riftia* clump and exhibited high internal similarity. It was largely dominated by
330 *L. elevatus* which accounted for more than 80% of individuals. The cluster 2 was composed
331 of samples from Genesis-PP12, Parigo PP-Ph05(2) and Elsa vent sites, which displayed a
332 large proportion of peltospirid gastropods (i.e. *P. operculata*, *N. subnoda*, *N. heminoda*).
333 However, the low internal similarity between samples of this cluster, just over 50 %, testified
334 of a high heterogeneity of faunal composition. For example, the samples P2-a, E1-a and E3-a
335 were characterized by a high proportion of *P. operculata* (54.5 to 61.8 % of individuals) and
336 the presence of *N. subnoda* (15.2 to 32.7 % of individuals) while the samples G12-a, G12-b,
337 P2-b and E3-b were mainly composed of a mixture of both species of *Nodopelta* (23.5 to 84.1
338 % of individuals) and *L. elevatus* (8.3 to 47.1 % of individuals). Species-effort curves
339 suggested that habitats related to the group 2, characterized by a large proportion of
340 peltospirids, have higher species richness than habitats related to group 1, largely dominated
341 by *L. elevatus* (Figure 2). Nevertheless one can note that no species-effort curve had reached
342 the asymptote.

343 The BIO-ENV procedure provided the best matching of faunal groups to physico-
344 chemical patterns by considering combinations of environmental variables at increasing levels
345 of complexity. When only one variable was considered, mean sulphide concentration
346 appeared to be the most explanatory variable with a ρ_w of 0.373. The next best variables were
347 mean pH ($\rho_w = 0.358$) and maximal temperature ($\rho_w = 0.233$). The overall optimum
348 combination involved these 3 variables ($\rho_w = 0.401$). Superimposing these environmental data

349 onto the NMDS performed on faunal composition highlighted the influence of these physico-
350 chemical variables in shaping gastropod communities (Figure 1B). The cluster 1 was
351 associated with lower sulphide concentrations and maximal temperatures, and a higher pH. In
352 contrast, the cluster 2 tended to be generally associated with higher maximal temperatures and
353 sulphide concentrations and a lower pH. Nevertheless, a large disparity in physico-chemical
354 conditions occurred within this cluster. As an example, the highest and the lowest mean
355 sulphide concentrations reported in the data set (406 and 53 $\mu\text{mol l}^{-1}$) were observed for two
356 samples from this cluster, E3-a and E1-a respectively (Table 2).

357

358 *Biology of Lepetodrilus elevatus*

359 The population structure of *L. elevatus* was analysed on only 8 samples from 3 vents
360 (i.e. Parigo PP-Ph05(1), Genesis PP12, Genesis Hot2) for which individuals were in sufficient
361 number (Figure 3). The curvilinear shell length ranged from 1.09 to 11.27 mm. Size-
362 frequency distributions were highly variable among samples (Kruskall-Wallis H statistic =
363 430.61, df = 7, $p < 10^{-3}$). Multiple range tests using the Dunn-Nemenyi procedure identified 4
364 groups of samples: (i) G12-a, (ii) G2-a, (iii) P1-b, P1-c, P1-d and P1-f, and (iv) P1-a and P1-e.
365 These latter samples differed from the other Parigo samples by a higher abundance of larger
366 individuals (> 7 mm). Furthermore, the G12-a sample was distinguishable from other samples
367 by a dominance of small individuals. The proportion of individuals < 5 mm reached 85.8 % in
368 G12-a while it varied between 14.7 and 48.6 % in other samples.

369 For all samples the sex-ratio did not differ significantly from the theoretical balanced
370 1:1 sex-ratio (χ^2 goodness-of-fit test; $p > 0.05$). In the gonad, oocyte diameter ranged from 7.3
371 to 113.9 μm . Two types of germinal cells were observed: (1) small oogonies and
372 previtellogenic oocytes with a large nucleus, a basophilic cytoplasm and a size < 40 μm and
373 (2) vitellogenic oocytes with a large cytoplasm containing yolk granules and a size > 40 μm .

374 Most females exhibited a common pattern in oocyte size distributions with a first major peak
375 of oogonia and previtellogenic oocytes and a second minor peak of vitellogenic oocytes
376 (Figure 4). However, oocyte size-frequency distributions differed significantly at the different
377 spatial scales analysed in this study, suggesting asynchronous reproduction among vents and
378 among females within each vent (Figure 5). Among vents, significant differences in size
379 distributions (Kruskall-Wallis H statistic = 246.28, $df = 4$, $p < 10^{-3}$) were mainly due to the
380 individuals from the Genesis PP12 vent which exhibited a smaller mean oocyte size than
381 individuals from the other vents ($p < 0.05$). This result could be explained by the animal size
382 as the 7 individuals from the Genesis PP12 vent were the smallest individuals analysed in this
383 study (i.e. curvilinear shell length ranging from 3.71 to 5.48 μm) and were mainly
384 characterized by a large dominance of previtellogenic oocytes (Figure 4). Indeed, while there
385 was a significant correlation between the curvilinear shell length and the percentage of
386 vitellogenic oocytes per female when all females were considered ($R^2 = 0.2564$, $n = 72$, $p <$
387 10^{-3}), the correlation became non significant when the individuals from the Genesis PP12 vent
388 site were removed ($R^2 = 0.0578$, $n = 65$, $p = 0.054$). Significant differences in oocyte size
389 distributions were also reported among samples within a vent on the example of Parigo PP-
390 Ph05(1) vent (Kruskall-Wallis H statistic = 62.79, $df = 5$, $p < 10^{-3}$) and among females within
391 a sample (sample P1-a: Kruskall-Wallis H statistic = 70.97, $df = 10$, $p < 10^{-3}$; sample P1-d:
392 Kruskall-Wallis H statistic = 51.61, $df = 9$, $p < 10^{-3}$; sample P1-f: Kruskall-Wallis H statistic
393 = 150.36, $df = 10$, $p < 10^{-3}$). However, multiple range tests using the Dunn-Nemenyi
394 procedure indicated that 54 to 60 % of the females examined in each sample showed no
395 significant difference in oocyte size-frequency distributions.

396

397

DISCUSSION

398 At the scale of a biological sample, a large variability of physico-chemical conditions
399 was reported, consistently with the steep chemical gradients already described over scales of
400 centimetres and seconds to hours in hydrothermal habitats (Johnson et al., 1988; Chevalloné
401 et al., 1991; Sarradin et al., 1998; Le Bris et al., 2005). From this observation it was suggested
402 that animals would occasionally deal with high temperature, high sulphide concentrations and
403 low pH. However, the estimated amplitude of thermal and chemical ranges at the surface of
404 the alvinellid colony where the gastropods are located are still substantially lower than
405 depicted for the general *Alvinella pompejana* environment (Sarradin et al., 1998; Luther et al.,
406 2001; Le Bris et al., 2003; Le Bris et al., 2005). This is consistent with the synthesis of
407 temperature ranges reported for this environment in Le Bris & Gaill (2007) that underlined
408 much milder conditions at the surface of the colony than among the tubes of *Alvinella* spp.
409 that composed the interface between the chimney wall and seawater. Still, close-up video
410 recordings confirmed that organisms sometimes bathed in turbulent shimmering water, where
411 they can alternately experience, in few seconds, conditions that only slightly depart from
412 seawater and conditions with a more significant hydrothermal influence. Considering the
413 similar temperature ranges, no large variation in the range of physico-chemical conditions
414 was expected among samples in the *Alvinella* habitat, within a single vent, suggesting that the
415 habitat sampled was quite homogeneous. Within a single *Alvinella* aggregation, Le Bris et al.
416 (2005) highlighted substantial discrepancies at small-scale but they were mostly reported
417 when comparing different microenvironments in the matrix surrounding *Alvinella* tubes and
418 the interior of the tubes. Comparatively, measurements from the water layer overlying the
419 surface of the colony, where gastropods live, appear more consistent with the conservative
420 mixing model, at least in the vicinity of venting sources (Le Bris et al., 2005). Larger
421 environmental differences were documented among samples from different vents within a
422 site. Thus, at the Parigo and Elsa sites, one vent was characterized by lower temperature and

423 sulphide concentrations, and higher pH than the other one. Among sites, the most significant
424 result in terms of spatial variations in habitat chemistry regarded iron which distinguished the
425 iron-rich Elsa site from the iron-depleted Genesis and Parigo sites. Such variations in the Fe:S
426 ratio which mainly depends on the end-member vent fluid composition have been already
427 highlighted for the 13°N/EPR hydrothermal vent field (Le Bris et al., 2003, Le Bris & Gaill,
428 2007).

429 While thermal conditions are commonly reported to be strongly contrasted in different
430 hydrothermal habitats (Shank et al., 1998; Luther et al., 2001; Le Bris et al., 2003), no
431 difference in temperature was observed between the sole *Riftia*-dominated sample and
432 *Alvinella*-dominated samples at Parigo PP-Ph05(1) vent. Again, this is not so surprising
433 considering that the surface of *Alvinella* tube aggregation displays a much more limited
434 thermal range than the bulk of the colony. The chemical conditions could however be much
435 more contrasted than assumed here between these habitats as the consistency of the
436 temperature correlation with sulphide, iron and pH may only be valid when comparing
437 alvinellid environments. Large discrepancies in the sulphide-temperature correlation have
438 been observed between alvinellid and *Riftia* aggregations located less than one meter apart
439 (Le Bris et al., 2006a).

440 Similarly to environmental conditions, gastropod community structure was mainly
441 similar among samples from a single vent but variable among vents and sites, being either
442 dominated by peltospirids (i.e. *Peltoispira operculata*, *Nodopelta heminoda* and *N. subnoda*)
443 at Elsa, Genesis-PP12 and Parigo PP-Ph05(2) or lepetodrilids (i.e. *Lepetodrilus elevatus*) at
444 Parigo PP-Ph05(1) and Genesis-Hot 2. Nevertheless, within the peltospirids-dominated vents,
445 the relative proportion of *P. operculata* and *Nodopelta* spp. as well as the abundance of *L.*
446 *elevatus* could be highly variable among samples. While numerous studies have already
447 highlighted changes in habitat temperature and chemistry as primary driving forces for

448 changes in hydrothermal community composition at the site or vent field-scale (Sarrazin et
449 al., 1997; Shank et al., 1998; Sarrazin & Juniper, 1999), our study showed that for gastropods
450 the most explanatory environmental variable considered alone was the mean sulphide
451 concentration followed by the mean pH and maximal temperature. If the best matching of
452 faunal composition to environment involved these 3 physico-chemical variables, the addition
453 of pH and temperature improved only slightly the link between environmental data and
454 gastropod distribution patterns.

455 The role of these 3 environmental variables on species distribution may be related to
456 physiological adaptations and nutritional requirements as generally suggested for
457 hydrothermal fauna. Sulphide is thought to be the primary energy source for chemosynthetic
458 bacterial primary production in these environments (Childress & Fisher, 1992) but is also
459 known to be deleterious to all aerobic organisms (Visman, 1991). Hydrothermal animals thus
460 have to deal with conflicting constraints related to this compound. Likewise, temperature can
461 act directly on vent fauna according to their thermal tolerance. Lee (2003) experimentally
462 showed that *Lepetodrilus fucensis* and *Depressigyra globulus*, 2 common gastropods in
463 alvinellid colonies at the Juan de Fuca Ridge (Northeast Pacific), could not stand short
464 exposure to temperature exceeding 30-35°C and 35-40°C respectively. Moreover, Bates et al.
465 (2005) suggested from field observations and experiments that temperature had a significant
466 influence on the distribution patterns of 3 gastropod species (i.e. *L. fucensis*, *D. globulus* and
467 *Provanna variabilis*) from the Juan de Fuca Ridge. While the former two species occupied
468 near-vent habitats with a temperature between 5 and 13°C, the latter one was reported in areas
469 with significantly lower temperature from 4 to 11 °C. Although the direct influence of pH on
470 vent fauna physiology is less documented, this parameter is highly relevant to assess the
471 impact of habitat condition on vent communities as it mainly affects the distribution of
472 sulphide in different chemical forms of contrasted biological effects (Le Bris et al., 2003).

473 The sulphide toxicity and bioavailability mostly depends on the relative proportions of the
474 free sulphide and iron-associated forms (Luther et al., 2001; Le Bris et al., 2003). According
475 to their iron concentration and pH range, the quality of the habitats sampled in this study
476 could be classified in terms of relative toxicity. At low to negligible iron concentrations, free
477 sulphide forms (H_2S and HS^-) constitute the dominant sulphide species. The acidity constant
478 (pK_a) of H_2S being close to 7, sulphide should be mostly present as the most toxic neutral
479 species, H_2S , in the higher temperature and more acidic habitat (i.e. Genesis PP-12) while it
480 would be mostly present as the less toxic anionic species, HS^- , in the lower temperature and
481 less acidic habitat (i.e. Parigo PP-Ph05(1)). Conversely, the high iron concentrations observed
482 at Elsa site would decrease sulphide environmental toxicity, even in this acidic habitat by the
483 formation of FeS .

484 A first assumption to explain the differential distribution between peltospirids and
485 lepetodrilids species at 13°N could be their different thermal tolerance. Such assumption is in
486 accordance with recent observations performed at 9°50' N which showed different thermal
487 boundaries between lepetodrilids mainly associated with the vestimentiferan habitat and
488 peltospirids confined to alvinellids habitat (Mills et al., 2007). However, if *L. elevatus* was
489 abundant (more than 50 % of individuals) in samples with maximal temperature not
490 exceeding 29°C, it was also reported in samples where maximal temperature reached 69°C,
491 suggesting that this species could be subject to short-term exposures to high temperature. The
492 better tolerance of *Nodopelta* spp. and *P. operculata* to sulphide toxicity, as compared to *L.*
493 *elevatus* might provide another explanation to the distribution observed. In this case, the
494 former species will be favored in habitats characterized by higher sulphide concentrations and
495 temperature, and more acidic conditions. However, gastropods community structure in the
496 presumably more toxic environment, Genesis-PP12, did not highly differ from the structure
497 reported in samples from sulphide-rich but less toxic environment like Elsa PP-Hot3 and

498 Parigo PP-Ph05(2) vents. Govenar et al. (2005) also highlighted high similarity in epifaunal
499 community structure including lepetodrilids in *Riftia pachyptila* clumps of contrasted sulphide
500 and iron ranges

501 Despite heuristic and conceptual interest, the BIO-ENV procedure mainly remains an
502 exploratory tool to assess the relationship between multivariate community structure and
503 environmental variables (Clarke & Warwick, 2001). Even if conclusions cannot be supported
504 by significance tests given the lack of model assumptions underlying the procedure, the low
505 values of ρ_w ranging from 0.373 to 0.401 suggested that chemical variables as measured in
506 this study only poorly explained gastropod distribution patterns. Two non-exclusive
507 hypotheses could be proposed: (1) limitations in the ability to discriminate habitats in terms of
508 physico-chemical conditions experienced by organisms and (2) a more complex interplay
509 between abiotic factors impact and biological interactions.

510 Chemical parameters were not measured simultaneously with temperature prior to
511 animal collections, but were extrapolated from temperature measurements assuming a
512 conservative behavior in the mixing interface between the source fluid and ambient seawater
513 at the scale of a single vent edifice. These limitations may have reduced the validity of our
514 extrapolations as some discrepancies in the temperature relationship with chemical factors
515 have been reported at site scale for various types of hydrothermal habitats (Johnson et al.,
516 1988; Le Bris et al., 2000, 2005, 2006b). Indeed, several processes can alter the relationships
517 between temperature and chemical parameters including biological consumption of sulphides
518 in mussel beds and *Riftia* clumps (Johnson et al., 1994; Le Bris et al., 2006b) and conductive
519 thermal exchanges in *Alvinella* colonies (Le Bris et al., 2005). Over similar temperature
520 ranges, highly different sulphide contents may indeed characterize adjacent *Riftia* clumps and
521 *Alvinella* colonies on a single chimney (Luther et al., 2001; Le Bris et al., 2003, 2006b), and
522 the lack of chemical differences supposed at Parigo PP-Ph05(1) vent between both habitats

523 may be erroneous in the present study. In the *Alvinella* habitat, if temperature is not a relevant
524 tracer of fluid mixing, the processes involved vary among distinct micro-environments (Le
525 Bris et al., 2005). In the inner-tube environment, the unexpected combination of a high
526 temperature and a high pH is mostly explained by a conductive heating of a seawater-
527 dominated mix through the tube walls whereas, in the medium surrounding the tubes, a
528 conductive cooling of the warm and low pH fluid occurs when it passes through the thickness
529 of the worm colony. By contrast, at the surface of the colonies, a detailed analysis of the
530 relationship between temperature and pH, considered as a reliable tracer of the vent fluid
531 contribution, suggested that the conservative mixing hypothesis is acceptable in a first
532 approximation (Le Bris et al., 2005). For this peculiar environment on which most of the
533 present study focused, the use of empirical correlations between temperature and chemical
534 parameters could be assumed to have greatly improved the general characterization of
535 habitats, as compared to those only based on temperature measurements. On the other hand,
536 even if close-up video imagery was used to ensure that ranges and mean values described the
537 environment of gastropods at the surface of *Alvinella* colonies, the measurement strategy used
538 for this study did not allow us to characterize fine-scale temperature variability in micro-
539 niches at the individual scale (i.e. cm) as reported in Di Meo-Savoie et al. (2004), Bates et al.
540 (2005) and Le Bris et al. (2005). Indeed, some hydrothermal gastropods may occupy
541 microhabitats that differ from the general surrounding physico-chemical environment at the
542 surface of *Alvinella* colonies (Mills et al., 2007).

543 A better assessment of temporal variability would be also required to appreciate the
544 factors that could influence species distribution. Temperature in vent habitats fluctuates at
545 different time scales, in response to turbulent mixing of hydrothermal fluid and ambient
546 seawater which produces rapid pulsations and brief spikes at second to minute scales, to tidal
547 motion at hour to day scales, and to variations in bottom currents and hydrothermal emissions

548 at longer scale (Shank et al., 1998; Chevaldonné et al., 1991; Tivey et al., 2002). In the
549 present study, time series measurements of temperature performed only at short timescale,
550 from about 1 to 44 minutes, could imperfectly describe thermal conditions encountered by
551 organisms. A continuous record of temperature over a week on an *A. pompejana* colony at
552 Elsa PP-Hot3 vent showed that temperature mostly ranged between 10 and 20°C but could
553 display peaks of temperature reaching 25-27°C for a duration of several hours (Pradillon et
554 al., 2005a). Nevertheless, measurements carried out at different dates at Parigo PP-Ph05(1)
555 vent in the present study provided comparable range of temperature variations and no
556 significant relationship occurred between temperature fluctuations and time series duration,
557 suggesting some stability over time. Likewise, the Fe:S ratio in end-member fluid which is
558 largely modulated by subsurface processes, was also reported to be highly variable in time in
559 relation to variations in fluid emission, mainly at monthly to yearly scales (Shank et al., 1998;
560 Von Damm & Lilley, 2004). The distinction between the iron-rich Elsa site and the iron-
561 depleted Genesis and Parigo sites depicted in the present study has already been mentioned by
562 Le Bris et al. (2003) from measurements performed 3 years before (Le Bris et al., 2003).
563 Thus, for mobile species like gastropods which can actively respond to long-term variations in
564 the physico-chemical environment, we can expect that our data are sufficiently representative
565 of the global range of environmental parameters actually experienced by the organisms at
566 scales ranging at least from minutes to weeks.

567 In addition to the organism physiological tolerances to the physico-chemical
568 environment, the gastropod community structure could also rely on biological interactions
569 between species, including predation and competition for a limiting food and space resource.
570 Over a limited range of environmental conditions, the relative dominance of one species
571 would in part depend on its abilities to outcompete other species according to its reproductive
572 and growth potential. In this context, the most striking result of the present study is the lower

573 species richness in the lower temperature and sulphide concentrations vent (Parigo PP-
574 Ph05(1)), because of the overwhelming dominance of *L. elevatus* in *Alvinella*-dominated as
575 well as *Riftia*-dominated habitats. In the *Riftia* habitat, manipulative field-experiments already
576 showed that *L. elevatus* could strongly modify the community structure, and exert negative
577 influences on sessile and mobile colonists by physically dislodging their recruits (Micheli et
578 al., 2002; Mullineaux et al., 2003). Different results on the demography and reproduction of
579 *L. elevatus* in relation to physico-chemical conditions may support the hypothesis that this
580 species might well develop in a less extreme environment and influence peltospirid
581 populations.

582 The significant variation of size-frequency distributions of *L. elevatus* among vents
583 could result from numerous factors including (i) sampling bias related to small sample size,
584 (ii) spatial and temporal variations in larval supply (Metaxas, 2004), (iii) site- and size-
585 specific growth rate (Mullineaux et al., 1998) or (iv) site-and size-specific mortality rate.
586 Nevertheless, the main difference was due to the only sample collected in a high temperature
587 and high sulphide toxicity environment at Genesis PP12 vent which differed significantly
588 from all other samples by a very small proportion of large individuals. Furthermore,
589 Mullineaux et al. (1998) or Sadosky et al. (2002) have shown that recruitment of this species
590 is generally coherent at the vent field scale. Thus, even if the factors mentioned above cannot
591 be ruled out, this pattern may suggest that physico-chemical conditions could alter the
592 demography of *L. elevatus*. The very high proportion of small individuals at Genesis PP12
593 vent may result from broader physiological tolerances and higher survivorship of juveniles
594 than adults in marginal habitat as already reported by Mullineaux et al. (1998). In terms of
595 reproduction, heterogeneous size-frequency distributions of oocytes among mature females
596 confirmed that gametogenesis was asynchronous at vent as well as at sample scale
597 (Pendlebury, 2004), and seemed independent of the physico-chemical environment. However,

598 the positive relationship between the animal size and its sexual maturity, defined as the
599 proportion of vitellogenic oocytes, indicated that most individuals from the Genesis PP12
600 vent were immature and did not participate to the local reproductive effort. Along the Juan de
601 Fuca Ridge, Kelly & Metaxas (2007) observed that *L. fucensis* gametogenic maturity did not
602 vary between actively venting habitats but was significant lower in senescent areas according
603 to variation in energy supply. Here, while the environment at the Genesis site may constitute
604 the upper limit for *L. elevatus* to develop, the cooler habitats seem to be optimal, so that the
605 females can maximize their reproductive output. While the lack of replicate in the most toxic
606 habitat impedes a global statistical analysis over the range of physico-chemical conditions
607 encountered in the present study, those results suggest that *L. elevatus* may be highly
608 competitive in the lower temperature and less toxic environmental conditions. Even if
609 peltospirid gastropods may probably survive in lower temperature, as at Elsa PP-Ph01 vent,
610 habitat colonization by *L. elevatus* could exclude them since environmental conditions are
611 favorable to the development of this latter species in *Alvinella*- as well as in *Riftia*-dominated
612 habitat.

613 In describing the different hydrothermal communities structure and diversity patterns,
614 only a few studies to date have included locally defined chemical parameters of ecological
615 relevance to identify processes governing the observed patterns (Sarrazin et al., 1997; Shank
616 et al., 1998; Sarrazin & Juniper, 1999; Govenar et al., 2005). Despite the inabilities to actually
617 perform quantitative samples in the high-temperature hydrothermal environment, the present
618 study reported for the first time the influence of environmental chemistry on epifaunal
619 assemblages in different alvinellid colonies at vents along the East Pacific Rise, focusing on
620 gastropods. The main physico-chemical parameters governing the habitat quality and
621 consequently the community structure were, in a decreasing order of importance, mean
622 sulphide concentration, mean pH and maximal temperature. Peltospirid gastropods (i.e.

623 *Nodopelta* spp. and *P. operculata*) were then dominant in the more acidic, higher temperature
624 and richer sulphide vents than lepetodrilid gastropods (i.e. *Lepetodrilus elevatus*) (Figure 6).
625 Although this pattern could result from different specific physiological tolerances and
626 nutritional requirements, the occurrence of all common species over a wide range of physico-
627 chemical conditions as well as the low correlation between biological community structure
628 and physico-chemical parameters suggests that other factors may be responsible for
629 community composition in *Alvinella* colonies. In particular, the lower richness resulting from
630 the dominance of *L. elevatus* in the lower temperature and sulphide concentrations habitat
631 suggests that the later species may outcompete other species in such environmental
632 conditions. Thus, in these conditions, gastropod community structure did not differ between
633 *Alvinella* colonies and *Riftia* clumps. If field samples remain essential to describe patterns and
634 make assumptions about processes involved, further experimental manipulative shipboard and
635 field studies should be necessary to identify the ways of biogeochemical processes on
636 community structure and separate unambiguously the relative contributions of physiological
637 tolerance, nutritional requirement and biological interactions.

638

639

640 We thank the captain and crew of the NO L'Atalante and the team of the ROV Victor 6000
641 for their helpful collaboration at sea. We also acknowledge P.-M. Sarradin, C. Le Divenah, C.
642 Le Gall and P. Rodier for their support in the implementation of *in situ* chemical analysis and
643 collection devices. We are grateful to S. Hourdez for the English proof reading and to two
644 anonymous referees for their valuable comments on a first draft of the manuscript. This work
645 was financially supported by Ifremer and the French Dorsales program (INSU, Ifremer,
646 CNRS). It is also a contribution to the GDR Ecchis and the ANR 'Deep Oases' project (ANR-
647 06-BDIV-005).

648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672

REFERENCES

- Bates, A.E., Tunnicliffe, V. & Lee, R.W., 2005. Role of thermal conditions in habitat selection by hydrothermal vent gastropods. *Marine Ecology Progress Series*, **305**, 1-15.
- Chevaldonné, P., Desbruyères, D. & Le Haître, M., 1991. Time-series of temperature from three deep-sea hydrothermal vent sites. *Deep Sea Research Part I*, **38**, 1417-1430.
- Childress, J.J. & Fisher, C.R., 1992. The biology of hydrothermal vent animals: physiology, biogeochemistry, and autotrophic symbioses. *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*, **30**, 31-104.
- Clarke, K.R. & Ainsworth, M., 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. *Marine Ecology Progress Series*, **92**, 205-219.
- Clarke, K.R. & Warwick, R.M., 2001. *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*, 2nd edn PRIMER-E Ltd. Plymouth, UK.
- Colwell, R.K., 2005. *EstimateS v7.5. Statistical estimation of species richness and shared species from samples. User's guide*. <http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>
- Copley, J.T.P., Tyler, P.A., Van Dover, C.L. & Philip, S.J., 2003. Spatial variation in the reproductive biology of *Paralvinella palmiformis* (Polychaeta: Alvinellidae) from vent field on the Juan de Fuca Ridge. *Marine Ecology Progress Series*, **255**, 171-181.
- Desbruyères, D., Chevaldonné, P., Alayse-Danet, A.-M., Jollivet, D., Lallier, F., Jouin-Toulmond, C., Zal, F., Sarradin, P.-M., Cosson, R., Caprais, J.-C., Arndt, C., O'Brien, J., Guezennec, J., Hourdez, S., Riso, R., Gaill, F., Laubier, L. & Toulmond, A., 1998. Biology and ecology of the "Pompeii worm" (*Alvinella pompejana* Desbruyères and Laubier), a normal dweller of an extreme deep-sea environment: a synthesis of current knowledge and recent developments. *Deep Sea Research Part II*, **45**, 383-422.

- 673 Di Meo-Savoie, C.A., Luther, G.W. & Cary, S.C., 2004. Physicochemical characterization of
674 the microhabitat of the epibionts associated with *Alvinella pompejana*, a hydrothermal
675 vent annelid. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **68**, 2055-2066.
- 676 Dreyer, J.C., Knick, K.E., Flickinger, W.B. & Van Dover, C.L., 2005. Development of
677 macrofaunal community structure in mussel beds on the northern East Pacific Rise.
678 *Marine Ecology Progress Series*, **302**, 121-134.
- 679 Gabe, M., 1968. *Techniques histologiques*, Paris: Masson
- 680 Govenar, B.W., Freeman, M., Bergquist, D.C., Johnson, G.A. & Fisher, C.R., 2004.
681 Composition of a one-year-old *Riftia pachyptila* community following a clearance
682 experiment: insight to succession patterns at deep-sea hydrothermal vents. *Biological*
683 *Bulletin*, **207**, 177-182.
- 684 Govenar, B.W., Le Bris, N., Gollner, S., Glanville, J., Aperghis, A.B., Hourdez, S. & Fisher,
685 C.R., 2005. Epifaunal community structure associated with *Riftia pachyptila* aggregations
686 in chemically different hydrothermal vent habitats. *Marine Ecology Progress Series*, **305**,
687 67-77.
- 688 Johnson, K.S., Childress, J.J., Beehler, C.L. & Sakamoto-Arnold, C.M., 1994.
689 Biogeochemistry of hydrothermal vent mussel communities: the deep-sea analogue to the
690 intertidal zone. *Deep Sea Research Part I*, **41**, 993-1011.
- 691 Johnson, K.S., Childress, J.J., Hessler, R.R., Sakamoto-Arnold, C.M. & Beehler, C.L., 1988.
692 Chemical and biological interactions in the Rose Garden hydrothermal vent field,
693 Galapagos spreading center. *Deep Sea Research Part II*, **35**, 1723-1744.
- 694 Jollivet, D., 1996. Specific and genetic diversity at deep-sea hydrothermal vents: an overview.
695 *Biodiversity and Conservation*, **5**, 1619-1653.
- 696 Jollivet, D., Empis, A., Baker, M.C., Hourdez, S., Comtet, T., Jouin-Toulmond, C.,
697 Desbruyères, D. & Tyler, P.A., 2000. Reproductive biology, sexual dimorphism, and

- 698 population structure of the deep-sea hydrothermal vent scale-worm, *Branchiopolynoe*
699 *seepensis* (Polychaeta: Polynoidae). *Journal of the Marine Biological Association of the*
700 *United Kingdom*, **80**, 55-68.
- 701 Kelly, N.E. & Metaxas, A., 2007. Influence of habitat on the reproductive biology of the
702 deep-sea hydrothermal vent limpet *Lepetodrilus fucensis* (Vetigastropoda: Mollusca) from
703 the Northeast Pacific. *Marine Biology*, **151**, 649-662.
- 704 Le Bris, N. & Gaill, F., 2007. How does the annelid *Alvinella pompejana* deal with an
705 extreme hydrothermal environment? *Reviews in Environmental Science and*
706 *Biotechnology*, **6**, 197-221.
- 707 Le Bris, N., Govenar, B., Le Gall, C., Fisher, C.R., 2006a. Variability of physico-chemical
708 conditions in 9°50'N EPR diffuse flow vent habitats. *Marine Chemistry*, **98**, 167-182.
- 709 Le Bris, N., Rodier, P., Sarradin, P.-M. & Le Gall, C., 2006b. Is temperature a good proxy for
710 sulfide in hydrothermal vent habitats? *Cahiers de Biologie Marine*, **47**, 465-470.
- 711 Le Bris, N., Sarradin, P.-M., Birot, D. & Alayse-Danet, A.-M., 2000. A new chemical
712 analyzer for *in situ* measurement of nitrate and total sulfide over hydrothermal vent
713 biological communities. *Marine Chemistry*, **72**, 1-15.
- 714 Le Bris, N., Sarradin, P.-M. & Caprais, J.-C., 2003. Contrasted sulphide chemistries in the
715 environment of 13°N EPR vent fauna. *Deep Sea Research Part I*, **50**, 737-747.
- 716 Le Bris, N., Sarradin, P.-M. & Penneç, S., 2001. A new deep-sea probe for *in situ* pH
717 measurement in the environment of hydrothermal vent biological communities. *Deep Sea*
718 *Research Part I*, **48**, 1941-1951.
- 719 Le Bris, N., Zbinden, M. & Gaill, F., 2005. Processes controlling the physico-chemical micro-
720 environments associated with Pompeii worms. *Deep Sea Research Part I*, **52**, 1085-1092.
- 721 Lee, R.W., 2003. Thermal tolerance of deep-sea hydrothermal vent animals from the northeast
722 Pacific. *Biological Bulletin*, **205**, 98-101.

- 723 Luther, G.W., Rozan, T.F., Martial, T., Nuzzio, D.B., Di Meo, C., Shank, T.M., Lutz, R.A. &
724 Cary, S.C., 2001. Chemical speciation drives hydrothermal vent ecology. *Nature*, **410**,
725 813-816.
- 726 Metaxas, A., 2004. Spatial and temporal patterns in larval supply at hydrothermal vents in the
727 northeast Pacific ocean. *Limnology and Oceanography*, **49**, 1949-1956.
- 728 Micheli, F., Peterson, C.H., Mullineaux, L.S., Fisher, C.R., Mills, S.W., Sancho, G., Johnson,
729 G.A. & Lenihan, H.S., 2002. Predation structures communities at deep-sea hydrothermal
730 vents. *Ecological Monographs*, **72**, 365-382.
- 731 Mills, S.W., Mullineaux, L.S. & Tyler, P.A., 2007. Habitat associations in gastropod species
732 at East Pacific Rise hydrothermal vents (9°50'N). *Biological Bulletin*, **212**, 185-194.
- 733 Mullineaux, L.S., Fisher, C.R., Peterson, C.H. & Schaeffer, S.W., 2000. Tubeworm
734 succession at hydrothermal vents: use of biogenic cues to reduce habitat selection error?
735 *Oecologia*, **123**, 275-284.
- 736 Mullineaux, L.S., Mills, S.W. & Goldman, E., 1998. Recruitment variation during a pilot
737 colonization study of hydrothermal vents (9°50'N, East Pacific Rise). *Deep Sea Research*
738 *Part II*, **45**, 441-464.
- 739 Mullineaux, L.S., Peterson, C.H., Micheli, F. & Mills, S.W., 2003. Successional mechanism
740 varies along a gradient in hydrothermal fluid flux at deep-sea vents. *Ecological*
741 *Monographs*, **73**, 523-542.
- 742 Pendlebury, S.J.D., 2004. *Ecology of hydrothermal vent gastropods*. PhD thesis, University of
743 Southampton, School of Ocean and Earth Science, Southampton, UK.
- 744 Pradillon, F., Le Bris, N., Shillito, B., Young, C.M. & Gaill, F., 2005a. Influence of
745 environmental conditions on early development of the hydrothermal vent polychaete
746 *Alvinella pompejana*. *Journal of Experimental Biology*, **208**, 1551-1561.

- 747 Pradillon, F., Zbinden, M., Mullineaux, L.S. & Gaill, F., 2005b. Colonisation of newly-
748 opened habitat by a pioneer species, *Alvinella pompejana* (Polychaeta: Alvinellidae), at
749 East Pacific Rise vent sites. *Marine Ecology Progress Series*, **302**, 147-157.
- 750 Sadosky, F., Thiébaud, E., Jollivet, D. & Shillito, B., 2002. Recruitment and population
751 structure of the vetigastropod *Lepetodrilus elevatus* at 13°N hydrothermal vent sites on
752 East Pacific Rise. *Cahiers de Biologie Marine*, **43**, 399-402.
- 753 Sarradin, P.-M., Caprais, J.-C., Briand, P., Gaill, F., Shillito, B. & Desbruyères, D., 1998.
754 Chemical and thermal description of the environment of the Genesis hydrothermal vent
755 community (13°N, EPR). *Cahier de Biologie Marine*, **39**, 159-167.
- 756 Sarrazin, J. & Juniper, S.K., 1999. Biological characteristics of a hydrothermal edifice mosaic
757 community. *Marine Ecology Progress Series*, **185**, 1-19.
- 758 Sarrazin, J., Robigou, V., Juniper, S.K. & Delaney, J.R., 1997. Biological and geological
759 dynamics over four years on a high-temperature sulfide structure at the Juan de Fuca
760 Ridge hydrothermal observatory. *Marine Ecology Progress Series*, **153**, 5-24.
- 761 Shank, T.M., Fornari, D.J., Von Damm, K.L., Lilley, M.D., Haymon, R.M. & Lutz, R.A.,
762 1998. Temporal and spatial patterns of biological community development at nascent
763 deep-sea hydrothermal vents (9°50'N, East Pacific Rise). *Deep Sea Research Part II*, **45**,
764 465-515.
- 765 Taylor, C.D., Wirsén, C.O. & Gaill, F., 1999. Rapid microbial production in filamentous
766 sulfur mats at hydrothermal vents. *Applied and Environmental Microbiology*, **35**, 2253-
767 2255.
- 768 Tivey, M.K., Bradley, A.M., Joyce, T.M. & Kadkod, D., 2002. Insights into tide-related
769 variability at seafloor hydrothermal vents from time-series temperature measurements.
770 *Earth and Planetary Science Letters*, **202**, 693-707.

- 771 Tsurimi, M. & Tunnicliffe, V., 2003. Tubeworm-associated communities at hydrothermal
772 vents on the Juan de Fuca Ridge, northeast Pacific. *Deep Sea Research Part I*, **50**, 611-
773 629.
- 774 Van Dover, C.L., 2003. Variation in community structure within hydrothermal vent mussel
775 beds of the East Pacific Rise. *Marine Ecology Progress Series*, **253**, 55-66.
- 776 Visman, B., 1991. Sulfide tolerance: physiological mechanisms and ecological implications.
777 *Ophelia*, **34**, 1-27.
- 778 Von Damm, K. & Lilley, M.D., 2004. Diffuse flow hydrothermal fluids from 9°50'N East
779 Pacific Rise: origin, evolution, and biogeochemical controls. In *The seafloor biosphere*
780 *at Mid-Ocean Ridges* (eds. W.S.D. Wilcock, E.F. DeLong, D.S. Kelley, J.A. Baross &
781 S.C. Cary), pp. 243-266. Washington: American Geophysical Union.
- 782 Zar, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*, 4th edn. Upper Saddle River: Prentice Hall.

Table 1. Location of the study sites and biological samples. For each sample, the number of temperature sampling points and the duration of temperature measurements used to characterize the physico-chemical habitat are given. * indicates samples collected in Riftia clumps.

Vent site	Vent	Sample	Latitude	Longitude	Date (2002)	Number of temperature sampling points	Total duration of temperature measurements (min:s)
Genesis	PP12	G12-a	12°48,632'N	103°56,426'W	May 25	3	1:01
		G12-b			May 25	5	6:44
Parigo	Hot2	G2-a*	12°48,635'N	103°56,404'W	May 30	4	49:18
		P1-a	12°48,585'N	103°56,400'W	May 19	4	4:53
	PP-Ph05(1)	P1-b			May 20	4	42:41
		P1-c			May 22	2	8:37
		P1-d			May 22	1	1:46
		P1-e*			May 22	4	17:22
PP-Ph05(2)	P1-f			May 23	5	43:38	
	P2-a		12°48,620'N	103°56,390'W	May 30	2	22:41
	P2-b			May 30	1	9:42	
	E1-a		12°48,150'N	103°56,267'W	May 29	4	26:31
Elsa	PP-Hot3	E3-a	12°48,145'N	103°56,266'W	May 29	3	6:56
		E3-b			May 29	5	11:53

Table 2. Temperature (mean \pm SD) and chemical parameters (mean) of the different samples from the 13°N/EPR hydrothermal vent field. Range values are given in brackets. For each sample, temperature was measured at different sampling points (see Table 1) while chemical parameters were calculated from geochemical modelling. See text for explanation. nd: not determined. * indicates samples collected in Riftia clumps.

Vent site	GENESIS				PARIGO								ELSA		
	PP12	Hot 2			PP-Ph05(1)			PP-Ph05(2)			PP-Ph01	PP-Hot3			
Sample	G12-a	G12-b	G2-a*	P1-a	P1-b	P1-c	P1-d	P1-e*	P1-f	P2-a	P2-b	E1-a	E3-a	E3-b	
Temperature (°C)	32.3±11.2 (22.0-48.0)	25.4±19.8 (5.0-69.0)	4.9±1.20 (2.5-7.9)	12.4±3.7 (2.7-18.1)	9.5±2.3 (2.7-18.1)	7.3±1.8 (3.7-12.2)	7.1±0.9 (5.2-8.5)	8.0±3.7 (2.8-16.1)	11.2±6.5 (2.0-29.0)	16.0±4.0 (7.0-25.0)	15.0±3.0 (7.0-20.0)	6.2±2.3 (2.0-22.0)	23.8±12.6 (5.5-50.3)	20.4±12.9 (4.4-50.3)	
pH	6.0 (5.8-6.2)	6.1 (5.5-7.1)	nd	7.5 (7.2-8.0)	7.5 (7.2-8.0)	7.8 (7.5-7.9)	7.8 (7.7-7.9)	7.7 (7.3-8.0)	7.6 (6.4-8.0)	7.4 (6.8-7.8)	7.4 (7.1-7.8)	7.4 (6.7-8.0)	6.5 (6.0-7.5)	6.6 (6.0-7.7)	
S-II ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	394 (263-594)	306 (46-861)	nd	315 (39-477)	234 (39-477)	169 (68-310)	164 (111-204)	191 (42-421)	282 (20-788)	404 (167-667)	385 (156-534)	53 (0-600)	406 (45-927)	339 (24-927)	
Fe II ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	0	0	nd	22 (0-35)	15 (0-35)	9 (0-21)	9 (4-12)	11 (0-31)	19 (0-62)	29 (9-52)	28 (8-40)	6 (0-581)	339 (0-867)	270 (0-867)	

Figure captions

Figure 1. Bray-Curtis similarity among the 14 gastropod samples collected in *Alvinella* colonies and *Riftia*_clumps at 13°N/EPR hydrothermal vent field. Abundance data were standardised to number of individuals in the sample and square-root transformed. (A) Group average sorting dendrogram. (B) Non-metric Multidimensional Scaling (NMDS). Relationships between the 2 major faunal groups identified by the cluster analysis and physico-chemical variables were reported on the NMDS plots. Size of the bubbles is proportional to the value of the physico-chemical parameters for each sample (see Table 2). * on the group average sorting dendrogram indicates samples collected in *Riftia* clumps.

Figure 2. Species-effort curves with 95 % confidence intervals generated with the EstimateS v.7.5. software from species abundance data of each faunal assemblage identified by the group average sorting dendrogram. These curves provide an estimate of expected species richness for random subsets sampled in the total species pool of a faunal assemblage.

Figure 3. Size-frequency distributions of the curvilinear shell length of *Lepetodrilus elevatus* for different samples collected in *Alvinella* colonies and *Riftia* clumps from the 13°N/EPR hydrothermal vent field. N = number of measured individuals. * indicates samples collected in *Riftia* clumps.

Figure 4. Oocyte size-frequency distributions for *Lepetodrilus elevatus* from different vents and sizes. L: curvilinear shell length; N = number of measured oocytes.

Figure 5. Mean oocyte Feret diameter (\pm 95% confidence limits) (μm) of *Lepetodrilus elevatus* at different spatial scales. A, between vents. B, between samples from the Parigo PP-

Ph05(1) vent. C, D and E, between females from samples P1-a, P1-d and P1-f respectively. Numbers near the mean give the number of individuals and measured oocytes respectively used to calculate mean oocyte diameter. Similar letters indicate no statistical difference among oocyte size distributions ($p > 0.05$) calculated from the multiple range test using the Dunn-Nemenyi procedure. * indicates samples collected in *Riftia* clumps.

Figure 6. Schematic representation of the influence of physico-chemical variables on the gastropod community structure for the different vents from the 13°N/EPR hydrothermal vent field. Toxicity of the different habitats was determined from the interactions between total sulphide concentrations, pH, and iron concentrations. For each habitat, dominant gastropod species are indicated.

Figure 1.

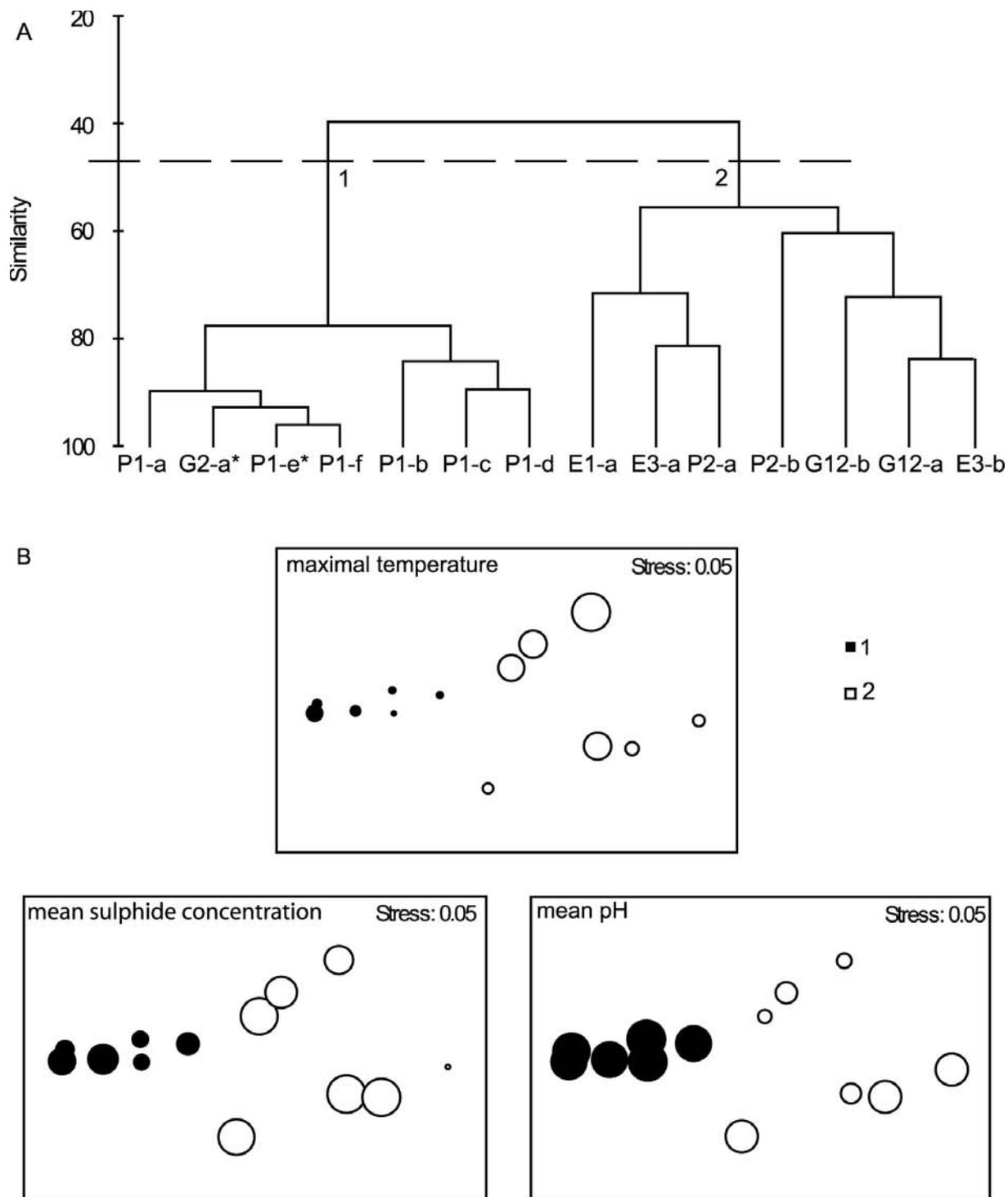


Figure 2.

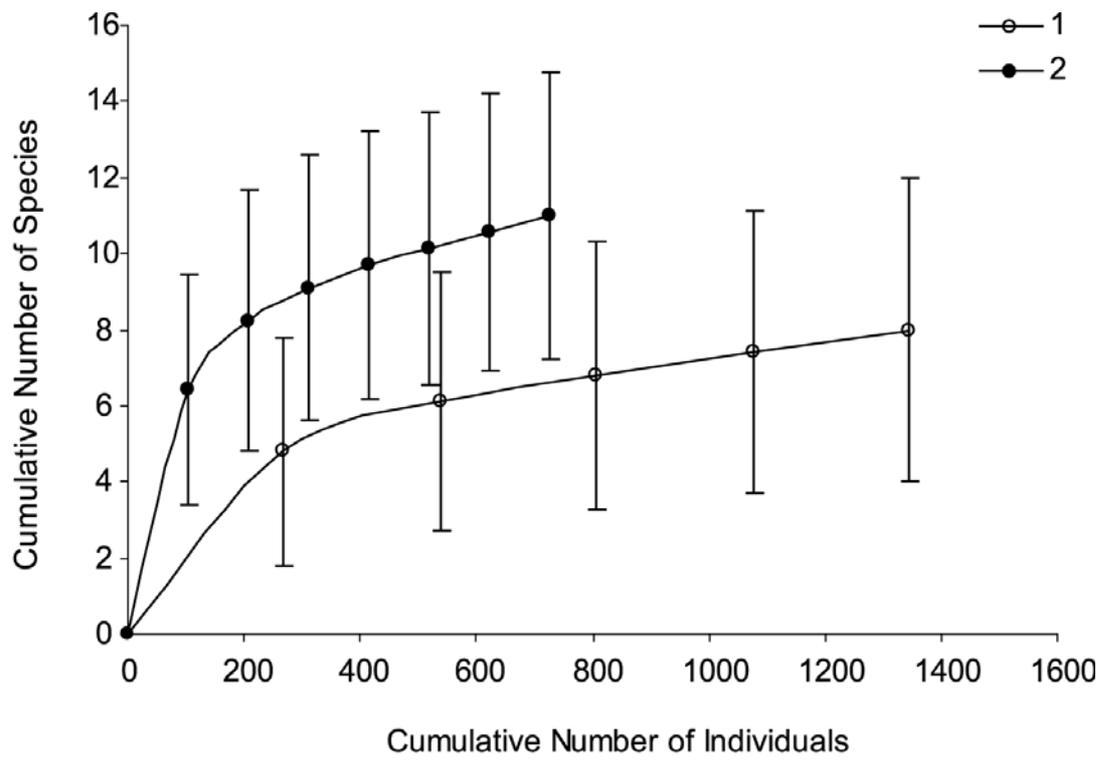


Figure 3.

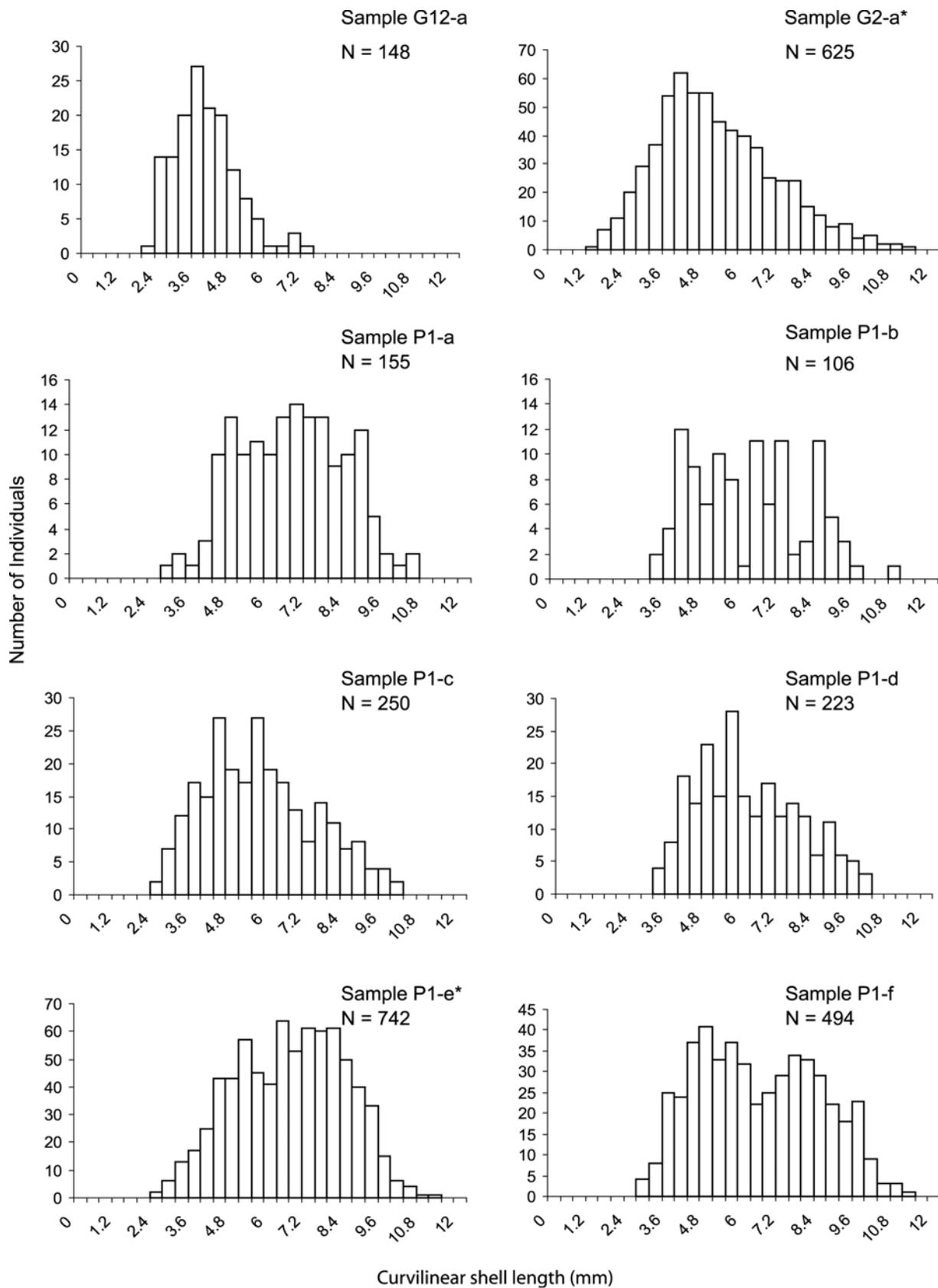


Figure 4.

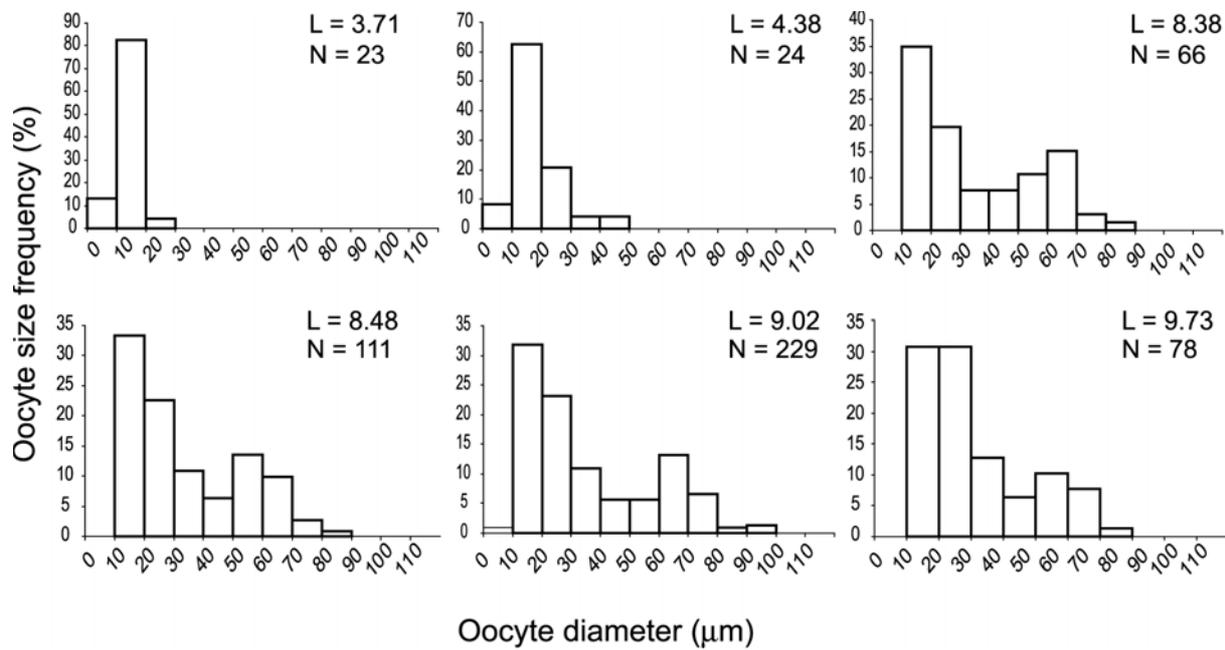


Figure 5.

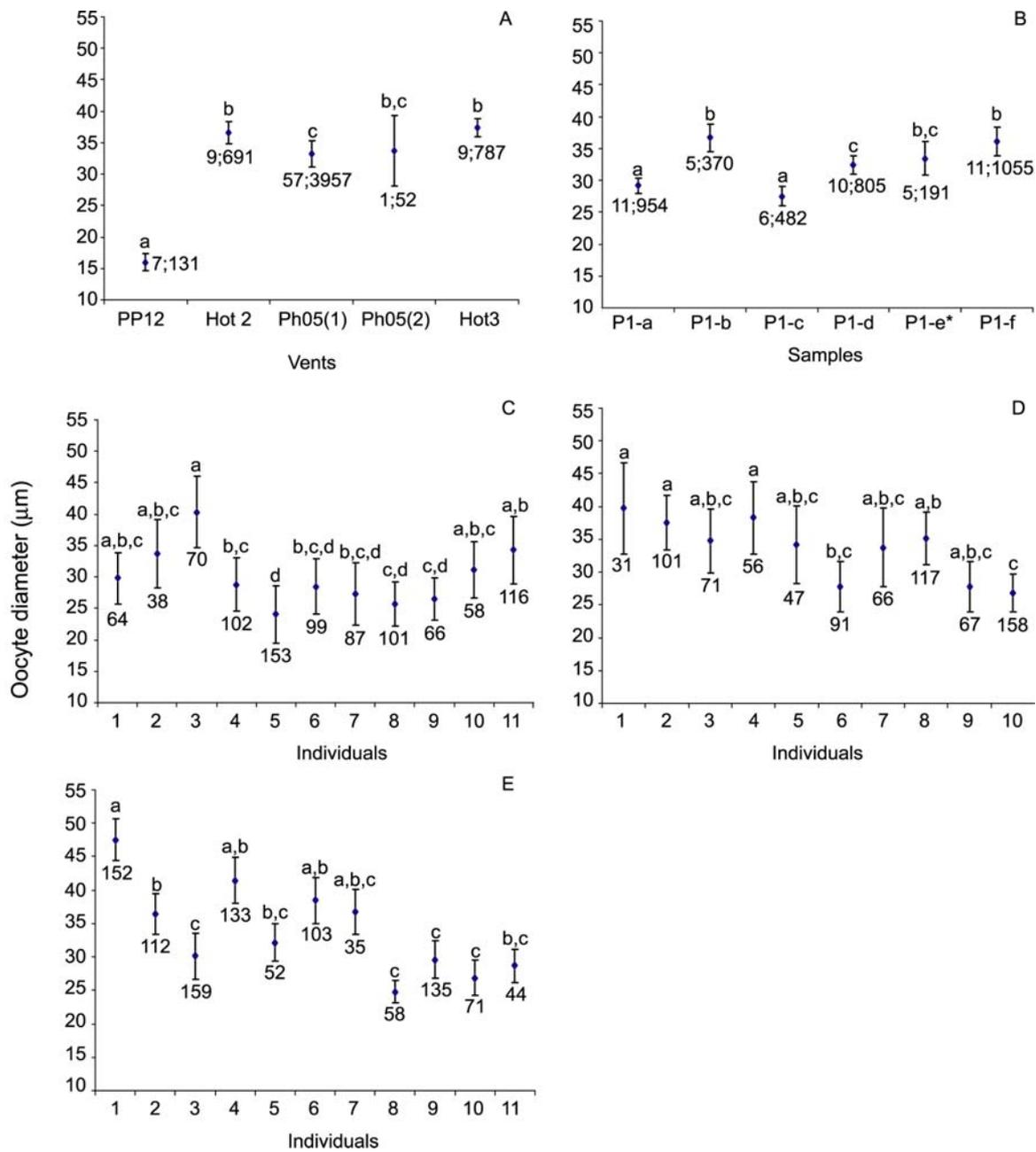
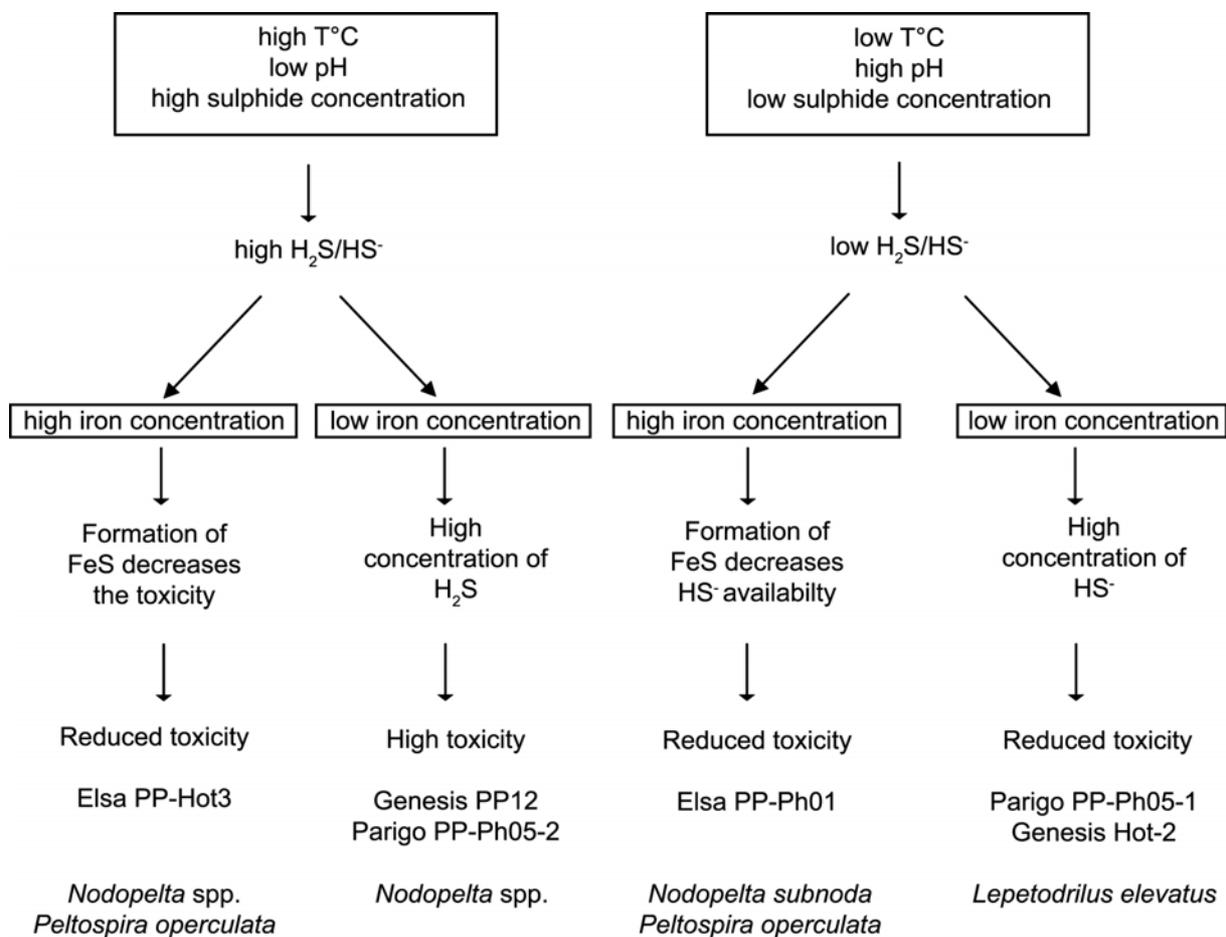


Figure 6.



Résumé

La distribution de la biodiversité associée aux sources hydrothermales, et les facteurs responsables de sa mise en place aux différentes échelles spatiales, sont encore mal définis aujourd'hui. Face à ce constat, les objectifs majeurs de cette thèse étaient de combiner des approches écologique et génétique, pour identifier les principaux facteurs qui influencent la diversité des gastéropodes hydrothermaux le long de la dorsale Est Pacifique (EPR). Ces facteurs étaient : les traits d'histoire de vie des espèces, les conditions physico-chimiques de l'environnement, les barrières physiques à la dispersion et le contexte géodynamique.

A l'échelle de la dorsale, l'analyse génétique d'une des principales espèces de gastéropode, *Lepetodrilus elevatus* entre 13°N et 17°S a permis de mettre en évidence l'existence de deux espèces cryptiques trouvées en sympatrie à 9°50'N. Si la spéciation semble être d'origine allopatrique, en relation avec l'histoire tectonique de la dorsale (présence de la microplaque de Bauer), celle-ci a probablement été renforcée par une spécialisation par l'habitat en réponse à l'hétérogénéité de l'environnement. Si la rupture géographique s'avère être commune à de nombreux taxons, elle devrait être détectée lors de la comparaison à grande échelle de la composition des communautés faunistiques. L'analyse de la composition faunistique des moulières entre 7°S et 21°S montre au contraire que la plupart des espèces communes sont largement distribuées, suggérant l'existence d'une unique province biogéographique pour l'ensemble de la dorsale Est-Pacifique. Néanmoins, la présence de nouvelles espèces ou d'espèces inféodées à d'autres systèmes hydrothermaux au-delà de 17°S semblait indiquer l'existence d'une écorégion bien distincte.

A partir de la mise au point de nouveaux marqueurs moléculaires, l'analyse de la structure génétique de *L. elevatus* à méso-échelle montre que la dispersion a un rôle limité. A l'inverse, cette structure serait fortement affectée par la dynamique d'extinction-recolonisation des populations liée au caractère éphémère des habitats.

Enfin, l'examen à micro-échelle des gastéropodes associés aux colonies d'Alvinellidés a montré que même une description fine des conditions physico-chimiques du milieu n'expliquait que très partiellement la structure des communautés. La distribution des espèces résulterait alors de l'existence de micro-habitats et d'interactions biotiques.

Mots-clés: biodiversité, dorsale Est Pacifique, gastéropodes, *Lepetodrilus elevatus*, structure des communautés, structure génétique.

Abstract

Factors shaping biodiversity patterns associated with hydrothermal vents at different spatial scales are not yet well understood. Combining molecular and ecological approaches, this thesis aimed to identify the different factors influencing hydrothermal vent gastropods biodiversity along the East Pacific Rise (EPR). Those factors were: life history traits, physico-chemical environment, barriers to dispersal and geodynamic environment.

At the ridge scale, genetic analyses of *Lepetodrilus elevatus* revealed the occurrence of two sibling species, between 13°N and 17°S, found in sympatry at 9°50'N. Speciation was suggested to be allopatric in relation with tectonic events (Bauer microplate). However reinforcement by habitat specialisation probably occurred between the two lineages, in response to habitat heterogeneity. This geographic break, if consistent among taxa, should be detected when comparing faunistic composition at large scale. After examination of the faunistic composition of communities associated with mussel beds between 7°25'S and 21°33'S, common species appeared to be widespread along the gradient suggesting the occurrence of a single biogeographic province at the scale of the EPR. However, the amount of new species and species related to other hydrothermal systems beyond 17°S indicated that this region should be considered as a distinct ecoregion.

Development of new molecular markers, allowing genetic structure analysis of *Lepetodrilus elevatus* at meso-scale, highlighted the limited role of dispersal. Conversely extinction-recolonisation processes seemed to significantly affect genetic diversity in relation with habitat dynamic.

Finally, micro-scale examination of gastropods associated with *Alvinella pompejana* colonies revealed that fine-scale characterisation of physico-chemical conditions only partially explains the community structure. Thus, species distribution appeared to result from the existence of micro-habitats and biotic interactions.

Key words: Biodiversity, East Pacific Rise, gastropods, *Lepetodrilus elevatus*, community structure, genetic structure.