



Les processus d'invasions biologiques en milieu côtier marin : le cas de l'algue brune *Undaria pinnatifida*, cultivée et introduite à l'échelle mondiale

Marie Voisin

► To cite this version:

Marie Voisin. Les processus d'invasions biologiques en milieu côtier marin : le cas de l'algue brune *Undaria pinnatifida*, cultivée et introduite à l'échelle mondiale. Ecosystèmes. Paris 6, 2007. Français. NNT : . tel-01118270

HAL Id: tel-01118270

<https://hal.sorbonne-universite.fr/tel-01118270>

Submitted on 18 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

Diversité du vivant

Présentée par

Mlle Marie VOISIN

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'université Pierre et Marie Curie

**Les processus d'invasions biologiques en milieu côtier marin :
le cas de l'algue brune *Undaria pinnatifida*,
cultivée et introduite à l'échelle mondiale**

Soutenue le mardi 27 novembre 2007

Devant le jury composé de :

Mme Christine Maggs, Professeur, Queen's University, Belfast	(Rapporteur)
M. Joël Cuguen, Professeur, Université Lille 1	(Rapporteur)
Mme Valérie Stiger-Pouvreau, Maître de conférences, UBO, Brest	(Examinatrice)
M. Bernard Kloareg, Professeur, Université Paris VI	(Examinateur)
Mme Frédérique Viard, Chargée de recherche, CNRS, Roscoff	(Directrice de thèse)

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Myriam Valero de m'avoir accueillie dans son laboratoire, dès mon stage de DEA, puis pour ces trois années de thèse. Merci aussi et surtout à Frédérique Viard qui m'a encadrée, soutenue et fait confiance. Merci d'avoir multiplié les demandes de bourses et d'avoir toujours fait en sorte que ma thèse se déroule dans les meilleures conditions. Merci pour ton aide, ton exigence et tes conseils avisés tout au long de ces années.

Cette thèse, c'est aussi un vrai travail d'équipe. Merci donc à Carolyn Engel de m'avoir initiée aux joies de la biologie moléculaire... et à ses mystères ! merci d'avoir toujours su te rendre accessible et disponible. Merci aussi à Claire Daguin, pour ses nombreux conseils techniques, ses supers marqueurs, sa disponibilité.

Mon modèle biologique, *Undaria pinnatifida* est, certes la plus belle algue brune du monde, tout le monde est d'accord, mais ô combien difficile d'accès ! merci donc aux plongeurs du service Mer & Observation de la Station Biologique de Roscoff : Yann Fontana, Wilfried Thomas, Guillaume De Liège et Laurent Levêque. Merci à vous tous d'avoir accepté de venir à l'Aber Wrac'h et à St Malo pour mesurer, prélever, filmer, encore et toujours mesurer et prélever... et enfin éradiquer ! « mon algue ».

Merci également aux aquaculteurs Patrick Podeur (Roscoff), Scarlett Le Corre (Le Guilvinec), Magali Molla et Jean François Arbona (St Malo) de m'avoir fourni chaque année, des échantillons et de m'avoir accueillie sur leurs concessions.

Si mon travail de thèse est un travail d'équipe, c'est d'autant plus vrai pour les célèbres « sorties *Undaria* ». Quatre années de suivi dans les ports, ça veut dire, 48 sorties, qu'il pleuve, qu'il vente ou qu'il grêle... et à chaque fois au moins 3 *heureux volontaires* pour m'accompagner. Alors un vrai grand merci à : Damien, Lise, Fred, Elodie, Dominique, Solenne, Caro, Claire, Eric, Laurent, Sylvain, Marie, Didier, Valéria, Florence, Gauthier, Christophe, et plus particulièrement aux « habitués » Delphine, Manue, Baptiste, Sabrina et François. Petit bilan : à nous tous, nous avons parcouru plus de 15 000km, mangé 3kg de Kinder et mesuré plus de 2 500 algues ! merci !!!

Lors de ma thèse, j'ai bénéficié d'un coup de pouce de Cédric Javanaud : il s'est confronté aux joies et aux aléas du génotypage. Expérience riche en enseignements ! Merci pour ton aide et, surtout, pour ton entrain et ta bonne humeur... Merci également à Clément, mon frère, qui a réalisé un film à l'attention des scolaires sur mon algue voyageuse... J'ai enfin une pensée pour Daphné qui va prendre la relève. J'espère t'avoir donné tous les trucs et astuces indispensables pour dompter les Licor et les pipettes. Bon courage pour la suite.

Ce qui aura fait la force de ces quelques années passées à Roscoff, ce sont de loin mes co-thésards et l'esprit de groupe qui a régné parmi les étudiants de l'équipe. J'ai une pensée particulière pour Delphine et Mélanie, merci pour votre soutien et votre amitié. Merci aussi à Baptiste (alias Prince de Lu) qui aura, non seulement, été mon collègue, mais aussi mon colocataire et mon compagnon de palanquée. Merci aussi à Sab, Manue et François particulièrement présents ces dernières semaines de rédaction. Merci à vous tous, pour toutes les soirées, binouzes, barbec', pizzas, apéro... j'en passe et des meilleures.

Je voulais enfin remercier mes proches. Tout d'abord mes parents qui ont toujours cru en moi, en mes choix et qui m'ont permis de faire ces quelques années d'études dans des conditions idéales. Cette thèse c'est aussi en grande partie la votre ! Merci enfin à Sonny, pour tout... prêt pour la suite ?

Ce travail de thèse a été financé par la région Bretagne et a bénéficié du soutien du réseau d'Excellence Marine Genomics Europe

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	5
A. Les modifications d'aire de distribution des espèces par l'homme : processus et enjeux liés aux introductions biologiques	6
1. Avant propos & définition	6
2. Rôle de l'homme et ampleur du phénomène en milieu marin	8
3. Un phénomène complexe	9
4. Les conséquences des introductions biologiques	9
5. Gestion et contrôle des introductions biologiques	11
B. La réussite d'une espèce introduite : un paradoxe ou une méconnaissance des processus en jeu ?	14
1. Quelques traits d'histoire de vie remarquables	14
2. Composition des communautés envahies et caractéristiques du milieu	16
3. L'importance de la pression de propagule	17
C. Problématique de la thèse et modèle d'étude	19
1. <i>Undaria pinnatifida</i> : une macro-algue cultivée et introduite	20
2. Une approche essentiellement basée sur les outils de la génétique des populations	22
3. Articulation du travail de thèse	23

CHAPITRE 1 : PROCESSUS D'INTRODUCTIONS PRIMAIRES D'UNDARIA PINNATIFIDA A L'ECHELLE MONDIALE

CHAPITRE 1 : PROCESSUS D'INTRODUCTIONS PRIMAIRES D'UNDARIA PINNATIFIDA A L'ECHELLE MONDIALE	26
A. Problématique liée aux processus d'introduction primaires.	27
1. Identifier les sources d'introduction	27
2. Les vecteurs d'introduction potentiels en milieu marin	28
3. Utilisation d'outils moléculaires pour identifier les modalités (sources et vecteurs) d'introduction	29
4. <i>Undaria pinnatifida</i> : une espèce introduite mondialement	30
B. Le développement de marqueurs moléculaires en vue d'études phylogéographiques chez les algues brunes	31
1. Le choix de séquences intergéniques mitochondriales	31
2. Méthodologie de développement des marqueurs mitochondriaux	33
3. Méthode d'analyse du polymorphisme : optimisation d'une technique d'analyse de conformation simple brin (SSCP)	34
C. Des mécanismes d'introduction différentiels dans les régions d'introduction	35
1. Les populations et régions étudiées : présentation de l'échantillonnage	35
2. Obtention des données moléculaires	36
3. Analyses des données	37
4. Résultats	39
5. Interprétations des résultats	42
D. Conclusion	47

CHAPITRE 2 : ENTRE INTRODUCTIONS PRIMAIRES ET SECONDAIRES, FOCUS SUR LES PROCESSUS D'INTRODUCTIONS EN EUROPE

CHAPITRE 2 : ENTRE INTRODUCTIONS PRIMAIRES ET SECONDAIRES, FOCUS SUR LES PROCESSUS D'INTRODUCTIONS EN EUROPE	50
A. Dynamiques d'expansion : les schémas théoriques et les attendus avec <i>Undaria pinnatifida</i> .	51

B.	L'histoire détaillée de l'introduction d' <i>U. pinnatifida</i> en Europe : ce que les observations de terrain nous apprennent	55
C.	Développement de marqueurs microsatellites	57
D.	Processus d'introduction à l'échelle européenne	59
	1. Matériel et méthode	60
	2. Résultats	65
	3. Discussion	70
E.	Conclusion	76

CHAPITRE 3 : IMPACT DE L'HOMME DANS LE MAINTIEN ET L'EXPANSION D'UNE ESPECE INTRODUITE : CARACTERISATION ET INTERACTION ENTRE POPULATIONS DE DIFFERENTS

	COMPARTIMENTS	79
A.	Introduction. Rappel de la problématique	80
B.	La culture d'une espèce introduite dans une aire d'introduction : quelles sont les caractéristiques de ces populations maintenues par l'homme ?	83
	1. Matériel et méthodes	85
	2. Résultats	86
	3. Discussion	88
C.	Quel rôle les activités humaines jouent-elles dans le développement de populations spontanées ? le cas de la baie de St Malo.	90
	1. Matériel et méthodes	93
	2. Résultats	96
	3. Discussion	101
	4. Conclusion	107

CHAPITRE 4 : DYNAMIQUE DEMOGRAPHIQUE ET GENETIQUE

CHEZ UNE ESPECE INTRODUITE A CYCLE DE VIE ANNUEL 109

A.	Introduction. Rappel de la problématique	110
B.	Dynamique de recrutement et de croissance dans un milieu anthropisé, les marinas.	111
	1. Matériel et méthode	113
	2. Résultats	116
	3. Discussion	120
	4. Conclusion	126
C.	Evolution temporelle des caractéristiques génétiques d'une population de milieu rocheux d' <i>Undaria pinnatifida</i> .	127
	1. Matériel et méthodes	127
	2. Résultats	128
	3. Discussion	129
	4. Conclusion	132

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES 134

ANNEXE 1 : Protocole d'échantillonnage

ANNEXE 2 : Conditions d'amplification des locus mitochondriaux & Séquençage et détection du polymorphisme de conformation simple brin

- ANNEXE 3 :** Définition et fréquences des haplotypes mitochondriaux d'*Undaria pinnatifida*
- ANNEXE 4 :** Conditions d'amplification et de migration des locus microsatellites d'*Undaria pinnatifida*
- ANNEXE 5 :** Fréquences alléliques des marqueurs microsatellites d'*Undaria pinnatifida*
- ANNEXE 6 :** Matrices de distances génétiques et géographiques entre paires de populations à l'échelle européenne
- ANNEXE 7 :** Suivi démographique dans deux ports de Bretagne Nord : données brutes
- ANNEXE 8 :** Articles publiés

INTRODUCTION GENERALE

A. Les modifications d'aire de distribution des espèces par l'homme : processus et enjeux liés aux introductions biologiques

1. Avant propos & définition

Les espèces voient naturellement leur distribution géographique se modifier par des augmentations ou des contractions. Ces modifications sont liées à l'interaction entre de nombreux processus : phénomènes écologiques, processus évolutifs et modifications physiques, géographiques et climatiques du milieu. Au cours du temps, ces dynamiques naturelles ont conduit à la création de biotopes régionaux et locaux. C'est essentiellement la perception que nous avons de ces biotopes et de la définition de provinces biogéographiques (figure I.1) qui nous conduit aujourd'hui à discriminer les espèces natives des espèces non natives au sein d'une région donnée.

De nombreux termes sont utilisés dans la littérature pour définir les espèces dont l'apparition soudaine dans un écosystème est due aux activités humaines. Certains auteurs proposent de différencier les espèces « introduites » ou « exotiques », des espèces « invasives », ce dernier terme suggérant un impact négatif attesté (voir Davis & Thompson 2000, Rejmanek et al. 2002, Colautti & MacIsaac 2004 et encadré I-1). Néanmoins, l'appréciation du caractère invasif et/ou négatif peut différer selon les pays, les habitats ou les enjeux pris en compte. L'exemple de la crevette *Litopenaeus vannamei*, native d'Amérique Centrale et introduite en Thaïlande illustre ces différences d'appréciation des avantages et inconvénients accompagnant l'introduction d'une espèce en fonction des enjeux pris en compte. La crevette *L. vannamei* est en effet particulièrement appréciée en aquaculture, en raison de sa tolérance à une large gamme de conditions environnementales, la survie importante de ses larves et sa résistance aux pathogènes. En outre, elle est devenue l'une des espèces les plus largement cultivée et représente une source importante de revenus pour les populations locales avec près de 120 000t produites en 2003 (Briggs et al. 2004). En revanche, d'un point de vue écologique, cette espèce est considérée comme une menace : elle

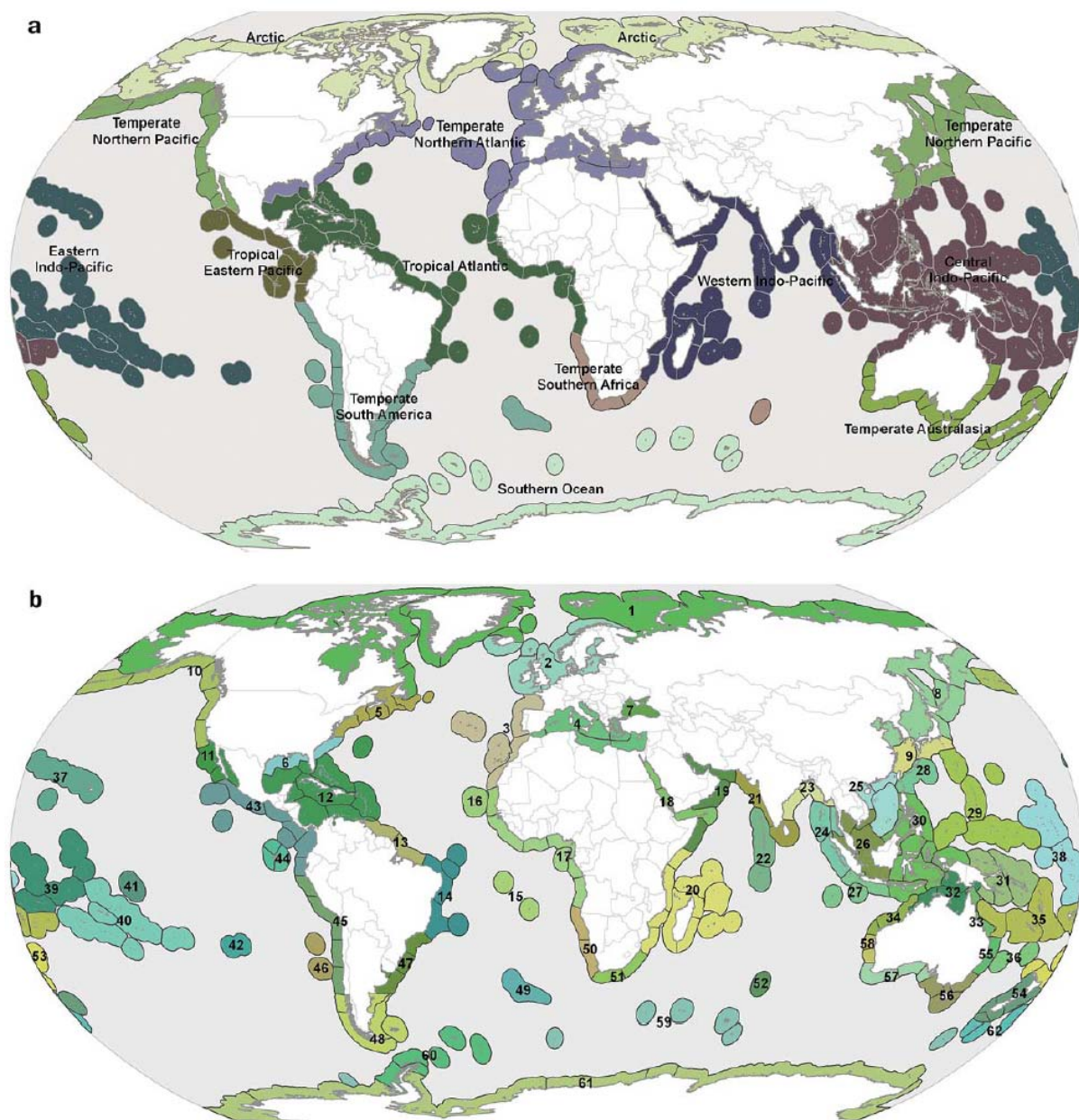


Figure I.1 Provinces biogéographiques marines (a) et écorégions (b) issu de Sapldin et al. (2007).

a- Les provinces biogéographiques ont été définies comme de larges zones benthiques ou pélagiques présentant une cohérence à des niveaux taxonomiques élevés et une histoire évolutive commune. Ces régions présentent de fortes proportions d'endémisme dont des genres et des familles uniques. Les facteurs pris en compte pour délimiter ces zones incluent la température de l'eau, ainsi que des événements historiques d'isolement.

b- Les écorégions correspondent à des régions dont la composition spécifique est homogène et clairement différenciée de la zone adjacente. Les principaux facteurs utilisés pour définir ces zones varient de localités en localités mais peuvent inclure les upwelling, les apports de nutriments, l'arrivée d'eau douce, le régime de température, la courantologie ainsi que la bathymétrie.

est particulièrement agressive et de nombreux spécimens élevés puis échappés dans le milieu naturel entrent en compétition avec les espèces locales, les menaçant d'extinction (Chavanich et al. 2007). Le vocable d'« espèce invasive » est également difficile à généraliser pour l'ensemble du processus d'introduction d'une espèce donnée. Colautti & MacIsaac (2004) soulignent ainsi que ce terme est parfois utilisé pour décrire une espèce qui a peu, voire aucun impact dans une région donnée, simplement parce qu'elle a été identifiée comme nuisible dans une autre région d'introduction. La terminologie relative aux processus d'introduction biologique étant complexe et sujette à de nombreux débats (e.g. Davis & Thompson 2001, Colautti & MacIsaac 2004), j'ai choisi d'utiliser indifféremment les termes « introduit », « exotique » ou « invasif » en opposition aux termes « natif », « indigène » ou « local ». Une espèce introduite sera ici définie simplement comme une espèce dont l'apparition, soudaine et imprévisible, depuis une aire géographique éloignée, est liée aux activités humaines (Carlton 1996b).

Si la terminologie est complexe, la catégorisation des espèces en espèce introduite *versus* native peut également être problématique, en particulier lorsque peu de données écologiques et historiques sont disponibles. Cette classification est d'autant plus difficile quand l'espèce entretient depuis longtemps des relations étroites avec l'homme de façon directe (ex : espèce cultivée) ou de façon indirecte (ex : espèce se développant à proximité d'une zone où se concentrent des activités anthropiques, comme les bassins conchylicoles ou les milieux portuaires). Ces espèces sont appelées des espèces « cryptogéniques » (*sensu* Carlton 1996a). C'est notamment le cas du bivalve foreur de bois *Teredo navalis*, suspecté d'avoir été introduit en Amérique du Nord dès les premiers voyages transcontinentaux, fixé sur la coque des caravelles en provenance d'Europe de l'Ouest, et pour lequel aucune donnée biogéographique historique n'est pour le moment disponible.

Le modèle d'étude de cette thèse est un autre exemple d'espèce qui entretient des relations étroites avec l'homme : il s'agit de la macroalgue brune *Undaria pinnatifida* qui est cultivée dans son milieu d'origine ainsi que dans certaines régions d'introductions.

Les processus d'introduction biologique touchent tous les milieux mais le modèle biologique sur lequel j'ai travaillé au cours de ce doctorat étant une espèce marine, les exemples qui illustreront mon propos dans la suite de ce document seront principalement tirés d'études réalisées en milieu marin.

Encadré I.1 : Quelques définitions des termes relatifs aux introductions biologiques...

(d'après Carlton, 1996, Colautti & MacIsaac, 2004)

Espèce importée : espèce transportée en dehors de son aire native mais contenue (par exemple pour la culture)

Espèce introduite : une espèce, dont l'apparition soudaine et imprévisible depuis une aire géographique éloignée est liée aux activités humaines

Espèce établie : espèce introduite se développant et se reproduisant dans le milieu naturel de façon autonome

Le terme « invasif » est utilisé pour décrire des situations très variables

- 1- un synonyme d' «introduit» ou de «non indigène»
- 2- une espèce colonisant le milieu naturel
- 3- pour faire une opposition entre les espèces introduites cultivées et les espèces introduites se développant dans des habitats naturels
- 4- pour des espèces se développant avec des densités importantes ou se dispersant rapidement à distance de leur point initial d'introduction
- 5- une espèce ayant un impact négatif sur les autres espèces présentes dans le milieu envahi; on parle également d'espèces proliférantes

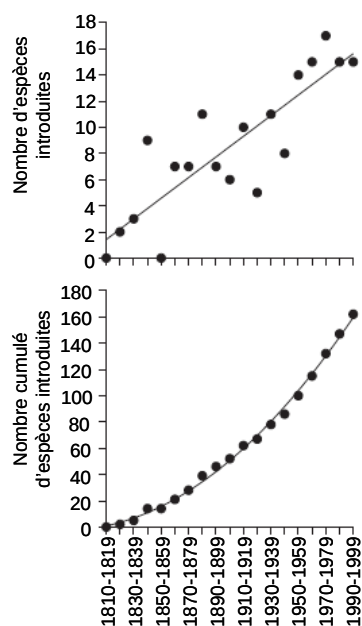


Figure I.2 : Intensification des introductions biologiques dans les Grands Lacs depuis le début du XIX^{ème} siècle (d'après Ricciardi 2001)

2. Rôle de l'homme et ampleur du phénomène en milieu marin

Des observations réalisées à des échelles de temps relativement courtes ont montré comment les phénomènes de dispersion naturelle à longue distance pouvaient permettre la colonisation de nouvelles localités particulièrement éloignées des localités d'origine. La dispersion à longue distance est notamment un élément clé pour la colonisation des îles. L'un des exemples les plus marquant est la colonisation de l'île de Krakatau après qu'une éruption a entraîné la disparition de toute faune et flore en 1883 (MacArthur & Wilson 1963, Cain et al. 2000). Les dispersions naturelles à longue distance sont toutefois des événements rares sur une échelle de temps courte (*i.e.* à l'échelle humaine). La majorité des espèces nouvellement référencées dans une région distante du point d'origine s'avèrent généralement avoir été importées accidentellement ou volontairement par l'homme. L'homme apparaît ainsi comme l'un des principaux moyens de transport contemporain des espèces sur des échelles spatiales supérieures aux capacités naturelles de dispersion. Ce phénomène a commencé dès les premiers voyages trans-continentaux. La colonisation par l'homme des archipels polynésiens, il y a plus de 40 000 ans, s'est accompagnée de l'introduction de nombreuses espèces végétales et animales, dont le rat du Pacifique *Rattus exulans* (Matisoo-Smith et al. 1998). De même, à la fin du XIX^{ème}, l'escargot *Helix aspersa* a été introduit à Cape-Town en Afrique du Sud par les navires français qui le transportaient comme denrée alimentaire.

En milieu marin, avec l'intensification des transports transcontinentaux et l'augmentation du nombre de vecteurs potentiels d'introduction, les invasions biologiques ont connu une véritable intensification depuis le milieu du XIX^{ème} siècle (figure I-2, Ricciardi 2001). Par exemple, la multiplication des vecteurs d'introduction aurait largement contribué à l'introduction à l'échelle mondiale et au cours des siècles du crabe vert *Carcinus maenas* originaire d'Europe de l'ouest. Carlton & Ruiz (2005) comptaient ainsi seulement deux vecteurs potentiels en 1700 (ex : les ballasts solides et le fouling), et plus du triple en 2000 (ex : les eaux de ballast, l'aquariophilie, l'ostréiculture, les appâts pour poisson, le transport de crustacés). Cette multiplication des vecteurs et l'intensification des activités humaines s'accompagnent, de fait, d'une forte augmentation du nombre d'espèces transportées. En 1996, Carlton estimait que plus de 3000 espèces étaient transportées, chaque jour, dans les eaux de ballast des navires et susceptibles d'être relâchées hors de leur aire native

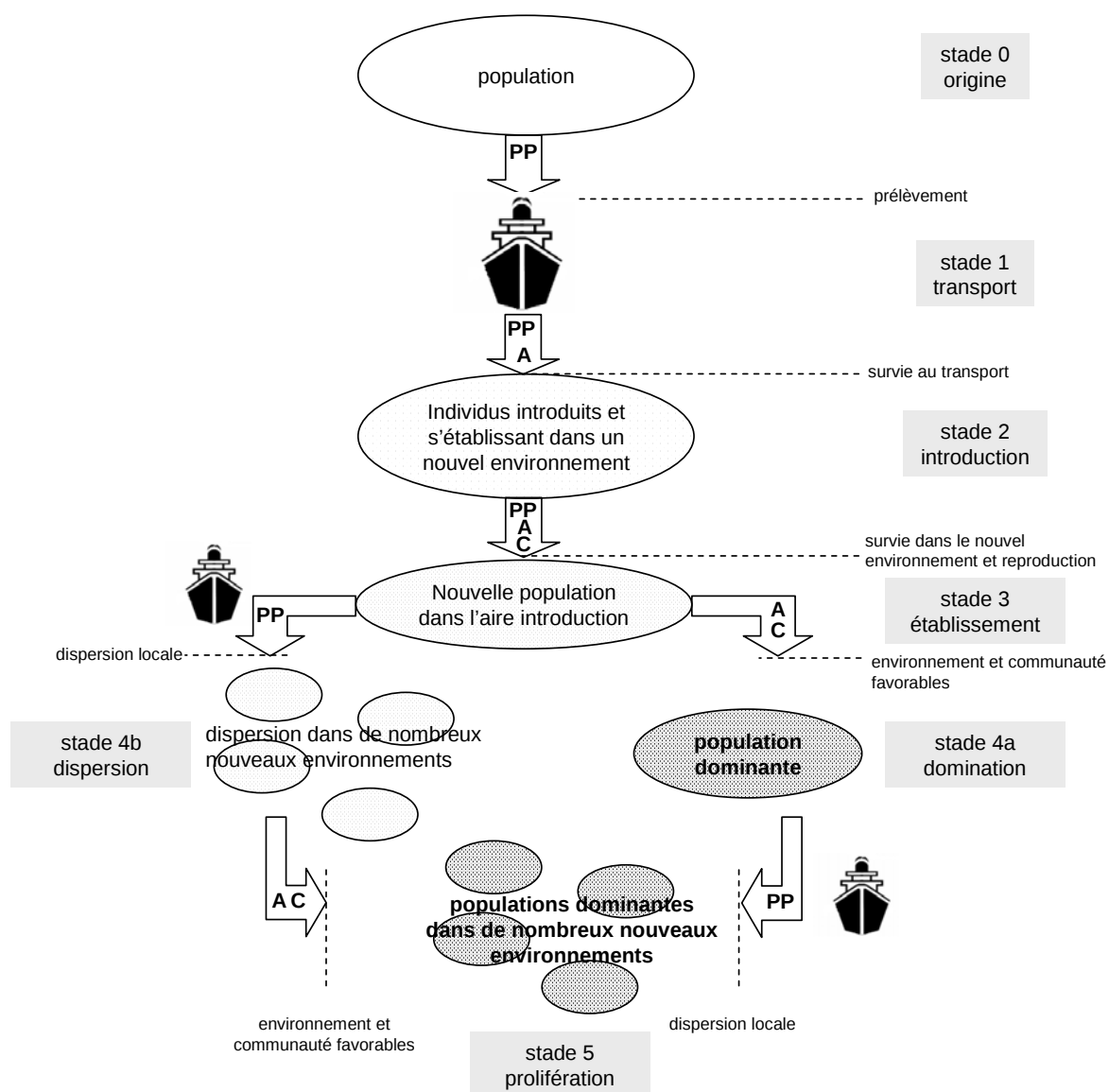


Figure I.3 : Différentes phases du processus d'introduction selon Colautti et al. 2006, modifié par Occhipinti-Ambrogi 2007.

Le passage d'un stade à l'autre implique le franchissement de certaines barrières (ou filtres) représentées par des lignes pointillées. Dans ce modèle, trois paramètres sont représentés pour expliquer le passage d'un stade à l'autre : la pression en propagules (PP), les conditions abiotiques du milieu (A) et les interactions avec la communauté envahie (C).

3. Un phénomène complexe

Le succès d'introduction d'une espèce exotique dans un nouvel environnement implique le franchissement de différentes barrières, depuis le prélèvement d'individus dans leur aire d'origine jusqu'à l'installation de nouvelles populations dans l'aire d'introduction, suivie de leur éventuelle prolifération et expansion (Vermeij 1996). Colautti et al. (2006) distinguent ainsi cinq phases dans ces processus d'introduction biologique décrites dans la figure I-3. Le stade 0 correspond à des espèces natives, dans leur aire d'origine, le stade 1 étant l'étape de transport par l'homme hors de l'aire naturelle. Lorsque les individus transportés sont relargués dans un nouvel environnement, hors de leur aire de répartition naturelle (stade 2), ils doivent rencontrer des conditions favorables à leur survie et à leur reproduction pour fonder durablement une population (stade 3). Le stade 4 correspond à la dispersion d'individus au-delà du point initial d'introduction (stade 4a) ou à l'augmentation de la densité de la population introduite (stade 4b). Enfin, le stade 5 est défini par une espèce exotique se développant en dehors de son point d'introduction et en forte densité.

Il faut néanmoins noter que toutes les espèces exotiques introduites ne franchissent pas l'ensemble de ces étapes, et que le phénomène d'introduction biologique peut être arrêté à chacune des étapes. Williamson & Fitter (1996) estimaient que seulement $1/10^{\text{ème}}$ des espèces introduites s'établissait durablement, que parmi elles, seul $1/10^{\text{ème}}$ parvenait à disperser au-delà de leur point d'introduction et qu'enfin $1/10^{\text{ème}}$ d'entre elles était ensuite considéré comme des nuisibles (« pest ») dans l'aire d'introduction (*i.e.* la règle des dixièmes ou « tenth's rule » *sensu* Williamson & Fitter 1996b). Les conséquences écologiques, économiques et sanitaires engendrées par les quelques espèces exotiques qui vont franchir ces différentes barrières peuvent malgré tout être majeures.

4. Les conséquences des introductions biologiques

Les invasions biologiques sont reconnues comme la deuxième cause de diminution de la biodiversité, après la fragmentation ou la disparition des habitats en milieu marin (Mooney & Cleland 2001, Sakai et al. 2001, Grosholz 2002).

Les espèces introduites peuvent tout d'abord perturber les communautés envahies par des interactions directes avec les espèces locales. Aux Etats-Unis, par exemple, le déclin précipité des populations du gastéropode *Cerithidea californica* serait dû à l'introduction d'un

Encadré I.2 : *Crepidula fornicata* : un exemple emblématique des processus d'invasion sur les côtes européennes

Description et historique d'introduction

Crepidula fornicata est un gastéropode hermaphrodite étudié dans son aire d'origine depuis longtemps pour les particularités de son système de reproduction: protandre (i.e. chaque individu est d'abord mâle puis femelle au cours de sa vie), ce mollusque forme des empilement d'individus (chaines) fixés sur les rochers ou sur des coquilles mortes. Les individus à la base des chaines sont des femelles alors que les individus au sommet sont mâles

© The Bailey-Matthews Shell Museum



Répartition de *Crepidula fornicata* d'après Blanchard 1997. (1) aire d'origine; puis aires d'introductions : (2) côtes Est de l'Angleterre - 1880, (3) Belgique Allemagne Hollande -1910 à 1950, (4) côte Ouest des Etats-Unis - 1930, (5) Sud de l'Angleterre et France - 1940, (6) Danemark, Suède et Norvège - 1950; (7) Espagne et mer Méditerranée - 1970.

Plus récemment, il y a eu un regain d'intérêt pour l'étude de ce mollusque en relation avec son introduction en Europe. *Crepidula fornicata* est en effet originaire de la côte Est des États-unis et a été introduite sur de nombreuses côtes européennes (cf. carte de distribution ; Blanchard 1997). Le premier événement d'introduction est liée à l'importation d'huîtres à la fin du XIX^{ème} siècle sur les côtes britanniques. Dans les années 1940, de nombreuses introductions sont notées en Manche, sur les côtes françaises. Son expansion sera ensuite largement favorisée par les activités humaines, notamment ostréicoles ainsi que ses capacités de dispersion naturelle via une longue phase larvaire pélagique (Dupont et al. 2003).

Conséquences de son introduction

- *écologiques*. La crépidule est devenue une espèce dominante dans la plupart des écosystèmes et serait responsable de modifications importantes des conditions abiotiques des écosystèmes (voir références dans Thieltges et al. 2003), par exemple en entraînant un engorgement progressif des baies. Des études réalisées dans la rade de Brest montrent également que l'homogénéisation et la modification des fonds induite par cette espèce ainsi que la compétition directe avec les espèces locales menaceraient de disparition 70 espèces natives (Chauvaud 1998).

- *économiques*. La crépidule entrerait également en compétition avec des espèces à fortes valeurs commerciales comme l'huître ou la coquilles St Jacques et serait responsable d'une réduction de la taille du gisement en Bretagne (Chauvaud 1998).

Risques liés à son éradication :

La prolifération de la crépidule semblent également modifier les cycles biochimiques des écosystèmes et influencer la composition des blooms de phytoplancton. Ainsi en piégeant la silice à l'intérieur des baies, la crépidule permettrait le développement répétés de blooms de diatomées alors qu'en son absence, l'exportation de la silice laisserait lieu au développement de dinoflagellés toxiques (Ragueneau et al. 2002). Il a ainsi été suggéré que l'éradication massive de la crépidule pourrait entraîner des problèmes de mortalités notamment d'espèces exploitées (coquilles St Jacques, crustacés,...).

autre gastéropode, *Batillaria attramentaria*, avec lequel il entre en compétition pour la consommation de diatomées épipéliques (*i.e.* se développant à la surface des sédiments). L'espèce introduite montrerait un net avantage compétitif sur l'espèce native, en particulier lorsque les ressources en diatomées sont limitantes, puisqu'elle parviendrait à maintenir un taux de croissance supérieur à celui de l'espèce locale (Byers 2000). De même, l'introduction de parasites peut fortement altérer les espèces locales. En Australie, une vaste pandémie d'herpès s'est étendue sur près de 5000km de côtes, contaminant les sardines *Sardinops sagax*. Les études ont révélé que cette pandémie serait liée à l'importation de sardines congelées, utilisées pour l'alimentation des thons en aquaculture (Harvell et al. 1999). Les espèces introduites peuvent également altérer les conditions abiotiques des milieux envahis et perturber le fonctionnement global des écosystèmes. Sur les côtes françaises de la Manche et de l'Atlantique, *Crepidula fornicata* est un exemple emblématique de telles conséquences. Cette espèce, originaire de la côte Est des Etats-Unis, forme, dans certaines baies, des tapis particulièrement denses où la biomasse peut atteindre 250000t comme dans la baie de Saint Brieuc (Hamon & Blanchard 1994). Cette prolifération modifie la structure des habitats en augmentant les dépôts vaseux (Ehrhold et al. 1998) ce qui a une incidence notamment sur les nurseries de soles (Le Pape et al. 2004). De même, Ragueneau et al. (2002) ont montré que la présence de crépidules en grande densité pouvait modifier les cycles biogéochimiques : en rade de Brest, ces auteurs suggèrent des effets de ce mollusque sur les rapports silice/nitrate et silice/phosphate avec des implications sur la dynamique des blooms de diatomées (encadré I-2).

Plus généralement, les espèces invasives sont considérées comme des composantes du changement global (*i.e.* ensemble des modifications environnementales dues aux activités anthropiques). En effet, si les milieux perturbés par les activités humaines peuvent favoriser le succès d'installation des espèces exotiques (voir partie C ci après), les modifications biotiques et abiotiques engendrées par les espèces exotiques accélèrent les modifications des milieux (figure I-4 ; Dukes & Mooney 1999). L'un des exemples les plus marquant est celui de la Mer Noire (encadré I-3). Cette mer semi-fermée est particulièrement soumise aux pressions anthropiques. Elle reçoit notamment les eaux polluées du Danube, du Don et du Dniepr et les industries se multiplient sur les rivages (Bakan & Büyükgüngör 2000). Le nombre d'espèces exotiques n'est pas plus important que dans d'autres régions côtières, mais certaines espèces comme la méduse *Mnemiopsis leidyi* ont des impacts majeurs sur le fonctionnement de

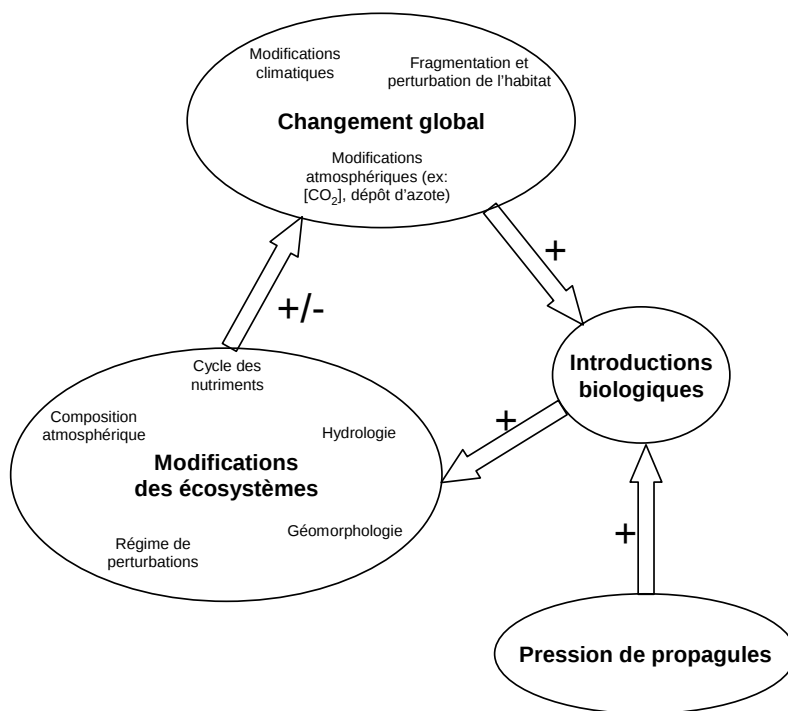


Figure I.4 : Relations entre les différentes composantes du changement global et les processus d'introductions biologiques (d'après Dukes & Mooney, 1999)

De nombreuses forces peuvent favoriser le succès des introductions biologiques. Dans ce modèle, plusieurs composantes du changement global et l'intensification du transports de propagules (*i.e.* spores, larves, individus juvéniles etc.) par les activités humaines augmentent le nombre et la couverture géographique des espèces introduites. L'augmentation des espèces introduites dans les écosystèmes participe en retour à l'altération des écosystèmes et de leurs propriétés. Les conséquences sur le changement global seront alors positives ou négatives en fonction des espèces introduites et des éléments du changement global considérés.

l'ensemble de l'écosystème et ont accéléré le phénomène d'eutrophisation du milieu (Shiganova et al. 2001, Occhipinti-Ambrogi & Savini 2003, Occhipinti-Ambrogi 2007).

Ces modifications des caractéristiques des écosystèmes ou des interactions biotiques, en relation avec les proliférations de nouvelles espèces, ont également des impacts économiques notables (tableau I-1). Aux Etats-Unis et en Europe, les populations de la moule zébrée *Dreissena polymorpha* se développent très rapidement. Elles colonisent toutes sortes de substrats, comme les coques des bateaux, les piliers des ports, bouchent les canalisations de traitements des eaux et font couler les bouées des marinas sous leur poids. Les dégâts causés par la prolifération de *D. polymorpha* et les campagnes d'éradication coûteraient chaque année entre 3 et 5 Md\$ (Perrings et al. 2005). De très fortes pertes de production agricoles, aquacoles ou forestière peuvent être liées à l'introduction de pathogènes, de parasites, ou de nuisibles. Aux Etats-Unis, on estime ainsi que 40% des nuisibles des cultures sont des espèces introduites, causant des pertes de production de 13Md\$/an et l'achat de 1,2Md\$/an de pesticides (Pimentel et al. 2005).

Enfin, rappelons que les introductions biologiques peuvent également poser d'importants problèmes sanitaires avec l'introduction d'espèces pathogènes pour l'homme. Les dinoflagellés toxiques, comme *Alexandrium minutum* et *Gymnodinium catenatum*, sont mortels dans 15% des cas de consommation de fruits de mer infectés. Aucun cas n'avait été répertorié dans l'hémisphère sud avant la fin du XX^{ème} siècle. Les échanges entre régions conchylicoles et les eaux de ballast auraient largement contribué, avec l'eutrophisation des milieux côtiers, à leur développement et à leur expansion rapide dans tout l'hémisphère sud (Hallegraeef 1998). De même, Ruiz et al. (2000) montraient que de très grandes quantités de microorganismes comme, des virus et des bactéries du choléra, étaient transportées dans les eaux de ballast des navires. Ces introductions massives et répétées représentent des menaces écologiques et épidémiologiques réelles (Harvell et al. 1999).

5. Gestion et contrôle des introductions biologiques

En regard des nombreuses conséquences liées à l'introduction d'espèces exotiques, la question de leur contrôle et/ou de leur éradication se pose naturellement (Myers et al. 2000).

Encadré I.3 : Relation entre changement global et introduction biologique.
Le cas d'un milieu fortement anthropisé : la mer Noire (d'après Occhipinti & Savini, 2003)

Eutrophisation du milieu La mer Noire est une mer semi fermée recevant les eaux de plusieurs fleuves dont le Danube le Dniپر et le Don, soit l'équivalent du tiers des bassins versants d'Europe.



Mer Noire et bassins versants (tirée de Bakan & Büyükgüngör 2000)

La qualité de l'eau a été récemment fortement modifiée par les activités humaines, en partie à cause de modifications du régime hydraulique des fleuves et d'apports importants de polluants (ex : éléments radioactifs, pollution microbienne et chimique, métaux lourds). Entre 1950 et 1990, les apports en phosphates du Danube sont passés de 13 000t à 30 000t et en azote de 140 000t à 700 000t.

Cette dégradation de la qualité de l'eau aurait eu de nombreuses conséquences écologiques, sur l'ensemble des niveaux trophiques de l'écosystème, entraînant une eutrophisation progressive du milieu. Par exemple, dans le nord et l'ouest, les forts apports en nutriments auraient favorisé le développement de blooms d'algues, limitant alors la zone photique et entraînant la disparition massive d'une algue rouge *Phyllophora* essentielle à l'équilibre de l'écosystème. Cette augmentation du phytoplancton a également limité la quantité d'oxygène dissous, créant alors des conditions létales pour de nombreux organismes.

Impact massif de quelques espèces exotiques Le nombre d'espèces introduites en Mer Noire n'est pas supérieur à celui d'autres régions côtières mais l'impact de certaines espèces introduites y est massif.



Wikimedia Commons©

Ainsi, le gastéropode *Rapana thomasiana* est originaire du Japon et a été signalé pour la première fois en 1947. Il a rapidement colonisé l'ensemble des côtes de la mer Noire et de la mer de Azov. Cette espèce qui se nourrit de bivalves a causé d'importantes diminutions des stocks d'huîtres et de moules (Occhipinti 2007).

Mais l'exemple le plus emblématique d'introduction biologique ayant eu des impacts négatifs sur l'écosystème de la mer Noire est certainement celui de la méduse *Mnemiopsis leidyi*. Cette espèce originaire d'Amérique du Nord et du Sud a été introduite au début des années 1980, certainement par des eaux de ballast. Le développement de cette espèce en mer Noire a été fulgurant et on estime que sa biomasse aurait atteint un milliard de tonnes à la fin des années 1980. *M. leidyi* se nourrit de zooplancton, d'œufs et de larves de poissons et entre également en compétition avec les larves de poissons pour la prédation de certaines espèces du zooplancton (Bakan & Büyükgüngör 2000, Shiganov et al. 2001). Cette espèce aurait ainsi un impact négatif sur plusieurs niveaux trophiques et est désormais considérée comme l'un des principaux facteurs de perturbations de l'écosystème de la mer Noire.



Photo : Tamara Shiganova

Le déclin des poissons pélagiques : un problème écologique et économique

L'industrie de la pêche est très développée en mer Noire, représentant la principale source de revenus de 2 millions de personnes (Bakan & Büyükgüngör 2000). L'eutrophisation du milieu, conjuguée à l'introduction de la méduse *M. leidyi* a causé de très importantes diminutions des stocks de poissons pélagiques et notamment d'anchois. Les prises de poissons ont diminué de 900 000t en 1986 à 100 000t en 1992. La fragilisation du milieu par les activités humaines et les espèces exotiques imposent une gestion rigoureuse des stocks de poissons. Ainsi une diminution de la pression de pêche au milieu des années 1990 a permis une nouvelle augmentation des prises en 1995 (Bilio & Niermann, 2004)



Photo IFREMER

L'éradication d'une espèce consiste à éliminer tous les individus susceptibles de se reproduire ou à diminuer suffisamment la densité des populations afin que ces dernières ne puissent plus se maintenir. De nombreuses tentatives d'éradication se sont avérées vaines, malgré d'importants efforts humains et investissements financiers. Les campagnes d'éradication de la mouche *Ceratitis capitata* en Amérique du Nord entre 1980 et 1982 ont, par exemple, coûté plus de 100M\$, mais n'ont pas permis une éradication durable puisque des individus ont été recapturés quelques années plus tard (Davies et al. 1999).. De même, dans le Massachusetts, les populations du sphinx *Bombyx disparate* sont réapparues 10 ans après des destructions massives de cocon. Ces échecs d'éradication sont souvent à mettre en relation avec une mauvaise appréciation des dynamiques des populations, de leur étendue ou de leur densité, ou à une mauvaise gestion des vecteurs d'introduction. Abdelkrim et al. (2007) ont ainsi mis en évidence que, dans le cas du rat *Rattus rattus*, les échecs d'éradication sur les îles de l'archipel de St Anne dans les Antilles françaises étaient dus à la survie de quelques individus sur certaines îles et à des réintroductions pour d'autres. Dans certains cas pourtant, l'éradication d'une espèce peut être une réussite. Par exemple en Californie, le polychète *Terebrasabella heterouncinata* originaire d'Afrique du Sud a été durablement supprimé. Ce succès est en partie attribuable à une étude préliminaire fine de son cycle de vie ainsi qu'aux moyens énormes mis en place : plusieurs millions d'individus ont été détruits et les débris de coquilles, sur lesquels il peut se développer, ont été retirés sur l'ensemble de la zone traitée (Myers et al. 2000).

Quand l'éradication s'avère impossible, des stratégies de contingentement ou de réduction des effectifs peuvent être mises en place pour limiter les effets négatifs des espèces introduites. Dans ce domaine, les techniques de « lutte biologique » ont été particulièrement utilisées pour limiter la prolifération d'espèces exotiques indésirables par l'introduction volontaire de prédateurs ou de parasites existant dans l'aire native de l'espèce cible (Myers et al. 2000). L'introduction volontaire d'espèces exotiques dans le milieu naturel nécessite alors une parfaite connaissance de l'espèce cible mais également de la communauté dans laquelle elle est relâchée (Pemberton 2000). En effet, l'un des principaux risques de cette méthode est que l'espèce introduite ne s'attaque pas uniquement à l'espèce cible, mais également aux espèces natives. Par exemple, l'introduction volontaire du charançon *Rhinocyllus conicus* aux Etats-Unis a effectivement, dans un premier temps, limité la prolifération du chardon invasif *Carduus spp.* mais a également entraîné la diminution de nombreuses espèces natives de

Tableau I.1 : Estimation des coûts économiques annuels causés par quelques espèces exotiques entre 1995 et 2000 (d'après Carlton et al. 2005).

espèce exotique	coût économique (million \$US)	impact (région d'introduction concernée)
Moule zébrée (<i>Dreissena polymorpha</i>)	3000 à 5000	Développement sur des structures industrielles (USA et Europe)
Crabe vert (<i>Carcinus maenas</i>)	44	Impact sur les pêcheries (USA, Nord de l'océan Pacifique)
Tamaris (<i>Tamarix aphylla</i>)	7000 à 16000	Impact écologique (USA)
Lapin (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	280	Impact écologique, tentative d'éradication (Australie)
Jacinthe d'eau (<i>Eichhornia crassipes</i>)	71,4	Impact sur les pêcheries (Lacs d'Afrique de l'est)

chardons et entre désormais en compétition avec des espèces locales de charançon (Louda et al. 1997).

Compte tenu de la difficulté de mener à terme des politiques efficaces de gestion ou de contrôle des espèces introduites, la prévention des introductions (ainsi que des ré-introductions) reste un enjeu majeur : les pays industrialisés, en prenant conscience des problèmes écologiques, économiques et sanitaires liés aux espèces exotiques, ont mis ainsi en place des mesures législatives. Cette préoccupation apparaît avec la convention de Rio de Janeiro sur la diversité biologique qui engage, dans l'article 8(h), chaque pays signataire à « empêcher l'introduction, contrôler ou éradiquer les espèces exotiques qui menacent des écosystèmes, des habitats ou des espèces ». Certaines nations telles que les Etats-Unis ou le Canada ont pris également des mesures nationales pour limiter l'introduction d'espèces via les eaux de ballast. Chaque bateau entrant dans la région des Grands Lacs est ainsi tenu de vidanger son système de ballast au large (Locke et al. 1993). Le principe sous-jacent à cette mesure est que les espèces d'eau douce contenues dans les eaux de ballast devraient mourir lorsqu'elles sont relarguées au large dans l'océan. Les navires rechargent ensuite leurs ballasts d'eau de mer avec une eau contenant des espèces supposées peu ou non tolérantes aux conditions saumâtres des Grands Lacs (Ricciardi 2001). Ce système reste toutefois imparfait, notamment en raison de l'impossibilité des navires de vidanger totalement leurs ballasts (Locke et al. 1993). De même, ce système n'empêcherait pas la survie d'espèces euryhalines. Et en dépit de ces mesures, de nouvelles introductions ont été référencées dans les Grands Lacs. C'est notamment le cas de la puce d'eau *Cercopagis pengoi*, dont des populations ont été signalées sur l'ensemble du lac Ontario en 1998 (MacIsaac et al. 1999). Dans le cas d'espèces introduites volontairement, pour la culture par exemple, il s'agit cette fois, d'une part de continger l'échappement d'individus vers le milieu et d'autre part de limiter des introductions accidentelles d'espèces accompagnant l'importation des souches ou individus mis en culture. Rappelons à ce titre que l'introduction volontaire de l'huître creuse *Crassostrea gigas* le long des côtes françaises serait responsable de l'introduction accidentelle de 45% des espèces introduites le long de ces côtes (Goulletquer et al. 2002). Pour empêcher l'introduction accidentelle de ces espèces accompagnatrices, des systèmes de quarantaines sont mis en place dans les régions d'origine et dans les régions d'introduction (Boudouresque & Ribera 1994). L'introduction de la palourde *Ruditapes philippinarum* en suivant des règles zoosanitaires de base, comme la mise en quarantaine, ou l'élevage en laboratoire d'une première génération avant sa mise en culture dans le milieu, n'aurait pas donné lieu à

l'introduction d'espèces commensales ni de parasites (Boudouresque & Ribera 1994). Hors d'un cadre purement législatif, de nombreuses actions sont également conduites à l'égard du grand public, pour le sensibiliser aux problèmes liés aux espèces exotiques. En Méditerranée, pour limiter le transport de fragment de *C. taxifolia* par les ancres des bateaux de plaisance et ainsi limiter son expansion, une campagne de sensibilisation visant les plaisanciers a été menée et le mouillage interdit dans certaines zones à risque.

A la lumière des expériences passées, le succès des stratégies de contrôle ou de gestion de l'introduction des espèces, qui reste un enjeu majeur, reposent sur de nombreux éléments clés dont une très bonne connaissance de la biologie et des traits d'histoire de vie de l'espèce invasive ainsi qu'un travail en amont pour prévenir de futures (ré-)introductions (Myers et al. 2000).

B. La réussite d'une espèce introduite : un paradoxe ou une méconnaissance des processus en jeu ?

Les introductions biologiques sont des phénomènes complexes, impliquant le franchissement de nombreuses barrières ou filtres par les espèces exotiques (voir partie A3 et figure I-3). Sax & Brown 2000) ont souligné que le succès d'introduction d'une espèce dans un environnement en dehors de son aire de répartition peut être considéré comme un paradoxe écologique et évolutif : comment une espèce, qui n'est *a priori* pas adaptée aux conditions locales, peut-elle se développer voire remplacer les espèces natives qui ont, elles, évolué dans cet environnement ? Les réponses apportées à cet apparent paradoxe sont multiples et s'appuient notamment sur le rôle joué par les caractéristiques des espèces introduites ou des milieux et communautés envahies, ainsi que par les modalités des processus de l'introduction (Encadré I.4). Quelques uns de ces arguments sont repris brièvement ci-dessous.

1. Quelques traits d'histoire de vie remarquables

La proportion d'espèces importées dans un nouvel environnement et qui s'y installent durablement reste limitée (Williamson & Fitter 1996b). Différents auteurs se sont ainsi posé la question de l'existence de caractéristiques spécifiques aux espèces introduites et/ou aux

milieux envahis. Une abondante littérature tente ainsi de décrire les caractéristiques écologiques ou génétiques des espèces introduites en les comparant aux caractéristiques des espèces natives (Kolar & Lodge 2001, Rejmanek & Reichard 2001). Cette carte d'identité est difficile à établir et de nombreux caractères s'avèrent paradoxaux (par exemple, la clonalité et la diversité génétique seraient tous deux des atouts). Néanmoins, il a été remarqué que de très nombreuses espèces introduites présentent les caractéristiques d'espèces colonisatrices tels que décrit par Baker (1974) (et voir Rejmanek & Richardson 1996, Kolar & Lodge 2001, Rejmanek & Reichard 2001).

Les stratégies de reproduction des espèces exotiques sont apparues comme un second élément déterminant. Un investissement important dans la reproduction, une phase d'immaturité sexuelle courte et la production d'un nombre important de propagules apparaissent significativement corrélés au succès d'établissement des espèces exotiques (Rejmanek & Richardson 1996, Rejmanek et al. 2005a). Les modalités de la reproduction jouent également un rôle majeur quand les populations introduites sont composées d'un nombre limité d'individus (*i.e.* effet de fondation typique de l'introduction accidentelle et non récurrente d'une espèce). Dans ce cas, le maintien des populations peut en effet être limité par des effets démographiques, tels que l'effet Allee, lorsque la densité des populations est trop faible pour qu'elle puisse se maintenir (Stephens et al. 1999). Les espèces pouvant se multiplier de façon clonale ou par autofécondation seront dans ce contexte avantagées. Ce type de reproduction a, ainsi, été noté dans de nombreuses espèces végétales ou algales introduites. Par exemple, l'expansion particulièrement rapide de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée a été notamment attribuée à sa capacité de régénération et de multiplication clonale à partir de petits fragments (cf. références dans Kinlan et al. 2005). Chez les espèces animales, des stratégies de reproduction par parthénogenèse peuvent également largement contribuer à la multiplication d'une espèce exotique et à son établissement dans le milieu envahi. Par exemple, chez la puce d'eau *Cercopagis pengoi*, les premières populations signalées dans le lac Ontario en 1998 étaient composées de 92% de femelles parthénogénétiques, 2% de femelles et 6% de mâles (MacIsaac et al. 1999).

Enfin, Sax & Brown (2000) ont souligné que lorsque les espèces étaient tolérantes à de nombreuses conditions abiotiques, elles présentaient de fortes probabilités d'être introduites avec succès dans un environnement favorable. Cette tolérance écologique a été parfois reliée à des événements d'hybridation avec des espèces natives (Ellstrand & Schierenbeck 2000). Par exemple, le Rhododendron, *Rhododendron ponticum*, introduit en

Angleterre colonise avec succès des zones beaucoup plus froides que celles de son aire d'origine en Espagne. Cette tolérance écologique à une large gamme de températures est à mettre en relation avec son histoire d'hybridation avec l'espèce du nord des Etats-Unis *Rhododendron catawbiense*, plutôt qu'à sa capacité intrinsèque à être tolérante à des températures froides.

2. Composition des communautés envahies et caractéristiques du milieu

Les caractéristiques du milieu et des communautés envahies peuvent également jouer un rôle déterminant dans le succès d'installation des espèces exotiques. Par exemple, l'absence d'ennemis naturels (compétiteurs, prédateurs ou parasites ; hypothèse dite « enemy release hypothesis ») dans la région d'introduction, faciliterait l'installation des espèces exotiques, en leur permettant d'allouer davantage d'énergie à la reproduction ou à la croissance et non à la lutte ou à la défense (Torchin et al. 2002, Colautti et al. 2004, Genton et al. 2005). Les espèces exotiques débarrassées de leurs ennemis naturels pourraient alors avoir un avantage compétitif par rapport aux espèces locales qui doivent, en plus de la pression de compétition exercée par les espèces introduites, faire face à leurs prédateurs, parasites ou compétiteurs naturels présents dans le milieu. Par exemple, dans le cas de l'introduction du crabe vert *Carcinus maenas* sur les côtes américaines, Torchin et al. (2001) ont montré que les populations introduites dépourvues de parasites présentaient des performances supérieures aux populations de l'aire native avec notamment des tailles corporelles supérieures.

Les espèces introduites pourraient également avoir des interactions positives entre elles soit par des interactions deux à deux via des processus de facilitation soit par des effets plus globaux entraînant une accélération du nombre total d'espèces introduites, ce dernier processus ayant été proposé et appelé « invasional meltdown » par Simberloff & Von Holle (1999). Plusieurs exemples ont mis en évidence au moins des processus de facilitation (voir exemples et références dans Simberloff (2006)). Ainsi, une étude de Ricciardi (2001), réalisée dans les Grands Lacs, a montré que les interactions positives de type mutualisme ou commensalisme étaient plus fréquentes que des interactions purement négatives, comme la compétition, entre les espèces exotiques.

La question de la richesse spécifique d'une communauté comme caractéristique pouvant limiter le nombre des introductions biologiques reste, quant à elle, largement débattue. Stachowicz et al. (1999) ont cependant montré que le potentiel d'invasibilité d'un milieu pourrait être en relation avec son degré de diversité : les communautés présentant des richesses spécifiques importantes seraient des communautés dans lesquelles les ressources du milieu sont déjà largement utilisées par les espèces natives, et dans lesquelles peu de niches écologiques seraient directement disponibles pour l'établissement des espèces exotiques. Les milieux instables ou perturbés seraient également de bons candidats pour l'établissement d'espèces exotiques (McKinney & Lockwood 1999) parce que dans des conditions environnementales perturbées, les espèces natives elles-mêmes peuvent ne plus être adaptées. Les espèces introduites peuvent alors présenter des capacités de compétition relatives supérieures à celles des espèces natives (Daehler 2003), en particulier si elles ont évolué depuis longtemps dans des milieux perturbés et soumis aux activités humaines (Sax & Brown 2000). Daehler (2003) a ainsi montré que les espèces introduites pouvaient présenter une plus grande plasticité phénotypique que les espèces natives, leur conférant un avantage compétitif, en particulier dans des habitats perturbés, où les conditions environnementales peuvent présenter de rapides et importantes fluctuations.

3. L'importance de la pression de propagule

Les caractéristiques présentées dans les deux paragraphes précédents sont toutefois peu généralisables et encore largement controversées ou discutées. Simberloff (2006) remettait même en cause le principe d'« invasional meltdown » qu'il avait proposé, trouvant extrêmement peu d'exemples concrets de ce processus. De même Colautti et al. (2004) proposaient d'être prudent quant à l'hypothèse d'« enemy release », arguant de la complexité des processus d'introduction et de la nécessité d'une approche intégrative. Les modalités des processus d'introduction sont apparus peut être plus récemment comme un facteur essentiel dans la compréhension du succès de l'introduction d'une espèce. Sax & Brown (2000) soulignaient, en effet que les caractéristiques intrinsèques des espèces et de milieux envahis ne peuvent être suffisantes : de nombreuses espèces parviennent à s'installer durablement après un nombre important d'échecs. Avec le développement de nouvelles approches, notamment issues de la génétique des populations, le rôle joué par la pression démographique, en liaison avec des ré-introductions, ou avec l'absence d'effets de fondation est revenu sur le devant de la scène (voir par exemple la revue récente de Roman & Darling (2007)).

Encadré I.4 : Différents facteurs impliqués dans le succès d'introduction des espèces exotiques

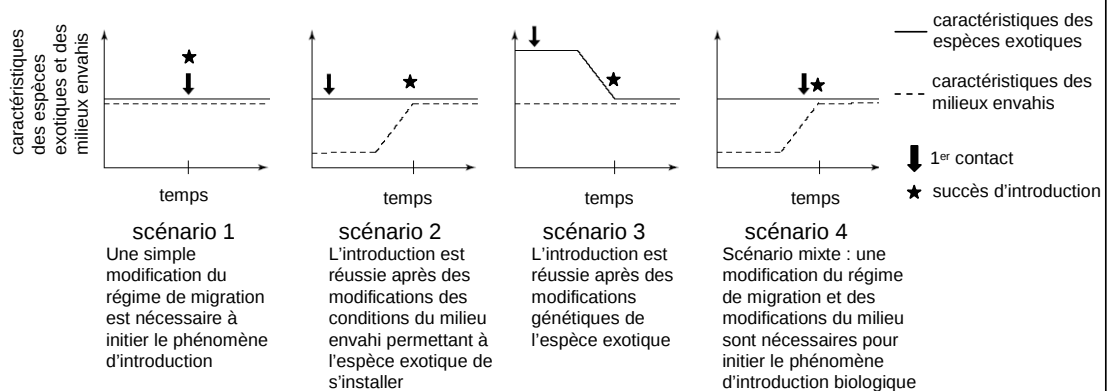
Caractéristiques des espèces

- Reproduction asexuée, clonalité
- Caractéristiques biologiques : stratégie r
 - Forte production de propagules
 - Maturité sexuelle rapide
- Capacité d'hybridation
- Plasticité phénotypique
- Capacité d'évolution

Caractéristiques des milieux

- Milieu perturbés (niches écologiques vacantes)
- Absence d'ennemis (prédateurs, parasites, compétiteur)
- Milieu déjà fortement colonisé par des espèces exotiques

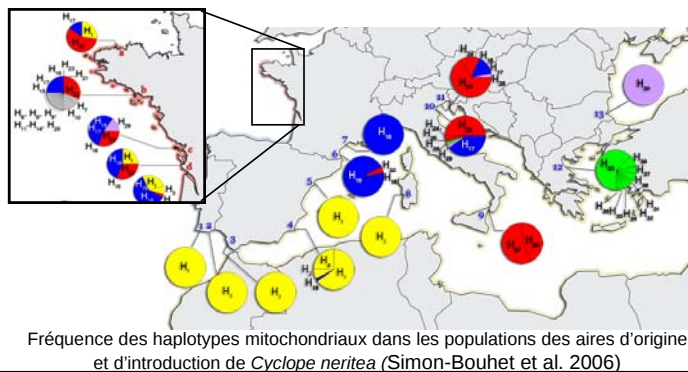
Adéquation entre les espèces exotiques et les milieux envahis (d'après Facon et al. 2006)



Pressions de propagules

- Nombre d'individus introduits: favorisé par la présence d'un stade de vie de petite taille (ex. larves, spores, graines) facilement disséminé
- Nombre d'introductions: récurrence d'introduction depuis un ou plusieurs sites par exemple quand le vecteur d'introduction est mal contrôlé (ex. eaux de ballast des navires, transferts entre bassins conchylicoles)
- Origine des introductions: favorise la diversité génétique locale et peut augmenter la probabilité d'introduire des individus non-contre-sélectionnés dans le nouvel environnement

Exemple *C. neritea* : introduit depuis les années 1970 le long des côtes atlantiques françaises, ce gastéropode de petite taille est trouvé en association avec les espèces d'intérêt aquacole; ces deux facteurs ont pu favoriser le nombre et la fréquence des introductions; la récurrence d'introduction a été confirmée par une étude génétique (cf figure ci-contre): les populations introduites sont génétiquement diversifiées par rapport aux populations d'origine et présentent des types mitochondriaux (symbolisés par les différentes couleurs) qui sont spatialement isolés dans l'aire naturelle de l'espèce (Simon-Bouhet et al. 2006).



L'histoire de l'introduction apparaît ainsi comme un facteur clé du succès d'installation d'une espèce. Le cas qui semble le plus intuitif et évident est celui des espèces transportées volontairement par l'homme, comme les espèces cultivées maintenues en dehors de leur aire naturelle de répartition. Ces espèces introduites par l'homme volontairement pour leur exploitation, l'ornementation ou les loisirs, présentent des probabilités d'installation largement supérieures aux autres espèces exotiques. Elles sont en effet généralement introduites à de multiples reprises (Lockwood et al. 2005) et dans des conditions favorisant leur survie. Elles peuvent également être sélectionnées en fonction de leur capacité de résistance dans le nouvel environnement (Lonsdale 1999) aux maladies ou aux parasites (Perrings et al. 2005). Les essais de mise en culture dans les aires d'introduction permettent également la sélection de spécimens vigoureux, de techniques de cultures favorisant leur survie et d'environnements adéquats.

Dans le cas d'introductions non volontaires, la pression de propagules, c'est-à-dire la fréquence et le nombre d'individus importés, est un élément particulièrement prépondérant car positivement corrélée à la probabilité d'introduction d'une espèce (Lockwood et al. 2005). Rejmanek et al. (2005) soulignaient que les introductions récurrentes, souvent non décelées, peuvent expliquer les rapides proliférations de certaines espèces après leur introduction. L'apport récurrent d'individus au même endroit peut, en effet, d'une part préserver de l'extinction des populations de très petite taille en augmentant leur taille démographique et leur taille efficace, mais aussi augmenter leur capacité d'expansion et d'adaptation par l'introduction de nouveaux « types » génétiques (voir « PP » dans la figure I.3). Lors d'introductions récurrentes, des populations initialement séparées géographiquement dans leur aire native peuvent être mises en contact dans l'aire d'introduction. C'est par exemple le cas du gastéropode *Cyclope neritea*, introduit le long des côtes atlantiques françaises. Chacune des populations introduites présente une diversité génétique mitochondriale retrouvée sur l'ensemble de l'aire de distribution naturelle méditerranéenne. Ceci témoigne de processus récurrents et indépendants d'introductions, contribuant à augmenter le nombre d'individus introduits accidentellement (encadré I.4 ; Simon-Bouhet et al. 2006). La reproduction entre individus issus de différentes populations peut ensuite éventuellement conduire à la formation de nouveaux génotypes, présentant des capacités de compétition supérieures à celles de leurs parents, selon un processus de type « vigueur hybride » (Ellstrand & Schierenbeck 2000).

Tableau I.2 : Macroalgues introduites sur les côtes de la Manche et de l'Atlantique. L'aire d'origine, la date et la localité de la 1^{ère} observation en Manche ou Atlantique et le vecteur supposé d'introduction sont précisés pour chaque espèce (d'après Goulletquer et al. 2002).

Aire d'origine : (N,S,E,W)A = Atlantique ; (N,S,E,W)P = Pacifique ; MED = Méditerranée ; IP = IndoPacifique

Vecteur : COI = introduction accidentelle liée à la conchyliculture ; IR = introduction volontaire ; F = fouling ;

Espèce	Aire d'origine	Date et localité de la première observation	Vecteur supposé d'introduction
Chlorophyta			
<i>Codium fragile</i> (Suringar) Hariot 1889 ssp. <i>tomentosoides</i> (van Goor) Silva 1955	NWP	1946 Glénan, Concarneau (Bretagne)	?
Phaeophyta			
<i>Colpomenia peregrina</i> (Sauvageau) Hamel, 1937	NEP	1905 Vannes (Bretagne) et St Vaast (Normandie)	COI
<i>Macrocystis pyrifera</i> (Linnaeus) C. Agardh, 1820	SEP	1972 Roscoff (Bretagne)	IV
<i>Sargassum muticum</i> (Yendo) Fensholt, 1955	NWP	1976 Barfleur (Normandie)	COI
<i>Undaria pinnatifida</i> (Harvey) Suringar, 1873	NWP	1983 Ouessant et estuaire de la Rance (Bretagne)	COI IV
Rhodophyta			
<i>Anotrichium furcellatum</i> (J. Agardh) Baldock, 1976	NP MED	<1922 Manche	?
<i>Antithamnion densum</i> (Suhr) Howe, 1914	NP MED	1960 Bretagne	?
<i>Antithamnionella spirographidis</i> (Schiffner) Wollaston, 1968	NP MED	?	COI ou F
<i>A. ternifolia</i> (Hooker & Harvey) Lyle, 1922	SP	1910	F
<i>Asparagopsis armata</i> (Harvey) 1855	SWP	1925 Guéthary (golfe de Gascogne)	COI ou F
<i>Bonnemaisonia hamifera</i> (Hariot) 1891	NWP	1898 Cherbourg (Normandie)	
<i>Caulacanthus ustulatus</i> (Turner) Kützinger, 1843	NWP NEA	1986 Roscoff (Bretagne)	COI
<i>Dasysiphonia</i> sp.	NWP	1990 (Galice)	COI
<i>Grateloupia dorphora</i> (Montagne) Howe, 1914	NP MED	1989 Lorient (Bretagne)	COI
<i>G. luxurians</i> (A. Gepp & E. Gepp) 1906	IP	1990 (Galice)	
<i>Hypnea muciformis</i> (Wulfen) Lamouroux, 1813	NEA	1900 St Vaast (Normandie)	
<i>Laurencia brongniartii</i> (J. Agardh) 1841	NWP	1989 Brest (Bretagne)	COI
<i>Lomentaria hakodatensis</i> (Yendo) 1920	NWP	1984 Roscoff	COI
<i>Pikea californica</i> (Harvey) 1853	NEP	1991 (Galice)	F
<i>Pleonosporium caribaeum</i> (Borgesen) Norris 1985	IP NWA	1967 Brest (Bretagne)	?
<i>Polysiphonia harveyi</i> (Bailey) 1848	NWA	1980 Roscoff (Bretagne)	COI?

C. Problématique de la thèse et modèle d'étude

A la lumière des études mentionnés dans les deux précédentes sections, il apparaît que le succès d'introduction d'une espèce peut être conditionné par de nombreux paramètres, notamment les caractéristiques biologiques de l'espèce, les propriétés biotiques et abiotiques du milieu envahi, mais aussi par les capacités d'adaptation d'une espèce dans le nouvel environnement (Facon et al. 2006). Facon et al. (2006) soulignent que la grande majorité des études relatives aux introductions biologiques ne tiennent que rarement compte de **l'adéquation espèce-milieu**, ce qui expliquerait notre faible pouvoir prédictif concernant la prévention et le devenir des espèces invasives à l'heure actuelle. Ces études se focalisent en effet souvent sur une espèce donnée dans une région donnée et n'évaluent l'impact que d'un nombre limité de facteurs. Ainsi, Callaway & Maron (2006) soulignaient l'importance de développer **des approches comparatives entre les différentes régions d'introduction**, par exemple en comparant comment différents régimes de perturbations pouvaient influencer le potentiel d'invasion d'un milieu, et soulignaient l'importance d'évaluer l'interaction de multiples facteurs (ex : pression de propagule, perturbation du milieu, absence d'ennemis). Le développement des études conduites avec des outils et concepts de la génétique des populations ont également permis de montrer que **la pression de propagule et la récurrence des évènements d'introduction étaient certainement plus communs qu'originellement admis, au moins en milieu marin**. Enfin, en milieu côtier, où se juxtaposent les effets directs et indirects des activités humaines (ports, aquaculture, modification du trait de côte, pollution, changements climatiques etc.), **une relation étroite peut unir ces activités humaines et les processus d'introduction biologique**.

Ce travail de thèse s'est construit autour de ces éléments de réflexion puisque je me suis intéressée aux **processus d'introduction et d'expansion d'une espèce exotique, la macroalgue brune *Undaria pinnatifida*, qui présente une double originalité : (1) une expansion mondiale en moins de 30 ans et (2) une relation étroite avec les activités humaines en tant qu'algue cultivée dans son aire d'origine et son aire d'introduction**.

Encadré I.5 : Un exemple emblématique de macroalgue introduite en Europe : *Caulerpa taxifolia*

La caulerpe, *Caulerpa taxifolia* est une algue verte originaire des régions tropicales et subtropicales des océans Atlantique, Indien et Pacifique (Phillips & Price 2002) et très utilisée en aquariophilie. En Europe, son introduction a été signalée pour la première fois en 1984 sur les côtes monégasques. Des études comparatives morphologiques (Meinesz & Hesse 1991) et du polymorphisme génétique (Jousson *et al.* 2000) ont révélé que la souche introduite en Méditerranée était proche de la souche cultivée en Europe occidentale, suggérant que l'introduction de la caulerpe serait due à des individus échappés des aquariums de la côte méditerranéenne.



Figure 2 : Répartition de *C. taxifolia* sur les côtes méditerranéennes en 2000 (issus de Meinesz 2000)

Depuis son introduction en Méditerranée, *C. taxifolia* s'est rapidement répandue. En 2000, 103 localités différentes étaient colonisées représentant une couverture de 131km² sur plus de 191km de côtes (Figure 2). Son succès d'introduction serait notamment liée à sa capacité à se reproduire de façon clonale et à se régénérer à partir de fragments ().

Les activités humaines, et notamment les activités nautiques participeraient largement à son expansion, en transportant accidentellement des fragments d'algues dans les ancres.

C. taxifolia a un impact majeur sur l'écosystème méditerranéen. Bien que son impact sur les herbiers de *Posidonia oceanica* soit soumis à controverses, son développement semble perturber de nombreuses espèces de différents niveaux trophiques.

Par exemple, en parallèle de son développement, des diminutions importantes de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Ruiton & Boudouresque 1994), des copépodes ainsi que des poissons (Harmelin-Vivien *et al.* 2001) ont été signalées.



Figure 1 : *Caulerpa taxifolia*

© T. Beisler IFREMER

Avant de présenter l'architecture de ce travail de thèse, les propriétés de ce modèle d'étude dans le contexte des introductions biologique sont présentées ci-dessous.

1. *Undaria pinnatifida* : une macro-algue cultivée et introduite

En Europe, les macroalgues benthiques représentent 20% des espèces introduites, sur 104 espèces introduites référencées (Goulletquer et al. 2002, tableau I.2). Certaines d'entre elles sont emblématiques des problèmes liés aux invasions biologiques. C'est notamment le cas de l'algue verte *Caulerpa taxifolia*, dont le développement en Méditerranée a entraîné une modification importante de la sédimentologie en perturbant les courants, et a eu des répercussions sur l'ensemble de la méiofaune et de la macrofaune (encadré I.5). De nombreuses autres études ont montré que le développement de macroalgues introduites pouvait profondément modifier les caractéristiques des écosystèmes envahis. *U. pinnatifida*, pour laquelle une « fiche signalétique » est présentée dans l'encadré I.6, est l'une des dernières espèces introduites recensées sur les côtes européennes. Une étude récente, basée sur la comparaison des caractéristiques des algues introduites et natives, l'a classée parmi les espèces présentant le plus fort risque d'introduction derrière *Codium fragile* spp. *tomentosoides* et *Caulerpa taxifolia* (Nyberg & Wallentinus 2005). Différentes propriétés sont plus particulièrement à retenir dans la perspective d'une étude de son processus d'introduction et d'installation :

1.1 Une introduction mondiale en moins de 30 ans

U. pinnatifida, originaire d'Asie, fait partie des quelques espèces introduites mondialement et est présente dans différents océans et dans les deux hémisphères (encadré I.7). Notons par ailleurs que cette répartition mondiale est récente : les premières observations d'*U. pinnatifida* en dehors de son milieu d'origine datent du début des années 1970 en Europe (Perez 1981) et de la fin des années 1980 en Australie et Nouvelle-Zélande (Hay & Luckens 1987, Sanderson 1990).

Les schémas d'introductions initiaux, au sein de ces régions, ont donc été probablement peu altérés par des phénomènes d'introductions secondaires. Par ailleurs, cette répartition mondiale soulève une question intéressante : si le succès d'introduction peut être lié à l'adéquation entre les caractéristiques du milieu et celles de l'espèce introduite, comment expliquer qu'une espèce puisse envahir avec succès une si large gamme d'environnements ?

Encadré I.6 : Présentation d'*Undaria pinnatifida*

Taxonomie

Division : *Chromophyta*
Classe : *Phaeophyceae*
Ordre : Laminariales

Famille : *Alariaceae*
Espèce : *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar
Nom commun : wakamé

Etymologie : du latin *unda*, vague et *pinnatifida*, en forme de plume

Critères de reconnaissance

U. pinnatifida est une algue brune annuelle dont le cycle de vie présente une alternance entre un stade macroscopique, le sporophyte et un stade microscopique, le gamétophyte (voir cycle de vie, figure I-5). Les critères de reconnaissance décrits ici sont les critères morphologiques du sporophyte, seul stade visible.

U. pinnatifida est une algue brune, pouvant mesurer jusqu'à 2m. Sa lame est fine, et devient foliacées au cours de la croissance. Le stipe est comprimé et semble se poursuivre au milieu de la lame comme une nervure centrale. Lorsque l'algue devient fertile, des sporophylles (i.e. structures de reproduction) se développent au niveau du stipe. Trois morphotypes d'*Undaria pinnatifida* sont décrits, en fonction de la forme des sporophylles, du thalle et de la longueur du stipe (Hay & Sanderson, 1999) :

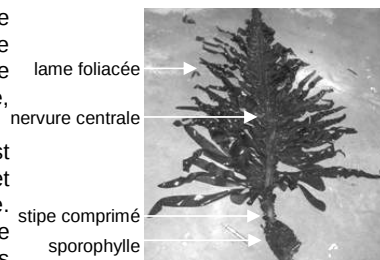
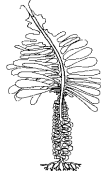
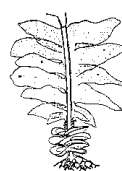


Figure 1 : sporophyte mature d'*Undaria pinnatifida*

northern ou *distans* : la fronde est très découpée, le stipe mesure plus d'un mètre et porte des sporophylles en forme de millefeuille



naruto ou *typica* : plus petit et trapu, la fronde est moins découpée et les sporophylles larges et mous sont en forme de disque



nambu forme intermédiaire entre le *northern* et le *naruto*



Habitat / zone de développement

U. pinnatifida est une algue sessile, ne supportant pas des périodes d'exondation trop longues. Elle se développe au niveau du zéro marégraphique (populations découvertes lors des basses mers de vives eaux uniquement) et selon la turbidité du milieu, jusqu'à 18m de profondeur.

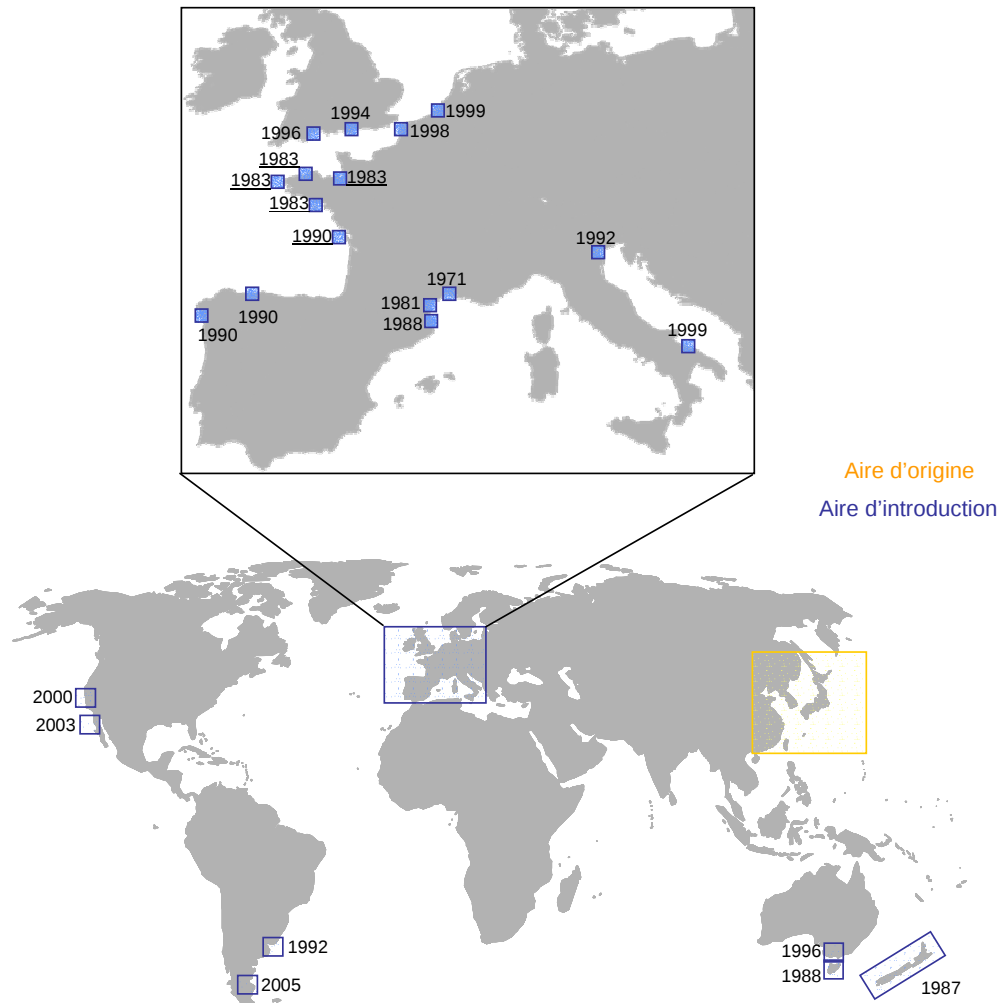
U. Pinnatifida est généralement retrouvée dans des sites à forts courants mais en dehors des zones de déferlement des vagues.

Elle présente de forte tolérance aux pollutions organiques et à la dessalure.

Intérêt économique et qualités nutritionnelles

En Asie, *U. pinnatifida* est l'une des algues présentant la plus forte valeur commerciale (Yamanaka & Akiyama, 1993). Elle entre en effet dans la composition de nombreuses soupes et salades et sa forte teneur en oligoéléments, en protéine et l'absence de graisses assimilables par l'organisme en font un aliment particulièrement apprécié en Asie. De récentes études montrent également que cette algue présente de nombreuses qualités pharmaceutiques. Sa composition en peptidique aurait un effet contre l'hypertension (Suetsuna, et al. 2004) et certains polysaccharides entrent dans la composition de traitement contre l'herpès (Thompson & Dragar, 2004). Ce sont ces qualités alimentaires et pharmaceutiques mais surtout la forte valeur commerciale associée, qui font d'*U. pinnatifida*, l'une des premières algues cultivées et récoltées au monde. La production asiatique de wakamé est connue depuis plus de 60 ans et près de 300 000t sont produites chaque année par la Corée (Yamanaka & Akiyama, 1993).

Encadré I.7 : Historique d'introduction d'*Undaria pinnatifida*.



U. pinnatifida a pour la première fois été introduite en France, dans l'étang de Thau en 1971, avec des naissains d'huîtres japonaises *Crassostrea gigas* (Perez 1981). Des populations ont ensuite été signalées en 1984 en dehors de l'étang de Thau, sur les côtes de la mer Méditerranée sur les enrochements de Sète et d'Agde, le port de Narbonne et la côte rocheuse d'Argelès à Port-Vendres (Perez et al. 1990).

A la suite de cette introduction accidentelle en 1983, des populations ont été transférées volontairement pour des essais de mises en culture, sur les îles d'Ouessant, de Sein et de Groix ainsi que dans l'estuaire de la Rance (Perez et al. 1984). En parallèle de sa mise en culture, des populations spontanées ont été signalées en Manche d'Ouessant aux Pays bas (Floch'h et al. 1991) et sur les côtes anglaises (Fletcher & Manfredi 1995). Des populations se développent également sur la façade Atlantique, en France, du Guilvinec à La Rochelle et en Espagne en Asturies et en Galice (Caamaño et al. 1990 ; Salinas et al. 1996). *U. pinnatifida* a également été mise en culture en Espagne après que des populations ont été signalées dans des marinas et à proximité de zones mytilicoles (Caamaño et al. 1990). La plupart des populations connues en Europe se développent dans les marinas ou sur des enrochements artificiels mais des populations en milieu naturel ont également été signalées.

U. pinnatifida a également été introduite dans l'hémisphère sud, en Nouvelle Zélande, Tasmanie et Australie. En Nouvelle Zélande, les premières populations ont été signalées par Hay & Luckens (1987), dans la baie de Port Phillip où des navires commerciaux en provenance d'Asie avaient séjourné et nettoyé leur coque, recouverte d'*U. pinnatifida* en épiphyte. Des populations spontanées se sont rapidement étendues au milieu naturel rocheux et colonisent de nombreux sites (Hay 1990). En Tasmanie quelques individus ont été signalés de façon anecdotique dès 1982. Les populations signalées en 1988 colonisaient 10km de côte dans le milieu naturel rocheux (Sanderson 1990).

U. pinnatifida a également colonisé le continent américain. Tout d'abord sur la façade Atlantique, en Argentine, où les premières populations ont été signalées à Golfo Nuevo en 1992 (Casas & Piriz 1996), et plus récemment dans le sud, en Patagonie (Martin & Cuevas 2006). Des populations colonisent également la façade Pacifique, en Californie depuis 2001 (Silva et al. 2002) ainsi qu'au Mexique depuis 2003 (Aguilar-Rosas et al. 2004).



Figure 1.5 : filière d'*Undaria pinnatifida* dans la baie de la Rance (France).

A-



Photo : Chris Harley

B-



Figure 1.6 : Valorisation des populations spontanées d'*Undaria pinnatifida* dans les régions d'introduction. En Argentine, les sporophylles sont séchés (A) puis exportés vers l'Australie pour être transformés en poudre et entreront dans la composition de traitement contre l'herpès (B).

U. pinnatifida offre ici l'opportunité d'évaluer si les mêmes processus d'introduction ont eu lieu dans les différentes régions d'introduction et peuvent expliquer son succès d'introduction.

1.2 Une longue histoire commune avec l'homme

Dans son article définissant le paradoxe écologique et évolutif associé au succès d'introduction d'une espèce dans un nouvel environnement, Sax & Brown (2000) suggérait qu'une histoire commune entre l'espèce et l'homme pouvait augmenter singulièrement la probabilité d'installation de l'espèce. L'espèce serait non seulement plus fréquemment transportée par l'homme, mais pourrait également présenter des aptitudes à se développer dans des milieux soumis aux pressions anthropiques. Une telle hypothèse est intéressante à retenir dans le cas d'*U. pinnatifida* qui présente une histoire commune ancienne avec les activités humaines. En Asie, *U. pinnatifida*, plus connue sous le nom de wakamé, est cultivée depuis des décennies. Sa culture, principalement à des fins alimentaires mais aussi pour ses nombreuses qualités pharmaceutiques (Suetsuna et al. 2004, Thompson & Dragar 2004), est souvent réalisée à proximité ou dans des bassins ostréicoles. Il est intéressant de noter ici qu'*U. pinnatifida* est également très proche des activités humaines dans les aires d'introduction. Dans de nombreuses régions, des populations se développent dans les marinas ou sur des enrochements artificiels. Par ailleurs, en Europe, des cultures ont été initiées en France et en Espagne (figure I.5). De façon plus anecdotique il semble que les populations spontanées d'Argentine, de Nouvelle-Zélande et de Tasmanie soient récoltées (Thompson & Dragar 2004, figure I.6). Cette proximité avec les activités humaines au sein des régions d'introduction vont, là aussi, largement augmenter la probabilité de transports accidentels et pourraient favoriser son expansion au sein des régions d'introduction. Cultures et structures artificielles pourraient ici représenter un formidable réservoir de migrants pour la dispersion de l'espèce.

On peut alors se demander si l'existence de populations cultivées a pu favoriser le succès d'introduction primaire de l'espèce mais également comment les activités anthropiques au sein des régions d'introduction peuvent participer à la dispersion de l'espèce.

1.3 Une espèce au succès assuré ou une espèce aux capacités d'invasion limitées?

Le cycle de vie d'*U. pinnatifida* présente également des caractéristiques intéressantes dans le contexte des introductions biologiques. Algue annuelle, son cycle de vie diphasique, est classique de l'ordre des Laminariales : il se compose d'une phase microscopique haploïde

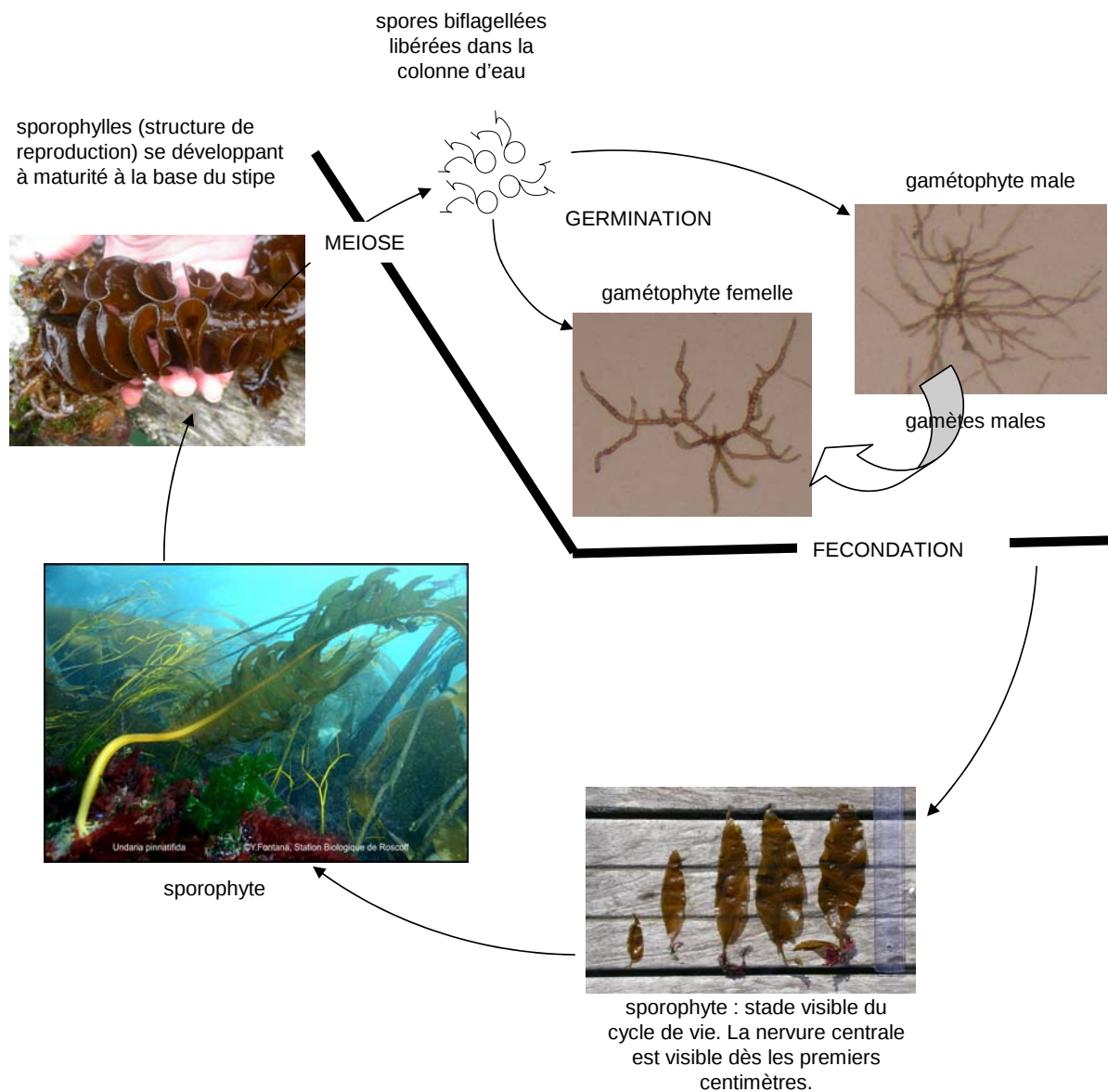


Figure 1.7 : Cycle de vie haplo-diplophasique digénétique d'*Undaria pinnatifida*. Le sporophyte, stade visible, se développe directement sur le gamétophyte femelle fécondé et a une durée de vie de quelques mois. Lorsqu'il est mûre, des sporophylles (*i.e.* structures de reproduction en forme de mille-feuilles) se développent sur le stipe. Les gamétophytes, stade microscopique, se développent à partir de la germination des spores et sont fixés sur un substrat. Ils peuvent survivre plusieurs mois voire plusieurs années.

le gamétophyte, et d'une phase macroscopique diploïde, le sporophyte (figure I.7). Les phases de dispersion dans son cycle de vie (spores et gamètes mâles) ont des durées de vie très courtes, ce qui représente une contrainte majeure pour une dispersion naturelle et donc une expansion géographique rapide. En revanche, le gamétophyte microscopique, présente une très large gamme de tolérance aux températures du milieu. Saito (1975) notait par exemple leur survie entre -1 et 30°C. Si les conditions environnementales sont défavorables, les gamétophytes peuvent rester en stade végétatif plusieurs mois voire années avant de reprendre leur maturation (Birkett et al. 1998). Ce stade de vie microscopique résistant et pouvant entrer en dormance pourrait représenter un avantage pour la survie de l'espèce à long terme, notamment lors des phases de transport mais également une fois dans l'aire d'introduction, si les conditions du milieu ne sont pas favorables. Il convient cependant de noter le peu de données existant dans la littérature concernant son cycle de vie et de recrutement dans les populations introduites en Europe.

2. Une approche essentiellement basée sur les outils de la génétique des populations

Afin d'appréhender, les processus d'expansion et d'installation de l'algue brune *U. pinnatifida*, en particulier pour analyser le rôle joué par les différentes activités anthropiques sur ces processus, ce travail de thèse s'est appuyé essentiellement sur les outils et concepts de la génétique des populations.

Concepts et outils de la génétique des populations se sont avérés, dans les dix dernières années, comme de très bons atouts pour étudier les introductions biologiques (Sakai et al. 2001). Les procédures statistiques qui peuvent être mises en œuvre sont les procédures « classiques » de la génétique des populations, mais également les développements plus récents de la génétique dite « contemporaine » qui tirent bénéfice des approches statistiques bayésiennes pour décrypter les événements survenus une à quelques générations plus tôt (ex. techniques d'assignation et de détection des migrants de première génération ; Davies 1999, Manel et al. 2005).

L'analyse de la composition génétique des populations introduites, leur comparaison et leur analyse en regard de la distribution de la diversité génétique dans l'aire de distribution naturelle de l'espèce permettent entre autres

- (i) de retracer, voire dater, l'histoire des introductions (ex. Simon-Bouhet et al. 2006, Roman & Darling 2007)

- (ii) d'estimer des indices utiles pour paramétrer des modèles démographiques ou des modèles de dispersion (ex. capacités de dispersion efficace; Dupont et al. 2007 in press ; traits d'histoire de vie ; Eckert et al. 1996)
- (iii) de compléter l'observation de terrain par l'identification d'espèces cryptiques (ex. cas des deux sous-espèces du crabe *Carcinus maenas* ; Geller et al. 1997), ou la validation de l'identification des espèces introduites (ex. confusion entre *Crepidula convexa* et *C. fornicata* sur la côte ouest américaine ; McGlashan et al. in press)
- (iv) d'étudier l'hybridation potentielle avec la faune/flore native (ex. Anttila et al. 2000).

Dans le cas d'*U. pinnatifida*, aucun marqueur spécifique n'avait été développé et une partie de ce travail de thèse, réalisé en collaboration, a abouti au développement de marqueurs qui ont été mis à profit pour l'étude des modalités de l'introduction de cette algue (voir partie 1 et 2 pour une présentation détaillée).

3. Articulation du travail de thèse

Au cours de cette thèse, j'ai intégré différentes échelles spatio-temporelles pour rendre compte de différentes étapes du processus conduisant au succès éventuel d'une espèce introduite. Par exemple, l'étude des processus d'introduction primaire (*i.e.* depuis l'aire naturelle jusqu'aux régions d'introductions) se devait d'englober différentes régions d'introduction et donc une échelle mondiale pour rendre compte d'une des originalités du modèle d'étude. A l'inverse, en voulant déterminer les relations entre cultures et populations sauvages, je devais caractériser assez finement la composition génétique des cultures et travailler sur une échelle spatio-temporelle très fine. Ce travail de doctorat s'est ainsi articulé autour de 4 études conduites à un niveau d'organisation spatiale donné :

- (i) la première étude a été menée sur l'ensemble de l'aire d'introduction d'*U. pinnatifida* avec pour objectif de comparer les scénarios ayant conduit à l'introduction de cette algue entre les différentes régions d'introduction (cf. chapitre 1). Cette étude a été réalisée en utilisant des outils moléculaires et des approches développées pour des études phylogéographiques (*e.g.* analyses de séquences, construction de réseaux d'haplotypes etc.). La diversité et la structure des populations de l'aire d'origine est ainsi comparée à celles des

populations des différentes régions d'introduction. L'analyse de la généalogie des gènes nous a permis de retracer les liens évolutifs entre les différents haplotypes composant les populations. Des marqueurs mitochondriaux ont été spécifiquement développés au sein de l'équipe et cette étude a constitué la première étude phylogéographique réalisée avec de tels marqueurs chez une algue brune.

- (ii) la seconde partie de ce travail de thèse est centrée sur la zone européenne de l'introduction d'*U. pinnatifida* (cf. chapitre 2). L'objectif principal de cette étude sera de déterminer si l'installation d'*U. pinnatifida* le long des côtes européennes est un phénomène naturel d'expansion progressive le long des côtes ou si des introductions secondaires (*i.e.* introductions au sein d'une région d'introduction primaire), reposant sur des activités anthropiques, ont joué un rôle clé. Cette étude est particulièrement pertinente en Europe dans la mesure où des populations ont été volontairement installées dans le milieu par l'homme à des fins de culture. Par ailleurs, le développement de populations à proximité de zones fortement anthropisées, comme les ports et les marinas, pourraient renforcer l'interaction entre l'homme et cette espèce et augmenter la probabilité de transports accidentels au sein de cette région d'introduction. L'hypothèse d'une expansion progressive naturelle le long des côtes européenne a été testée, notamment en analysant la corrélation entre distance génétique et distance géographique entre populations ainsi qu'en mettant en œuvre des analyses bayésiennes de regroupements individuels. Cette étude s'est appuyée sur le développement de marqueurs microsatellites spécifiques de l'espèce.
- (iii) dans la troisième partie de mon doctorat, je me suis concentrée sur le test de l'hypothèse de cultures et de marinas pouvant servir de réservoirs de migrants pour le maintien local des populations spontanées (*i.e.* populations présentes dans le milieu environnant) d'*U. pinnatifida* (cf. chapitre 3). L'échelle spatio-temporelle des processus étudiés est ici très fine (*i.e.* quelques générations et échanges au sein d'une baie). Le test de cette hypothèse a été rendu possible par la co-existence en Bretagne de populations présentant des niveaux d'interactions variables avec les activités humaines à l'échelle d'une baie : populations cultivées, populations occupant des structures artificielles (ex. pontons) et populations se développant dans le milieu rocheux. En préalable,

compte tenu de l'importance du caractère cultivé dans l'histoire de cette espèce, j'ai caractérisé les « bases génétiques » (*i.e.* composition génétique, variations interannuelles) de ces cultures. Les marqueurs microsatellites et mitochondriaux développés pour les études précédentes (chapitres 1 et 2) ont ici été mis à profit.

- (iv) enfin, dans une dernière partie je me suis attachée à décrire les variations temporelles de populations spontanées sur les côtes bretonnes (cf. chapitre 4). En effet, une propriété remarquable d'*U. pinnatifida* est son annualité. Il m'apparaissait important d'initier au cours de ce travail de doctorat une étude de la dynamique démographique et génétique de ces populations. Ici, à côté d'une approche basée sur l'analyse de la variation de la diversité génétique au cours du temps dans deux marinas, et une population de milieu rocheux, j'ai réalisé également un suivi de terrain visant à observer les caractéristiques de recrutement et de développement des individus dans deux marinas bretonnes.

Les parties 1 à 4 présentent les résultats majeurs obtenus au cours de ce travail. En annexe, des compléments d'informations sont apportés (ex. tableau de fréquences alléliques, protocoles expérimentaux détaillés) ainsi que quatre articles écrits ou co-écrits et publiés au cours de ce travail de thèse.

CHAPITRE 1

PROCESSUS D'INTRODUCTIONS PRIMAIRES D'*UNDARIA PINNATIFIDA* A L'ECHELLE MONDIALE

A. Problématique liée aux processus d'introduction primaires.

Les introductions biologiques correspondent à l'arrivée dans un nouvel environnement d'une espèce depuis une aire géographique éloignée (Carlton 1996a). Toutefois, la réussite d'une introduction dans un nouvel environnement implique que l'espèce passe avec succès au moins deux étapes : son prélèvement et transport depuis l'aire d'origine puis l'établissement de populations locales (donc la réussite d'une reproduction et d'un recrutement dans le nouvel environnement). La probabilité qu'une espèce franchisse ces étapes est conditionnée notamment par les conditions biotiques et abiotiques rencontrées par l'espèce lors de la phase de transport puis à son arrivée dans le nouvel environnement ainsi que par la pression en propagules (*i.e.* larves, spores, graines, juvéniles pélagiques etc.). Cette pression en propagules traduit le nombre de propagules prélevées puis relâchées ainsi que la fréquence des prélèvements et transports (voir Lockwood et al. 2005, Facon et al. 2006). Le nombre de propagules et la récurrence des événements d'introduction sont de plus en plus souvent décrits comme l'un des principaux facteurs expliquant l'importance des invasions biologiques et le caractère aléatoire, voire paradoxal, du succès d'introduction de certaines espèces (Sax & Brown 2000, Lockwood et al. 2005). Par exemple, en milieu terrestre le succès d'introduction du cerf européen *Cervus elaphus* n'aurait eu lieu qu'après 31 échecs (Sax & Brown 2000).

Dans ce contexte, la compréhension des phénomènes d'introduction biologiques et leur gestion dépend de notre capacité à définir les facteurs ayant contribué à l'établissement de ces pressions en propagules et passe notamment par l'identification des sources et des vecteurs de leur(s) introductions.

1. Identifier les sources d'introduction

Williamson & Fitter (1996) ont suggéré que la potentialité d'invasion d'une espèce était en relation directe avec les conditions biotiques et abiotiques des milieux d'origine. De plus, la capacité d'une espèce à envahir un nouvel environnement serait corrélée à son abondance et à sa distribution dans le milieu d'origine : les espèces abondantes et présentes sur une large gamme d'environnements auraient une plus forte probabilité d'être prélevées

dans leur aire d'origine, puis de survivre dans un nouvel environnement (Williamson & Fitter 1996a). L'identification de l'aire d'origine et des conditions dans lesquelles a évolué l'espèce exotique peut ainsi servir de test à l'hypothèse de « potentiel à l'invasion » et fournir des éléments d'appréciation quant au devenir de l'espèce dans l'environnement envahi. Par ailleurs, l'introduction d'espèces dans des milieux caractérisés par des conditions abiotiques similaires à celles rencontrées dans son aire d'origine conditionne également la probabilité de survie. C'est pour limiter cette probabilité de survie des espèces que les USA et le Canada imposent que les eaux ballasts des navires prélevées dans des régions côtières soient vidangées et remplacées par de l'eau prélevée au large à leur arrivée dans les Grands Lacs (voir introduction partie B.5).

Outre une meilleure compréhension des caractéristiques des espèces invasives, l'identification des populations sources peut permettre de préciser les vecteurs impliqués et de déceler les voies de transport privilégiées (ou corridors ; Ricciardi & MacIsaac 2000) des espèces introduites. La connaissance des routes d'introduction est indispensable pour la mise en place de stratégies de gestion efficace, notamment pour limiter les ré-introductions. Par exemple, dans le sud-est du bassin Méditerranéen, de très nombreuses espèces originaires de la mer Rouge ont été identifiées (Galil 2007). Cette invasion massive a été corrélée à l'ouverture du Canal de Suez et à l'intensification du trafic maritime dans cette région. La mise en place d'un front hyperhalin dans le canal permettrait de limiter ces introductions dites « lessepsiennes » (Galil 2007).

2. Les vecteurs d'introduction potentiels en milieu marin

Dans le but d'affiner notre compréhension des modalités de l'introduction ainsi que pour limiter les risques d'introduction, identifier les vecteurs est également un enjeu important. En milieu marin, les deux principaux vecteurs d'introduction sont certainement (i) le trafic maritime : les tankers et autres cargos peuvent transporter des espèces se développant en épiphytes sur les coques des bateaux (« fouling ») ainsi que dans les eaux de ballast utilisées pour équilibrer les bateaux ; (ii) l'aquaculture y compris la conchyliculture responsable d'introduction volontaire d'espèces en vue de leur culture ou exploitation mais aussi d'introductions involontaires d'espèces accompagnatrices. Ces deux vecteurs représentent l'essentiel des introductions réussies le long des côtes françaises Atlantiques et de la Manche (Goulletquer et al. 2002). A côté de ces deux vecteurs majeurs, on note également selon les régions un rôle important de l'aquariophilie (exemple : vecteur de

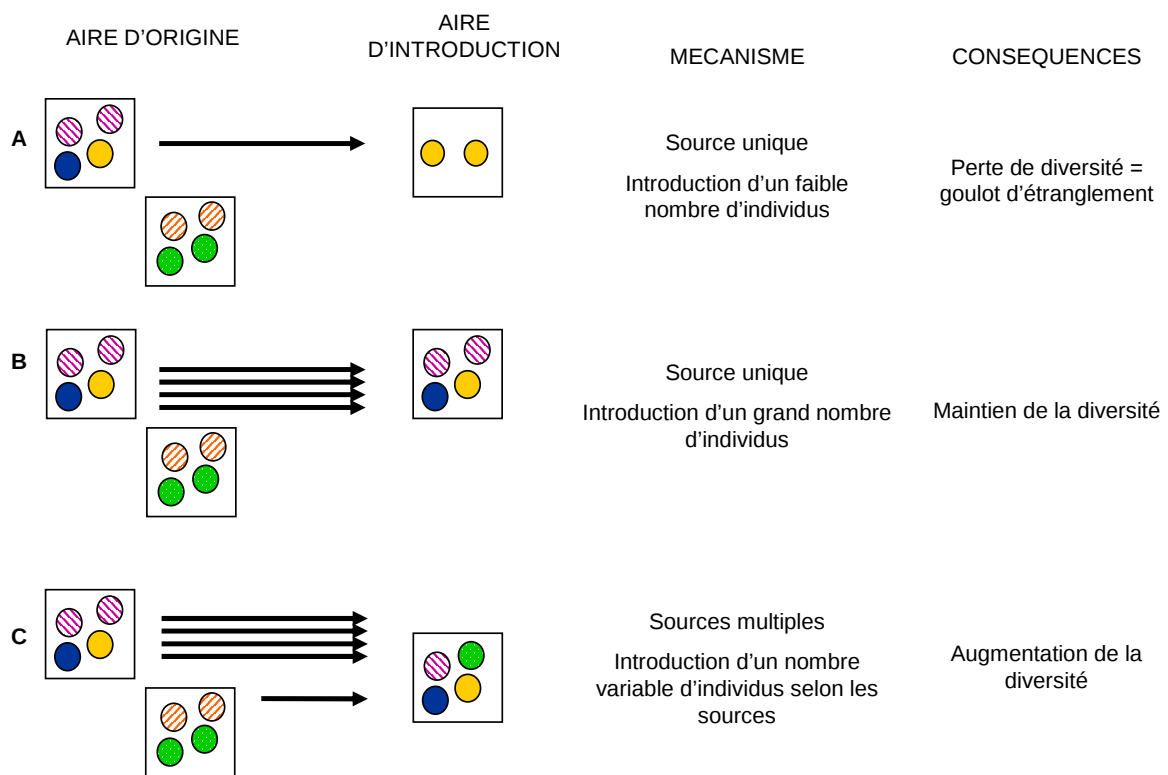


Figure 1.1 : Différents scénarios d'introduction primaire et les signatures génétiques associées. Chaque carré représente une population et les cercles, les individus la constituant. L'identité génétique des individus est symbolisées par des figurés et couleurs différents.

Trois scénarios sont explicités : (A) effet de fondation (caractérisé notamment par une perte de diversité génétique entre l'aire d'origine et l'aire d'introduction) lié à l'introduction d'un nombre limité d'individu et d'un événement unique d'introduction, (B) absence d'effet de fondation dû à l'introduction d'un grand nombre d'individus pouvant impliquer plusieurs événements d'introduction depuis la même source, (C) absence d'effet de fondation dû à l'introduction de différentes sources qui sont génétiquement différentes ; dans ce dernier scénario, la diversité génétique dans une population introduite est supérieure à la diversité génétique moyenne d'une population de l'aire d'origine

l'introduction *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée), le percement de canaux permettant la mise en contact de masses d'eau jusqu'alors isolées (ex. le percement du canal de Suez qui a permis le contact entre faunes/flores de la Mer Méditerranée et de la Mer Rouge) et la recherche scientifique.

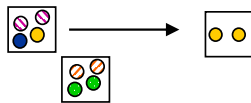
Le type de vecteur d'introduction responsable de l'introduction primaire peut avoir une influence sur le succès d'introduction des espèces exotiques. Les conditions auxquelles les espèces sont soumises lors des phases de transport peuvent être variables et déterminantes en termes de survie. Par ailleurs, la fréquence et la quantité de propagules importées par ces différents vecteurs sont également variables. Par exemple, l'aquariophilie permettra le transport d'un nombre réduit d'individus mais dans des conditions optimales pour leur survie alors que les eaux de ballast vont permettre le transport de milliers d'individus mais dans des conditions d'obscurité sur de longues périodes (ex. Roman & Darling 2007). Des études réalisées sur les eaux de ballast montrent néanmoins, que de très grandes quantités d'espèces peuvent être transportées sur de grandes distances et survivre à des voyages de plusieurs jours. En analysant la composition des eaux de ballast de 159 cargos en provenance du Japon (11 à 21 jours de transport) à leur arrivée dans l'Oregon (USA), Carlton & Geller (1993) ont identifié 367 espèces appartenant aux principaux groupes d'organismes des écosystèmes benthiques et pélagiques côtiers. Le nombre d'espèces et leur abondance étaient très variables selon les bateaux, mais la possibilité de transporter de si grandes quantités d'organismes et le fait que 90% du commerce international s'effectue par voie maritime (source : « Round Table of International shipping association ; <http://www.marisec.org>) suggèrent que les eaux de ballast seraient le plus important vecteur d'introductions biologiques et probablement sans équivalent actuellement en milieu terrestre (Carlton & Geller 1993).

3. Utilisation d'outils moléculaires pour identifier les modalités (sources et vecteurs) d'introduction

L'utilisation d'outils moléculaires s'avère efficace en complément des observations de terrain (ex. analyse des eaux de ballast, inventaires réguliers de la biodiversité) pour analyser les modalités de l'introduction en particulier pour analyser les pressions en propagules importantes et les récurrences d'introduction. En effet, selon le nombre et l'origine des individus introduits, différentes signatures génétiques sont observées dans les populations introduites en comparaison des populations d'origine (ex dans Roman & Darling 2007 ; figure 1.1). Dans le cas d'une introduction unique impliquant un faible nombre d'individus, on

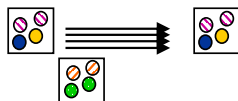
Encadré 1.1: Scénarios d'introduction primaire et signatures génétiques associées : quelques exemples en milieu marin

Introduction depuis des sources limitées



Dans le cas de l'algue verte *Caulerpa taxifolia*, les populations introduites en mer Méditerranée sont peu polymorphes et très proches phylogénétiquement des souches cultivées en Europe occidentale. Jousson et al. (1998) ont ainsi proposé que l'introduction de la caulerpe en Méditerranée serait due à des individus échappés des aquariums de la côte méditerranéenne.

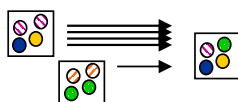
Introductions récurrentes



En revanche, chez le gastéropode *Crepidula fornicata*, les niveaux de diversité allozymiques des populations introduites européennes sont similaires à ceux trouvés dans les populations de l'aire d'origine (Dupont et al. 2003); les résultats de Wolff & Reise (2002) et Dupont et al. (2003) suggèrent que des événements d'introduction multiples ont eu lieu depuis des populations peu différenciées de la côte est des Etats-Unis.



Introductions récurrentes depuis différentes sources génétiquement différenciées



Quant au gastéropode *Cyclope neritea*, la diversité génétique des populations introduites est très largement supérieure à celle observée dans les populations de l'aire naturelle (Simon-Bouhet et al. 2006) montrant que l'introduction a eu lieu depuis des groupes de populations génétiquement différenciés et ainsi à l'origine de la mise en contact d'individus provenant de populations isolées depuis très longtemps dans leur aire naturelle.

s'attend à une perte importante de la diversité génétique par rapport aux populations de l'aire d'origine (*i.e.* effet de fondation et de dérive génétique ; Nei et al. 1975 ; scénario A, figure 1.1). Dans le cas d'introductions caractérisées par une importante pression en propagules, c'est-à-dire, des populations initiées par un nombre important d'individus, les populations introduites peuvent présenter des niveaux de diversité similaires à celles des populations de l'aire d'origine (scénario B, figure 1.1). Enfin, si la population ou la région d'introduction reçoit des individus de façon répétée ou en grand nombre depuis des populations sources génétiquement différenciées, la diversité de la population introduite peut être supérieure à celle des populations de l'aire d'origine (scénario C, figure 1.1). Ces scénarios ne sont pas virtuels et on déjà été identifiées dans différents cas d'introduction en milieu marin (voir Roman & Darling 2007 et encadré 1.1).

4. *Undaria pinnatifida* : une espèce introduite mondialement

Chacun des différents scénarios mentionnés ci-dessus a été généralement décrit pour une espèce introduite donnée dans une région d'introduction donnée ce qui limite notre capacité à distinguer l'importance relative des modalités de l'introduction et du milieu receveur comme facteur favorisant la réussite d'une introduction (Callaway & Maron 2006). Le cas des espèces introduites dans plusieurs régions d'introduction offre l'opportunité de lever cette ambiguïté.

U. pinnatifida apparaît dans ce contexte un modèle d'étude pertinent puisqu' introduite mondialement en un temps court (30 ans) ce qui permet l'étude des modalités d'introduction dans plusieurs régions d'introduction différentes sans biais important lié à la durée de l'introduction. De plus, compte tenu de cette introduction récente (entre moins de 5 ans en Californie et 30 ans dans le bassin Méditerranéen), les schémas initiaux d'introduction primaire sont encore probablement peu altérés par des événements d'introduction secondaire ou par des mécanismes évolutifs naturels agissant dans les nouveaux environnements colonisés. Enfin, du fait de ces relations étroites avec plusieurs activités humaines, il est probable que plusieurs types de vecteurs aient pu être à l'origine de son introduction mondiale. Ainsi, les premières populations observées en Australie/Nouvelle-Zélande ont été attribuées à des bateaux en provenance d'Asie, des individus en épiphyte sur leur coque ayant été observés (Hay & Luckens 1987, Hay 1990). En Europe en revanche, l'introduction initiale a été mise en relation avec l'importation de naissains d'huîtres dans l'étang de Thau dans les années 1970.

Les introductions accidentelles avec l'aquaculture et le trafic maritime sont des vecteurs à l'origine de pressions de propagules différentes (*i.e.* en terme de nombre d'événements, d'origine des populations natives et de quantité d'individus transportés). Nous avons ainsi la possibilité d'évaluer si les populations des différentes régions d'introduction partagent les mêmes caractéristiques génétiques et si ces caractéristiques peuvent être mises en relation avec des modalités (vecteurs, diversité des sources) d'introduction différentes.

Nous avons choisi de nous appuyer sur les approches offertes par la phylogéographie et l'analyse de séquences en population, qui se sont avérées particulièrement informatives pour l'étude des processus d'introduction chez de nombreux organismes marins (ex. le gastéropode *Cyclope neritea* ; Simon-Bouhet et al. (2006) ou terrestres (ex. le lézard *Anolis sagrei* ; Kolbe et al. 2004). Ce choix a impliqué la nécessité de rechercher des marqueurs génétiques adéquats. Ce chapitre sera donc divisé en deux parties :

- (i) une première partie, essentiellement méthodologique, concernant le développement de marqueurs moléculaires adaptés aux études phylogéographiques chez les algues brunes
- (ii) une seconde partie dans laquelle les résultats de l'étude des modalités d'introduction d'*U. pinnatifida* à l'échelle mondiale seront présentés.

B. Le développement de marqueurs moléculaires en vue d'études phylogéographiques chez les algues brunes

1. Le choix de séquences intergéniques mitochondriales

L'utilisation de marqueurs cytoplasmiques est très largement répandue dans les études de phylogénie et de phylogéographie chez les animaux et les plantes. Ces marqueurs présentent en effet de nombreux avantages : (i) ce sont des marqueurs haploïdes à hérédité généralement monoparentale ; la diminution de la taille efficace de ce type de marqueur, par rapport aux marqueurs à hérédité biparentale, les rend plus sensibles aux effets de dérive génétique et leur permet de garder la trace d'événements démographiques sur de plus longues périodes. (ii) Selon les régions choisies, ces marqueurs peuvent être suffisamment polymorphes pour rendre compte de la structure et de la diversité génétique à des niveaux intraspécifiques. (iii) Des modèles mutationnels permettent de reconstruire la généalogie des différents allèles/haplotypes, reconstruction facilitée en absence de recombinaison. Et enfin

(iv) le caractère haploïde des marqueurs simplifie l'obtention des données de séquences (*i.e.* l'absence d'hétérozygote permet le séquençage direct de produits de PCR).

Chez les animaux, les marqueurs classiquement utilisés pour ce type d'analyse sont des marqueurs mitochondriaux (Bremer et al. 1996, Nikula & Väinölä 2003, Waters & Roy 2003), notamment le gène codant pour la sous-unité I de la cytochrome oxydase (COI ; mais voir Bazin et al. (2006) pour une critique de son utilisation en phylogéographie en raison d'effets sélectifs). Chez les végétaux supérieurs, les génomes mitochondriaux n'étant généralement pas suffisamment polymorphes au niveau intra spécifique (mais voir Desplanque et al. (2000) pour un contre-exemple), les marqueurs les plus couramment utilisés sont des marqueurs chloroplastiques (voir par exemple Newton et al. 1999). La définition d'amorces universelles pour ces deux types de marqueurs cytoplasmiques a largement contribué à la multiplication d'étude phylogéographique chez les plantes et les animaux.

Nous avons souhaité développer des marqueurs intergéniques mitochondriaux car l'absence de pression de sélection directe sur ces régions permet théoriquement une accumulation plus importante de mutations par rapport à des régions codantes augmentant ainsi la probabilité d'obtenir du polymorphisme à l'échelle d'une population. Chez les algues, la disponibilité et l'utilisation de marqueurs cytoplasmiques suffisamment polymorphes au niveau de la population est contrastée selon les classes considérées. Les études phylogéographiques sont par exemple beaucoup plus développées chez les algues vertes et les algues rouges (ex dans : Wattier & Maggs 2001, Gamache et al. 2003, Meusnier et al. 2004, Zuccarello et al. 2005), que chez les algues brunes. Chez les algues brunes, le faible niveau de polymorphisme de marqueurs largement utilisés comme la zone intergénique de la RuBisCo, ainsi que l'absence de marqueurs universels peuvent, en partie, expliquer le faible nombre d'études phylogéographiques réalisées à ce jour. Au sein des Phaeophyceae, les études publiées à la date de l'acceptation de notre étude (début 2007) étaient basées pour l'essentiel sur l'utilisation de régions mitochondriales codantes à des fins d'études phylogénétiques à grande échelle (Ehara et al. 1999, Lane et al. 2006, Oudot Le Secq et al. 2006), de détection d'hybridation inter-spécifiques (Coyer et al. 2002b, 2002a) ou de rares études phylogéographiques (Muraoka & Saitoh 2005, Uwai et al. 2006b). L'utilisation de séquences situées dans des espaceurs inter-géniques n'avaient alors été publiées que dans trois études : pour l'identification de taxons au sein du genre *Ectocarpus* (Peters et al. 2004), une

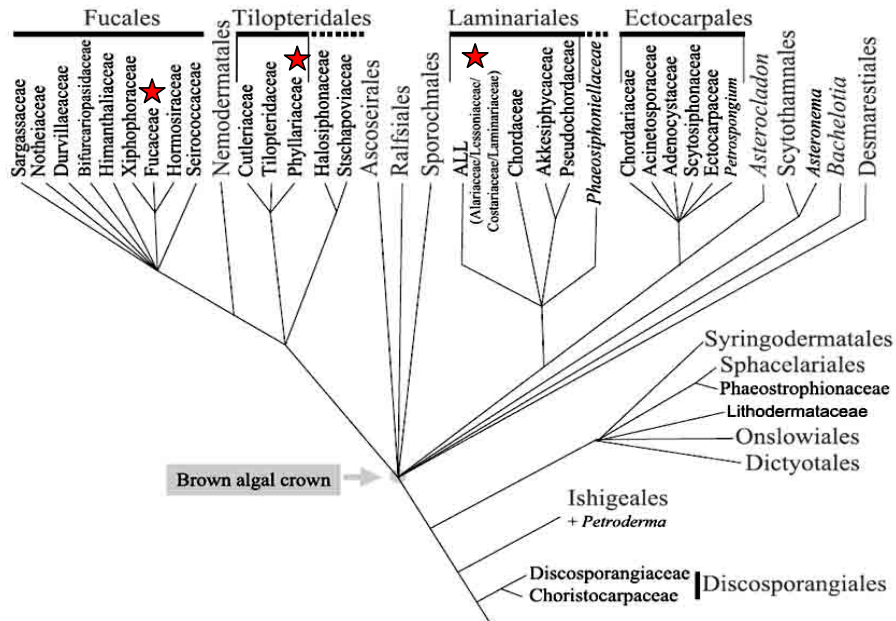


Figure 1.2 : Arbre synthétique de l'évolution des Phaeophyceae réalisé par De Reviers et al. (2007).

Cet arbre a été construit d'après les résultats de différentes études, à partir des données de séquences provenant essentiellement du chloroplaste (psaA, RbL and rbcL/S spacer). Les étoiles symbolisent les ordres au sein desquels les tests de transfert d'amorces universelles chez les algues brunes ont été effectués

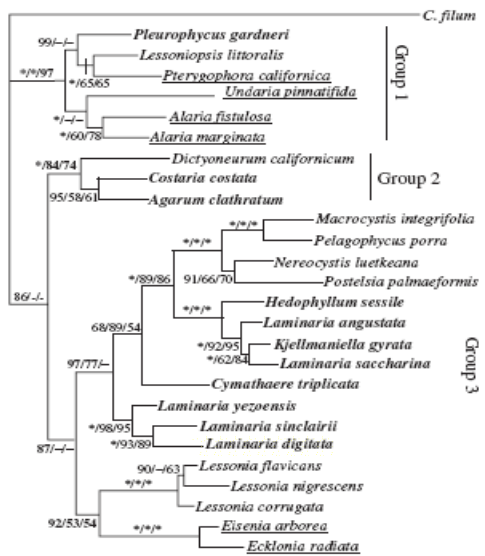


Figure 1.3 : Position d'*U. pinnatifida* en regard de *L. digitata* dans l'arbre consensus réalisé par Lane et al. (2006).

Cet arbre a été obtenu par reconstruction bayésienne à partir des données de séquences nucléaires, Rubisco et nad 6. Les espèces soulignées correspondent aux espèces traditionnellement de la famille des Alariaceae, celles en gras à celle des Laminariaceae et celles en italique aux Lessoniaceae (sauf *Chorda filum*). Les groupes 1 à 3 correspondent aux clades précédemment résolus par Saunders & Druehl (1993). A chaque nœud sont indiquées les valeurs de probabilité postérieures obtenues par la reconstruction bayésienne, les valeurs de bootstrap obtenues par une reconstruction en « Neighbor-joining » et par parsimonie. Les valeurs <50% sont symbolisées par « - ».

phylogénie intra-genre chez *Fucus* (Coyer et al. 2006) et une étude phylogéographique chez *F. serratus* en Europe (Hoarau et al. 2007). A ces publications, s'ajoute notre étude (Voisin et al. 2005 ; présentée plus loin en Partie C) et celle réalisée par Uwai et al. (2006) sur *U. pinnatifida*.

2. Méthodologie de développement des marqueurs mitochondriaux

Note préliminaire : Ces développements de marqueurs mitochondriaux utilisables sur un large spectre d'algues brunes a fait l'objet d'un article dans European Journal of Phycology (accepté et à paraître en 2008). Cette étude, présentée en Annexe 8a, comprend plusieurs familles distribuées au sein de trois ordres (Laminariales, Tiploptéridales et Fucales). Seul un bref résumé est présenté ci-dessous avec une attention particulière pour ceux obtenus avec U. pinnatifida.

L'objectif principal était ici d'obtenir des régions inter-géniques mitochondriales variables chez notre taxon cible, *U. pinnatifida*, mais également essayer de définir des amorces pouvant être utilisées sur un large spectre d'algues brunes. Nous avons ainsi sélectionné 12 espèces issues de 5 familles et 3 ordres représentatifs de différents groupes au sein des algues brunes (figure 1.2 et figure 1.3).

A partir des génomes mitochondriaux complets obtenus chez deux algues brunes, *Laminaria digitata* et *Pylaiella littoralis* (Oudot-Le Secq et al. 2001, Oudot Le Secq et al. 2002), des alignements ont été réalisés et des amorces définies dans les régions codantes flanquantes des régions intergéniques : sept locus mitochondriaux ont été testés sur le panel de 12 espèces sélectionnées (tableau 1.1).

U. pinnatifida et *L. digitata* appartiennent toutes les deux à l'ordre des Laminariales *sensu stricto* dont la classification a récemment été ré-examinée par Lane et al. (2006) (cf. arbre phylogénétique en figure 1.3). Leur relative proximité phylogénétique, en comparaison d'autres algues brunes telles que les Fucales ou les Tiploptéridales, a certainement largement contribué au succès d'amplification des locus testés. Le succès de transfert d'amorces entre les espèces d'algues brunes va en effet en décroissant avec la distance phylogénétique des espèces. *U. pinnatifida* est ici l'une des espèces pour laquelle le taux de transfert est le plus élevé (tableau 1.1) avec cinq des sept locus intergéniques testés ayant donné des résultats satisfaisants non seulement en terme de résultats techniques d'amplification et séquence mais également en terme de polymorphisme (tableau 1.2). Deux locus se sont avérés particulièrement polymorphes dans cette étude préliminaire trnW-trnI (ou W-I) et Atp8-trnS

Tableau 1.1 : Amplification et variabilité (séquençage de deux individus) de sept régions intergéniques mitochondriales chez 12 espèces d'algues brunes

Les espèces ont été classées selon leur phylogénie. Lorsque les amplifications sont possibles, le nombre de sites polymorphes trouvés entre les deux séquences est présenté (0 signifiant l'absence de polymorphisme entre les deux individus analysés). Les amplifications donnant des profils multibandes (M) et les amplifications impossibles (X) sont également indiquées. Le locus trnK-trnA a donné des profils multibandes, pour toutes les espèces à l'exception de *S. polyschides* et des *Fucaceae* (U). Ce locus a été retiré de la suite des analyses

	trnP-trnI	trnK-trnA	trnW-trnI	ORF384-atp6	Rps14-atp8	Atp8-trnS	Rpl31-rns
Ordre : LAMINARIALES							
Famille : Laminariaceae							
<i>Laminaria digitata</i>	0	M	0	0	0	1	0
<i>Laminaria hyperborea</i>	0	M	0	0	1	0	1
<i>Laminaria ochroleuca</i>	0	M	0	X	0	0	0
<i>Laminaria sacharina</i> (syn. <i>Saccharina latissima</i>)(1)	0	M	0	X	X	1	1
Famille : Alariaceae							
<i>Undaria pinnatifida</i>	0	M	24	X	2	1	7
<i>Alaria esculenta</i>	0	M	1	X	X	42	4
Famille : Lessoniaceae							
<i>Macrocystis pyrifera</i> (1)	0	M	0	X	0	0	X
<i>Lessonia nigrescens</i>	1	M	16	X	X	0	10
Ordre : TILOPTERIDALES							
Famille : Phyllariaceae							
<i>Sacchoriza polyschides</i>	X	U	0	X	X	0	2
Ordre : FUCALES (2)							
Famille : Fucaceae							
<i>Fucus vesiculosus</i>	1	U	0	X	X	X	0
<i>Fucus spiralis</i>	0	U	0	X	X	X	1
<i>Fucus ceranoides</i>	0	U	1	X	X	X	0

- (1) Les récents travaux de Lane et al. (2006) ont conduit à une révision de la classification des algues de l'ordre des Laminariales; en particulier *L. sacharina* fortement divergentes des autres espèces du genre *Laminaria* (voir figure 1-xxx) est renommée *Saccharina latissima* et *Macrocystis* sp. est rattachée à la famille des Laminariaceae et non des Lessoniaceae
- (2) Les fuciales ont montré peu de conservation en comparaison des autres espèces; dans le cas des locus atp8/trnS et rps14/atp8. Le dessin d'amorces dégénérées a permis d'obtenir des produits d'amplification clairs et mono-bandes (cf note de bas de page du tableau 1 dans l'article Engel et al. (sous presse)

(Atp8-S) qui ont été sélectionnés pour des études phylogéographiques plus approfondies (cf. partie C).

3. Méthode d'analyse du polymorphisme : optimisation d'une technique d'analyse de conformation simple brin (SSCP)

L'objectif principal de notre étude phylogéographique était d'évaluer si des mécanismes différentiels d'introduction avaient eu lieu dans les différentes régions d'introduction. Pour atteindre cet objectif, nous devons analyser un large échantillonnage, comprenant des populations de l'aire d'origine et des différentes régions d'introductions donc comprenant plusieurs centaines d'individus. L'obtention de données de séquences par séquençage direct comme nous l'avons utilisé pour le développement des marqueurs mitochondriaux est une technique onéreuse et coûteuse en temps, car la recherche de variants implique (i) une vérification rigoureuse de tous les chromatogrammes base à base et (ii) une répétition des séquençages. Il faut en effet s'assurer que les mutations observées ne soient pas le résultat d'artéfacts techniques de séquence.

Pour limiter l'effort de séquençage, nous avons choisi de mettre au point pour le locus W-I une technique de détection du polymorphisme basée sur la conformation simple brin des fragments d'ADN (Single Strand Conformation Polymorphism ou S.S.C.P.). Cette technique, détaillée dans l'encadré 1.2, repose sur le principe que la conformation simple brin de l'ADN est spécifique de l'enchaînement nucléotidique. Elle permet la détection de 99% des substitutions pour des fragments de 100-300pb, grâce à une migration dans un gel d'acrylamide non dénaturant (Hayashi 1991). Le locus W-I originellement défini avec des amorces localisées dans la zone codante, a une longueur totale de 292pb, amorces comprises. Afin de réduire la taille des fragments, pour optimiser la sensibilité de la technique S.S.C.P., une nouvelle amorce directe a été dessinée dans la région variable grâce au séquençage préliminaire de quelques individus d'*U. pinnatifida* (figure 1.4). Ce nouveau fragment a une longueur de 252pb. La mise au point des conditions de migrations est très empirique et s'est effectuée à partir d'un panel d'individus présentant différentes séquences connues. Pour s'assurer de la qualité de l'information donnée par cette technique, il est indispensable lors des analyses en routine (i) de séquencer des individus présentant le même profil pour s'assurer que le profil est bien spécifique d'une seule séquence et (ii) de séquencer chaque nouveau profil pour s'assurer qu'il correspond bien à un nouvel haplotype.

Tableau 1.2 Diversité génétique et nucléotidique moyenne obtenue pour chacun des 7 locus mitochondriaux lors de l'analyse de 16 individus issus de 2 populations chez *Undaria pinnatifida* (Up) par comparaison avec 3 autres des espèces cibles de notre étude (*Laminaria digitata* (Ld), *Macrocystis pyrifera* (Mp) et *Fucus vesiculosus* (Fv))

Locus	trnW/trnI	rpl31/rns	trnP/rnl	atp8/trnS	rps14/atp8	ORF384/atp6
A. Gene diversity H_e						
Up ($n_{pop} = 2$)	0.423	0.339	0.000	0.423	0.000	—
Ld ($n_{pop} = 2$)	0.000	0.232	0.000	0.125	0.000	0.125
Mp ($n_{pop} = 2$)	0.000	—	0.000	0.000	0.143	—
Fv ($n_{pop} = 2$)	0.000	—	0.214	—	—	—
B. Nucleotide diversity $\pi \times 10^2$						
Up ($n_{pop} = 2$)	12.34	4.950	0.000	0.617	0.000	—
Ld ($n_{pop} = 2$)	0.000	0.15	0.000	0.075	0.000	0.016
Mp ($n_{pop} = 2$)	0.000	—	0.000	0.000	0.2597	—
Fv ($n_{pop} = 2$)	0.000	—	0.200	—	—	—

Pour le locus *Atp8-S*, les conditions de réalisation de SSCP n'ont pas pu être optimisées suffisamment pour discriminer tous les haplotypes connus. Aussi, seule la technique de séquençage est utilisée pour l'identification des différents haplotypes à ce locus.

La figure 1.5 synthétise le protocole expérimental mis en place pour l'obtention de données de séquences pour les deux locus *Atp8-S* et *W-I*. Les protocoles détaillés de chaque technique sont présentés dans l'annexe 2.

C. Des mécanismes d'introduction différentiels dans les régions d'introduction

Note préliminaire : Cette partie a fait l'objet d'un article publié (Voisin et al. 2005), présenté en Annexe 8b de ce manuscrit de thèse.

Face à l'apparent paradoxe écologique et évolutif (Sax & Brown 2000) que représentent les espèces invasives, l'adéquation espèce-milieu (Facon & David 2006) et la pression en propagules (Lockwood et al. 2005) semblent être des facteurs explicatifs important à considérer. Toutefois, le manque d'études à une échelle globale limite notre appréciation de ces processus. Prenant en compte les spécificités de notre modèle biologique, et notamment sa large distribution et son niveau élevé d'interaction avec les activités humaines, nous avons cherché à comparer les modalités de l'introduction entre différentes régions colonisées et la part jouée par différents vecteurs potentiels d'introduction, en particulier transports maritimes et aquaculture.

1. Les populations et régions étudiées : présentation de l'échantillonnage

U. pinnatifida est une espèce originaire d'Asie, où elle est cultivée sous le nom de wakamé. Son introduction mondiale est récente. Les premiers événements d'introduction ont en effet été signalés en 1971, dans l'étang de Thau en France (Perez 1981). Au moment de notre étude, des populations avaient été signalées en Australasie (Australie et Nouvelle-Zélande), en Europe (côte nord ouest de la Méditerranée, Cecere et al. 2000, sur la façade de l'océan Atlantique, de la Manche et de la Mer du Nord, Fletcher & Manfredi 1995, Floc'h et al. 1996), en Argentine (Casas & Piriz 1996) et aux USA (côte Californienne ; Silva et al. 2002). Il est à noter que depuis la réalisation de notre étude de nouvelles populations ont été signalées sur la côte ouest du Mexique et dans le sud de l'Argentine (en Patagonie ; Martin &

Encadré 1.2 : Principe de la détection du polymorphisme de conformation simple brin (SSCP) pour un marqueur haploïde

Principe : La S.S.C.P. repose sur le principe que chaque haplotype, c'est-à-dire chaque séquence d'ADN, possède une conformation simple brin spécifique de sa composition et de son enchaînement nucléotidique. Dans des conditions dénaturantes, il est possible de casser la structure en double hélice formée par les deux brins complémentaires d'ADN et de séparer les deux brins d'ADN. Chaque brin d'ADN se replie alors sur lui-même avec une conformation spécifique de sa séquence nucléotidique. Une migration dans un gel d'acrylamide non dénaturant permet alors de séparer les fragments simple brin d'ADN et d'obtenir des profils de migration spécifiques de chaque haplotype (schéma ci-dessous).

L'avantage majeur de cette technique est qu'elle permet, grâce à la migration simultanée de plusieurs individus (45 à 97 selon les peignes utilisés), de détecter rapidement de nouveaux allèles et d'estimer les fréquences alléliques d'une population sans avoir recours à un séquençage systématique. Elle permet la détection de 99% des substitutions pour des séquences de 100-300pb (Hayashi 1991). La sensibilité de la S.S.C.P. est optimale pour des fragments de 150-200pb et décroît très rapidement quand la taille des fragments est supérieure à 300pb (Sambrook et Russel 2001) bien que Martins-Lopez et al. (2001) aient obtenu d'excellents résultats avec des fragments de 593pb.

Schéma synoptique :

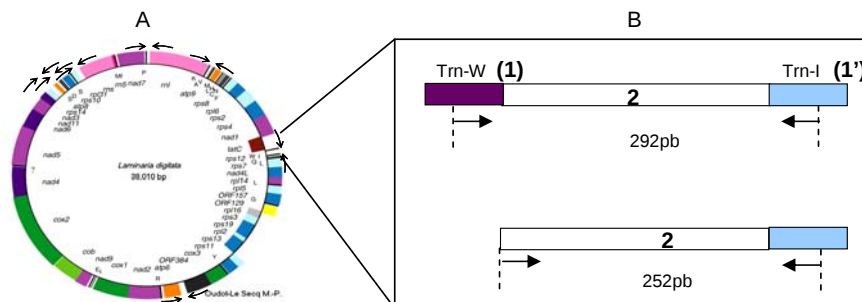
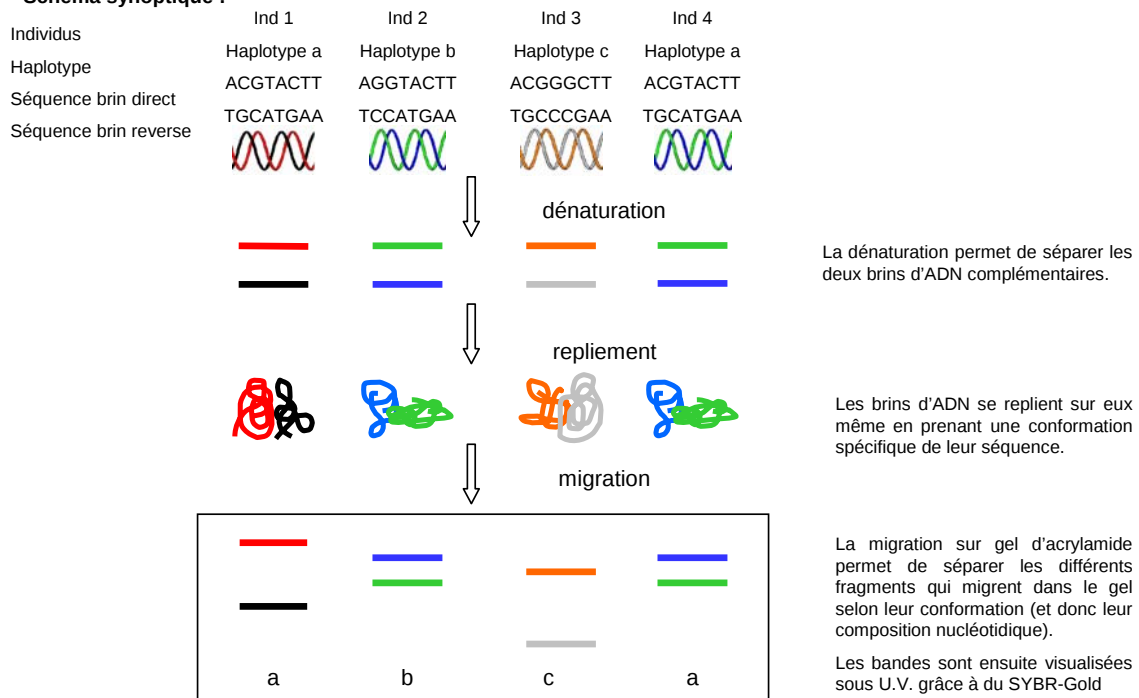


Figure 1.4 : Localisation de la zone intergénique W-I sur le génome mitochondrial de *Laminaria digitata* (A) et longueur du fragment analysé chez *Undaria pinnatifida* (B)

La zone variable (2) a été originellement définie et amplifiée grâce à des amorces (flèches) définies dans des zones codantes (1 et 1') non variables. Pour l'analyse par SSCP, une nouvelles amorce a été définie en amont B)- Représentation des deux régions étudiées.

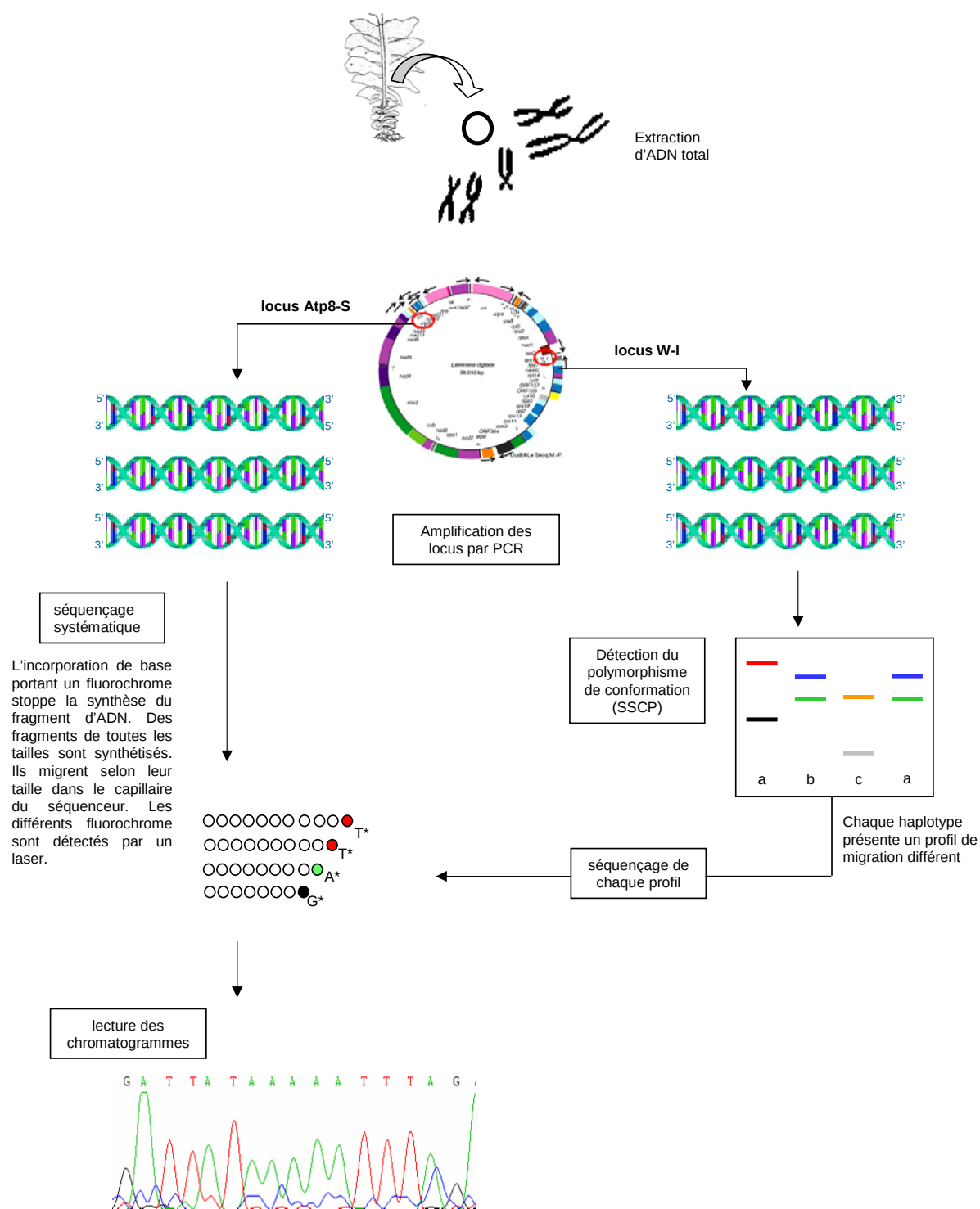


Figure 1.5 : Schéma synoptique des deux stratégies d'acquisition de données de séquences pour l'analyse des locus mitochondriaux Atp8-S et W-I chez *Undaria pinnatifida*

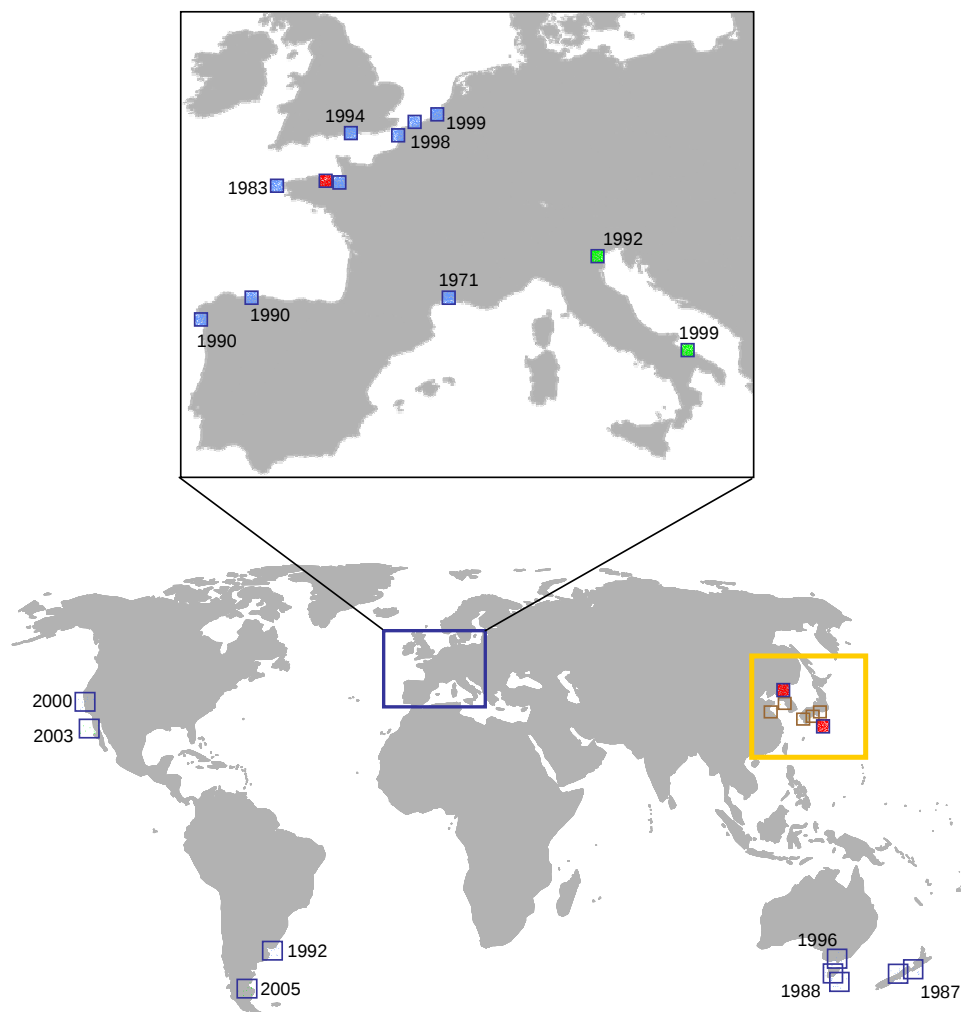


Figure 1.6 : Distribution des 24 populations spontanées et 3 populations cultivées de l'algue brune *Undaria pinnatifida* analysées.

L'aire d'origine est symbolisée par un cadre jaune et la localisation des populations de l'aire d'origine analysées par des carrés pleins jaunes. Les populations des aires d'introductions analysées sont symbolisées par des carrés pleins bleus. Les populations de l'aire d'introduction pour lesquelles nous n'avons pas pu obtenir d'échantillons (Sud de l'Argentine) ou qui n'étaient pas signalées au moment de l'étude (Golfe du Mexique) sont représentées par des carrés pleins verts. Les populations cultivées sont symbolisées par des carrés pleins rouges. Les dates de premières signalisations pour les principales régions d'introduction sont indiquées.

Tableau 1.3: Nom et localisation des populations analysées

Population	Localité	Pays	coordonnées
ASIE			
1-Dolsando ¹	Jeonnam Province	Corée	34°37N 127°43E
2-Maidao ²	Shangdong	Chine	36°3N 120°25'E
3-Ooita ³	Est de l'île de Kyushu	Japon	32°56'N 131°57'E
4-Nagasaki ³	Ouest de l'île de Kyushu	Japon	32°44'N 129°52'E
5-Shimoda ³	Sud de l'île de Honshu	Japon	34°40'N 138°56'E
EUROPE			
8-Kats (marina) ⁴	Zélande, Oosterschelde	Pays Bas	51°33N 3°57'E
9-Zeebrugge (port) ⁵	Flandres	Belgique	51°19N 1°51'E
10-Calais (marina) ⁵		France	50°57N 1°51'E
11-Hamble (marina) ⁶	Ouest de l'Hampshire	Angleterre	50°51N 1°19'W
12-Saint Malo ⁷	Bretagne	France	48°38'N 2°00'W
13-Brest (marina) ⁸	Bretagne	France	48°23'N 4°28'W
14-Cudillero (port) ⁹	Asturies	Espagne	43°32N 6°06'W
15-Cabo Cee ¹⁰	Galice	Espagne	42°57N 9°10'W
16-Thau (étang) ¹¹	Méditerranée	France	43°24'N 3°35'E
AUSTRALASIE			
18-Melbourne ¹²	Victoria	Australie	37°48'S 144°57'E
19-Tinderbox ¹³	Sud est de la Tasmanie	Australie	43°02'S 147°18'E
20-Bicheno ¹³	Centre est de la Tasmanie	Australie	41°52S 148°17'E
21-Diamond (port) ¹⁴	Ile du Sud	Nouvelle-Zélande	43°35S 172°43'E
22-Dunedin (port) ¹⁵	Ile du Sud	Nouvelle-Zélande	45°53S 170°28'E
AMERIQUE DU SUD			
23- Golfo Nuevo ¹⁶	Chubut	Argentine	42°46S 65°02'W
AMERIQUE DU NORD			
24- Santa Barbara ¹⁷	Californie	Etats Unis	34°25N 119°42'W
COMMERCIALES / CULTIVEES			
6- Corée (commerciales)	Inconnu	Corée	
7-Japon (commerciales)	Inconnu	Japon	
17-France (cultivées) ¹⁸	Bretagne	France	48°34'N 1°58'W

Echantillonnés par : ¹S. M. Boo, G.Y. Cho, Chungnam National University, Korea; ²T. Xian, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences (Qingdao), China, ³S. Uwai, Kobe University, Japan, ⁴C. Engel, D. Gautier, Station Biologique de Roscoff (SBR), France, ⁵F. Kerckhof, Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Belgium, ⁶C. Maggs, Queen's University at Belfast, GB, ⁷C. Engel, F. Viard, SBR, France, ⁸Co. Destombe, C. Engel, M. Valero, SBR, France, ⁹J. Rico, University of Oveido, Spain, ¹⁰J. Cremades, O. Freire, University of Corona, Spain; ¹¹A. Rohrfristch, University of Montpellier, France, ¹²M. Edmunds, Australian Marine Ecology, Australia, ¹³C. Sanderson, University of Tasmania, Australia, ¹⁴B. Forrest, Cawthron Institute, New Zealand, ¹⁵C. Hurd, University of Otago, New Zealand, ¹⁶G. Casas, CONICET, Argentina, ¹⁷B. Kinlan, University of California at Santa Barbara, USA, ¹⁸J.F. Arbona, M. Molla, C-Weed Aquaculture, France

Cuevas 2006). Ces populations sont des populations spontanées (*i.e.* non cultivées) occupant des digues, marinas, installations portuaires et le milieu naturel rocheux. Néanmoins, rappelons que des populations ont été mises en culture dans deux pays de son aire d'introduction, en France (Perez et al. 1990) et en Espagne (rapport JACUMAR 2000).

Afin de retracer l'histoire d'introduction d'*U. pinnatifida* à l'échelle mondiale, l'échantillonnage a été effectué pour être le plus représentatif de l'aire de distribution de l'espèce, en incluant des populations cultivées et spontanées. Il couvre ainsi l'ensemble de l'aire de répartition d'*U. pinnatifida*, à l'exception de la mer Adriatique (figure 1.7) et comprend 24 populations spontanées (soit 524 individus). Sept populations (5 sauvages et 2 cultivées) ont été obtenues dans l'aire d'origine asiatique (*i.e.* Japon, Corée, Chine) et 17 populations sont issues des régions d'introductions (5 en Manche, 2 en Mer du Nord, 2 dans l'Atlantique Nord-Est, 1 en Atlantique Sud-Ouest, 1 en Mer Méditerranée, 1 Pacifique Nord-Est, et 5 dans l'Indo-Pacifique). Des individus issus d'une population cultivée en Europe et d'échantillons commerciaux de culture Asiatique (Corée et Japon) ont aussi été ajoutés à l'analyse. Le détail de l'échantillonnage, qui a pu être réalisé grâce à l'aide de nombreuses personnes de par le monde, est décrit dans le tableau 1.3.

L'ensemble des échantillons ont été récoltés en suivant un même protocole (annexe 1). Des fragments de 4-10cm², sur 30 à 50 individus par population, ont été prélevés à la base du thalle, dans une région saine et stockés dans un dessiccateur, un gel de silice, jusqu'à la phase d'extraction d'ADN.

2. Obtention des données moléculaires

L'obtention des données de séquence des locus mitochondriaux intergéniques Atp8-S et W-I a été réalisée grâce à une approche conjointe de séquençage direct et d'analyse du polymorphisme de conformation telle que décrite dans la partie B de ce chapitre et en annexe 2. Pour s'assurer de la fiabilité de la technique de S.S.C.P., 89 individus ont été séquencés au locus W-I (chaque profil différent révélé par S.S.C.P. dans chacune des populations ayant été séquencé). Par ailleurs, tous les individus séquencés (*i.e.* 524 pour le locus Atp8-S et 89 pour le locus W-I) l'ont été dans les deux sens de lecture, directe et indirecte. L'enchaînement nucléotidique de chaque individu est validé grâce à l'alignement des deux séquences complémentaires dans le logiciel Bioedit (Hall 1999) selon le modèle CLUSTALW (Thompson, 1994). Lorsque le séquençage d'un individu est validé, un seul des deux brins complémentaires est conservé et aligné avec les séquences des autres individus. La

lecture des chromatogrammes n'a jamais été ambiguë ; les profils sont clairs, avec peu de bruit de fond. Seules les zones cibles ont donc bien été amplifiées, et une seule séquence par individu a été obtenue, suggérant la spécificité des amorces utilisées et l'absence d'hétéroplasmie chez *U. pinnatifida*.

3. Analyses des données

3.1 Diversité génétique (alignement, concaténation calculs de H_e , π)

Du fait de la nature non recombinante de l'ADNmt, les analyses ont été effectuées après concaténation des séquences des deux régions intergéniques. La concaténation de deux locus n'est possible que si l'information donnée par les locus est liée, c'est-à-dire que les deux locus partagent une histoire évolutive commune et ne sont pas soumis à des événements de recombinaison. Le déséquilibre de liaison entre les deux marqueurs utilisés a été estimé en calculant l'indice D' de Lewontin (Schneider et al. 2001). Les valeurs de D' varient entre 0 et 1 avec 0 signifiant une indépendance complète de l'information donnée par les deux locus et 1 synonyme d'un déséquilibre de liaison maximal entre deux locus.

La diversité haplotypique (H_e) et la diversité nucléotidique (π) ont été estimées pour chaque population et chaque région (i.e. la région d'origine asiatique et les deux régions d'introduction européenne et australasienne) grâce au programme Arlequin v3.01 (Schneider et al. 2001). La diversité haplotypique (H_e) définit la probabilité que deux gènes tirés au hasard dans un échantillon soient différents (Nei 1987) selon la formule :

$$H_e = \frac{n}{n-1} (1 - \sum p_i^2)$$

avec n le nombre de gènes dans l'échantillon (ici le nombre d'individu car le locus est haploïde) et p_i la fréquence de chaque haplotype.

La diversité nucléotidique mesure la divergence nucléotidique moyenne entre toutes les paires de séquences d'un même échantillon (Tajima 1983) ; elle définit la probabilité que deux gènes, tirés au hasard dans un échantillon, soient différents au niveau d'un nucléotide donné et est calculée selon la formule :

$$\pi = \sum_{ij} p_i p_j d_{ij}$$

avec p_i la fréquence de l'haplotype i , et d_{ij} le nombre de mutations entre les haplotypes i et j .

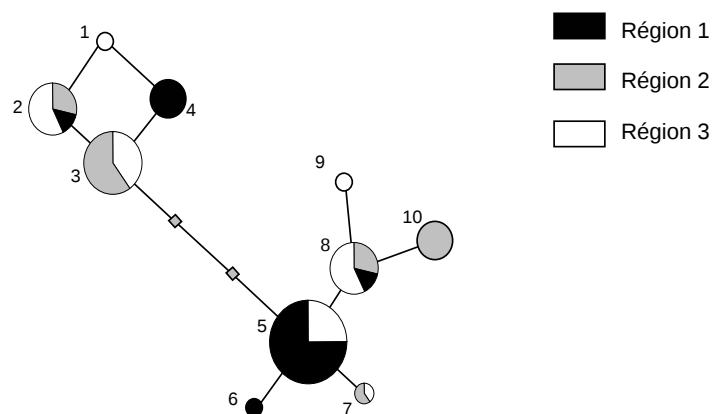


Figure 1.7 : Exemple de réseau d'haplotype.

Chaque cercle symbolise un haplotype ; sa taille est proportionnelle à sa fréquence dans le jeu de données total et la couleur des sections du camembert symbolise la région géographique dans laquelle l'haplotype est présent.

La longueur des segments reliant les haplotypes est proportionnelle au nombre de mutations qui les sépare (ex. une mutation entre les haplotypes 5 et 6 mais trois mutations entre les haplotypes 3 et 5).

Les losanges représentent des haplotypes manquants dans le jeu de données (non échantillonnés ou perdus au cours de l'évolution) mais nécessaires à la construction du réseau.

Dans les réseaux, les boucles, comme celle formée par les haplotypes 1-4, correspondent à des incertitudes de liaison entre les différents haplotypes pouvant être dues à des phénomènes d'homoplasie (exemple l'haplotype 1 peut dériver de l'haplotype 2 ou de l'haplotype 4 de manière équiprobable).

Les réseaux permettent de prendre en compte et représenter des multifurcations dus à la co-existence au sein du jeu de données d'un haplotype ancestral et de plusieurs haplotypes dérivés (exemple l'haplotype 5, relié dans notre exemple aux haplotypes 6, 7 et 8).

3.2 Dynamique démographie, réseau d'haplotype et structure génétique entre groupes ou populations

Une analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) a été réalisée dans Arlequin v3.01 (Schneider et al. 2001) pour étudier comment la variance génétique se distribue entre les populations (mesuré par l'indice θ_{ST}), entre les populations au sein des groupes (θ_{SC}) et entre les groupes (θ_{CT}). Ces indices prennent en compte les fréquences des haplotypes et les distances nucléotidiques entre les haplotypes. Trois groupes de populations ont été formés en fonction de leur répartition géographique et de leur statut : (i) les populations de l'aire de distribution naturelle (*i.e.* Asie), (ii) les populations introduites en Australasie et (iii) les populations introduites en Europe. La significativité des estimateurs a été réalisée par une procédure de permutations dans Arlequin v3.01.

Les relations généalogiques entre les différents haplotypes ont été obtenues par la construction de réseau haplotypique (voir pour revue Posada & Crandall 2001). Les techniques de constructions d'arbres phylogénétiques ont en effet été développées pour rendre compte de l'histoire évolutive au niveau interspécifique. Les relations entre des gènes échantillonnés dans des individus appartenant à des espèces différentes sont hiérarchiques. Ils sont le produit d'un isolement reproductif et de la séparation de populations sur une échelle de temps relativement longue, ce qui conduit à la fixation d'allèles différents dans les différentes espèces (Posada & Crandall 2001). Les techniques de reconstruction phylogénétique vont donc construire des arbres dans lesquels les espèces seront liées par des dichotomies ou bifurcations, jusqu'à leur plus ancien ancêtre commun. Or, à l'échelle intraspécifique, la dichotomie n'est pas la règle car le temps écoulé depuis la séparation des populations est insuffisant. Par exemple, des haplotypes dérivés peuvent coexister avec l'haplotype ancestral. La représentation de réseaux de gènes plutôt que d'arbres a ainsi été proposée pour rendre compte des relations généalogiques à l'échelle intraspécifique. La construction de réseaux va en effet permettre de visualiser la coexistence au sein d'une population, d'haplotypes ancestraux et dérivés, par des structures en étoiles, à « multifurcation ». Les phénomènes de recombinaison ou d'homoplasie peuvent être représentés par des boucles entre haplotypes (voir Posada & Crandall 2001 et figure 1.7). Enfin, les informations de fréquences et de distribution géographique des haplotypes peuvent également être facilement symbolisées sur le réseau (figure 1.7). Dans notre étude, les relations entre les haplotypes mitochondriaux ont été représentées par la construction d'un réseau de lien moyen (ou median network) grâce au

logiciel NETWORK (<http://www.fluxus-technology.com/>). Ces réseaux intègrent l'information contenue dans plusieurs arbres d'envergure minimale ; les connexions ne se faisant pas qu'entre les haplotypes du jeu de données mais également en inférant des haplotypes manquants.

4. Résultats

4.1 Diversité génétique des populations et des groupes régionaux

Le jeu de données se compose de 524 individus, pour lesquels les séquences de deux régions intergéniques ont été obtenues. Pour chacun des deux locus, et sur l'ensemble du jeu de données, neuf haplotypes ont été identifiées (voir leur description en annexe 3). Le locus *Atp8-S*, qui correspond à un fragment de 157-158 paires de base (pb), se caractérise par 10 sites polymorphes, dont 9 substitutions et 1 insertion délétion d'une paire de base. Au locus *W-I*, d'une longueur de 155-175 paires de base, 24 sites polymorphes ont été identifiés, dont 4 substitutions et 3 zones d'insertion délétion correspondant respectivement à 17, 1 et 2 paires de base chacune (tableau 1.4).

En combinant l'information des deux locus, un total de 25 haplotypes a été observé. Sous l'hypothèse d'indépendance complète entre les deux locus ($D'=0$), 81 haplotypes sont attendus. Le nombre d'haplotypes dans notre jeu de données (25) est par ailleurs supérieur à ce que nous aurions pu attendre en cas de déséquilibre absolu (*i.e.* 9) ou d'absence d'homoplasie (*i.e.* la somme d'haplotype à chacun des deux locus moins un, soit 17 dans notre cas). La valeur de l'indice de déséquilibre de liaison obtenu est néanmoins très élevée ($D'=0,77$) et significativement différente de 0, ce qui justifie de combiner l'information des deux locus. Il est vraisemblable que cette situation ne soit pas due à de la recombinaison mais plutôt à l'existence de chemin évolutif alternatif et donc d'homoplasie entre les haplotypes (ce qui sera illustré par la construction du réseau, voir plus loin).

La distribution géographique des 25 haplotypes est détaillée par région et par population respectivement dans les figures 1.8 et 1.9 (voir également annexe 3). La diversité haplotypique ($H_e=0,86$) et la diversité nucléotidique ($\pi=1,39.10^{-2}$) obtenues sur l'ensemble du jeu de données sont élevées mais des contrastes régionaux importants sont notés. Ainsi, l'Asie, aire d'origine d'*U. pinnatifida*, présente 8 haplotypes et la diversité haplotypique la plus élevée ($H_e=0,84$; figure 1.8). C'est en revanche en Australasie que le nombre maximum d'haplotypes (14) est trouvé et la diversité génétique ($H_e=0,81$ et $\pi=1,66.10^{-2}$; figure 1.8) y

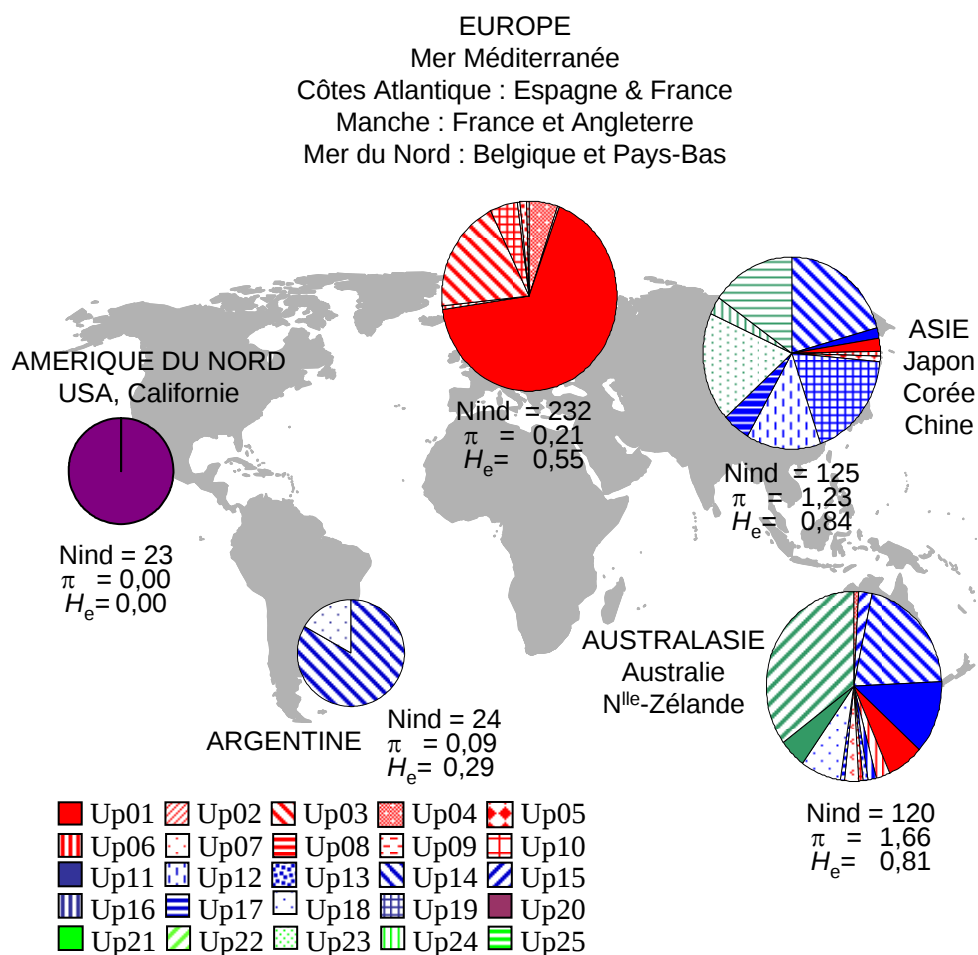


Figure 1.8 : Distribution régionale de la diversité mitochondriale de l'algue brune *Undaria pinnatifida*.

Pour chaque région (ou population pour l'Argentine et la Californie où une seule population a pu être analysée) le nombre d'individus étudiés (Nind), les valeurs de diversité haplotypique (H_e) et nucléotidique $\pi \times 10^2$ sont indiqués. Chaque haplotype est représenté par un figuré différent ; le code couleur utilisé symbolisant leur proximité phylogénétique (rouge pour le groupe A; bleu pour le groupe B1 et vert pour le groupe B2; voir figure 1.11). Les sections des camemberts sont proportionnelles à la fréquence des haplotypes dans chaque région.

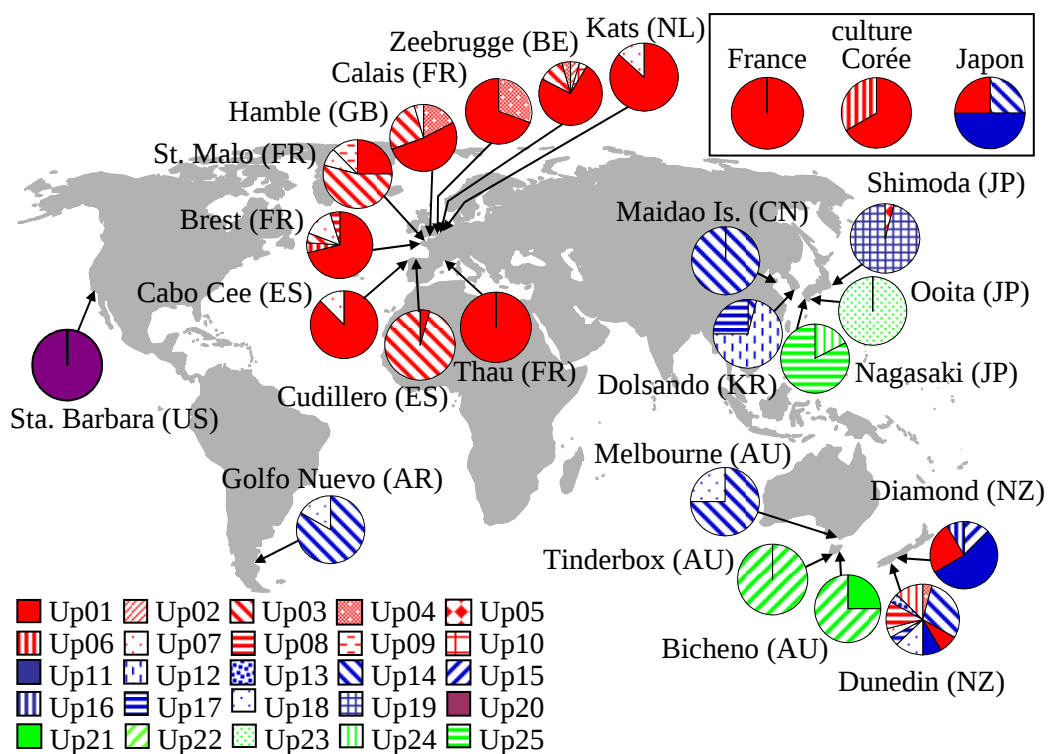


Figure 1.9 : Distribution géographique des 25 haplotypes mitochondriaux détectés dans 24 populations spontanées et 3 populations cultivées de l'algue brune *Undaria pinnatifida*.

Chaque haplotype est représenté par un figuré différent ; le code couleur utilisé symbolisant leur proximité phylogénétique (rouge pour le groupe A; bleu pour le groupe B1 et vert pour le groupe B2; voir figure 1.11). Les sections de chaque camembert sont proportionnelles à la fréquence des haplotypes dans chaque population. Entre parenthèse est indiqué le code du pays dans lequel les populations ont été échantillonnées.

Tableau 1.5 : Diversité génétique au sein de chaque population analysée.

N_{ind} , nombre d'individus analysés; N_{hap} , nombre d'haplotypes; H_e , diversité haplotypique; S, nombre de sites polymorphes; π , diversité nucléotidique

Population	N	N_{hap}	H_e	S	$\pi \times 10^2$ (Ecart Type)
ASIE					
1-Dolsando	24	3	0.45	2	0.14 (0.14)
2-Maidao	24	1	0.00	0	0.00 (0.00)
3-Ooita	23	1	0.00	0	0.00 (0.00)
4-Nagasaki	23	2	0.30	1	0.09 (0.11)
5-Shimoda	24	2	0.08	19	0.48 (0.33)
EUROPE					
8-Kats	23	2	0.24	1	0.08 (0.10)
9-Zeebrugge	23	5	0.45	3	0.20 (0.18)
10-Calais	23	2	0.44	1	0.14 (0.15)
11-Hamble	23	4	0.66	3	0.25 (0.21)
12-Saint Malo	24	4	0.65	2	0.26 (0.22)
13-Brest	21	5	0.49	3	0.19 (0.18)
14-Cudillero	23	2	0.09	1	0.03 (0.06)
15-Cabo Cee	24	2	0.23	1	0.07 (0.10)
16-Thau	24	1	0.00	0	0.00 (0.00)
AUSTRALASIE					
18-Melbourne	24	2	0.39	1	0.12 (0.13)
19-Tinderbox	24	1	0.00	0	0.00 (0.00)
20-Bicheno	24	2	0.39	6	0.12 (0.13)
21-Diamond (port)	24	4	0.65	22	2.69 (1.43)
22-Dunedin (port)	24	10	0.88	24	3.54 (1.85)
AMERIQUE DU SUD					
23- Golfo Nuevo	24	2	0.29	1	0.09 (0.11)
AMERIQUE DU NORD					
24- Santa Barbara	23	1	0.00	0	0.00 (0.00)
COMMERCIALES / CULTIVEES					
6- Corée (commerciales)	3	2	0.67	1	0.21 (0.27)
7-Japon (commerciales)	4	3	0.83	22	3.36 (2.32)
17-France (cultivées)	24	1	0.00	0	0.00 (0.00)

est nettement supérieure à celle de l'Europe. En Europe, si le nombre d'haplotype global est élevé (9 haplotypes), les valeurs de diversité génétique sont beaucoup plus faibles que celles observées en Asie ou en Australasie ($H_e=0,55$; $\pi=0,21.10^{-2}$). Cette faible diversité à l'échelle européenne est en partie liée à la présence de l'haplotype Up01 trouvé chez 63% des individus analysés et majoritaire dans la plupart des populations, à l'exception de St Malo (France) et de Cudillero (Espagne ; figure 1.9).

Au niveau populationnel, le gradient de diversité haplotypique H_e est très important puisque cet indice varie de 0,0 à 0,88 (tableau 1.5). Des populations monomorphes ont été trouvées aussi bien dans l'aire d'origine que dans les régions d'introduction. Néanmoins, les schémas observés dans les populations natives et les populations introduites sont contrastés. Les populations asiatiques présentent en effet un niveau de diversité intrapopulation moyen ($H_{\text{moy}}=0,17\pm 0,20$; $N_{\text{pop}}=5$) inférieur à celui trouvé dans les populations introduites (Europe, $H_{\text{moy}}=0,36\pm 0,23$; $N_{\text{pop}}=9$; Australasie, $H_{\text{moy}}=0,46\pm 0,33$; $N_{\text{pop}}=5$). La population la plus diversifiée est une population introduite d'Australasie, Dunedin (Tableau I-5) qui ne compte pas moins de 10 haplotypes. La diversité haplotypique des populations cultivées est très faible ($H_e=0,24$) et la population cultivée française est monomorphe. L'haplotype Up01 qui la caractérise est également retrouvé dans les deux autres échantillons de populations cultivées de notre jeu de données.

4.2 Structure génétique entre les groupes régionaux

Les résultats des analyses de différenciation génétique obtenus par une AMOVA entre chaque groupe de régions et au sein de chaque région sont résumés dans la figure 1.10. Si la différenciation génétique entre les populations au sein de chaque région est toujours significative, le niveau de structure génétique entre les populations d'Asie et entre les populations d'Australasie est deux fois plus important qu'en Europe (Asie, $\theta_{ST}=0,96$; Australasie, $\theta_{ST}=0,800$; Europe, $\theta_{ST}=0,386$; $P<0,001$ pour chacune des valeurs). En concentrant l'analyse sur les populations d'Australasie et d'Asie, une structure génétique significative est observée au sein de chacune de ces deux régions ($\theta_{SC}=0,868$; $P<10^{-5}$) mais pas entre elles ($\theta_{CT}=-0,019$; $P=0,533$). Ce résultat rend compte d'une part de la forte structure génétique entre populations asiatiques et de l'existence d'haplotypes partagés entre les deux régions (Up14 par exemple). L'examen des autres combinaisons deux à deux entre régions (i.e. Asie vs. Europe et Australasie vs. Europe) montre en revanche que l'Europe apparaît

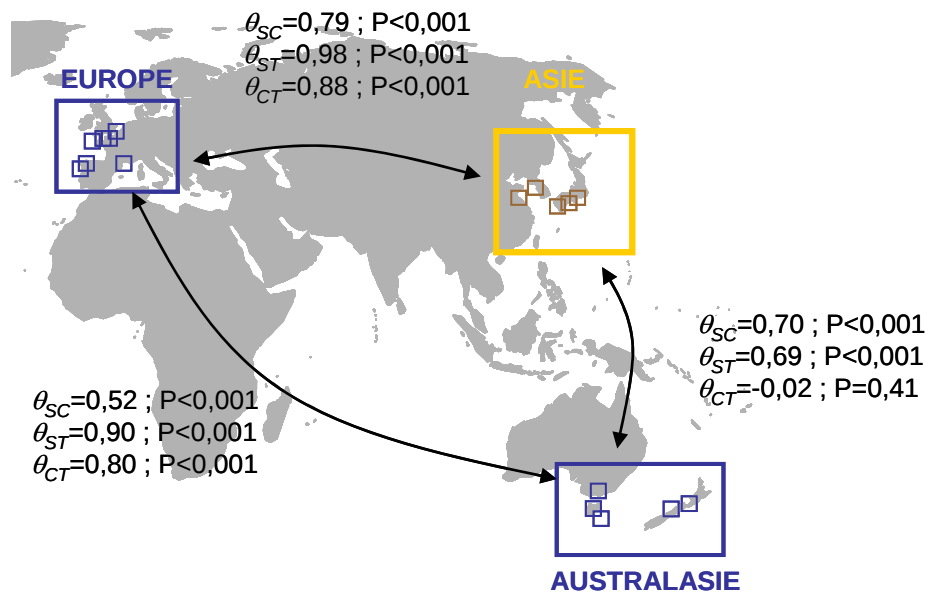


Figure 1.10 : Analyse hiérarchique de la variance génétique, entre populations (Φ_{ST}), entre populations au sein des groupes (Φ_{SC}) et entre les groupes (Φ_{CT}).

Le groupe « ASIE » correspond aux populations échantillonnées dans l'aire d'origine d'*U. pinnatifida*, le groupe « AUSTRALASIE » correspond aux populations échantillonnées en Tasmanie, Australie et Nouvelle-Zélande et le groupe « Europe » correspond aux populations échantillonnées en France, Espagne, Angleterre, Belgique et Pays Bas. Ces deux derniers groupes correspondent à des régions d'introduction d'*U. pinnatifida*.

génétiqnement significativement différente de l'Asie ($\theta_{CT}=0,622$; $P<10^{-5}$) comme de l'Australasie ($\theta_{CT}=0,553$; $P<0,001$).

4.3 Clusters / réseau

Le réseau révèle l'existence de deux groupes majeurs d'haplotypes (appelés « clusters » A et B dans la figure 1.11). Des boucles et liens alternatifs ont été obtenus lors de la construction du réseau, signifiant l'existence de différents « chemins » évolutifs également parcimonieux. Ce résultat est cohérent par rapport à la valeur de déséquilibre de liaison obtenue (voir plus haut) ; la technique de reconstruction de réseau a l'avantage de prendre en compte des possibilités d'homoplasie dans le jeu de données (Posada & Crandall 2001). La séparation des groupes A et B repose essentiellement sur l'existence d'importantes zones d'insertion-délétion (indels) de 17 et 2 paires de base (pb). Quelle que soit la technique de codage des indels (*i.e.* base à base ou par blocs avec différentes pondérations), la topographie générale du réseau est inchangée (résultats non montrés) et seule la longueur des branches séparant les deux groupes varie. Le premier groupe d'haplotypes, le groupe A est constitué d'haplotypes phylogénétiquement proches tous caractérisés par la présence des délétions de 17 et 2 pb. Le deuxième groupe d'haplotypes, qui présente les insertions de 17 et 2 pb, se divise en deux sous groupes, B1 et B2. Si de nombreux haplotypes du groupe B1 ne diffèrent des haplotypes du groupe A que par la zone de délétion de 17 pb (par exemple, les haplotypes Up15, Up16 et Up19), le groupe B2 se compose en revanche d'haplotypes qui se différencient nettement du reste du groupe B par 5 substitutions (figure 1.11). Aucun lien alternatif n'a été trouvé entre le groupe B2 et le groupe A ni entre les deux sous groupes B1 et B2.

Les réseaux permettent de visualiser simplement l'adéquation entre la proximité évolutive des haplotypes et leur distribution géographique figure 1.11 : sur le réseau, l'information de distribution géographique des haplotypes est symbolisée grâce à un code couleur. Les haplotypes identifiés dans les populations d'Asie et d'Australasie se répartissent dans les trois groupes A, B1 et B2. Les haplotypes trouvés dans les populations européennes sont en revanche restreints au seul groupe A. Le groupe B2 est composé d'haplotypes dont la distribution géographique est la plus limitée : les haplotypes Up23-Up25 ne sont trouvés qu'en Asie et les haplotype Up22 et Up21, qui sont les plus divergents sont uniquement répertoriés en Tasmanie. L'haplotype unique de la population de Santa Barbara occupe une position intermédiaire en étant l'haplotype du groupe B1 le plus proche des haplotypes du groupe B2. Au niveau populationnel, seulement 4 populations d'Asie et d'Australasie

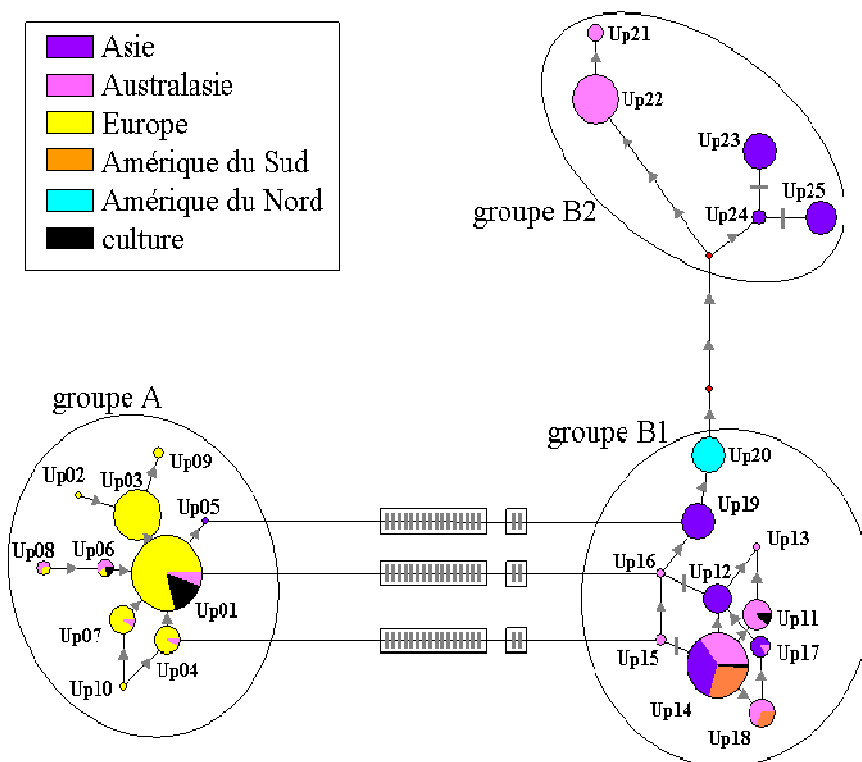


Figure 1.11 :Réseau d'haplotypes représentant les relations évolutives minimales entre les 25 haplotypes mitochondriaux obtenus par concaténation des séquences de deux régions intergéniques Atp8-S et W-I.

Chaque cercle représente un haplotype et sa fréquence (représentée par la taille du cercle) dans le jeu de données global.

Les différentes couleurs des sections des camemberts indiquent la part d'individus provenant de chaque région géographique : violet pour l'Asie, rose pour l'Australasie, jaune pour l'Europe, orange pour l'Amérique du Sud, turquoise pour l'Amérique du Nord et noir pour les cultures.

La longueur des segments entre chaque haplotype est proportionnelle au nombre de pas mutationnels les séparant. Les zones d'insertion/délétion (indels), codées ici site par site, sont symbolisées par des barres verticales. Il convient de noter que la forme du réseau est inchangée si les deux indels sont codés par deux blocs (et donc ne représentant que deux mutations).

Les mutations séparant chaque haplotype sont représentées par des triangles.

présentent des haplotypes appartenant à plusieurs groupes phylogénétiques. Les deux populations de Nouvelle Zélande, la population cultivée japonaise et la population japonaise de Shimoda sont composées d'haplotypes des groupes A et B1.

5. Interprétations des résultats

5.1 Diversité génétique des populations introduites : un succès peut être pas si paradoxal

Sur l'ensemble du jeu de données, 25 haplotypes mitochondriaux ont été définis à l'aide des séquences intergéniques des deux locus *Atp8-S* et *W-I*. Ces marqueurs se sont avérés polymorphes aussi bien au niveau régional qu'au niveau populationnel y compris dans l'aire d'origine, prouvant la possibilité d'utiliser de tels marqueurs pour des études de généalogies de gènes au niveau intra-spécifique chez une algue brune. Le niveau de polymorphisme obtenu avec nos marqueurs sur l'ensemble du jeu de données ($\pi=1,39.10^{-2}$) est quatre fois supérieur à celui obtenu pour des séquences de taille identique de la zone intergénique de la *RuBisCo* dans différentes espèces du genre *Undaria* (Yoon & Boo 1999).

L'aire d'origine présente une forte diversité génétique globale qui est fortement structurée (*i.e.* avec peu de diversité intrapopulation et peu d'haplotypes partagés par plusieurs populations). Du point de vue de l'identification des sources d'introduction, ce résultat suggère (i) la possibilité d'identifier les sources par leurs signatures génétiques et (ii) de distinguer entre différentes modalités d'introduction comme je l'ai exposé dans la figure 1.1. Dans le cas de notre étude, nous n'avons pas cherché à assigner précisément les populations introduites à leur(s) population(s) sources dans l'aire d'origine car l'échantillonnage dans l'aire d'origine est trop limité. En revanche, la comparaison des profils de diversité et structure des populations, entre aire de distribution naturelle et aires d'introduction, nous permet de proposer certains scénarios d'introduction : compte tenu de la forte structure observée en Asie, une introduction depuis une source unique, devrait conduire à une population introduite très peu diversifiée, même avec l'introduction d'un grand nombre d'individus (scénario A, figure 1.1). En revanche si les populations introduites sont fortement diversifiées, nous pourrions suggérer qu'elles sont le fruit de multiples événements d'introduction depuis les populations génétiquement différenciées de l'aire d'origine (ex. scénario C, figure 1.1).

Des populations introduites monomorphes représentent le cas le plus extrême d'un effet de fondation depuis une source unique. Dans notre étude seulement trois populations

introduites présentent cette signature génétique : Thau (France), Santa Barbara (USA) et Tinderbox (Australie). Les populations de Thau et de Tinderbox ont été signalées pour la première fois en 1971 et en 1989. Aucun nouvel événement d'introduction depuis une source génétiquement différenciée ne semble donc avoir eu lieu respectivement en 30 et 15 ans. La population de Santa Barbara est en revanche beaucoup plus récente (2001 ; voir Silva et al. 2002) et n'a été échantillonnée qu'un an après sa signalisation. Il serait ici intéressant d'échantillonner à nouveau (5 ans après sa première observation) davantage de populations californiennes pour confirmer l'origine unique à la source des populations dans cette région d'introduction.

Le résultat le plus marquant ici, est qu'à l'exception de ces trois populations, toutes les populations introduites sont polymorphes, ce qui suggère des événements d'introductions multiples dans les deux principales régions d'introduction, Europe et Australasie. La probabilité qu'une propagule soit transportée, au-delà des barrières géographiques et qu'elle soit relâchée dans un environnement favorable à son développement est extrêmement faible. Un attendu « classique » dans la littérature concernant les introductions biologiques est ainsi la présence d'importants effets de fondations et goulots d'étranglement dans les populations introduites (Allendorf & Lundquist 2003, Frankham 2005). Pourtant, avec l'augmentation des études réalisées sur les mécanismes d'introduction, il semble que cette situation ne soit pas aussi commune qu'on l'avait imaginé (Novak & Mack 2005). Dans une revue récente Roman & Darling (2007) montraient ainsi que sur 27 introductions en milieu aquatiques pour lesquelles les mécanismes d'introduction avaient pu être identifiés, moins de la moitié (12) présentaient des signatures génétiques suggérant des introductions uniques et des effets de fondation. Bien que la diversité génétique intrapopulation en Europe et Australasie suggère que l'introduction n'ait pas été unique mais ait impliqué des introductions récurrentes, les différences dans les valeurs de divergences génétiques observées dans ces deux régions suggèrent également que des mécanismes différentiels d'introduction ont eu lieu dans chacune.

5.2 L'aquaculture : un vecteur efficace

En Europe, les haplotypes sont peu divergents et appartiennent tous au même cluster, le cluster A (en rouge sur la figure 1-x). De plus, l'haplotype Up01 est présent dans toutes les populations analysées et représente 63% des haplotypes identifiés sur l'ensemble du jeu de données et 100% localement dans la population de Thau ainsi que dans la population cultivée

française. Thau est le point initial d'introduction d'*U. pinnatifida* en Europe. *U. pinnatifida* y aurait été introduite accidentellement, suite à l'importation de naissains d'huîtres de *C. gigas*, depuis le Nord du Japon (Perez 1981, Wolff & Reise 2002), autre région ostréicole et de cultures de wakamé. L'haplotype Up01, introduit à Thau, pourrait donc représenter une souche cultivée de wakamé introduite de façon accidentelle avec des naissains d'huîtres. Un argument renforçant cette hypothèse est que cet haplotype est rare dans les populations naturelles asiatiques, mais présent dans les deux échantillons de populations cultivées asiatiques que nous avons pu analyser et qui proviennent de Corée et du Japon. Après l'introduction accidentelle à Thau, des introductions délibérées ont eu lieu sur les côtes bretonnes en 1983, pour des essais de mise en culture d'*U. pinnatifida* (Perez et al. 1984). Les souches initialement utilisées provenaient de Thau ce qui est concordant avec la présence de l'haplotype Up01 dans la population cultivée française. Le développement de fermes de wakamé et le transport par des bateaux auraient ensuite permis la dispersion de l'haplotype Up01 le long des côtes européennes, à l'origine d'une faible structure génétique observée à l'échelle régionale.

En plus d'Up01, 8 autres haplotypes du groupe A ont été répertoriés en Europe. Deux hypothèses peuvent être formulées : (i) depuis l'introduction accidentelle de 1971, l'haplotype Up01 a subi des mutations à l'origine de nouveaux haplotypes ou (ii) il existe des vecteurs secondaires d'introduction comme l'aquaculture ou le transport maritime. Les haplotypes identifiés en Europe diffèrent les uns des autres par un total de 6 mutations qui conduisent sur l'ensemble du cluster à une divergence nucléotidique moyenne très faible ($\pi=0,21.10^{-2}$). Il est peu probable que ces mutations aient eu lieu depuis l'introduction d'*U. pinnatifida* en Europe, compte tenu du faible temps écoulé depuis l'introduction. Le fait que Thau, la plus ancienne population d'Europe, soit monomorphe, soutient cette conclusion. L'existence d'autres sources/vecteurs d'introduction semble plus probable. Ces autres haplotypes mitochondriaux pourraient également partager une origine cultivée. En effet tous les haplotypes européens font partie du groupe A qui est essentiellement présent dans les populations asiatiques cultivées. L'importation de ces souches via les eaux de ballast depuis le Nord du Japon où *U. pinnatifida* est cultivée semble peu probable compte tenu de la faible intensité du trafic maritime dans le nord du Japon (Drake & Lodge 2004). L'importation volontaire, non répertoriée de nouvelles souches cultivées asiatiques, par des aquaculteurs européens, reste alors une hypothèse vraisemblable pour expliquer la diversité observée. Dans le nord de l'Espagne, où *U. pinnatifida* est cultivée, la population de Cudillero est dominée par l'haplotype Up03, également présent

dans de nombreuses populations des côtes de la Manche et de la Mer du Nord. Les échanges entre aquaculteurs, conjugués au transport par les bateaux de plaisance ou de pêche, pourraient alors avoir favorisé la dissémination d' *U. pinnatifida* le long des côtes européennes. Tous ces résultats semblent indiquer que l'aquaculture a été et continue à être l'un des vecteurs d'introduction primaire principaux d'*U. pinnatifida* en Europe. Un échantillonnage plus fin de l'aire d'origine, et en particulier du Nord du Japon où les populations sont intensément cultivées, ainsi que l'étude des populations cultivées de Chine et de Corée, permettraient de valider ce scénario.

5.3 Récurrence d'introduction et trafic maritime : le cas de l'Australasie

L'Australasie présente un profil nettement différent de celui de l'Europe avec la présence des trois groupes d'haplotypes A, B1 et B2 (figure 1.11) et une diversité haplotypique globale similaire à celle de l'Asie ($H_{e-Asie}=0,84$; $H_{e-Australasie}=0,81$). Les populations de l'aire d'origine sont peu diversifiées et structurées, alors que l'Australasie en revanche ne présente pas de structure génétique et est très diversifiée. Cette situation est caractéristique de récurrences d'introduction (scénario C figure 1.1). Ces résultats confirment l'histoire supposée de l'introduction d'*U. pinnatifida* dans cette région. Hay & Luckens (1987) notait en effet, qu'en l'absence de fermes ostréicoles à proximité des zones envahies de Nouvelle-Zélande, les algues devaient avoir été transportées par les eaux de ballast ou accrochées aux coques des navires commerciaux japonais. La fréquence de ces événements d'introduction se traduit, par exemple, par la diversité génétique observée à Dunedin, qui est la plus élevée de toutes les populations échantillonnées ($H_e=0,88$). De plus, les bateaux de plaisance, restant à quai plusieurs mois, permettent la fixation de sporophytes et accélèrent la dispersion d'*U. pinnatifida* le long des côtes. Hay (1990) suspectait les bateaux en provenance de Nouvelle-Zélande d'être à l'origine de l'installation d'*U. pinnatifida* en Australie. Les haplotypes trouvés en Australie, à l'exception de la Tasmanie (voir plus loin) sont en effet présents en Nouvelle-Zélande ce qui appuie l'hypothèse d'introductions secondaires (*i.e.* d'une population introduite à une autre) en Australasie. Le transport maritime avec le fouling et les eaux de ballast, serait alors le principal vecteur d'introduction en Australasie. Un point à relever est également la très forte proximité génétique entre la population de Melbourne et la population d'Argentine qui ne sont pas différenciées génétiquement et qui soulèvent la question d'une éventuelle introduction secondaire (*i.e.* échanges entre régions d'introduction) ; ce type d'introduction a déjà été suggéré chez d'autres organismes marins notamment des invertébrés, introduits accidentellement avec les transferts d'huîtres entre régions conchyliques. Ce mécanisme a

notamment été proposé dans le cas de l'introduction du gastéropode perceur asiatique *Ocinebrillus inornatus* en Europe, avec comme source possible non pas l'aire d'origine asiatique mais la côte ouest des Etats-Unis (Martel et al. 2004).

Ce résultat rejoint les observations de Roman & Darling (2007) qui présentait le trafic maritime (*i.e.* fouling, ballast solides et eaux de ballast) comme l'un des principaux vecteurs responsables de récurrence d'introduction et de diversité génétique élevée dans les populations introduites d'organismes marins. Dans le cas d'*U. pinnatifida* il faut noter que cette espèce a la capacité de se développer en périphérie des zones anthropisées (ex. dans les ports) et sur des substrats artificiels ce qui peut largement favoriser cette introduction massive et récurrente. C'est notamment l'un des critères cités par Nyberg & Wallentinus 2005 pour la classer parmi les espèces d'algues présentant l'un des plus importants potentiels d'invasion. De plus, les deux stades de vie d'*U. pinnatifida* peuvent être transportés par les activités maritimes : les gamétophytes microscopiques au sein des ballast solides ou fixés aux coques des bateaux et les sporophytes en épiphytes sur les coques des navires. De plus, le stade gamétophytique présente la capacité de rester en dormance lorsque les conditions environnementales ne sont pas favorables, ce qui pourrait favoriser la survie d'*U. pinnatifida* lors des phases de transport.

5.4 Introduction cryptique et populations relais : deux autres facteurs révélés par les outils moléculaires

Si les populations de Nouvelle-Zélande et du continent Australien partagent des caractéristiques, de façon inattendue, il n'en est pas de même des populations étudiées en Tasmanie qui sont composées d'haplotypes fortement divergents des haplotypes trouvés en Australie et Nouvelle-Zélande (figure 1.10 et figure 1.11). L'introduction d'*U. pinnatifida* en Tasmanie a été signalée pour la première fois en 1988 et pouvait logiquement être interprétée comme un effet de dissémination depuis la Nouvelle-Zélande (première apparition en 1987). Le faible nombre de générations écoulées entre ces deux épisodes d'introduction n'est pas suffisant pour expliquer la divergence haplotypique observée. Nos résultats moléculaires suggèrent une origine indépendante du reste de l'Australasie en Tasmanie. Ces résultats peuvent être mis en parallèle avec les conditions de développement des populations de Tasmanie : en milieu ouvert battu et à des profondeurs supérieures à 18 mètres Sanderson (1990) une situation écologique rarement rencontrée par les autres populations australasiennes, généralement situées dans la zone de balancement des marées. La divergence haplotypique pourrait ainsi être l'expression de la présence d'une autre variété ou sous-

espèce. Plusieurs morphotypes ou écotypes ont été décrits au sein de l'espèce *U. pinnatifida* en fonction de la taille totale du sporophyte, la taille du stipe, le nombre d'échancrures de la lame ou encore le nombre de falbalas du sporophylle ; ils se répartiraient le long de la côte japonaise dans des conditions d'hydrodynamisme et de température différentes (Saito 1972 voir en introduction générale l'encadré I.2). Le fait que ces différents types soient de simples variants morphologiques ou de véritables sous espèces, a longtemps été sujet à controverses. Pour mettre fin à cette controverse, Uwai et al. (2006) ont réalisé une étude basée sur le polymorphisme de la région mitochondriale codante *cox3* ainsi que la zone intergénique ITS1. Leurs résultats ne montrent aucune différence génétique entre les différents types échantillonnés le long des côtes japonaises et semblent donc confirmer que ces morphotypes expriment une plasticité saisonnière environnementale sans composante génétique comme l'avait déjà suggéré Stuart et al. (1999). Il faudrait à présent examiner si des caractéristiques morphologiques ou écologiques particulières permettent de discriminer les individus trouvés en Tasmanie et tester leur capacité à se reproduire librement avec les individus d'autres populations d'Australasie, afin de valider l'hypothèse de l'existence d'une sous-espèce cryptique, voire d'une espèce cryptique.

D. Conclusion

Outre l'utilisation de marqueurs mitochondriaux polymorphes, à l'échelle intra population chez une algue brune, cette étude a mis en évidence la complexité des mécanismes d'introduction et la multiplicité des facteurs pouvant favoriser le succès d'introduction d'une espèce invasive. Les introductions biologiques sont classiquement séparées en deux catégories : (i) l'introduction d'un « type » vigoureux, avec des populations peu diversifiées résultant d'effets de fondation ou (ii) des introductions récurrentes associées à de fortes capacités d'adaptation reposant sur une diversité génétique importante. Différentes caractéristiques biologiques (*i.e.* annualité, production de propagules en grande quantité, histoire commune avec l'homme) font de *U. pinnatifida*, une bonne candidate à une installation locale réussie. Nous avons montré qu'en amont, de multiples processus d'introduction pouvaient faciliter son introduction dans différentes régions du globe et ainsi contribuer à son succès d'introduction sur un large spectre d'environnement.

Nos résultats suggèrent qu'au moins 4 processus différents ont été mis en œuvre dans l'introduction primaire du wakamé : (i) l'introduction de souches d'origine cultivée au moins de façon indirecte par le partage d'habitats où se concentrent différentes activités

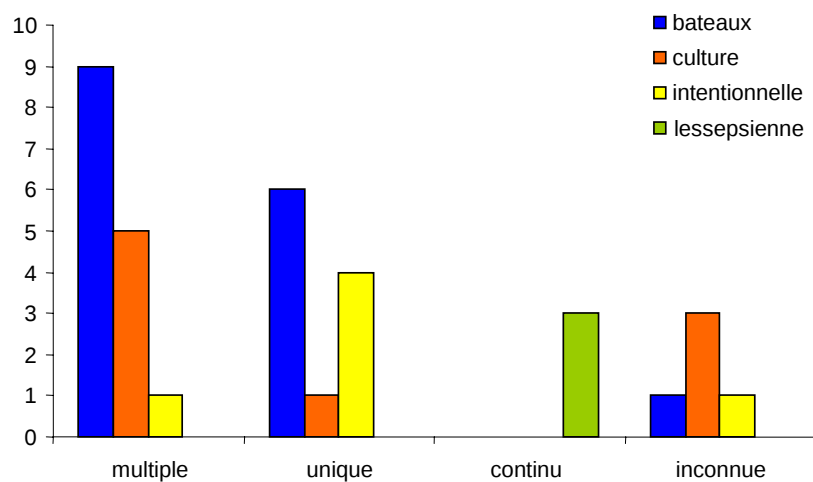


Figure 1.13 : Distribution des cas d'introduction d'espèces exotiques marines en fonction 1-des modalités de l'introduction (multiple, unique, continue et inconnue) et 2- des vecteurs d'introduction (d'après Roman & Darling 2007).

Pour chaque mécanismes : multiple, unique, continue et inconnue, les vecteurs associés sont précisés.

« bateaux » correspond aux introductions liées aux ballast (solides ou liquides), au fouling et au trafic maritime en général.

« culture » correspond aux espèces introduites accidentellement comme espèces accompagnatrices d'espèces cultivées (ex. lors d'échanges entre bassins conchylicoles), ou échappées accidentellement de zones de cultures et d'aquarium

« intentionnelle » correspond à l'introduction volontaire d'espèces exotiques

« continu » correspond aux introductions récurrentes lessepsiennes en Méditerranée

conchylicoles (cf. Europe), (ii) des introductions récurrentes, s'appuyant sur le trafic maritime, et permettant la mise en contact de types isolés dans l'aire d'origine (cf. Australasie), (iii) des introductions cryptiques (cf. Tasmanie) et (iv) des introductions secondaires entre régions d'introduction (cf. Argentine).

Il est intéressant de noter que la composition et la diversité génétique observées dans chacune des deux principales régions d'introduction peuvent être mises en parallèle avec les dynamiques d'expansion démographiques différentes dans les deux régions. En Europe, où la diversité nucléotidique est relativement faible, la prolifération d'*U. pinnatifida* dans le milieu naturel est lente et progressive. L'introduction d'individus issus de compartiments, tel que le compartiment cultivé, qui ont évolué depuis longtemps avec les activités anthropiques, peut avoir facilité son développement dans de nombreux environnements perturbés, comme les marinas et les bassins conchylicoles et restreint ses capacités d'adaptation en milieu naturel. En revanche, la forte diversité génétique observée en Australasie, en particulier en Nouvelle-Zélande, peut quant à elle expliquer la colonisation rapide de nouvelles localités, avec la formation de zones mono spécifiques (Hay 1990). Pour déterminer plus précisément les mécanismes sous-jacents à ces dynamiques d'installation différentes, il faudrait développer une étude spécifique des capacités adaptatives de ces différentes populations, par exemple, en analysant des composantes de la valeur sélective (ex. fécondité, croissance) d'individus de différentes origines dans les mêmes conditions environnementales.

Le rapport entre les trois facteurs diversité génétique-adaptation-plasticité phénotypique reste à explorer chez *U. pinnatifida*. Dans une récente étude, Lavergne & Molofsky (2007) ont mis en relation l'influence des récurrences d'introduction et le caractère invasif des espèces introduites. En comparant le polymorphisme génétique et la plasticité phénotypique de populations invasives et natives, ils ont montré que les populations introduites américaines du faux roseau *Phalaris arundinacea* étaient composées à 95% de nouveaux génotypes (*i.e.* dus à la mise en contact de génotypes isolés dans l'aire d'origine), s'avérant plus agressifs que ceux de l'aire d'origine européenne, avec de fortes capacités de colonisation végétative et une importante plasticité phénotypique. Ces populations introduites auraient la capacité d'évoluer en réponse aux modifications environnementales, et ainsi, d'augmenter leur impact sur les communautés et les écosystèmes, dans le futur. Nos résultats, comme d'autres études récentes analysant les mécanismes d'introduction en milieu marin, montrent que de nombreuses introductions biologiques ne reposent pas sur des événements rares, à la suite desquels quelques types vigoureux survivent (Roman & Darling 2007 ; figure 1.12). La récurrence d'introduction est un facteur pouvant stimuler l'évolution rapide des

espèces introduites, à partir de processus d'hybridation (Ellstrand & Schierenbeck 2000) ou de croisements entre individus d'origine diversifiées (Lavergne & Molofsky 2007), réduire les pressions en propagules en amont du phénomène d'introduction initiale apparaît dans ce contexte comme une mesure de gestion prometteuse.

CHAPITRE 2

ENTRE INTRODUCTIONS PRIMAIRES ET SECONDAIRES

**FOCUS SUR LES PROCESSUS D'INTRODUCTIONS EN
EUROPE**

A. Dynamiques d'expansion : les schémas théoriques et les attendus avec *Undaria pinnatifida*.

L'apparition de nouvelles populations d'une espèce déjà reconnue comme introduite au sein d'une région d'introduction peut être due à trois phénomènes non exclusifs : (i) une nouvelle introduction primaire depuis l'aire d'origine, (ii) une introduction secondaire liée aux activités humaines depuis une population déjà présente dans l'aire d'introduction, (iii) une expansion naturelle résultant des capacités de dispersion intrinsèques naturelles de l'espèce. Ces phénomènes correspondent à des étapes différentes du processus d'introduction, et reflètent différentes capacités de l'espèce à évoluer dans ces nouveaux milieux. Les deux premiers scénarios correspondent à des processus d'introduction obligatoirement en relation avec les activités humaines et rendent compte de la capacité de l'espèce à être transportée à longue distance par des activités humaines, puis à se reproduire localement, dans le site d'introduction. Le troisième scénario en revanche dépend uniquement des capacités de dispersion naturelle de l'espèce et reflète sa capacité à s'établir et à se maintenir dans de nouveaux sites, au-delà de son point initial d'introduction.

Pouvoir faire la part de ces différents phénomènes est important, non seulement pour la mise en place de stratégies de gestion, mais également pour évaluer le potentiel d'invasion d'une espèce. Dans le cadre des stratégies de gestion des introductions biologiques, et en particulier lors d'essais d'éradication, la sous évaluation des récurrences d'introduction ou bien la négligence des introductions secondaires conduisent généralement à des échecs (Abdelkrim et al. 2007). L'exemple de *Ceratitis capitata* illustre très bien comment une mauvaise appréciation des dynamiques des populations introduites peut conduire à la mise en place de techniques de gestion inadaptées. Pour éliminer l'insecte *C. capitata* en Californie, de nombreuses campagnes d'éradication ont été réalisées. Pourtant, aucun résultat significatif n'a été obtenu puisque les populations réapparaissaient quelques temps après. En utilisant des approches de génétique des populations et des techniques d'assignation statistiques, Davies et al. (1999) ont montré que la réapparition des populations était probablement due à des récurrences d'introduction depuis des foyers d'introduction primaire installés en Amérique Centrale et non à la survie locale d'individus en Californie. Dans ce type de situation où la dispersion est facilitée par l'homme, c'est principalement la gestion des vecteurs de transports

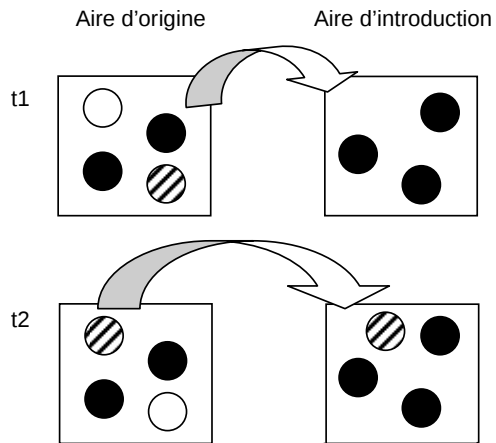
Encadré 2.1 : Scénarios d'apparition de nouvelles populations d'espèces exotiques et signatures génétiques associées

-MECANISMES-

-ATTENDUS THEORIQUES-

A- DEPUIS L' AIRE D'ORIGINE

Introduction primaire

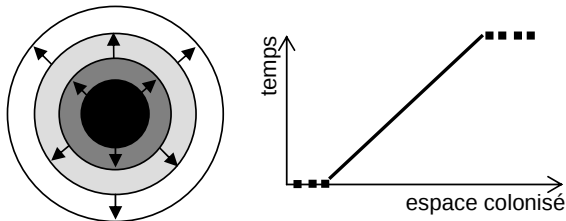


Augmentation de la diversité

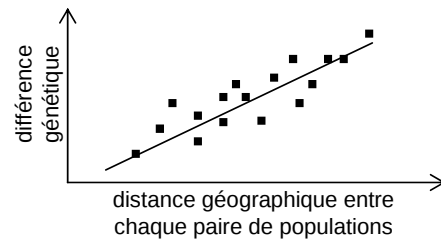
Apparition de nouveaux haplotypes ou de nouveaux allèles

B- AU SEIN DE L'AIRE D'INTRODUCTION

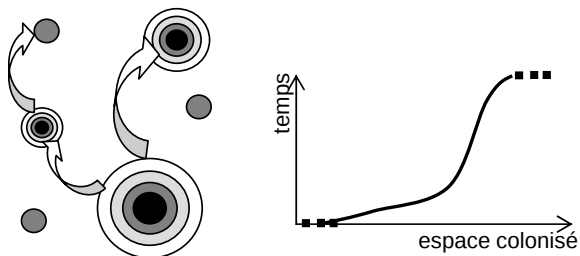
1- Dispersion graduelle et progressive depuis le point initial d'introduction : expansion lente



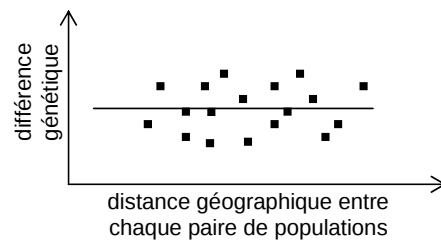
Modèle d'isolement par la distance



2- Dispersion saltatoire aléatoire avec formation de population satellites : expansion rapide



Pas d'isolement par la distance



des espèces qui pourrait limiter le phénomène d'expansion. D'un point de vue plus fondamental, la discrimination de ces deux types d'expansion peut également permettre d'évaluer le potentiel d'invasion de l'espèce : l'espèce est-elle toujours dépendante des activités humaines ou bien peut-elle disperser, recruter et se maintenir de façon naturelle, c'est-à-dire s'installer durablement dans l'écosystème ?

Les différents phénomènes d'introduction primaires ou secondaires peuvent laisser des signatures génétiques spécifiques en termes de diversité et de structure génétique des populations, telles que schématisées dans l'encadré 2.1 :

(1) Des introductions multiples depuis des zones génétiquement différenciées peuvent conduire à des phénomènes de mélanges (« admixture ») dans l'aire d'introduction, caractérisés par une diversité intrapopulation supérieure à celle de l'aire d'origine. Ce schéma a par exemple été retrouvé dans les populations introduites de l'amphipode *Gammarus tigrinus* en Europe de l'est qui présentent une diversité supérieure aux populations sources potentielles d'Amérique du Nord (Kelly et al. 2006). Si des données temporelles sont disponibles, une augmentation de la diversité génétique au cours du temps peut traduire ces introductions multiples. Berg et al. (2002) ont par exemple montré que la diversité des populations introduites du crustacé *Bythotrephes longimanus* avait augmenté entre 1989 et 1996 en Amérique du nord, traduisant de multiples événements d'introduction depuis l'Europe au cours du temps. Ce scénario est illustré encadré 2.1, A.

(2) Au sein de la région d'introduction, l'expansion géographique d'une espèce peut présenter deux dynamiques : progressive et pas à pas depuis une population source ou bien rapide et à longue distance avec une dispersion saltatoire. Ces dynamiques d'expansion géographiques peuvent être mises en relation avec les traits d'histoire de vie des espèces et notamment les capacités de dispersion des propagules. Dans le cas d'une dispersion naturelle favorisant des migrations à courte distance, l'expansion se fait pas à pas. Les populations sont créées progressivement de plus en plus loin de la population initiale. Les flux de gènes sont limités aux populations adjacentes, ce qui crée une différenciation génétique entre les populations les plus éloignées, n'échangeant plus de migrants (encadré 2.1 ; scénario B-1). Il y a alors un isolement génétique des populations par la distance géographique entre les populations (Wright 1943, Rousset 1997). Lors d'une expansion rapide, due à des capacités de dispersion naturelle importante, des flux de gènes peuvent s'établir entre des populations proches, ou éloignées, et contrebalancer la divergence génétique entre populations qui n'échangent plus de gènes (voir exemple dans Palumbi 1992 ; encadré 2.1 scénario B-2). La

déviatio n d'un modèle d'isolement-par-la-distance permet alors de quantifier le rôle de la migration à longue distance (Wilson et al. 1999). Dans le cas d'espèces qui ont des liens importants avec les activités humaines, ces dernières peuvent également intervenir dans les schémas de dispersion et participer à des phénomènes de dispersions stochastiques à longues distances, au sein des régions d'introduction. Par exemple, Herborg et al. (2007) ont mis en évidence que les populations introduites européennes du crabe *Eriocheir sinensis* colonisent progressivement les côtes européennes, en suivant un modèle d'isolement par la distance. Toutefois, des migrations récentes, entre les populations de Grande Bretagne et du continent européen ont été mises en évidence et peuvent être mises en relation avec le trafic maritime entre ces deux zones. Les activités humaines constitueraient toujours un facteur de dispersion après l'introduction primaire initiale.

Dans le cas d'*U. pinnatifida*, les phases du cycle de vie permettant une dispersion naturelle sont les spores, les gamètes mâles et les individus sporophytiques en épave. Chez les macroalgues, les spores sont compétentes dès leur émission et se fixent quelques heures voire quelques jours après (Santelices 1990, Gaylord et al. 2002). Des études réalisées sur *U. pinnatifida* dans son aire d'origine suggèrent ainsi que les spores germent à quelques mètres seulement du sporophyte parental (voir références dans Forrest et al. 2000). Cependant, selon Forrest et al. (2000), ces études pourraient sous estimer la distance de dispersion. En effet, une expérience réalisées *in situ* dans une population introduite de Nouvelle-Zélande a mis en évidence que des supports vierges disposées à 200 m de la population pouvaient être colonisés (Forrest et al. 2000). Les sporophytes sexuellement mûres dérivant en épave pourraient représenter un vecteur de dispersion sur de plus grandes distances. En Tasmanie, les individus en épave pourraient faciliter la dispersion d'*U. pinnatifida* sur des échelles de l'ordre de 10km (ref dans Forrest et al. 2000). Ces capacités de dispersion sont toutefois limitées en comparaison des distances que peuvent parcourir les individus transportés par les navires ou lors d'échanges entre bassins aquacoles (plusieurs dizaines voire centaines de kilomètres). Dans le chapitre 1, l'aquaculture et le trafic maritime, via le fouling ou les eaux de ballast, ont été proposés comme des vecteurs alternatifs ayant largement contribué à l'introduction d'*U. pinnatifida* dans de nombreuses régions du monde. Les populations spontanées d'*U. pinnatifida* au sein des régions d'introduction se développent souvent en périphérie de zones où se concentrent les activités humaines, notamment dans les marinas et installations portuaires (ex. en Angleterre, Fletcher & Manfredi 1995) ou à proximité de bassins conchylicoles (ex. en Espagne, Caamaño et al. 1990). De plus, les premières observations

d'*U. pinnatifida* dans le milieu naturel ont suggéré un rôle important des cultures de cette algue dans l'implantation de populations spontanées (*i.e.* échappement d'individus depuis les cultures). L'échange de souches entre zones de cultures à très longue distance (ex. entre la Méditerranée et la Manche, comme cela a été le cas lors de l'introduction volontaire de wakamé en Bretagne dans les années 1980) est un autre vecteur pour l'installation de populations spontanées (Floc'h et al. 1991). Cette proximité avec les activités humaines peut donc faciliter la dispersion de l'espèce sur de grandes distances, nettement supérieures à celles conférées par les capacités de dispersion naturelle d'*U. pinnatifida*, au sein même des régions d'introduction. Ainsi, les capacités de dispersion naturelle d'*U. pinnatifida* étant extrêmement limitées, on s'attend en cas de dispersion naturelle, à une colonisation graduelle et progressive depuis les populations sources (scénario B-1, encadré 2.1). En revanche, une dispersion liée aux activités humaines correspondrait à une dispersion saltatoire et à un schéma chaotique entre distance génétique et distance géographique (scénario B-2, encadré 2.1).

Afin d'analyser la part de ces différents phénomènes (*i.e.* dispersion naturelle et expansion promue par les activités humaines), nous avons conduit une étude dans la région d'introduction européenne d'*U. pinnatifida*. L'Europe représente en effet une situation particulièrement intéressante.

(1) L'analyse à grande échelle (cf. Chapitre 1) nous a montré que la population de Thau, première population introduite en Europe, n'était certainement pas la seule origine des populations spontanées observées en Manche, et que, différents vecteurs d'introduction (trafic maritime, conchyliculture et culture de wakamé) ont pu jouer un rôle dans l'introduction primaire, voire dans l'introduction secondaire à l'échelle européenne. La culture dans différentes zones (ex. en Espagne et en France) incite notamment à se demander quelle a été la part des échanges volontaires d'algues sur l'expansion à l'échelle européenne, par rapport à des introductions secondaires accidentelles (via le trafic maritime). Par ailleurs, les relations entre les populations installées dans différentes zones européennes et le rôle de Thau à une échelle plus globale (hors des frontières françaises) sont méconnus.

(2) Des populations spontanées se sont installées dans des zones exemptes de culture de wakamé (par exemple dans les Pays-Bas) ; l'étude d'une telle zone permettra d'apprécier la part jouée par la dispersion naturelle à une échelle régionale.

(3) L'historique d'introduction d'*U. pinnatifida* dans différents pays européens, notamment la France, l'Espagne et les Pays-Bas, est relativement bien documentée. Nous

disposons de nombreuses dates de premières observations et des informations sur les différents points de culture. Ces données historiques permettent d'affiner les attendus théoriques quant aux dynamiques de dispersion pour chaque pays.

L'analyse des schémas d'expansion à l'échelle européenne a été menée en analysant la diversité et la structure génétique de populations réparties dans trois pays, l'Espagne, la France et les Pays-Bas, afin de tester les différents attendus présentés plus haut (ex. modèle d'isolement par la distance). Ce chapitre sera divisé en trois parties :

- (i) une présentation détaillée de l'histoire de l'introduction en Europe qui permettra de faire le point sur les vecteurs potentiels de dispersion dans les différentes aires étudiées ici.
- (ii) un résumé concernant les résultats de développement de marqueurs microsatellites spécifiques du taxon étudié, marqueurs adaptés à une étude à l'échelle européenne chez *U. pinnatifida*.
- (iii) les résultats et leurs interprétations de l'étude des schémas d'expansion à l'échelle européenne.

B. L'histoire détaillée de l'introduction d'*U. pinnatifida* en Europe : ce que les observations de terrain nous apprennent

L'introduction d'*U. pinnatifida* en Europe est particulière puisqu'elle combine des événements d'introductions accidentelles, en relation avec la conchyliculture (Perez 1981 , Caamaño et al. 1990) et le trafic maritime (Salinas et al. 1996) ainsi que des introductions délibérées, avec sa mise en culture sur les côtes françaises et espagnoles (ex dans le rapport JACUMAR 2000).

L'introduction d'*U. pinnatifida* a été signalée pour la première fois en 1971, dans l'étang de Thau (France), où elle se développait sur les cordages et les piliers des parcs ostréicoles (Perez 1981, figure 2.1). L'étang de Thau est l'une des principales régions d'importation de naissains d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*, importés principalement depuis la province de Miyagi dans le nord ouest de l'île de Honshu au Japon (Perez 1981 , Perez et al. 1990). *U. pinnatifida*, originaire d'Asie, aurait donc été introduite accidentellement lors de l'importation de naissains d'huîtres de *C. gigas*.

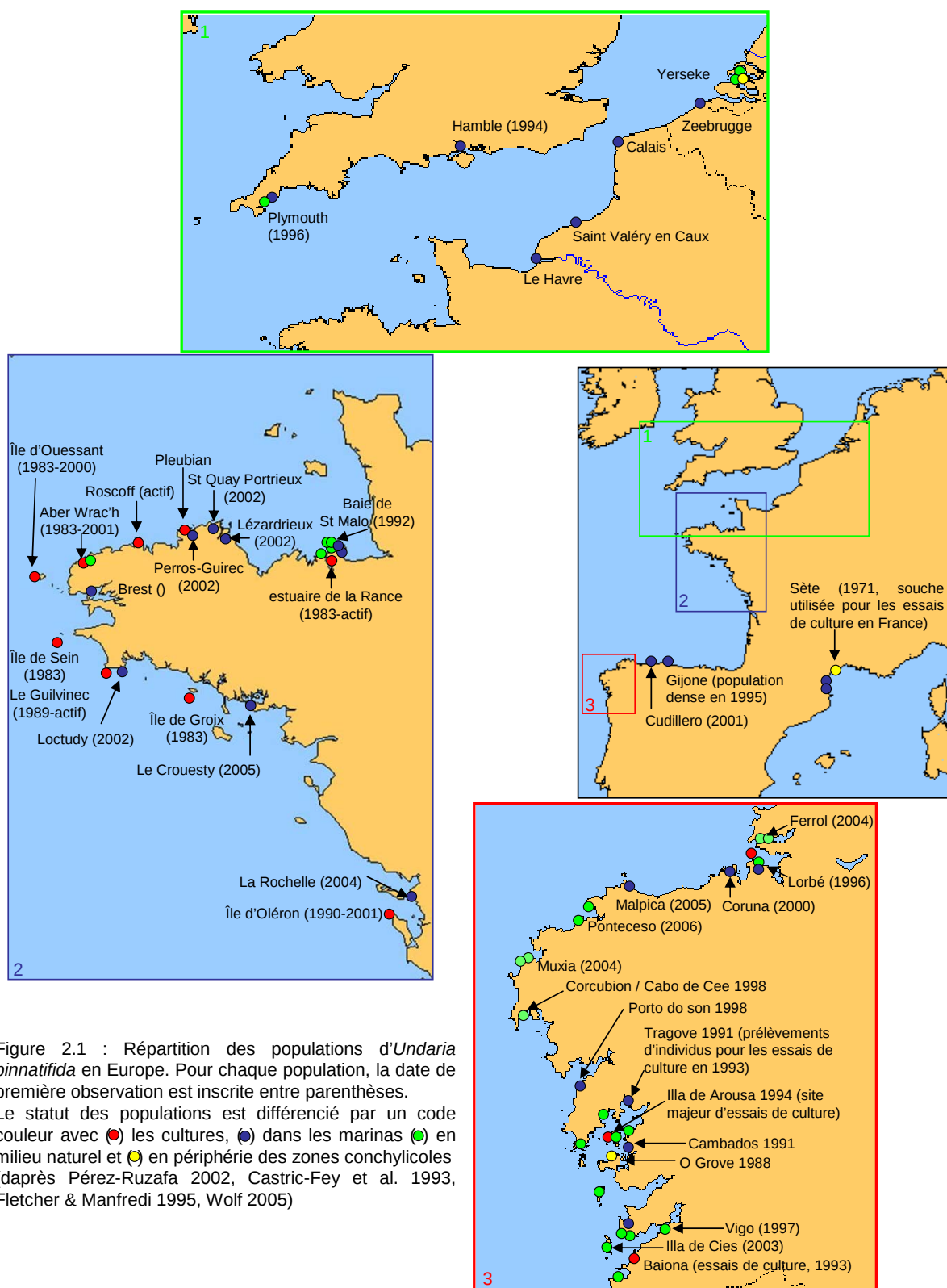


Figure 2.1 : Répartition des populations d'*Undaria pinnatifida* en Europe. Pour chaque population, la date de première observation est inscrite entre parenthèses. Le statut des populations est différencié par un code couleur avec ● les cultures, ● dans les marinas ● en milieu naturel et ● en périphérie des zones conchylicoles (d'après Pérez-Ruzafa 2002, Castric-Fey et al. 1993, Fletcher & Manfredi 1995, Wolf 2005)

Compte tenu de sa valeur commerciale, des essais de mise culture ont été entrepris à partir des individus qui se développaient spontanément dans l'étang de Thau et de nouvelles techniques d'ensemencement ont été développées (*i.e.* production artificielle de semences en laboratoire ; Perez et al. 1984). Les premiers transferts, pour des essais de culture en milieu naturel, ont eu lieu en 1983, en Bretagne, sur les îles de Sein, Ouessant, et Groix, ainsi que dans l'estuaire de la Rance (Perez et al. 1984). Des individus se sont rapidement développés en parallèle des zones de cultures, mais ne semblaient pas persister après l'arrêt des cultures (Perez et al. 1990). Le groupe de travail sur « Les introductions et le transfert des organismes marins » de l'ICES a néanmoins préconisé un suivi des populations spontanées (Floc'h et al. 1991). L'étude réalisée en 1987, à Ouessant, a alors mis en évidence la capacité des populations spontanées d'*U. pinnatifida* à se maintenir et à coloniser de nouveaux substrats (Floc'h et al. 1991). D'autres concessions de wakamé se sont implantées, depuis le début des années 1990, en Bretagne à l'aber Wrac'h, Roscoff, Perros-Guirec, au Guilvinec et en Charente sur l'île d'Oléron (Floc'h et al. 1996, figure 2-1). En parallèle de cette mise en culture, des populations spontanées ont été signalées dans les marinas ainsi que dans le milieu naturel rocheux, en Manche de Brest à Saint Malo (Castric-Fey et al. 1993) et sur la façade Atlantique du Guilvinec à La Rochelle. En 2002, une campagne de prospection réalisée par F. Viard et C. Engel a permis de compléter la liste des ports colonisés (figure 2.1).

Dans le Nord de la France, en Angleterre et en Belgique, aucune culture d'*U. pinnatifida* n'est connue. Des populations ont été pourtant progressivement signalées en Angleterre en 1994 à Portsmouth (Fletcher & Manfredi 1995), puis en 1996 à Plymouth et en 1998 en Belgique (Fletcher & Farrel 1999). Toutes ces populations ont été signalées dans des marinas, sur les pontons ou à proximité immédiate de ports sur les digues. Fletcher & Farrel (1999) désignaient alors le trafic maritime comme principal vecteur potentiel d'introduction et d'expansion d'*U. pinnatifida* dans cette zone.

Aux Pays Bas, une quinzaine d'individus ont été observés pour la première fois en 1999, sur des huîtres. Les populations se sont ensuite étendues dans tout l'Oosterschelde, sur les digues et les enrochements artificiels. *U. pinnatifida* est depuis 2003 l'une des espèces dominantes du niveau subtidal (A. Vanhalen ; comm. pers ; Wolff 2005)

L'Espagne est le deuxième pays après la France, à avoir autorisé la mise en culture d'*U. pinnatifida* en 1993 (JACUMAR 2000). Les premières populations spontanées ont néanmoins été observées antérieurement à la mise en culture, en Galice, en particulier au sein de moulières, dans la région de Pontevedra, puis progressivement dans de nombreuses marinas et en milieu rocheux (Caamaño et al. 1990 , Pérez-Ruzafa et al. 2002 ; figure 2.1). En

Tableau 2.1 : Diversité génétique obtenue avec des locus microsatellites pour plusieurs espèces d'algues brunes

Les gammes de valeurs du nombre d'allèles moyens par population (Nall.moy/pop) et de la diversité génétique attendue (H_e) sont données pour chaque espèce.

	Nall.moy/pop	H_e	source
<i>Fucus spiralis</i>	1,2 à 2,0	0,003 à 0,210	Engel <i>et al.</i> 2005
<i>Fucus vesiculosus</i>	3,8 à 6,2	0,534 à 0,671	Engel <i>et al.</i> 2005
<i>Laminaria digitata</i>	3,4 à 6,7	0,475 à 0,696	Billot <i>et al.</i> 2003
<i>Undaria pinnatifida</i>	2,1 à 2,7	0,179 à 0,402	Daguin <i>et al.</i> 2005

Tableau 2.2 : Diversité génétique obtenue sur l'ensemble des 20 locus microsatellites spécifiques d'*U.pinnatifida* dans une population de l'aire d'origine asiatique et dans deux populations introduites, en France et en Nouvelle-Zélande

Le nombre d'allèles par population (Nall) et de la diversité génétique attendue (H_e) sont donnés pour chaque population.

	Nall.	H_e
Japon	2,47	0,18
Nouvelle-Zélande	2,65	0,40
France	2,10	0,26

Asturies, la présence d'*U. pinnatifida* est beaucoup plus limitée, avec des populations se développant ponctuellement, dans le port de Cudillero et de Gijon (Salinas et al. 1996). Le port de Gijon, point initial d'introduction dans cette région, accueille de très nombreux bateaux de plaisance français. Le trafic maritime est ici largement privilégié pour expliquer le développement d'*U. pinnatifida* (Salinas et al. 1996). Les premiers essais de culture ont été initiés en 1993, à partir d'individus matures, prélevés à proximité de zones portuaires, dans la Ria de Arousa et à partir de souches cultivées françaises (rapport d'activité de JACUMAR 2000). Les essais de cultures ont été réalisés en mer, dans deux sites de Galice, sur l'île d'Arousa et à Baiona, dans la Ria de Vigo. A la suite de ces essais, la culture d'*U. pinnatifida* apparaît possible en Galice, avec des rendements suffisants. Le risque de transport par fouling lié à la proximité entre les zones de culture et les marinas est également évoqué (rapport d'activité de JACUMAR 2000).

Ainsi, de cet historique ressort clairement la juxtaposition et les inter-relations entre différentes possibilités de transports d'*U. pinnatifida* dans et entre différents pays à l'échelle européenne.

C. Développement de marqueurs microsatellites

*Le développement de marqueurs microsatellites spécifiques d'*U. pinnatifida* a fait l'objet d'un article paru dans Conservation Genetics (Daguin et al. 2005). Le détail du protocole d'obtention des locus microsatellite et de leur amplification sont présentés dans l'annexe 8c. Ici, seuls quelques résultats majeurs sont explicités.*

Dans l'étude phylogéographique présentée dans le chapitre 1, qui décrivait les mécanismes d'introductions primaires, dans les différentes régions d'introduction, à une échelle mondiale, nous avons utilisé des marqueurs intergéniques mitochondriaux, qui se sont révélés particulièrement informatifs à cette échelle d'étude. Néanmoins, au sein de la région européenne, ces marqueurs se sont avérés peu polymorphes. Neuf haplotypes ont été observés dans les 10 populations analysées (soit, 232 individus), mais la population de Thau, ainsi que le témoin « cultivé » français s'avéraient monomorphes et fixés sur l'haplotype Up01, qui représentait par ailleurs 63% des individus européens. Afin d'avoir une résolution plus importante à l'échelle populationnelle et régionale, des marqueurs davantage polymorphes étaient nécessaires. Par ailleurs, les marqueurs mitochondriaux sont à hérédité monoparentale et maternelle, ce qui permet de retracer uniquement les lignées maternelles. Afin de mieux décrypter la structure intra-population et avoir une première idée des modalités

de la reproduction en populations naturelles, nous souhaitons utiliser des marqueurs co-dominants. Ces différentes raisons nous ont incitées à développer des marqueurs microsatellites spécifiques d'*U. pinnatifida*.

Les marqueurs microsatellites sont des marqueurs à hérédité bi-parentale, co-dominants, neutres (non soumis à la sélection) et hypervariables (taux de mutations compris entre 5.10^{-5} et 5.10^{-3}). Ce sont des parties du génome présentant des motifs répétés purs (ex : GCGCGCGC), composés (ex : GCGCGCATATAT) ou discontinus (ex : GCTTTGCTTTGC) (Jarne & Lagoda 1996). La variabilité des microsatellites vient notamment d'erreurs de réplication des enzymes de type polymérase, qui glissent sur ces zones, entraînant une augmentation ou une diminution du nombre de motifs. Le polymorphisme détecté est donc un polymorphisme de longueur. Les gels d'acrylamide dénaturants utilisés permettent ensuite de discriminer des fragments dont la longueur ne diffère que d'une seule paire de base. Ce type de marqueurs a été très largement développés depuis une quinzaine d'années pour des études de génétique des populations sur un spectre extrêmement large d'espèces: les « primers notes » du journal « Molecular Ecology Notes » en sont un témoignage particulièrement illustratif.

Malgré cette large gamme d'espèces pour lesquels des microsatellites ont été développés, dans le cas d'*U. pinnatifida*, aucun marqueur microsatellite n'était disponible dans la littérature. Nous avons donc conduit une recherche spécifique par construction d'une banque enrichie en microsatellites telle que décrite dans l'article présenté en annexe 8c. A l'issue du criblage de cette banque, 20 locus microsatellites polymorphes ont été obtenus suite à l'analyse de trois populations: une population de l'aire d'origine, et deux populations introduites, une d'Australasie et une d'Europe.

Les locus microsatellites isolés chez *U. pinnatifida* présentent des niveaux de diversité modérés voire faibles en regard du polymorphisme trouvé chez d'autres espèces d'algues brunes (tableau 2.1). Par exemple, l'espèce *Fucus vesiculosus* présente des niveaux de diversité 3 fois supérieurs en terme de nombre moyen d'allèles par locus ($N_{all}-Fv=3,8$ à $6,2$; $N_{all}-Up=2,10$ à $2,65$). Cette faible diversité est également confirmée si on compare *U. pinnatifida* avec une espèce plus proche, *Laminaria digitata*, également de l'ordre des Laminariales, ($N_{all}-Ld=3,4$ à $6,7$). L'espèce hermaphrodite *Fucus spiralis* présente des niveaux de diversité nettement inférieurs à ceux d'*U. pinnatifida*, mais ce résultat est à mettre

en relation avec le fort taux d'autofécondation trouvée chez cette espèce (Engel et al. 2005). Bien que des phénomènes d'autofécondation et de parthénogenèse aient également été décrits à partir de culture en laboratoire chez *U. pinnatifida* (Fang 1983), ils n'ont jamais été mis en évidence dans les populations spontanées en milieu naturel. Dans le cas d'espèce introduite, les processus d'introduction eux même peuvent jouer un rôle prépondérant sur le niveau de diversité observé dans les populations (voir chapitre 1, figure 1.1). Dans le cas d'introductions accidentelles, des effets de fondation peuvent être à l'origine d'une forte perte de diversité génétique dans les populations introduites en regard des populations de l'aire d'origine. Dans le cas d'*U. pinnatifida*, la population de l'aire d'origine présente cependant une diversité similaire à celle des populations introduites y compris européenne (tableau 2.2) voire inférieure à celle de la population d'Australasie. La diversité génétique faible d'*U. pinnatifida* par rapport à celle des autres algues brunes, semble donc être plutôt une caractéristique de l'espèce.

Pour pallier le faible polymorphisme de chacun des locus microsatellites, nous avons systématiquement travaillé avec un nombre important de locus. Dix locus (1B2, 1G2, 4G2, 1H5, 1B5, 1C1, 2C1, 4C12, 4E9 et 2E8) sélectionnés parmi les vingt locus polymorphes que nous avons optimisés ont été systématiquement génotypés (*i.e.* pour cette étude et les suivantes présentées dans les chapitres 3 et 4). Notre sélection des locus a privilégié les locus avec des profils d'amplification non ambigus dans les trois populations tests, pour limiter le risque d'allèles nuls. Le choix des locus a aussi été fonction du niveau de diversité obtenue dans la population européenne, de la taille, de la lisibilité (*i.e.* profil de migration ne présentant pas voire peu d'échos) et de la possibilité de PCR multiplexes.

D. Processus d'introduction à l'échelle européenne

Le principal objectif de cette étude est d'évaluer quelles empreintes ont laissé les différentes activités anthropiques sur les populations spontanées d'*U. pinnatifida* et leur rôle dans l'expansion géographique et l'installation durable d'*U. pinnatifida* en Europe, en regard des capacités de dispersion naturelle probablement limitées de cette espèce. Rappelons qu'il s'agira ici d'obtenir des données à 10 locus microsatellites afin d'analyser (i) comment se structure la diversité génétique des populations entre différents pays européens (Espagne,

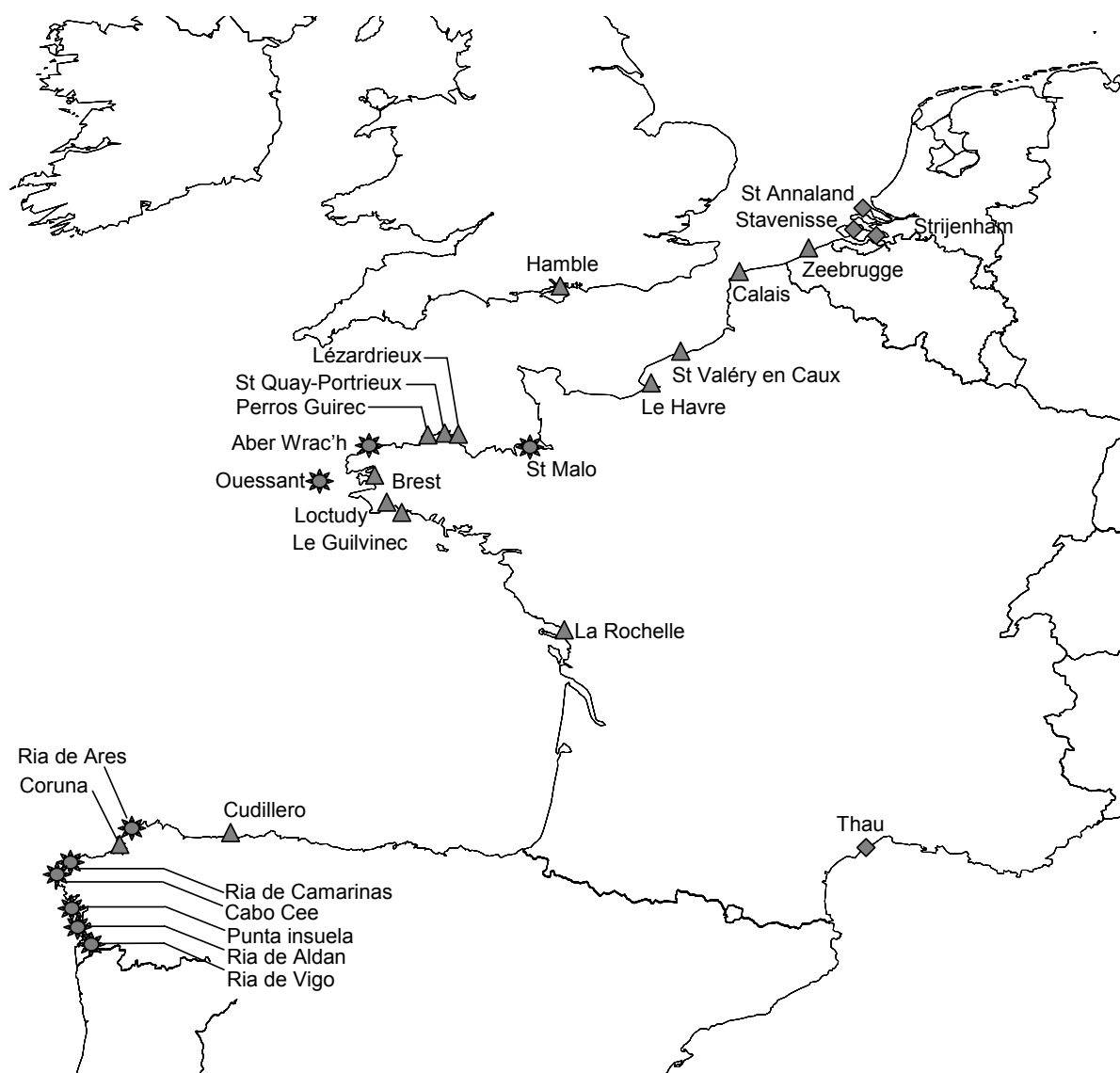


Figure 2.2 : Répartition géographique des échantillons

Chaque figuré symbolise le type d'habitat dans lequel ont été échantillonnées les populations (▲) pontons, digue ou enrochement de marinas, (◆) digue ou enrochement à proximité de parcs ostréicoles, (⊛) milieu naturel.

France et Pays-Bas) et (ii) comment ces schémas peuvent être corrélés aux vecteurs supposés d'introduction.

1. Matériel et méthode

1.1 Échantillonnage

Pour évaluer si l'installation d'*U. pinnatifida* à l'échelle européenne est un phénomène naturel ou favorisé par les activités humaines, un échantillonnage hiérarchique et représentatif de sa distribution actuelle dans trois pays cibles a été réalisé. D'après les données de la littérature, les distances de dispersion naturelle d'*U. pinnatifida* sont comprises entre quelques mètres à une dizaine de kilomètres (Forrest et al. 2000). Pour rendre compte d'une éventuelle dispersion naturelle, l'échantillonnage inclut des populations distantes de quelques kilomètres à plusieurs centaines de kilomètres. La localité des populations est présentée dans le tableau 2.3 et les matrices de distances sont fournies en annexe 6. L'échantillonnage comprend 24 populations spontanées, réparties le long des côtes de l'Atlantique, de la Manche et de la Mer du Nord. De plus ont été ajoutées à cette analyse, la population de Thau, point initial d'introduction en Europe et source supposée des cultures françaises ainsi qu'une population témoin des cultures française (cultivée dans l'estuaire de la Rance). Toutes les populations de notre étude précédente (Chapitre 1), à l'exception de la population Kats (Pays-Bas) ont été incluses à cette étude, et 19 populations supplémentaires ont été ajoutées. L'échantillon de Kats des Pays-Bas a été écarté de cette étude au profit de trois nouveaux échantillons, tous échantillonnés en 2005 et couvrant davantage la zone d'étude (figure 2.2).

Ces échantillons nous ont été fournis la plupart du temps par des collègues à qui nous avons fourni le protocole d'échantillonnage présenté en annexe 1. La durée de vie des sporophytes d'*U. pinnatifida* n'est que de quelques mois (Saito 1975). La persistance des populations est conditionnée, chaque année, par le succès d'un événement de reproduction et de recrutement. La signature génétique d'une population est donc le reflet de cet événement et ne rend pas compte de la stabilité temporelle de la population. L'objectif principal de cette étude est de dégager des dynamiques spatiales de colonisation. Pour s'affranchir totalement des effets liés à des variations temporelles de diversité et de structure génétique il aurait été préférable d'étudier des populations issues d'événements de reproduction ayant eu lieu une même année. Notre échantillonnage est le fruit d'une aide, gracieusement offerte par de nombreux collègues et il ne nous a pas été possible d'obtenir tous les échantillons la même année. Néanmoins, les échantillons présentent une certaine homogénéité temporelle (*i.e.* au

Tableau 2.3 : Populations européennes d'*Undaria pinnatifida* échantillonnées

Les populations sont regroupées par région. Les « enrochements artificiels » correspondent à des constructions artificielles comme des digues ou des retenues d'eau, pour faire opposition au « milieu naturel » rocheux. Toutes les populations échantillonnées sur des « pontons » correspondent à des populations se développant dans des marinas, port de plaisance.

Pays	Localité	Milieu	Date prélèvement	Collecteur
Pays-Bas				
Pays-Bas	Sint Annaland	enrochement artificiel	été 05	V. Zintzen & A. Van Haelen
Pays-Bas	Stavenisse	enrochement artificiel	été 06	V. Zintzen & A. Van Haelen
Pays-Bas	Strijenham	enrochement artificiel	été 07	V. Zintzen & A. Van Haelen
Manche Orientale				
Belgique	Zeebrugge	pontons	printemps 02	F. Kerckhof
Angleterre	Hamble	pontons	printemps 02	C. Maggs
France	Calais	pontons	printemps 02	F. Kerckhof
France	St Valery	pontons	été 02	T. Vincent & C.R.Engel
France	Le Havre	pontons	été 02	T. Vincent & C.R.Engel
Ouest de la France				
France	saint Malo	enrochement artificiel	printemps 02	C.R.Engel & F. Viard
France	St Quay-Portrieux	pontons	printemps 02	C.R.Engel & F. Viard
France	Lézardrieux	pontons	printemps 02	C.R.Engel & F. Viard
France	Perros-Guirec	pontons	printemps 02	C.R.Engel & F. Viard
France	Aber Wrac'h	milieu naturel	printemps 02	L. Lévêque
France	Ouessant	milieu naturel	printemps 03	J.Y. Moigne & M. A. Liteau
France	Brest	pontons	printemps 02	C.R.Engel & M. Valero
France	Loctudy	pontons	printemps 02	C.R.Engel & F. Viard
France	Le Guilvinec	pontons	printemps 02	C.R.Engel & F. Viard
France	La Rochelle	pontons	printemps 05	M. Voisin
Espagne				
Espagne	Cudillero	pontons	printemps 02	J. Rico
Espagne	Ria de Ares	milieu naturel	hiver 03-04	I. Barbara
Espagne	Ria de A Coruna	milieu naturel	hiver 03-04	I. Barbara
Espagne	Ria Camarinas	milieu naturel	hiver 03-04	I. Barbara
Espagne	Cabo Cee	milieu naturel	printemps 02	J. Cremades
Espagne	Ria de Aroura	milieu naturel	hiver 03-04	I. Barbara
Espagne	Ria de Aldan	milieu naturel	hiver 03-04	I. Barbara
Espagne	Ria de Vigo	milieu naturel	hiver 03-04	J. M. Sanchez
Populations en relation avec les activités aquacoles				
France	St Malo	culture	printemps 03	M.Molla
France	Thau	enrochement artificiel	hiver 02-03	A. Roftrisch

plus 16 mois de décalage) au sein de chacune des quatre zones européennes étudiées : les Pays Bas, la Manche Orientale, l'ouest de la France, et l'Espagne (tableau 2.3).

1.2 Obtention des données moléculaires

Le génotypage des 844 individus échantillonnés, pour les 10 locus sélectionnés (1B2, 1G2, 4G2, 1H5, 1B5, 1C1, 2C1, 4C12, 4E9 et 2E8), a été obtenu comme décrit dans Daguin et al. (2005). Les conditions d'amplification ainsi que la gamme de taille des allèles de chaque locus sont présentées dans le tableau 2.4. Les amplifications ont été de grande qualité et les 3,3% d'individus pour lesquels moins de 50% des génotypes ont été obtenus ont été exclus des analyses. Le génotypage a été répété de telle sorte que les données manquantes sont systématiquement inférieures à 5% pour chacun des locus.

Dans notre étude précédente, nous avons mis en évidence l'existence de trois groupes d'haplotypes mitochondriaux génétiquement proches. En Europe, un seul groupe était présent dans les populations analysées et se distinguait des deux autres clusters par des délétions de 17 et 2 pb au locus WI. Notre échantillonnage comprend ici de nombreuses nouvelles populations. Pour vérifier que toutes ces populations portent la même empreinte haplotypique typique du groupe A, au moins 8 individus tirés au hasard dans chaque population, ont été amplifiés au locus WI comme décrit dans Voisin et al. (2005). La détection de la délétion de 19 pb ne nécessite pas le séquençage des individus ; seul le polymorphisme de longueur a été vérifié, en faisant migrer 3µL de produit de PCR sur un gel d'agarose à 2% pendant 50 min à 100V.

1.3 Analyses statistiques

1.3.1 Indices de diversité génétique et de structure intrapopulation

L'absence de déséquilibre de liaison entre les locus a été testée grâce au logiciel Genepop V3.4 (Raymond & Rousset 1995).

Pour chaque population et chaque groupe de populations, le polymorphisme nucléaire a été évalué en calculant les fréquences alléliques pour chacun des 10 locus, la richesse allélique (A_r ; El Mousadik & Petit 1996), l'hétérozygosie attendue (H_e) et observée (H_o) avec les logiciels Genepop V3.4 (Raymond & Rousset 1995) et Fstat v.2.9.3.2 (Goudet 1995, 2002). La richesse allélique est préférée ici au nombre moyen d'allèles par locus. Cet indice de raréfaction permet en effet une standardisation du nombre moyen d'allèles par locus sur le plus petit effectif d'individus échantillonné dans les populations (El Mousadik & Petit 1996).

Il est particulièrement conseillé lorsque toutes les populations d'une étude ne sont pas composées du même nombre d'individus, ce qui est notre cas. Un test de comparaison des niveaux moyens de diversité dans chaque zone a également été réalisé avec le logiciel Fstat v.2.9.3.2.

Le déficit en hétérozygotes, par rapport aux attendus génotypiques sous l'hypothèse d'équilibre d'Hardy-Weinberg, au sein des populations a été quantifié par l'estimateur f de l'indice de fixation F_{IS} (Weir & Cockerham 1984). La significativité des écarts aux proportions attendues sous l'équilibre de Hardy-Weinberg a été testée par un test G avec le logiciel Fstat v.2.9.3.2. (Goudet 1995, 2002). Avec des marqueurs non soumis à la sélection, le déficit en hétérozygotes peut avoir 3 causes potentielles : (i) une reproduction entre individus apparentés, dont la forme extrême est l'autofécondation, ou une reproduction par parthénogenèse, dans ce cas une majorité voire l'ensemble (dans le cas de parthénogénèse ou d'autofécondation obligatoire répétée) des locus sont affectés par le déficit en hétérozygotes, (ii) des allèles nuls ; c'est ici un problème technique qui ne permet pas l'amplification de certains allèles augmentant alors la proportion d'individus considérés homozygotes et (iii) l'existence de groupes génétiquement différents au sein de la population échantillonnée et ne participant pas au même événement de reproduction ; même si les groupes sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg, l'hétérozygotie globale est inférieure à l'hétérozygotie attendue à l'échelle de la population à l'équilibre de Hardy-Weinberg (effet Wahlund). Dans ce cas le déficit en hétérozygote n'est visible qu'à un nombre limité de locus.

Pour estimer si les déficits en hétérozygotes pouvaient être associés à des événements d'autofécondation ou à des artefacts techniques (*i.e.* allèles nuls), le taux d'autofécondation $s(g2)$ dans chacune des populations a été estimé en utilisant la méthode proposée par David et al. 2007) et paramétrée dans le logiciel RMES. L'algorithme de ce programme prend en compte le déficit en hétérozygotes comme dans la formule classique $F_{IS}=S/(2-S)$ (Hartl & Clark 1997) mais également la corrélation multilocus dans chacune des populations (David et al. 2007).

Nei et al. (1975) ont montré qu'au cours d'un effet fondateur, la diversité allélique diminue plus vite que l'hétérozygotie. Ainsi, dans une population ayant récemment subi un goulot d'étranglement, la diversité génétique attendue à partir des fréquences observées (mesurée par H_e) est supérieure à celle attendue à l'équilibre mutation-dérive pour le nombre d'allèles observé dans la population (Luikart et al. 1998). Inversement, les populations en phase d'expansion sont caractérisées par des déficits en hétérozygotes par rapport aux

attendus (Maruyama & Fuerst 1984). Les traces de variations récentes de taille efficace (N_e) ont donc été recherchées par cette méthode, en utilisant le logiciel Bottleneck (Cornuet & Luikart 1996). Le modèle mutationnel choisi, qui permet d'établir la relation de référence à l'équilibre mutation-dérive, est le modèle en deux phases (« TPM » ; Maruyama & Fuerst 1985), recommandé par les auteurs pour les analyses de microsatellites. Pour tester, si un déficit ou un excès d'hétérozygotie significatif existe, trois méthodes sont proposées. Seul le test de rang de Wilcoxon (Luikart & Cornuet 1997) sera utilisé ici, car il est assez puissant pour être utilisé à partir de dix locus polymorphes.

1.3.2 Structure génétique entre les populations

La structure génétique calculée sur l'ensemble des populations ainsi qu'entre paires de populations a été évaluée en calculant l'estimateur θ de l'indice F_{ST} (Weir & Cockerham 1984) grâce au logiciel Fstat v.2.9.3.2 (Goudet 1995, 2002). La significativité de chaque comparaison a été calculée dans Fstat v.2.9.3.2. L'hypothèse nulle testée ici est l'absence de différenciation génétique entre paire de populations et le seuil de significativité initial (α) fixé à 5%. Sur l'ensemble des populations, 378 tests indépendants ont été réalisés. Le risque de rejeter l'hypothèse nulle alors qu'elle est vraie augmente avec le nombre de tests réalisés. Pour limiter la proportion d'erreur, le seuil de significativité a donc été ajusté selon le critère de Bonferroni ($\pi = \alpha / \text{nombre de test}$), tel que suggéré dans le logiciel Fstat v.2.9.3.2. Les différences génétiques obtenues entre populations ont été visualisées grâce à une analyse en composante principale basée sur les fréquences alléliques, en utilisant le logiciel PCA-GEN v.1.2.1 (Goudet 1999).

Une analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) a également été conduite avec les données nucléaires, avec le logiciel Arlequin v3.01 (Schneider et al. 1992), afin d'étudier la variation génétique entre les populations sur l'ensemble de l'étude (θ_{ST}), entre les populations au sein des groupes (θ_{SC}) et entre les groupes (θ_{CT}). Les populations ont été regroupées en 4 groupes, en fonction de leur position géographique et de leur histoire d'introduction :

- (i) les Pays Bas, dont l'histoire d'introduction récente serait en relation avec les activités conchyliques,
- (ii) la Manche Orientale, dont la présence a été mise en relation avec les activités nautiques et les transports maritimes

- (iii) la Bretagne et la façade Atlantique de la France, dont l'histoire est très étroitement liée à la culture d'*U. pinnatifida*
- (iv) l'Espagne, dont l'éloignement géographique avec les autres populations spontanées européennes limite la possibilité d'échanges naturels de migrants.

La population de Thau et la culture bretonne ont volontairement été isolées des autres populations. Dans cette étude, elles serviront principalement de point de référence.

Ce regroupement de populations est basé sur des critères subjectifs et peut ne pas rendre compte de la structure réelle des populations du jeu de données. Pour s'affranchir de ce type de classification *a priori* des populations, nous avons effectué un autre type d'analyse, utilisant une technique Bayésienne de regroupement des populations. Sous l'hypothèse de l'indépendance des locus, cette technique permet d'estimer combien d'unités panmictiques (*i.e.* à l'équilibre de Hardy Weinberg) composent notre jeu de données et de calculer la probabilité d'assignation *a posteriori* de chaque individu aux différentes unités (Pritchard et al. 2000, Manel et al. 2005). Dans le logiciel Structure (Pritchard et al. 2000) utilisé ici, l'utilisateur fixe au début de chacune des simulations le nombre d'unités panmictiques (K) qui composent le jeu de données. En fonction des paramètres du modèle ancestral et du modèle d'évolution des fréquences alléliques choisis par l'utilisateur d'une part, et des données réelles d'autre part, les probabilités d'assignation *a posteriori* des individus à chacune des unités sont calculées. Dans cette analyse, la probabilité d'assignation d'un individu à une unité est réalisée conjointement pour l'ensemble des unités (Manel et al. 2002). Le nombre d'unités panmictiques présentes dans le jeu de données est associé à la simulation pour laquelle K présente la plus grande vraisemblance et une variance entre les simulations faible, compte tenu des données réelles et du modèle sélectionné. Les auteurs de Structure notent toutefois, que le choix dans la valeur de K doit également avoir une signification biologique et peut être laissée à l'appréciation de l'utilisateur (voir aussi Evanno et al. 2005).

La répartition d'*U. pinnatifida* a certainement été influencée par les activités anthropiques, avec le transport accidentel ou volontaire d'individus entre régions. Le modèle ancestral « avec admixture » choisi ici, permet de prendre en compte ces mélanges (Pritchard et al. 2000). Dans la mesure où les échanges entre les différentes populations peuvent avoir lieu ou que plusieurs populations peuvent partager des populations ancestrales communes, le modèle de fréquences alléliques inférées dans chaque population est celui des « fréquences corrélées ». Les valeurs de K testées vont de $K=1$ (ce qui correspondrait à une absence totale

de structure au sein de la région européenne) à $K=27$ (ce qui indiquerait une structure maximale de la région européenne). Les paramètres de simulation sont les suivants : burn-in 50 000 et 150 000 répétitions pour la chaîne de Markov.

1.3.3 Distance géographique et génétique des populations

L'hypothèse d'un isolement génétique par la distance a été testée pour les données nucléaires pour chacune des zones géographiques analysées. Pour cela un test de Mantel a été réalisé avec le logiciel Genepop V3.4. afin de tester l'hypothèse d'une corrélation positive entre les matrices de distances géographiques et génétiques. L'estimateur de différence génétique utilisé ici est l'estimateur θ_{ST} de l'indice F_{ST} qui sert à déterminer la distance génétique $\theta_{ST}/(1 - \theta_{ST})$ (Rousset 1997). La distance géographique entre deux populations a été mesurée en suivant les principales courbes du trait de côte (annexe 6).

2. Résultats

2.1 Marqueurs mitochondriaux

Une partie des populations incluses dans cette étude a été séquencée aux deux régions intergéniques lors de l'étude des mécanismes d'introduction primaire présenté dans le chapitre 1 (tableau 1.3). Pour les autres populations, aucune nouvelle donnée de séquence n'a été acquise. Seul le polymorphisme de longueur du locus W-I a été analysé pour tous les individus des populations des Pays-Bas et pour 8 individus par populations pour les autres populations. Les témoins utilisés lors de la migration sont des individus de la population de Dunedine dans laquelle les différentes tailles de délétion du locus W- I avaient été identifiées par séquençage (voir Voisin et al. 2005). La délétion de 20 pb au locus W-I et synonyme de l'appartenance au cluster A défini dans Voisin et al. (2005) a été identifiée sur l'ensemble des 256 individus testés confirmant l'origine commune de toutes les populations européennes étudiées.

2.2 Marqueurs nucléaires microsatellite

2.2.1 Qualité des données et polymorphisme sur l'ensemble du jeu de données

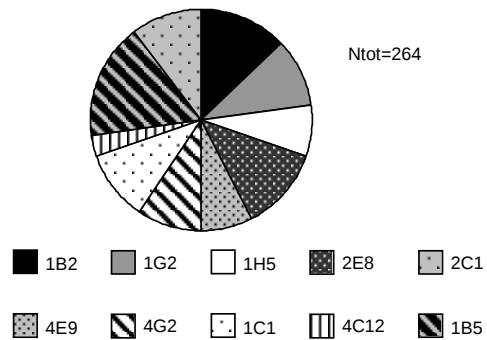


Figure 2.3 : Quantité de génotypes manquants à chacun des locus

Sur l'ensemble des 844 individus génotypés sur 10 locus, 264 génotypes (sur les 8440 totaux théoriques) sont manquants. Ces génotypes se répartissent parmi les 10 locus utilisés (1B2, 1G2, 1H5, 2E8, 2C1, 4E9, 4G2, 1C1, 4C12 et 1B5)

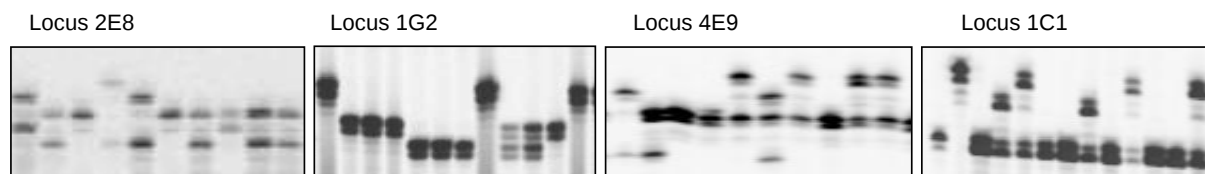


Figure 2.4 : Profil de migration de 4 locus microsatellites

Sur l'ensemble des 10 locus, moins de 5% de données manquantes ont été obtenues. Les analyses ont été réalisées en retirant du jeu de données les individus (3,21%) pour lesquels moins de 50% des génotypes ont été obtenus et portent sur 844 individus. Au total, seulement 3,12% des génotypes sont manquants (*i.e* 264 génotypes manquant et 8176 génotypes obtenus,). Ces génotypes manquants se répartissent sur l'ensemble des 10 locus (figure 2.3) avec un minimum de 8 génotypes manquants sur 844 individus analysés pour le locus 4C12 et un maximum de 45 pour le locus 1B5. Ils représentent systématiquement moins de 5% des génotypes par locus.

Quel que soit le locus utilisé, les profils de migration sont clairs, avec peu d'écho (figure 2.4) ce qui est à mettre en relation avec la taille des amplifias. La gamme de taille des allèles au sein de chaque locus est de plus très restreinte avec au minimum 2 paires de bases séparant les deux allèles de 1G2 et au maximum 10 paires de bases séparant le petit et les plus grands des allèles de 2E8. Le niveau de diversité obtenu pour chaque locus est ainsi limité avec un nombre d'allèles variant de 2 allèles pour le locus 1G2 à 6 allèles pour le locus 2E8. Sur l'ensemble du jeu de données, 40 allèles ont été identifiés (tableau 2.4).

2.2.2 Diversité génétique par populations et par groupe de populations

Les indices de diversité génétique calculés pour les données microsatellites sont présentés dans le tableau 2.5. Au niveau populationnel, deux des trois populations des Pays-Bas, Strijenham et St Annaland font partie des populations les moins diversifiées avec respectivement la plus petite valeur de richesse allélique ($A_r=1.48$) et d'hétérozygotie attendue ($H_e=0,10$). La population de Loctudy apparaît également comme une population très peu diversifiée avec de très petites valeurs de richesse allélique $A_r=1.48$ et d'hétérozygotie attendue $H_e=0,11$. Il faut d'ailleurs noter que, pour la population de Loctudy au locus 2C1, l'allèle 154 y est majoritaire (96,8%) mais absent dans toutes les autres populations analysées.

Sur les 28 populations analysées, 6 ont plus de 50% de leur locus pour lesquels l'allèle majoritaire est présent à plus de 95% dans la population (*i.e.* $P_{95}<0,5$). De plus, 3 populations sont monomorphes pour 5 des 10 locus analysés : 2 des 3 populations des Pays Bas, St Annaland (1G2, 1H5, 4G2, 1B5, 2C1) et Strijenham (1G2, 1H5, 1C1, 4C12, 1B5, 2C1), et la population de Loctudy (France ; 1B2, 1G2, 1H5, 1C1, 1B5). Les plus fortes valeurs de richesse allélique sont trouvées dans deux populations espagnoles, Ria de Aroua $A_r=2.77$ et Ria de Vigo $A_r=2.78$. Enfin, deux populations de l'Ouest de la France présentent les plus fortes valeurs d'hétérozygotie attendue avec $H_e=0,41$.

Tableau 2.4 : Caractéristiques des locus microsatellites utilisés en routine sur les populations européennes

Le nom du locus, la séquences des amorces directes et indirectes, les conditions de PCR, la gamme de taille des allèles obtenue ainsi que le nombre total d'allèles identifiés dans notre jeu de données sont indiqués.

Les cycles de PCR comportent deux phases, lors de la première partie de l'amplification, la température d'appariement des amorces diminue de 1°C pendant 10 cycles (Touch Down ou TD). La seconde partie correspond à une amplification. La température d'appariement des amorces utilisée ici est celle du dernier cycle de l'étape précédente. Ainsi pour « TD 60-50 10+20 cycles », la première étape est constitué de 10 cycles avec une diminution de la température d'appariement de 1°C/cycle, de 60°C à 50°C puis 20 cycles de PCR avec une température d'appariement des amorces de 50°C.

Locus	amorce directe (5'-3')	amorce indirecte (5'-3')	Condition de PCR	gamme de taille des allèles	Nall
1B2	AAAGAGTCTGGCGTGCGG	AGACTTGATTGGACCTCACCC	TD 60-50 10+20 cycles	262-272	5
1G2	TTA CCT GAC GGA CGG AGC C	TGAACAGGGGATGAGGGTGC	TD 55-45 10+20 cycles	371-375	2
4G2	ACCATTGTGTCAGGCATCGTTTG	ACCGCACCATGCTAGTCTATTAAC	TD 65-55 10+20 cycles	261-227	4
1H5	GTCGGGTGACAACGGTAACACG	CGCACCTGAGGCACATTATCC	TD 60-50 10+20 cycles	358-366	4
1B5	CCAACCTGTTCGTGAGCCTTTAG	GGGATCGCTGAACCCTACGC	TD 65-55 10+20 cycles	276-279	3
1C1	ACG CCA CCC TCC CCA ACA TC	AACACGCACTGACGGTCCATACAC	TD 65-55 10+20 cycles	214-220	4
2C1	GAG AGA AAA CAC GGT GCC CC	GAG GAC ATC CCC AAG ATT ACG G	TD 60-50 10+20 cycles	154-162	5
4C12	TTATTTGCCCACAGACAGTGAGATG	GACCACGGACTTGATTATGCGAG	TD 65-55 10+20 cycles	173-179	3
4E9	GTT GTT TGT GCT GTA GGG TCA TC	AGA TTT CGC TCG TCG GTC C	TD 60-50 10+20 cycles	149-157	4
2E8	GTG TGA CAG CTA TCA CGA TTC GC	GGA TGT CGA GTA AAG AAC GG	TD 60-50 10+20 cycles	210-220	6

Les indices de diversité moyenne et globale pour chaque groupe sont présentés dans le tableau 2.5. Quel que soit l'indice de diversité observé, le groupe « Pays Bas » présente des valeurs de diversité inférieures à celles observées dans les autres groupes. La richesse allélique du groupe « Pays Bas » est 1,5 fois et significativement moins diversifié ($A_r=1,99$) que celle des trois autres groupes (« Manche Orientale » $A_r=2,95$; « Ouest de la France » $A_r=2,94$ et « Espagne » $A_r=3,02$; $P=0,02$). De même, la valeur d'hétérozygotie attendue calculée sur l'ensemble des « Pays Bas » ($H_e=0,17$) est plus faible que celle calculée pour les populations de l'« Ouest de la France » ($H_e=0,37$). La même tendance est observée pour les valeurs moyennes calculées pour chaque groupe. Les « Pays Bas » présentent une valeur moyenne de richesse allélique, ($A_r=1,56$), significativement inférieure ($P=0,02$) à celle de « Manche Orientale » ($A_r=2,18$) et de « Espagne » ($A_r=2,22$). Toutefois, quelle que soit la population étudiée, aucun goulot d'étranglement ou expansion récente n'a été mis en évidence à l'aide du logiciel Bottleneck. Aucune valeur de probabilité associée au test de rang de Wilcoxon pour un excès ou un déficit en hétérozygotes n'est significative.

2.2.3 Structure intrapopulation et déficit en hétérozygotes

Au niveau intrapopulation, seules les populations de St Annaland (Pays-Bas), St Malo (France), Ria des Ares (Espagne), Cabo Cee (Espagne) et la population cultivée française sont en adéquation avec les proportions génotypiques attendues sous l'équilibre de Hardy-Weinberg. Vingt-trois des 28 populations étudiées présentent des valeurs de F_{IS} positives et significatives (tableau 2.6); avec la valeur la plus forte observée dans la population de La Rochelle ($F_{IS}=0,610$; $P<10^{-5}$). Ces déficits en hétérozygotes sont supportés par au moins 50% des locus polymorphes pour 12 populations. Toutefois, seulement 5 des 23 populations montrent des valeurs de F_{IS} significatives associées à des taux d'autofécondation significatifs : Stavenisse ($s=0,66$; $P<5.10^{-2}$), Calais ($s=0,61$; $P<5.10^{-2}$), Lézardrieux ($s=0,28$; $P<5.10^{-2}$), Perros-Guirec ($s=0,45$; $P<5.10^{-2}$) et Brest ($s=0,49$; $P<5.10^{-2}$). Aucune population espagnole ne présente de valeurs d'autofécondation significative. L'absence de valeurs significatives d'autofécondation dans 7 populations présentant de fortes valeurs de F_{IS} supportés par au moins 50% des locus polymorphes, suggère que notre jeu de données pourrait comporter des allèles nuls. Toutefois, l'obtention des génotypes n'a jamais été problématique : les profils de migration sont clairs, sans écho et le génotypage a été systématiquement réalisé sur des gels de 41cm permettant une discrimination nette d'allèles différant d'une seule paire de base. De plus, la gamme de taille des allèles à chacun des locus est petite, limitant les effets de dominance d'allèles courts lors des amplifications (Wattier et

Tableau 2.5 : Indices de diversité génétique des populations européennes d'*Undaria pinnatifida* sur 10 locus microsatellites

Le nombre d'individus (N_{ind}), la richesse allélique (A_r), l'hétérozygotie attendue (H_e), l'hétérozygotie observée (H_o) et la proportion de locus dont l'allèle majoritaire est présent à moins de 95% (P_{95}), sont donnés pour chaque population, chaque groupe de populations. Les valeurs moyennes et l'écart type (E.T) sont également données pour chaque groupe.

Populations	N_{ind}	A_r	H_e	H_o	P_{95}
Pays Bas					
Sint Annaland	31	1,52	0,10	0,10	0,30
Stavenisse	32	1,68	0,19	0,15	0,60
Strijenham	29	1,48	0,14	0,10	0,40
Moyenne (E.T)	30,67 (1,53)	1,56 (0,10)	0,15 (0,05)	0,12 (0,03)	0,48 (0,15)
Total	92	1,99	0,17	0,12	0,60
Manche Orientale					
Zeebrugge	25	1,88	0,17	0,11	0,50
Calais	28	1,61	0,16	0,13	0,40
Hamble	31	2,29	0,28	0,21	0,80
St Valery	29	2,56	0,33	0,21	0,80
Le Havre	32	2,57	0,35	0,33	1,00
Moyenne(E.T)	29,00 (2,74)	2,18 (0,42)	0,26 (0,09)	0,20 (0,09)	0,70 (0,24)
Total	145	2,95	0,31	0,21	0,80
Ouest de la France					
St Malo	32	2,56	0,37	0,36	0,90
St Quay-Portrieux	32	1,54	0,14	0,06	0,40
Lézardrieux	32	2,44	0,41	0,36	0,80
Perros-Guirec	32	2,52	0,41	0,28	0,90
Aber Wrac'h	27	1,99	0,23	0,16	0,70
Ouessant	32	2,15	0,33	0,30	0,70
Brest	28	2,21	0,33	0,24	0,80
Loctudy	31	1,48	0,11	0,09	0,30
Le Guilvinec	24	1,98	0,28	0,24	0,70
La Rochelle	28	1,60	0,18	0,07	0,50
Moyenne(E.T)	29,80 (2,86)	2,05 (0,40)	0,28 (0,11)	0,22 (0,11)	0,67 (0,21)
Total	298	2,94	0,37	0,22	0.8000
Espagne					
Cudillero	29	1,59	0,12	0,06	0,40
Ria de Ares	32	2,50	0,30	0,32	0,80
Ria de A Coruna	32	2,19	0,22	0,18	0,80
Ria Camarinas	32	2,24	0,30	0,26	0,70
Cabo Cee	31	1,61	0,20	0,20	0,40
Ria de Aroura	32	2,77	0,34	0,25	0,90
Ria de Aldan	32	2,12	0,28	0,26	0,70
Ria de Vigo	30	2,78	0,30	0,25	1,00
Moyenne(E.T)	31,25 (1,16)	2,22 (0,46)	0,26 (0,07)	0,22 (0,08)	0,71 (0,22)
Total	250	3,02	0,34	0,22	0,80
Populations de référence					
Culture (France)					
Thau	34	2,48	0,38	0,31	1,00
MOYENNE (E.T)	30,33 (2,40)	2,09 (0,43)	0,26 (0,10)	0,21 (0,09)	0,67 (0,22)
TOTAL	844	2,22	0,40	0,21	1,00

Tableau 2.6 : Structure génétique intrapopulation pour chacune des populations européennes étudiées

Pour chaque population dont la valeur de F_{IS} présente des écarts significatifs aux proportions attendues sous l'équilibre de Hardy Weinberg, le nombre de locus supportant ce F_{IS} par rapport au nombre de locus polymorphes sont indiquées (N_{loc}). Les valeurs d'estimation du taux d'autofécondation ($\hat{s}$) ont été calculées pour chaque population. Les valeurs significatives sont indiquées par (*) quand $P < 5.10^{-2}$, (**) $P < 5.10^{-3}$ et *** $P < 5.10^{-4}$

Population	N_{ind}	F_{IS}	N_{loc}	$\hat{s}$
Pays Bas				
St Annaland	31	0,023 ^{NS}	-	
Stavenisse	32	0,216 ^{**}	3/7	0.66*
Strijenham	29	0,254*	3/4	0.38 ^{NS}
Manche Orientale				
Zeebrugge	25	0,354 ^{***}	5/7	0.48 ^{NS}
Hamble	28	0,223*	3/6	0.01 ^{NS}
Calais	31	0,277 ^{***}	6/9	0.61*
St Valery	29	0,38 ^{***}	7/9	0.31 ^{NS}
Le Havre	32	0,095*	3/10	0.16 ^{NS}
Ouest de la France				
St Malo	32	0,042 ^{NS}	-	
St Quay-Portrieux	32	0,597 ^{***}	6/6	0.58 ^{NS}
Lézardrieux	32	0,155 ^{**}	4/10	0.28*
Perros-Guirec	32	0,337 ^{***}	7/9	0.45*
Aber Wrac'h	27	0,309 ^{***}	4/7	0.01 ^{NS}
Ouessant	32	0,115*	3/9	0.13 ^{NS}
Brest	28	0,309 ^{***}	6/9	0.49*
Loctudy	31	0,201*	4/5	0.49 ^{NS}
Le Guilvinec	24	0,153*	3/8	0.01 ^{NS}
La Rochelle	28	0,610 ^{***}	5/5	0.03 ^{NS}
Espagne				
Cudillero	29	0,476 ^{***}	6/7	0.26 ^{NS}
Ria de Ares	32	-0,039 ^{NS}	-	
Ria de A Coruna	32	0,197 ^{**}	3/8	0.01 ^{NS}
Ria Camarinas	32	0,168 ^{**}	3/8	0.01 ^{NS}
Cabo Cee	31	0,008 ^{NS}	-	
Ria de Aroura	32	0,275 ^{***}	8/10	0.14 ^{NS}
Ria de Aldan	32	0,107*	3/8	0.01 ^{NS}
Ria de Vigo	30	0,194 ^{***}	5/10	0.06 ^{NS}
Populations de référence				
Sète	34	0,200 ^{**}	4/10	0.01 ^{NS}
Culture France				

Tableau 2.7 : Analyse de la structure génétique au sein des différents groupes d'*Undaria pinnatifida* en Europe.

Tous les estimateurs sont significatifs ($P < 10^{-5}$; tests des F_{IT} et F_{IS} par randomisation des allèles au sein des échantillons, test des F_{ST} par randomisation des génotypes entre les populations dans le logiciel FSTAT)

	F_{IT}	F_{IS}	F_{ST}
Pays Bas	0.372	0.187	0.227
Manche Orientale	0.352	0.236	0.152
Ouest de la France	0.435	0.247	0.249
Espagne	0.358	0.156	0.239
<i>Ensemble des régions</i>	<i>0.488</i>	<i>0.211</i>	<i>0.351</i>

al. 1998). Des événements de croisements entre individus apparentés ou des effets Wahlund sont ici clairement privilégiés. 7 populations présentent des déficits en hétérozygotes significatifs et supportés par moins de 50% des locus polymorphes : les populations de Hamble ($F_{IS}=0,223$; $P<5.10^{-2}$), Ouessant ($F_{IS}=0,115$; $P<5.10^{-2}$) et 4 populations espagnoles, Ria de A Coruna ($F_{IS}=0,197$; $P<5.10^{-3}$) Ria Camarinas ($F_{IS}=0,168$; $P<5.10^{-2}$), Ria de Aldan ($F_{IS}=0,107$; $P<5.10^{-2}$) et Ria de Vigo ($F_{IS}=0,194$; $P<5.10^{-4}$). Ce résultat suggère des effets Walhund, temporels ou spatiaux, dus à un mélange d'individus génétiquement différenciés.

2.2.4 Différences génétiques entre populations

Les quatre groupes « Pays-Bas », « Manche Orientale » « Ouest de la France » et « Espagne » présentent des déficits en hétérozygotes globaux significatifs. La plus forte valeur est observée pour le groupe « Ouest de la France » avec $F_{IT}=0,435$ ($P<10^{-5}$) et la plus faible est observée en « Manche Orientale » avec $F_{IT}=0,352$ ($P<10^{-5}$) (tableau 2.7). Comme nous l'avons vu plus haut, cette structure est attribuable au moins pour partie à des déficits en hétérozygotes au sein des populations de ces groupes. Néanmoins, une part de ce déficit global est également dû à de la structure génétique entre populations sur l'ensemble du jeu de données.

Sur l'ensemble du jeu de données, une valeur significative de différenciation génétique a été observée ($F_{ST-TOT} = 0,351$; $P<10^{-5}$). Toutes les comparaisons entre paires de populations sont significatives au seuil de 5%. Après correction de Bonferroni, 6 paires de populations n'apparaissent plus significativement différentes l'une de l'autre. Dans la zone « Manche orientale », Zeebrugge-Calais ; Zeebrugge-St Valéry en Caux et St Valéry en Caux-Le Havre, ne sont pas génétiquement différenciées. Les populations de St Valéry en Caux et de St Malo, pourtant séparées par la péninsule du Cotentin et plus de 450km de côte ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre. Dans la zone « Espagne », deux autres paires de populations présentent des valeurs de F_{ST} non significatives : les populations Ria de Vigo-Ria de Aroua et Ria de Vigo-Ria de Ares (annexe 6).

L'analyse en composante principale (ACP) représentée figure 2.5 permet de visualiser les différences génétiques entre toutes les populations analysées. Les quatre premiers axes sont significatifs avec un pourcentage d'inertie respectivement de 32,89%, 17,57%, 12,00% et 8,56%. L'axe 1 marque très nettement la différenciation des populations des Pays-Bas par rapport aux autres populations européennes et l'axe 2 sépare les populations d'Espagne des populations de l'ouest de la France et de Manche Orientale.

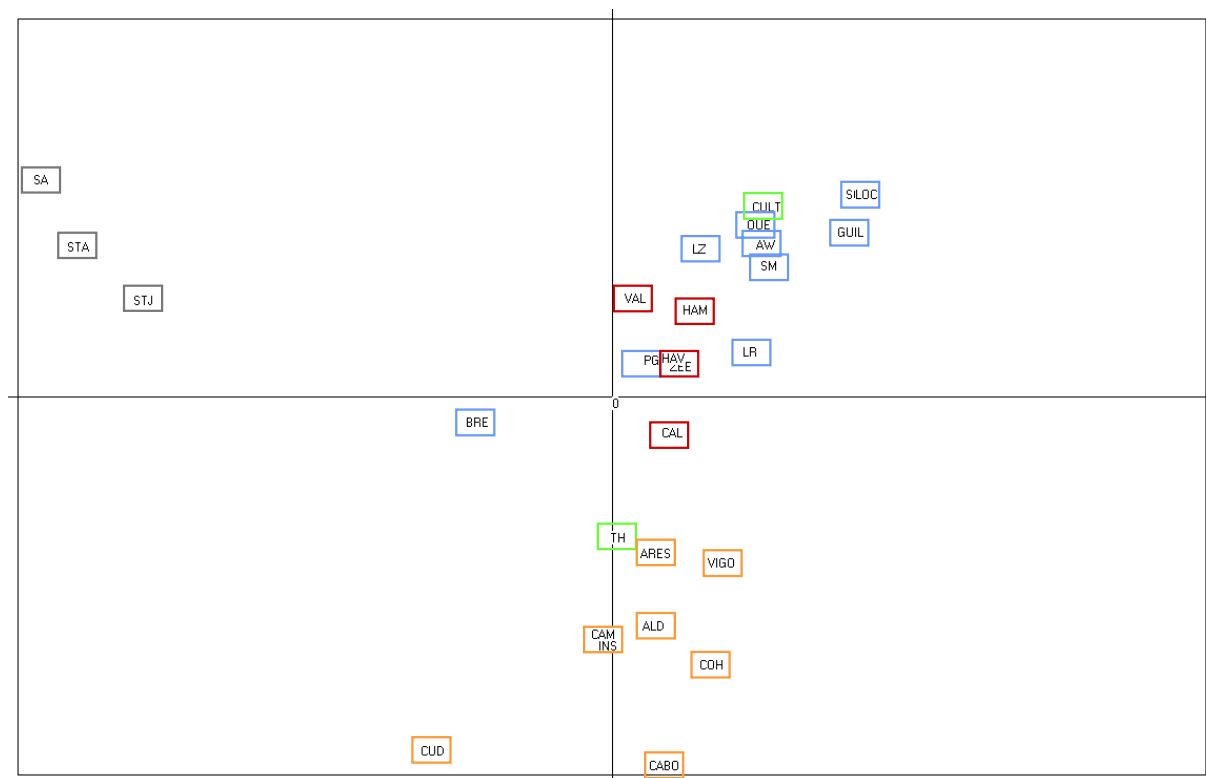


Figure 2.5 : Analyse en composante principale basée sur les fréquences alléliques de chaque population européenne. L'axe 1 synthétise 32,89% de la variance et l'axe 2, 17,57%, tous les deux de façon significative.

Les encadrés de couleur, autour des noms de chaque population, symbolisent leur provenance géographique : gris pour les Pays Bas, rouge pour la Manche Orientale, bleu pour l'ouest de la France, jaune pour l'Espagne et vert pour les populations de référence, Thau (TH) point initial d'introduction et souche supposée des individus mis en culture en Bretagne (CULT).

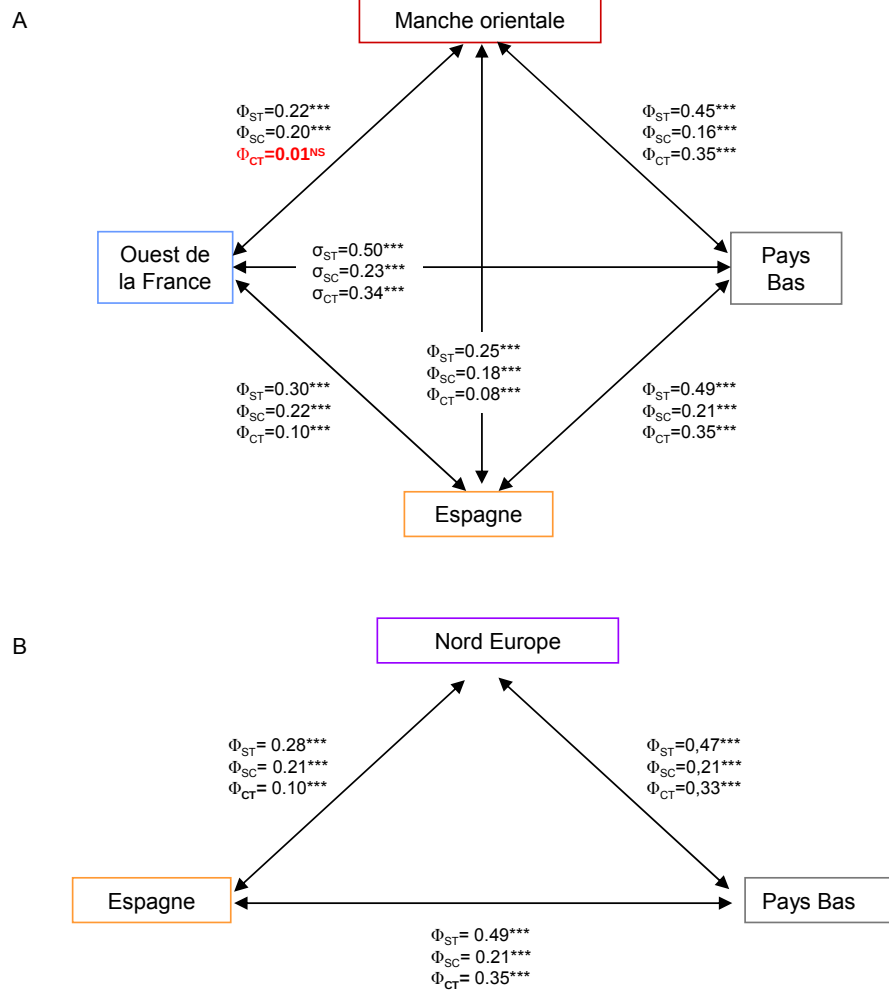


Figure 2.6 : Analyse hiérarchique de la variance génétique, entre populations (Φ_{ST}), entre populations au sein des groupes (Φ_{SC}) et entre les groupes (Φ_{CT}).

A- les groupes de populations ont été constitués en fonction de la localité géographique des populations et des vecteurs initiaux suspectés. « Pays Bas » comprend Stavenisse, Strijenham et St Annaland; « Manche Orientale » comprend les populations de Zeebrugge, Calais, Hamble, St Valéry en Caux et Le Havre; « Ouest de la France » comprend les populations de St Malo, St Quay Portrieux, Lézardrieux, Perros-Guirec, Aber Wrac'h, Ouessant, Brest, Loctudy, Le Guilvinec et La Rochelle; le groupe « Espagne » comprend les populations des Cudillero, Ria de Ares, Ria de Coruna, Ria Camarinas, Cabo Cee, Ria de Aroura, Ria de Aldan et Ria de Vigo. L'historique d'introduction et d'expansion d'*U. pinnatifida* suggère la conchyliculture comme vecteur potentiel d'introduction aux « Pays Bas », le trafic maritime en « Manche Orientale », l'aquaculture dans l'« Ouest de la France » et l'association de ces différents vecteurs en « Espagne »

B- le groupe « Manche Orientale » et le groupe « Ouest de la France » ont été fusionnés en « Nord Europe », aux regards des résultats du regroupement des populations mis en évidence par l'ACP.

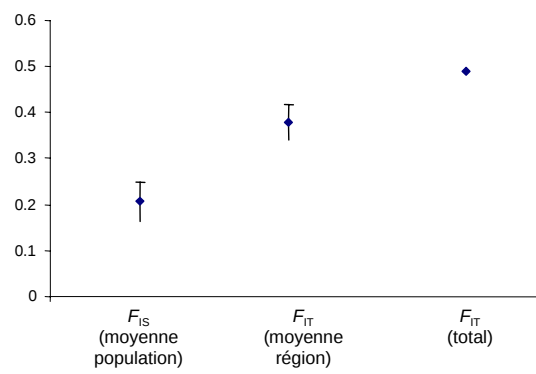


Figure 2.7 : Structures génétiques entre populations et entre groupes de populations .

Le schéma général mis en évidence avec l'ACP se confirme avec les résultats de l'analyse hiérarchique de la variance qui montre que (i) seuls les groupes « Manche Orientale » et « Ouest de la France » ne sont pas différenciés génétiquement ($\Phi_{ct} = 0,01$, $P > 5.10^{-2}$) et (ii) que le groupe formé par les populations des Pays-Bas se différencie très nettement des autres groupes géographiques, avec de fortes valeurs de Φ_{ct} ($\Phi_{ct} = 0,35$; $P < 5.10^{-5}$ pour les comparaisons avec la « Manche Orientale » et « Espagne » et $\Phi_{ct} = 0,34$; $P < 5.10^{-5}$ pour la comparaison avec « Ouest de la France » ; figure 2.6). Une nouvelle analyse hiérarchique de la variance a été réalisée en regroupant « Manche Orientale » et « Ouest de la France ». Les valeurs de différenciation génétique entre ce groupe appelé « Nord Europe » et les deux autres groupes sont significatives avec $\Phi_{ct} = 0,10$ ($P > 5.10^{-5}$) pour la comparaison avec « Espagne » et $\Phi_{ct} = 0,33$ ($P > 5.10^{-5}$).

Les structures génétiques révélées entre populations et entre groupes de populations sont également clairement illustrées par les résultats de l'analyse de « regroupement séquentiel des populations » présentés dans la figure 2.7. La valeur moyenne de F_{IS} par population est en effet significativement inférieure à la valeur moyenne de F_{IS} par groupes régionaux, elle-même inférieure à la valeur de déficit global observée sur l'ensemble des individus du jeu de données. Ce schéma traduit des effets walhund spatiaux à différentes échelles géographiques (populations et régions).

2.2.5 Isolement par la distance, test de Mantel

Aucun isolement par la distance n'a été identifié au sein des groupes régionaux, comme le montrent les résultats des tests de Mantel qui s'avèrent non significatifs (figure 2.8). Au sein de chaque région, les paires de populations les plus éloignées géographiquement ne sont pas ainsi les plus différentes génétiquement. Dans l'analyse réalisée en Manche et Mer du Nord, toutes les comparaisons impliquant une population de Manche orientale avec une population des Pays Bas, présentent néanmoins des valeurs supérieures aux comparaisons impliquant deux populations issues de chacun de ces deux groupes. De même, en Espagne, la tendance d'isolement par la distance est liée à la seule population d'Asturies qui présente des valeurs de différenciation génétique toujours très élevées.

2.2.6 Assignation : analyses individuelles de la structure génétique

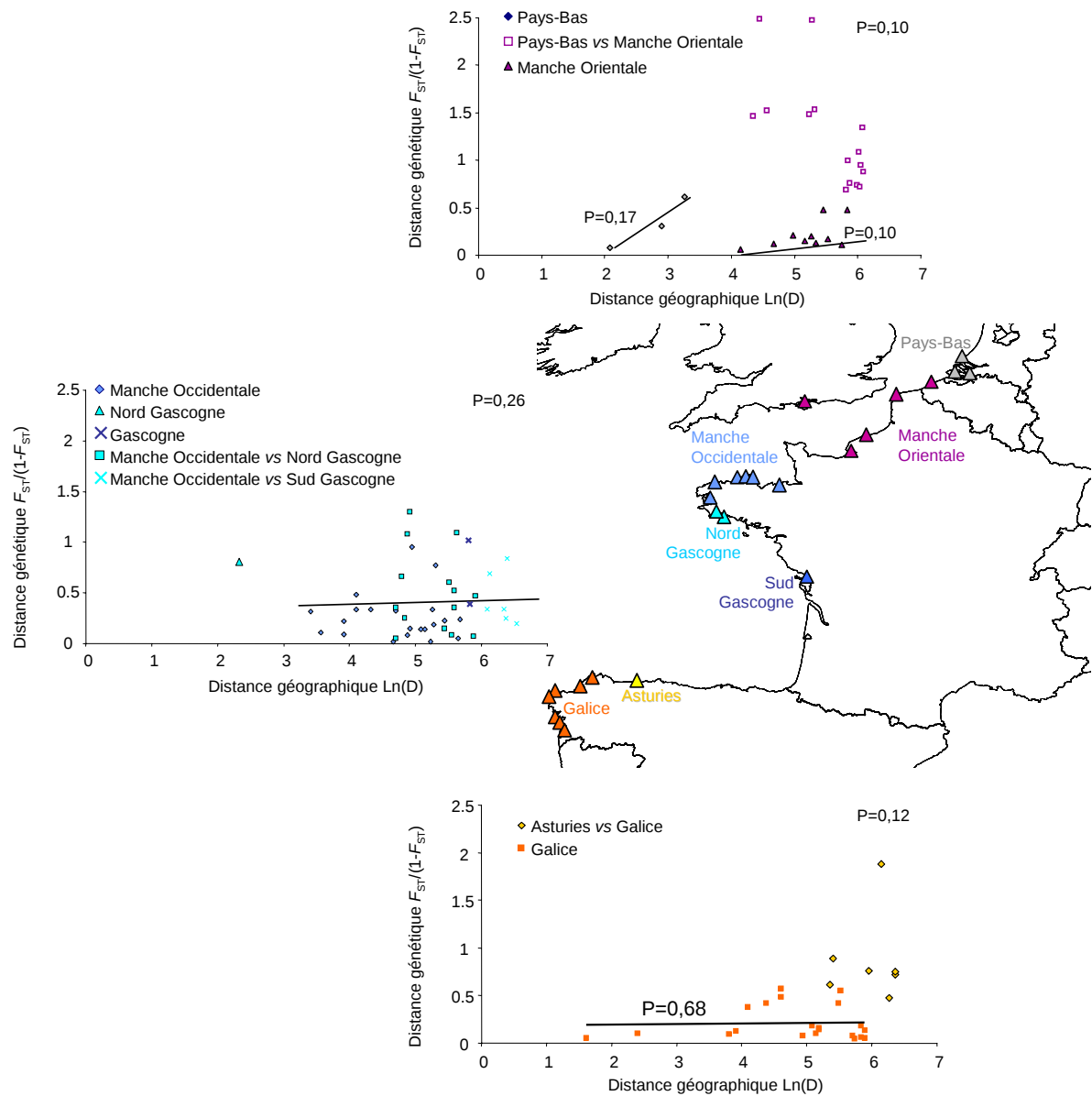


Figure 2.8 : Isolement génétique par la distance (test de Mantel) réalisé pour chacune des régions européennes colonisée par *U. pinnatifida*.

Les simulations réalisées avec le logiciel Structure, sur la base des données microsatellites, montrent les plus fortes valeurs de vraisemblance associées à une faible variance pour $K=3$. Cette valeur est sélectionnée pour réaliser l'analyse de regroupement des individus : 3 ensembles sont considérés et la figure 2.9 présente les probabilités postérieures d'appartenance de chaque individu à chacun de ces trois ensembles. La figure 2.9 montre que les individus composant les populations échantillonnées aux Pays Bas sont tous associés au sein d'une même classe (représentée en bleue). La deuxième classe regroupe les 15 populations spontanées échantillonnées entre Zeebrugge (Belgique) et La Rochelle (France). Toutefois, 7 de ces populations, Brest, Calais, et dans une moindre mesure, Zeebrugge, Calais, Hamble, St Valéry en Caux et Le Havre présentent des profils plus complexes avec un mélange d'individus présentant des probabilités non négligeables d'appartenance à des trois classes. Enfin le dernier ensemble identifié regroupe les individus des populations d'Espagne. La population de Thau et la culture française, utilisée ici comme population de référence sont associées à deux classes différentes : Thau est regroupée avec les populations espagnoles et la culture française avec les populations du Nord de l'Europe. Le résultat obtenu avec cette approche bayésienne de regroupement est donc congruent avec les résultats obtenus avec l'AMOVA et l'analyse en composante principale.

3. Discussion

3.1 Une origine commune confirmée

L'étude des mécanismes d'introductions primaires présentée dans le chapitre 1, nous avait permis de mettre en évidence une origine commune aux populations européennes par rapport aux populations introduites en Australasie, Argentine et Californie. Sur l'ensemble des populations analysées à l'échelle mondiale, trois groupes d'haplotypes mitochondriaux avaient en effet été mis en évidence. Tous les haplotypes mitochondriaux identifiés en Europe étaient proches phylogénétiquement et appartenaient au même groupe (cluster A figure 1.11 ; Voisin et al. 2005). Ce cluster est rare dans les populations naturelles de l'aire d'origine mais largement représenté dans les populations cultivées, reflétant l'importance de l'aquaculture dans les processus d'introduction primaire en Europe (Voisin et al. 2005).

L'étude présentée ici comporte 19 populations qui ne faisaient pas partie de l'échantillonnage étudié précédemment ainsi que des populations échantillonnées plus récemment. Néanmoins tous les haplotypes mitochondriaux identifiés sur l'ensemble des

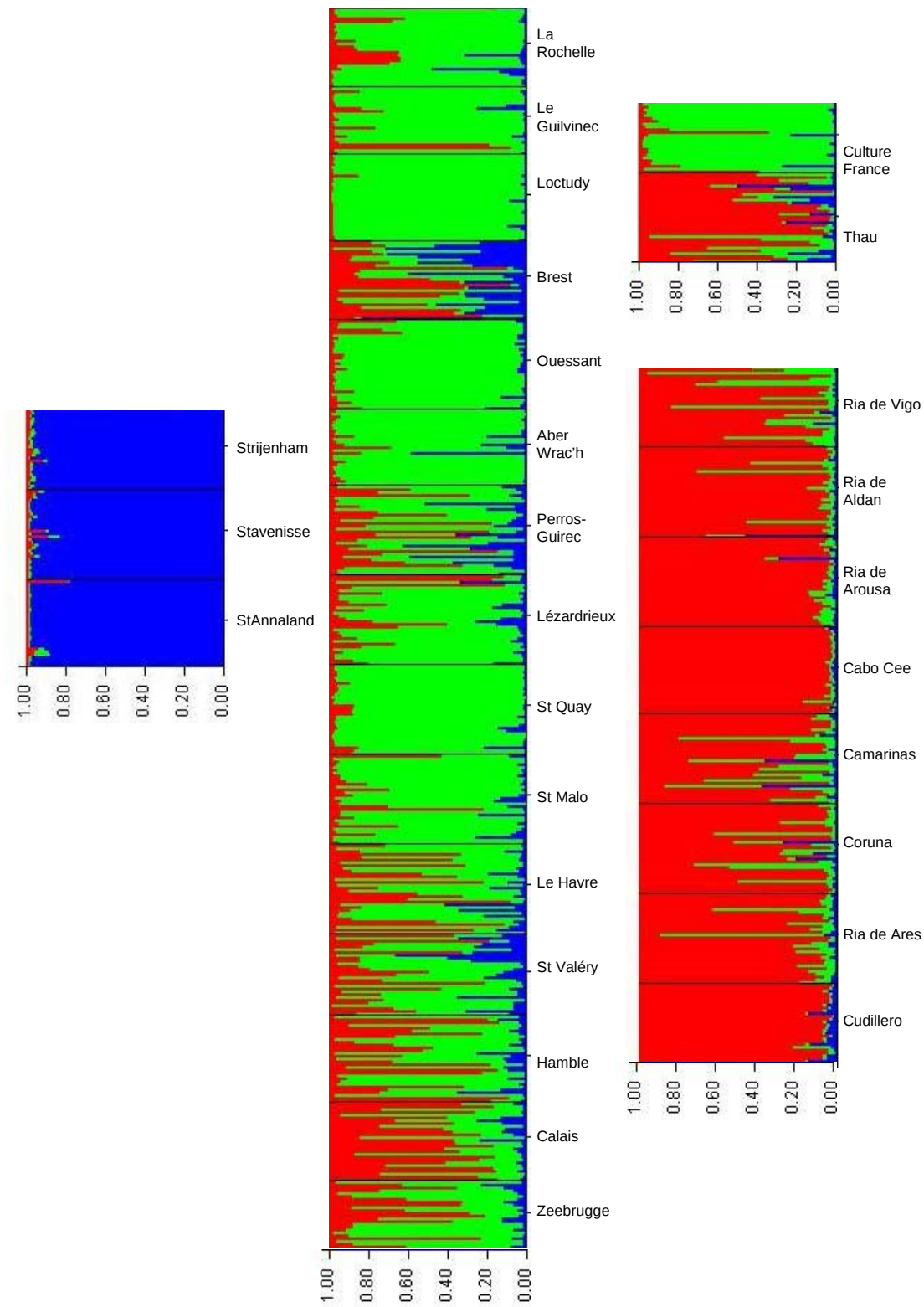


Figure 2.9 : Probabilités postérieures individuelles d'appartenance aux classes identifiées par Structure. Les couleurs correspondent à chacune des classes identifiées. Pour chaque individu, correspondant à une ligne verticale, est représenté la partie de son génome associée à chacune des classes. Le nom de chacune des populations échantillonnées est indiqué.

populations de cette étude appartiennent également au cluster A (chapitre 1, figure 1.11), ce qui confirme que seuls des « types cultivés » sont présents en Europe.

L'origine commune des haplotypes mitochondriaux dans l'ensemble des populations européennes, n'exclut pas que plusieurs événements d'introduction aient eu lieu. Dans Voisin et al. (2005), nous mettons d'ailleurs en évidence l'existence de plusieurs haplotypes à l'échelle européenne, dont la présence suggérerait plusieurs événements d'introductions. Toutefois, les marqueurs mitochondriaux étaient peu polymorphes à l'échelle européenne avec seulement 9 haplotypes identifiés parmi 10 populations analysées (232 individus) et un haplotype majoritaire présent chez 63% des individus analysés, ne révélant aucune structure au sein de la région européenne. Pour augmenter la résolution de ces résultats et évaluer la présence de plusieurs entités génétiques sur les côtes européennes, nous avons utilisé des marqueurs microsatellites qui se sont avérés davantage polymorphes au niveau intrapopulation.

3.2 Des sources et vecteurs d'introductions indépendants au sein de l'Europe

Les analyses réalisées avec les marqueurs microsatellites nous permettent ici d'affiner les résultats obtenus avec les données mitochondriales. En effet, bien que toutes les populations partagent une origine maternelle commune à mettre en relation avec les activités aquacoles, des groupes génétiquement différenciés se dégagent nettement sur la base des données nucléaires. Ce résultat est clairement représenté par l'analyse en composante principale représentée figure 2.5, où la position des populations les unes par rapport aux autres est fonction de leurs différences génétiques. D'après cette représentation, trois groupes semblent se dégager et correspondent à la position géographique des populations le long de la côte européenne : un premier groupe constitué par les populations des « Pays-Bas », un groupe correspondant aux populations de la Manche et de l'Atlantique français appelé « Nord Europe » et enfin un groupe constitué par les populations d'« Espagne ». L'existence de trois groupes génétiquement différenciés est soutenue quelque soit le type d'analyse effectuée. Les valeurs de différenciations génétiques calculées avec l'AMOVA présentent en effet de fortes valeurs significatives entre ces groupes et ces groupes sont également ceux mis en évidence par l'approche bayésienne développée avec le logiciel Structure.

Compte tenu de l'origine maternelle commune à l'échelle européenne (voir chapitre 1), on peut alors se demander si la structure géographique observée avec les marqueurs nucléaires est liée (i) à des phénomènes de dérive génétique et d'isolement

géographique au sein de chaque région, après un processus commun d'introduction primaire ou (ii) à des événements d'introductions primaires différents selon les régions.

Des événements de colonisation successifs peuvent s'accompagner d'effets de fondation qui sont caractérisés par une perte de diversité génétique dans les nouvelles populations comparativement à la population source. Des diminutions significatives de la variabilité génétique par rapport à une population source ont ainsi été répertoriées par exemple chez les plantes (Amsellem et al. 2000), les insectes (Tsutsui et al. 2000) et les algues (Jousson et al. 1998). En Europe, le premier événement d'introduction d'*U. pinnatifida* a été signalé dans l'étang de Thau, au début des années 1970, en parallèle de l'importation de naissains d'huîtres (Perez 1981). Si la différenciation entre les groupes européens est liée à des phénomènes de dérive génétique et d'isolement géographique, après un processus commun d'introduction primaire, les populations devraient présenter une perte de diversité par rapport à la population source, ici la population de Thau. Dans notre étude, à l'exception des trois populations des Pays-Bas, toutes les populations spontanées européennes présentent des niveaux de diversité similaires entre elles et à la population de Thau. L'introduction d'*U. pinnatifida* en Europe est relativement récente, avec des populations introduites entre le début des années 1980 pour les populations de Bretagne, et le début des années 1990 pour les populations d'Espagne. Il est peu probable, compte tenu du temps écoulé depuis l'installation initiale que le niveau de diversité observé dans les populations introduites résulte de simples fixation de nouvelles mutations. De plus, les analyses réalisées avec le logiciel Bottleneck n'ont pas mis en évidence d'expansion géographique récente ni de traces d'effets de fondation dans les populations échantillonnées. Ces observations suggèrent donc que des introductions multiples depuis différentes sources ont eu lieu dans les différentes régions européennes.

Par ailleurs, cette différenciation génétique entre trois groupes, à l'échelle européenne, peut être mise en parallèle à l'histoire d'introduction connue d'*U. pinnatifida* dans les différents pays. En France, sur les côtes bretonnes, les premières populations ont été observées en périphérie de zones de cultures d'*U. pinnatifida* (Floc'h et al. 1991). L'implantation d'au moins neuf autres concessions, réparties d'Oléron à St Malo (cf. figure 2.1 et Floc'h et al. 1996) le long des côtes françaises aurait pu contribuer à l'expansion des populations. Il faut noter ici que les cultures ne sont pas constituées d'un seul type génétique et que la diversité génétique des populations cultivées est élevée (cf. Chapitre 3). La population cultivée française incluse dans cette étude présente d'ailleurs des niveaux de

diversité similaires aux populations spontanées européennes et appartient à ce même groupe identifié sur la base de nos données nucléaires. Dans le chapitre 3 de cette thèse, le statut des populations cultivées françaises sera davantage discuté.

En Espagne en revanche, le vecteur initial suggéré sur la base de relevés de terrain est la conchyliculture, les premières populations d'*U. pinnatifida* ayant été identifiées en périphérie de zones ostréicoles et mytilicoles (Caamaño et al. 1990). La mise en culture d'*U. pinnatifida* le long des côtes espagnoles est postérieure à cette introduction accidentelle initiale et aurait été réalisée en grande partie à partir des populations spontanées introduites espagnoles (rapport d'activité JACUMAR 2000). Les premiers résultats que nous avons obtenus avec les marqueurs mitochondriaux suggéraient néanmoins une forte dichotomie au sein des populations espagnoles (Voisin et al. 2005 ; Chapitre 1). La population de Cudillero en Asturies était en effet composée à 95,7% de l'haplotype mitochondrial Up03 alors que la population de Cabo Cee en Galice était composée à 87,5% de l'haplotype Up01. Cette dichotomie n'est pas retrouvée avec les analyses réalisées à partir des données de microsatellites. Toutes les populations espagnoles appartiennent au même groupe, suggérant une origine commune des populations sur l'ensemble de la côte espagnole ou un rapide mélange entre des groupes maternels originellement distincts. Un autre point remarquable mis en évidence par les données nucléaires, est l'appartenance de la population de Thau au même groupe que les populations espagnoles arguant pour l'hypothèse d'une histoire commune du groupe « Espagne » et de la population de Thau. On peut remarquer ici qu'à Thau et en Espagne le vecteur potentiel d'introduction est la conchyliculture (Perez 1981, Caamaño et al. 1990). Des très nombreux échanges peuvent avoir lieu entre différentes régions conchyliques. En particulier, Thau est l'un des principaux points d'importation de coquillages en Europe (Wolff & Reise 2002), et des échanges ostréicoles, entre l'Espagne et Thau, pourraient expliquer cette signature génétique commune des populations. La conchyliculture est clairement un vecteur d'introduction important d'*U. pinnatifida*. En Australasie, des techniques de traitement des coquillages sont d'ailleurs testées pour limiter les récurrences d'introduction entre les différents bassins conchyliques (Forrest & Blakemore 2006).

La situation des populations des « Pays-Bas » est particulière par rapport aux deux autres groupes de populations. Les « Pays-Bas » forment un groupe nettement différencié des autres populations européennes avec (i) des valeurs de différenciation génétique entre groupes élevées et significatives et (ii) des niveaux de diversité obtenus dans ces populations

inférieurs aux autres populations de « Europe du Nord » ou « Espagne ». Cette faible diversité suggère que les sources et les événements d'introduction dans cette population sont limités. Il est possible que la présence d'*U. pinnatifida* soit liée à un événement d'introduction unique accidentel. Il faut néanmoins noter ici qu'aucune trace d'effet de fondation n'a été détectée par les analyses réalisées dans le logiciel Bottleneck suggérant que la population fondatrice n'était déjà génétiquement diversifiée. Les relevés de terrain suggèrent que l'installation des populations d'*U. pinnatifida* aux Pays-Bas seraient liées aux activités conchyliques réalisées dans le Yerseke (Wolff 2005). La présence d'*U. pinnatifida* dans cette région pourrait ainsi être mise en parallèle d'un événement unique d'importation accidentelle ou à une importation depuis une région d'introduction.

Il faut également noter que certains ports européens, comme le port de Brest et le port de Calais, présentent des signatures génétiques plus complexes avec des individus présentant des probabilités non négligeables d'appartenance aux trois classes. Ces profils complexes pourraient révéler des échanges d'individus entre les différents groupes « Espagne », « Pays-Bas » et « Europe du Nord » et traduire des événements de dispersion anthropiques sur de grandes distances. Cette mise en contact de plusieurs entités présentant des histoires d'introduction initiale différentes pourrait s'apparenter à des phénomènes d'introductions secondaires entre les populations introduites (scénario B, encadré 2.1)

3.3 Des activités humaines qui masquent les effets de la dispersion naturelle à l'échelle régionale

Les capacités de dispersion naturelle d'*U. pinnatifida* sont probablement limitées : les spores ne pourraient être transportées par les courants que sur quelques centaines de mètres et les individus en épave ne pourraient parcourir que quelques kilomètres (Forrest et al. 2000). Pour des espèces dont les capacités de dispersion sont relativement faibles comme dans le cas d'*U. pinnatifida*, les attendus théoriques d'une dispersion naturelle suivent un modèle d'isolement génétique par la distance géographique. Les populations étudiées ici sont distantes de quelques kilomètres à plusieurs dizaines de kilomètres au sein de chaque pays. Toutefois, quelle que soit la maille de la distance entre les populations analysées, aucun isolement par la distance n'a été mis en évidence. La structure génétique des populations d'*U. pinnatifida* au sein de chaque région ne reflète pas une expansion qui se ferait de proche en proche depuis un point d'introduction initial mais plutôt de façon saltatoire depuis des points d'introduction multiples. Cette absence d'isolement par la distance a également été

mise en évidence chez d'autres espèces introduites, comme la moule *Dreissena rostriformis bugensis* en Europe Centrale, dont l'expansion serait largement facilitée dans la Volga par le trafic maritime (Therriault et al. 2005). *U. pinnatifida* est souvent décrite comme une espèce pouvant se développer sur les substrats artificiels (Nyberg & Wallentimus 2005). Cette capacité à coloniser les milieux anthropisés et à se développer sur les coques des bateaux ou en épiphytes sur les huîtres pourrait largement favoriser son expansion au sein même des régions d'introduction. Les activités humaines continueraient alors à jouer un rôle important dans l'expansion des populations.

Malgré une origine commune des populations au sein des trois groupes régionaux, et de possibles échanges anthropiques entre les populations, les populations analysées ici apparaissent globalement isolées les unes des autres, avec des valeurs de différenciations génétiques significatives entre quasiment toutes les paires de populations analysées. Ce résultat indique que les populations ont des échanges par flux de gènes limités. La population de Loctudy illustre parfaitement cet isolement des populations. En effet, cette population présente un allèle fixé au locus 2C1, totalement absent des autres populations de notre jeu de données. Malgré sa composition allélique particulière au locus 2C1, la population de Loctudy n'est pas divergente des autres populations de la Manche et semble partager une origine commune avec ces populations du groupe « Nord Europe ». Un événement de mutation pourrait avoir eu lieu dans cette population depuis son installation et se répandre dans l'ensemble de la population. L'absence de cet allèle dans les autres populations spontanées et en particulier au sein de la population échantillonnée dans le port du Guilvinec à seulement 10 km témoigne de la faible capacité de dispersion d'*U. pinnatifida*.

Enfin, au sein même des populations, de fortes structures génétiques ont été mises en évidence. Ainsi 23/28 populations présentent des déficits en hétérozygotes significatifs ; 5 d'entre elles associées à des taux d'autofécondation significatifs et 18 associées à des effets Wahlund. Les effets Wahlund peuvent avoir deux causes : soit l'existence de plusieurs groupes isolés reproductivement par la distance spatiale les séparant au sein de la population échantillonnée soit l'existence de deux cohortes génétiquement différenciées qui se sont retrouvées en un même endroit. Selon les populations les deux situations semblent pouvoir expliquer ces déficits en hétérozygotes. Par exemple, dans des populations peu étendues comme celle de l'Aber Wrac'h pour laquelle nous avons effectué un suivi temporel (cf Chapitre 4), les déficits en hétérozygotes initialement observés et attribuables à un effet Wahlund dû à des apports depuis des cultures environnantes disparaît au cours du temps après

la disparition des cultures (pour plus de détails voir les résultats du chapitre 4). Toutefois dans d'autres populations comme la population de La Rochelle, l'échantillonnage couvrant l'ensemble du bassin, il paraît plus parcimonieux de privilégier l'hypothèse d'un effet Walhund spatial caractéristique d'un échantillonnage englobant plusieurs populations fonctionnelles (*i.e* groupe d'individus échangeant librement des gènes). Les populations dans lesquelles des taux d'autofécondation significatifs ont été mesurés, pourraient ici refléter des capacités de dispersion quasiment nulle, entraînant une dispersion extrêmement rapprochée des spores produites par un même individu et la constitution de groupes d'individus issus du même sporophyte.

Ces différentes observations soulignent l'importance que peuvent jouer les activités humaines dans les phénomènes d'expansion d'une espèce au sein même des régions d'introduction. Ce résultat est d'autant plus intéressant qu'*U. pinnatifida* est largement répandue sur les côtes françaises et contraste avec d'autres exemples d'espèce introduites et présentant de larges répartitions. Par exemple, dans le cas de la *C. fornicata*, l'utilisation conjointe d'analyses génétiques et de modèles hydro-dynamique de dispersion larvaire a montré qu'après des événements multiples d'introduction depuis l'aire native, les processus naturels de dispersion larvaire auraient pris le pas sur les transports par l'homme et favorisé son expansion le long des côtes françaises (Dupont et al. 2007 in press).

E. Conclusion

Le poids relatif des activités humaines et des processus de dispersion naturelle dans l'expansion des espèces introduites est une question qui a des implications en termes de gestion de l'espèce invasive comme de prédictions de son devenir à long terme. Dans le cas d'*U. pinnatifida*, cette question est d'autant plus importante à analyser que de multiples vecteurs de transports peuvent être responsables de son expansion à l'échelle européenne. L'analyse conjointe de locus mitochondriaux et microsatellites à l'échelle des côtes de trois pays européens a permis d'affiner notre perception de ce rôle de l'homme dans l'histoire de la colonisation par *U. pinnatifida*. Les points essentiels ressortant de cette étude sont :

- (i) la confirmation d'une origine commune des populations introduites en Europe et la possibilité d'avoir une traçabilité de ce groupe européen par l'utilisation simple

d'un marqueur mitochondrial. En effet, bien que cette étude comportait 28 populations soit 19 populations supplémentaires par rapport à l'étude présentée dans le chapitre 1, nos résultats ne remettent pas en cause nos principales conclusions à l'échelle européenne : les populations européennes sont composées d'un type mitochondrial particulier qui peut être associé à une origine cultivée.

- (ii) l'utilisation de marqueurs nucléaires polymorphes, des microsatellites, a permis de mettre en évidence que malgré une origine commune, 3 groupes génétiquement différenciés co-existent à l'échelle européenne. Ces 3 groupes ne reflètent pas uniquement des limites naturelles (ex. homogénéité plus importante des populations Atlantique, Manche Occidentale et Mer du Nord française) et suggèrent que des événements d'introductions différents ont eu lieu dans les différents pays étudiés.
- (iii) les activités humaines semblent jouer un rôle prépondérant non seulement dans l'établissement de ces différents groupes de populations mais également dans les dynamiques d'expansion au sein de chaque groupe géographique. En effet aucun isolement génétique des populations par la distance n'a été mis en évidence. De même, des populations portuaires présentent des profils mixtes entre les différents groupes suggérant que des événements d'introductions secondaires peuvent avoir lieu entre les régions, via le trafic maritime.
- (iv) à l'échelle la plus fine de cette étude (*i.e.* une population), l'existence d'important déficits en hétérozygotes, qui ne sont pas attribuables seulement au régime de reproduction, suggèrent que les populations spontanées sont caractérisées par une dispersion naturelle efficace (*i.e.* flux de gènes) très limitée et en adéquation avec des capacités de dispersion potentielle elle-même limitée. Ces capacités de dispersion limitées sembleraient pouvoir créer des microstructures spatiales au sein même des populations et favoriser la reproduction entre individus apparentés sur plusieurs générations. Cependant, les modalités d'échantillonnage mises en œuvre dans cette étude ne permettent pas de tester ces hypothèses plus précisément. Des études dédiées à l'analyse des flux de gènes à une échelle locale (ex. au sein d'un port) sont nécessaires.

En conclusion, le succès de colonisation des côtes européennes d' *U. pinnatifida* apparaît ici davantage lié à ses capacités de développement à proximité de zones anthropiques

qu'à ses propres capacités intrinsèques de dispersion. Cette forte relation avec les activités humaines dans les phénomènes d'expansion à l'échelle européenne et au sein des différents groupes géographiques identifiés soulève alors la question de la dispersion et du maintien des populations en milieu naturel, en périphérie des zones anthropisées.

CHAPITRE 3

**IMPACT DE L'HOMME DANS LE MAINTIEN ET
L'EXPANSION D'UNE ESPECE INTRODUITE :**

**CARACTERISATION ET INTERACTION ENTRE
POPULATIONS DE DIFFERENTS COMPARTIMENTS**

A. Introduction. Rappel de la problématique

L'introduction d'espèces exotiques est considérée comme la seconde menace pour la biodiversité marine après la disparition ou la fragmentation des habitats (Mooney & Cleland 2001, Grosholz 2002). Pour limiter le phénomène des introductions biologiques, des législations de plus en plus sévères sont mises en place. Par exemple, les Etats-Unis et le Canada imposent une vidange au large, des eaux de ballast des navires avant leur arrivée dans la région des Grands Lacs. Le changement des eaux de ballast, par de l'eau prélevée au large, a pour but de limiter le relargage, dans les Grands Lacs, d'espèces côtières présentes dans les eaux de ballast pompées lors des départs des bateaux (Drake & Lodge 2004). La législation en vigueur sur les eaux de ballast a, ainsi, essentiellement pour but de prévenir des introductions ou des réintroductions primaires. Pour autant, la gestion de la prolifération des espèces exotiques ne peut négliger les phénomènes d'introductions secondaires à l'origine de l'expansion locale et du renforcement des populations introduites par des apports récurrents, en relation avec les activités humaines, au sein même des régions d'introduction primaire. Les mêmes vecteurs que ceux classiquement décrits comme des vecteurs d'introduction primaires participent en effet au transport d'individus des espèces exotiques au sein des régions d'introduction. Les activités anthropiques peuvent alors jouer un rôle prépondérant dans l'expansion géographique et l'installation durable des espèces exotiques. Un exemple illustrant ces processus est le cas du mollusque invasif *C. fornicata* qui a largement envahi les baies et les estuaires du littoral français à partir de son point d'introduction initial via des échanges de naissains d'huîtres entre bassins conchylicoles (Blanchard 1997). Outre les transports accidentels au sein des régions d'introduction, les activités humaines peuvent aussi participer au maintien local des populations des espèces introduites. Elles peuvent en effet créer des perturbations récurrentes du milieu, favorables aux espèces exotiques quand celles-ci sont des espèces pionnières (ex. Sax & Brown 2000), ou maintenir de façon volontaire des populations, notamment via la culture des espèces introduites (ex. *Crassostrea gigas*), qui peuvent alors constituer de formidables réservoirs de migrants pour la colonisation du milieu naturel. Dans le chapitre précédent, nous avons montré comment ces différentes activités, en particulier le trafic maritime et la culture, contribuent à la dispersion de l'algue *U. pinnatifida* à une échelle régionale en Europe. Pour autant, l'échelle d'étude européenne ne nous a pas permis d'apprécier finement quelle était l'intensité des échanges entre les populations

soumises directement aux actions de l'homme et les populations installées dans le milieu naturel. De même, nous n'avons pas pu établir si, dans le cas d'*U. pinnatifida*, les cultures et les marinas pouvaient toujours être des réservoirs de migrants, en direction des populations spontanées.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressées aux phénomènes d'expansion d'*U. pinnatifida* le long des côtes du littoral breton. En effet, la situation de cette espèce exotique dans cette région rend particulièrement pertinente l'étude du rôle joué par les activités humaines dans le maintien et l'expansion d'une espèce exotique. Rappelons à ce sujet que :

- (i) *U. pinnatifida* a été introduite accidentellement avec l'importation de naissains d'huîtres creuses dans le bassin de Thau, mais a ensuite été volontairement transportée pour être mise en culture sur les côtes de la Manche et de l'Atlantique ;
- (ii) cette algue brune colonise par ailleurs de nombreux sites anthropisés comme les marinas et les ports qui abritent des vecteurs potentiels de la dispersion des espèces en milieu marin (ex : coques des navires, eaux de ballast).

La colonisation progressive du milieu naturel par des individus d'*U. pinnatifida* à proximité de zones portuaires ou de cultures a conduit différents auteurs (ex : Floc'h et al. 1996) à formuler dès le départ l'hypothèse que des sites anthropisés pouvaient être des sources de migrants à l'origine de l'expansion démographique et géographique d'*U. pinnatifida* au sein des régions d'introduction. Cette hypothèse a été basée principalement sur des observations directes de terrain, par exemple le fait que les premiers individus observés en dehors des cultures se situaient à des distances de quelques dizaines ou centaines de mètres des filières d'*U. pinnatifida*.

Ces observations directes ne permettent pas de statuer sur les relations actuelles (*i.e.* post-fondation) entre les populations cultivées et les populations spontanées (*i.e.* installées dans le milieu naturel ou dans les milieux portuaires). Ces relations sont particulièrement intéressantes à étudier car elles pourraient donner des éléments de réponse quant à la possibilité d'évolution d'adaptation locale d'*U. pinnatifida* dans le milieu naturel rocheux ; de telles adaptations seront d'autant plus probables que les flux de gènes entre le compartiment cultivé et le compartiment sauvage sont réduits. Lors de l'introduction d'un nouveau génotype à des fins de culture, et en cas de dissémination dans le milieu naturel, deux compartiments sont en effet à considérer : (i) un compartiment cultivé soumis majoritairement aux pressions de sélection exercées par l'homme en fonction de critères agronomiques ou aquacoles, (ii) un

compartiment « sauvage » dans lequel l'espèce évolue en fonction des contraintes environnementales (ex. facteurs physico-chimiques mais également pressions de compétition ou de prédation des autres espèces du milieu). Une question fondamentale est alors de déterminer le rôle joué par les cultures dans le maintien et le renforcement des populations spontanées (Ellstrand et al. 1999). Ces études des relations entre populations cultivées et sauvages ont fait l'objet d'une abondante littérature et sont au centre d'enjeux sociétaux et économiques récents (ex. OGM) chez les végétaux terrestres. En revanche, ce domaine reste très largement méconnu chez les organismes marins, en particulier chez les algues. Un second enjeu, étroitement lié au précédent, est de déterminer si les populations installées dans le milieu naturel sont « capables » de se maintenir en dehors de l'apport de propagules, provenant de populations dont le développement est favorisé par les activités humaines, de façon directe (culture), ou indirecte (infrastructures portuaires). En d'autres termes, cette étude pourrait nous donner des indications quant au potentiel d'installation durable de l'espèce, si l'espèce était éradiquée dans les zones où son contrôle est le plus facile : cultures et infrastructures (ex. Hewitt et al. 2005). Dans ce chapitre, nous allons aborder cette question des relations entre différents types de populations d'*U. pinnatifida*, et plus particulièrement le rôle des cultures et des marinas, dans l'installation et le maintien local des populations dans le milieu naturel. Ces relations seront ici étudiées sous l'angle des flux de gènes passés et actuels, entre ces différentes catégories de populations.

En préalable à cette étude, nous allons définir les caractéristiques génétiques du compartiment cultivé, qui a été le point de départ de l'introduction en Bretagne. Nous comparerons la diversité et la structure génétique de plusieurs cultures entre elles, en référence à la population introduite dans l'étang de Thau, qui a servi à la construction des premiers lots cultivés (Perez et al. 1984, Perez et al. 1990). Dans une seconde partie, nous nous intéresserons plus finement aux caractéristiques génétiques de populations des différents compartiments et à leurs possibles interactions (*i.e.* flux de gènes). Nous avons choisi de travailler à l'échelle d'une baie, la baie de St Malo, où coexistent, sur un espace géographique restreint, des populations cultivées, des populations se développant dans des marinas et des populations spontanées établies en milieu naturel rocheux.

Encadré 3.1 : Obtention de plantules et mise en culture d'*U. pinnatifida* (d'après Perez et al. 1984) : technique en « vie libre »

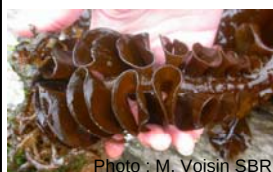


Figure 1 : base fertile d'*Undaria pinnatifida*



Figure 3 : vue au microscope de spores et des premiers stades gamétophytiques (jour 5)



Figure 5 : séchages des sporophytes dans une exploitation japonaise

1- obtention de solutions de gamétophytes

Les bases fertiles des individus (figure 1) sont soigneusement lavées et frottées dans une succession de bains (bain d'eau de mer javellisée à 0,5%, bain d'eau de mer avec oxyde de germanium puis bain d'eau de mer azoïque)

La sporulation est déclenchée grâce à un séchage des bases fertiles (quelques heures à l'air doux).

Les gamétophytes se développent tout en restant stériles tant que la température de l'eau est maintenue en dessous de 21°C (figures 2 et 3) dans une solution d'eau de mer enrichie en Provasoli (10mL/L d'eau de mer).

Les gamétophytes, peuvent être maintenus sans limitation de durée dans des ballons, grandir, se ramifier se fragmenter jusqu'à obtenir une solution dense.

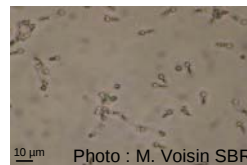


Figure 2 : vue au microscope de spores et des premiers stades gamétophytiques (jour 1)

2- ensemencement des filières

L'ensemencement des filières est réalisée lorsque les conditions du milieu naturel sont favorables au développement d'*U. pinnatifida* (en France à la fin de l'automne).

La température de l'eau des solutions de gamétophytes est progressivement élevée, à raison de 0,5°C par jour jusqu'à 27°C. En réaction aux nouvelles conditions, la prolifération des gamétophytes s'arrête tandis que leurs cellules acquièrent des parois plus épaisses qui les rendent plus résistantes aux variations du milieu

La température de l'eau des solutions de gamétophytes est ensuite abaissée jusqu'à 17°C à raison de 0,5°C par jour. Après 15 à 20 jours les gamétophytes émettent des nuages de gamètes mâles ou femelles. La solution est alors pulvérisée sur les filières. Les filières sont maintenues dans des aquariums d'eau de mer enrichie en nitrate d'ammonium (2,5mg/litre) et en phosphore (0,64mg/litre) pendant 2 semaines, pour permettre un développement optimal des plantules.

3- développement en milieu naturel

Les filières sur lesquelles se développent les jeunes plantules sont enroulées autour de bouts, installés en mer 1m sous la surface de l'eau (figure 4). En France, les filières sont installées en milieu naturel entre octobre et décembre. Les récoltes se font lorsque les premiers individus matures apparaissent dans la population et s'échelonnent de mars à mai.



Photo : W. Thomas SBR

Figure 4 : concession de wakamé . Les bouts sur lesquels se développent les algues sont tendus entre deux bouées et maintenus à 1 m sous la surface de l'eau

Après récolte, les sporophytes peuvent être séchés avant d'être transformés (figure 5). Le wakamé entre dans la composition de nombreuses spécialités asiatiques et de compléments alimentaires.

B. La culture d'une espèce introduite dans une aire d'introduction : quelles sont les caractéristiques de ces populations maintenues par l'homme ?

L'histoire de l'introduction d'*U. pinnatifida* en France est particulière, avec la combinaison d'introductions accidentelles et d'introductions volontaires. Ainsi, après son introduction initiale accidentelle, dans l'étang de Thau, au début des années 1970 - introduction liée à l'importation de naissains d'huîtres creuses de *C. gigas* (Perez 1981)- des importations volontaires, pour des essais de culture, ont été réalisées sur les côtes bretonnes en 1983 (Perez et al. 1990). *U. pinnatifida* est en effet une algue comestible, à forte valeur commerciale et sa présence en France a été considérée comme une opportunité pour mettre au point sa culture et alimenter le marché asiatique (Perez et al. 1990). Il faut noter, que la culture d'algues, en général, est relativement peu développée en France : la plupart des espèces commercialisées sont en effet récoltées à marée basse sur l'estran (ex : les Fucales et les ulves), en plongée (ex. *Delesseria sanguinea*) ou en bateau par les goémoniers (ex : les Laminaires). En France, seules quelques espèces, comme *Alaria esculenta*, sont cultivées sur corde, en pleine mer, et d'autres, comme *Ulva sp.* et *Palmaria palmata*, en bassin. *U. pinnatifida*, également connue sous le nom de wakamé, venait ainsi singulièrement augmenter la liste étroite d'algues cultivées en France.

Des filières, ensemencées en laboratoire à partir d'individus prélevés dans l'étang de Thau, ont été introduites en Bretagne et installées en mer dans 4 sites : l'île d'Ouessant, l'île de Sein, l'île de Groix et dans l'estuaire de la Rance (Perez et al. 1990). Ces essais ont été concluants avec le développement rapide de sporophytes et une production similaire à celle obtenue dans l'aire d'origine asiatique (Perez et al. 1990). L'une des principales techniques de création de semences, mise au point par Perez et al. (1984), est présentée dans l'encadré 3.1. Par la suite, plusieurs sites de cultures se sont développés en France, sur les côtes de la Manche et la façade Atlantique (Castric-Fey et al. 1993). Selon les sources bibliographiques citées plus haut, la mise en culture d'*U. pinnatifida* n'aurait été réalisée qu'à partir d'individus introduits accidentellement dans la population de Thau. Les populations cultivées devraient

Tableau 3.1 : Comparaison de la diversité génétique obtenue à partir des locus mitochondriaux et microsatellites.

La population de Thau et la culture française avait été analysées lors de l'étude des mécanismes d'introduction à l'échelle mondiale (Voisin et al. 2005). La population de Thau correspond au point initial d'introduction d'*U.pinnatifida* en Europe et a servi aux premiers essais de mise en culture. La population cultivée française de St Malo correspond à l'un des principaux sites de production en France. Pour chaque population, le nombre d'haplotypes mitochondriaux (N_{hap}), le nombre total d'allèles microsatellites (N_{all}) ainsi que la diversité génétique (H_e) sont indiqués.

	Thau		Culture française (St Malo 2003)	
	N_{hap} / N_{all}	H_e	N_{hap} / N_{all}	H_e
ADNmt	1	0,00	1	0,00
Locus microsatellites	27	0,38	22	0,26

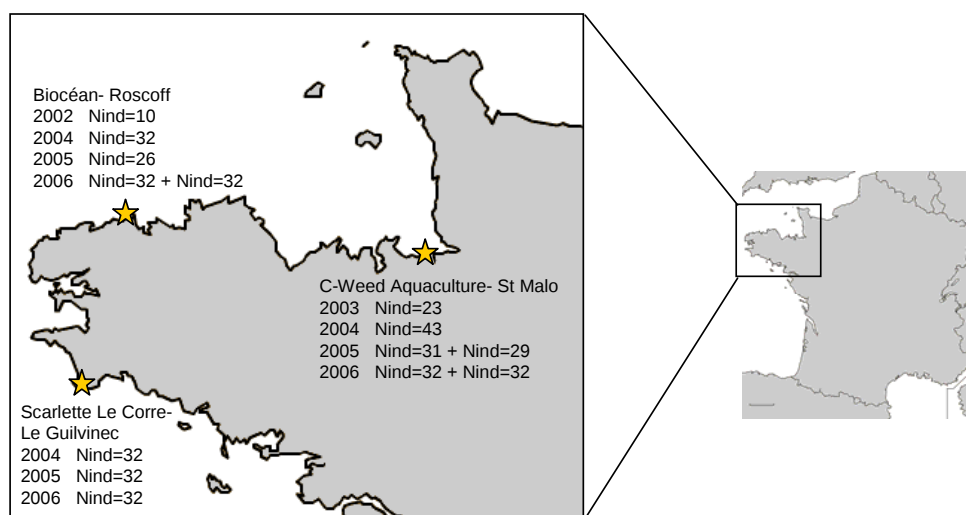


Figure 3.1 : Répartition géographique des populations cultivées analysées

Le nombre d'individus analysés (Nind) chaque année est indiqué pour les trois sites de cultures : St Malo, Roscoff et Le Guilvinec. En 2005 et 2006 à St Malo et en 2006 à Roscoff, 2 lots différents ont été analysés.

donc avoir subi une récurrence de goulots d'étranglement et d'effets fondation, liés à (1) l'introduction initiale accidentelle, puis (2) au transfert d'un nombre limité d'individus à des fins de culture expérimentales, et enfin (3) lors de la production annuelle des plantules. Si ces événements de goulots démographiques sont avérés, ils devraient conduire à des goulots génétiques encore visibles.

L'objectif de cette étude est double :

- (i) tester l'hypothèse de l'existence de goulots d'étranglement génétiques dans les populations mises en culture en Bretagne et
- (ii) caractériser le « pool » génétique des populations maintenues artificiellement par le biais de la culture, dans le but ultérieur de tester, si ces populations peuvent encore jouer aujourd'hui un rôle de réservoir pour les populations spontanées installées dans les ports ou dans le milieu naturel rocheux (cf. partie B de ce chapitre)

Pour tester ces hypothèses et notamment la première, nous souhaitons analyser le polymorphisme génétique des populations actuelles cultivées et le comparer au polymorphisme génétique de la population actuelle de Thau. Cependant, lors de l'étude des mécanismes d'introduction à l'échelle mondiale, nous avons montré que la population de Thau ainsi qu'une population cultivée de l'estuaire de la Rance étaient monomorphes aux locus mitochondriaux utilisés : les deux populations étaient composées du même haplotype mitochondrial, ce qui d'ailleurs corroborait l'histoire commune de ces populations.

Pour pallier le manque de polymorphisme mitochondrial, nous avons donc choisi d'utiliser les marqueurs microsatellites précédemment mis en œuvre dans l'étude des populations européennes (cf. chapitre 2). En effet, Thau et une culture de l'estuaire de la Rance s'avéraient polymorphes sur ces locus (tableau 3.1)

A partir de l'analyse de 10 locus microsatellites, cette étude s'articulera autour de deux questions :

- (i) quel impact la mise en culture d'*U. pinnatifida* a-t-elle eu sur les caractéristiques génétiques des populations par rapport à la population initiale introduite de Thau ?
- (ii) est il possible de définir un profil génétique commun aux populations cultivées françaises ?

1. Matériel et méthodes

1.1 échantillonnage et acquisition des données moléculaires

Grâce à une collaboration avec les cultivateurs et producteurs de plantules d'*U. pinnatifida*, les trois sites majeurs de cultures encore en activité à ce jour, ont été analysés dans cette étude (figure 3.1). Tout d'abord le site de l'estuaire de la Rance, à St Malo, exploité par la société C-Weed Aquaculture. Ce site est l'un des premiers sites pilotes de la mise en culture d'*U. pinnatifida* en France. C-Weed Aquaculture est également l'un des principaux fournisseurs de semences pour les autres cultivateurs français. Grâce à la participation de Magalie Molla et Jean-François Arbona, des échantillons des cultures ont été obtenus chaque année de 2003 à 2006. En 2005 et en 2006, deux lots, obtenus à partir de croisements différents, ont été mis en place dans l'exploitation et échantillonnés séparément.

Deux autres aquaculteurs ont accepté de nous fournir des échantillons de leur culture : Scarlett Le Corre du Guilvinec et Patrick Podeur de la société Biocéan à Roscoff. Au Guilvinec, nous avons obtenu des échantillons chaque année de 2004 à 2006, tous issus exclusivement de semences achetées auprès de la société C-Weed Aquaculture. A Roscoff, nous avons obtenu un premier échantillonnage en 2002, puis chaque année de 2004 à 2006. Ces cultures sont également issues des croisements réalisés par la société C-Weed Aquaculture, à l'exception de 2006, où une partie de la culture était issue de croisements réalisés par la société Biocéan elle-même. Les deux lots ont été échantillonnés séparément.

La population de Thau est la population à partir de laquelle les cultures ont été initiées sur les côtes bretonnes. Elle servira ici de référence au niveau de diversité génétique observé selon les sites et les années, dans les populations cultivées bretonnes.

Notre étude inclut un total de 454 individus issus de 6 échantillons de St Malo (2003, 2004, 2 lots en 2005 et 2 lots en 2006), 3 du Guilvinec (2004, 2005 et 2006) et 5 de Roscoff (2002, 2004, 2005 et 2 lots en 2006 dont l'un issu de croisements Biocéan) et un échantillon de la population de Thau (2003).

Les individus ont été échantillonnés au moment des récoltes : pour chaque individu, un morceau de thalle de 3cm² est prélevé et stocké dans des sachets individuels contenant un gel de silice dessiccateur (annexe 1) en vue d'extractions ADN ultérieures.

L'extraction a été réalisée en utilisant le kit d'extraction Nucleospin Multi96 Plant extraction kit (Macherey & Nagel) et en suivant les recommandations du fabricant, à l'exception de l'étape initiale d'incubation à 56°C. Tous les individus ont été génotypés en

utilisant les 10 mêmes marqueurs microsatellites que ceux présentés et utilisés dans le chapitre précédent, avec le même protocole d'amplification (voir chapitre 2, partie C).

Pour vérifier l'existence d'une signature mitochondriale stable dans les cultures et identique à celle observée à Thau (haplotype Up01, voir chapitre 1), nous avons séquencé une partie des individus de C-Weed Aquaculture, sur les deux régions intergéniques Atp8-S et W-I, en suivant le protocole décrit dans le chapitre 1 (Voisin et al. 2005) : 13 individus de 2004, 6 et 7 individus pour chaque lot de 2005 et 8 individus de chaque lot de 2006 ont ainsi été séquencés et comparés à la population cultivée en 2003 (24 individus) et à la population de Thau (24 individus) ; ces dernières données ayant été acquises lors de l'étude des mécanismes d'introduction à l'échelle mondiale (chapitre 1).

1.2 Analyses statistiques

Les indices de diversité (H_e , H_o , A_r) et de structure intrapopulation (F_{IS}) ont été estimés et comparés comme décrit dans la partie D.2 du chapitre 2 pour toutes les populations. Les traces de variations récentes de taille efficace (N_e) ont été recherchées, en utilisant le logiciel Bottleneck (Cornuet & Luikart 1996) tel que décrit dans la partie D.2 du chapitre 2.

Les estimateurs des indices de différenciation génétique ($\hat{\theta}$) ont été calculés entre paire de populations (entre sites de cultures et entre années) et les tests statistiques associés ont été calculés avec le logiciel FSTAT (Goudet 1995 , 2002). Une comparaison des indices de diversité entre sites toutes années confondues et entre années tous sites confondus a été effectuée avec ce même logiciel. Les distances génétiques entre populations sur l'ensemble du jeu de données sont représentées grâce à une analyse en composante principale basée sur les fréquences alléliques, effectuée avec le logiciel PCA-GEN v.1.2 (disponible sur le site : <http://www.ie-zea.unil.ch>)

Pour les données mitochondriales, la diversité haplotypique (H_a) et nucléotidique (π) a été calculée pour chaque population et sur l'ensemble du jeu de données avec le logiciel Arlequin v.3.01 (Schneider et al. 2001).

2. Résultats

Sur l'ensemble de l'étude des populations cultivées, toutes années et tous sites confondus, les locus microsatellites sont polymorphes avec un total de 34 allèles sur les 10 locus et une richesse allélique égale à $A_r=1,53$ en moyenne par population.

Tableau 3.2 : Diversité génétique obtenue à partir des données des 10 locus microsatellites des populations d'*U. pinnatifida* cultivées sur les côtes bretonnes.

Les notations utilisées renvoient aux sites des cultures (S pour St Malo, G pour Le Guilvinec et R pour Roscoff) et à l'année d'échantillonnage. La population de Thau (T) a été intégrée à cette analyse, à titre de population de référence. Les populations sont classées par site de culture puis par année. Pour chaque population, le nombre d'individus (Nind), la richesse allélique (A_r), l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_e) sont indiqués. L'estimateur f de l'indice de fixation (F_{is}) est aussi donné pour chaque population et les valeurs significatives sont indiquées comme suit : * $p < 0,05$, ** $p < 0,0005$, *** $p < 5,10^{-5}$.

Pop	Nind	A_r (10ind)	H_o	H_e	f
St Malo (C-Weed Aquaculture)					
S-03	25	2,01	0,26	0,26	0,02 ^{NS}
S-04	43	2,66	0,40	0,40	-0,00***
S-05-a	31	2,19	0,31	0,30	-0,04 ^{NS}
S-05-b	29	2,26	0,38	0,35	-0,10 ^{NS}
S-06-a	32	2,18	0,38	0,40	0,06 ^{NS}
S-06-b	32	2,15	0,39	0,32	-0,21 ^{NS}
Le Guilvinec (Le Corre)					
G-04	32	1,53	0,14	0,17	0,15 ^{NS}
G-05	32	2,17	0,31	0,33	0,05 ^{NS}
G-06	32	2,31	0,33	0,40	0,17***
Roscoff (Biocéan)					
R-02	10	2,40	0,33	0,41	0,19 ^{NS}
R-04	32	1,75	0,21	0,20	-0,03 ^{NS}
R-05	26	1,46	0,13	0,15	0,13 ^{NS}
R-06-a	32	2,17	0,33	0,34	0,03 ^{NS}
R-06-b	32	1,83	0,21	0,22	0,05***
Thau					
T-03	34	2,33	0,31	0,39	0,20
Total (hors Thau)	420	3,4 (411 ind)	0,30	0,39	-
Moyenne hors Thau (E.T.)	30	2,08 (0,33)	0,29 (0,09)	0,30 (0,09)	0,03 (0,11)

Les niveaux de diversité observés dans les populations cultivées sont très variables entre sites et entre années, avec des valeurs de richesse allélique comprises entre $A_r=1,53$ (Le Guilvinec) et $A_r=2,66$ (St Malo 2004) et une valeur d'hétérozygotie attendue variant entre $H_e=0,15$ (Roscoff 2005) à $H_e=0,41$ (Roscoff 2002 ; tableau 3.2). Ces variations ne sont pas dues à des effets années (ex : A_r , test par permutations $P_{tot}=0,35$) ou à des effets sites (A_r , $P_{tot}=0,82$). De plus, aucun goulot d'étranglement n'a été mis en évidence à l'aide du logiciel Bottleneck dans les différents lots cultivés, à l'exception d'un lot prélevé à St-Malo en 2006 (S-06-b).

La population de Thau présente des valeurs de diversité moyennes par rapport aux populations cultivées, avec $A_r=2,33$ et $H_e=0,39$. Par ailleurs, il faut noter que la composition allélique des populations cultivées et de la population de Thau sont nettement différentes : 8 allèles absents de la population de Thau sont identifiés dans les cultures. Ces nouveaux allèles sont détectés dans les lots cultivés dès la première année de notre échantillonnage. En revanche, sur les 27 allèles identifiés dans la population de Thau, seuls deux allèles rares (156 et 158 représentant respectivement 8,8% et 2,9% au locus 2C1) ne sont pas retrouvés dans les lots cultivés

Ce résultat peut être mis en parallèle des résultats obtenus avec les marqueurs mitochondriaux obtenus pour les lots cultivés de St Malo. En effet, alors que la population de 2003 était monomorphe et composée du même haplotype que la population de Thau, (haplotype Up01) on note dès 2004 à St Malo l'apparition d'un 2^{ème} haplotype (haplotype Up03), qui avait déjà été identifié dans notre étude à l'échelle mondiale (Voisin et al. 2005). Ce polymorphisme est d'autant plus remarquable que le nombre d'individus analysés ici est très faible (entre 6 et 13 individus par échantillons) par rapport à l'effectif analysé dans la population de Thau (24 individus). Comme dans le cas des locus microsatellites, on note une variation importante de la proportion de l'haplotype Up01 d'une année à l'autre et même entre lots d'une même année (tableau 3.3).

Les populations cultivées présentent, pour la plupart, des proportions génotypiques en adéquation avec les proportions attendues sous condition de panmixie (tableau 3.2). Concernant la variabilité des différents lots cultivés, il est notable que la plupart des cultures sont génétiquement différenciées les unes des autres avec des valeurs significatives de l'indice de structure génétique $\hat{\theta}$ comprises entre 0,05 et 0,50 (tableau 3.4). Sur l'ensemble des 105 comparaisons réalisées, seules 4 sont non significatives après un réajustement du seuil de

Pour chaque population, le nombre d'individus analysés (N_{ind}) ; le nombre d'haplotypes Up01 (N_{hap_Up01}) et Up03 (N_{hap_Up03}) ; la diversité haplotypique (H_n) et la diversité nucléotidique (π) sont précisés. La notation utilisée renvoie au site des cultures (S pour St Malo) et à l'année d'échantillonnage. La population de Thau (T) a été intégrée à cette analyse, à titre de population de référence des cultures.

Pop	Nind	N _{hap} Up01	N _{hap} Up03	H _a (E.T.)	$\pi \cdot 10^2$ (E.T.)
S-03	24	24	0	0	0
S-04	13	9	4	0,46 (0,11)	0,15 (0,16)
S-05-a	6	5	1	0,33 (0,22)	0,11 (0,14)
S-05-b	7	5	2	0,48 (0,17)	0,15 (0,17)
S-06-a	8	2	6	0,43 (0,17)	0,14 (0,16)
S-06-b	8	6	2	0,43 (0,17)	0,14 (0,16)
T ₂₀₀₃	24	24	0	0	0
Total (cultures sans Thau)	66	51	15	0,36 (0,06)	0,14 (0,13)
Moyenne cultures (E.T.)	11 (6,81)	8,5 (7,92)	2,5 (2,17)	0,38 (0,18)	0,14 (0,58)

Tableau 3.4 : Estimation des valeurs $\hat{\theta}$ par paires de populations cultivées en Bretagne et la population de Thau qui a servi à initier les premiers essais de cultures.

Les notations des noms de populations utilisées renvoient au site des cultures (S pour St Malo, G pour le Guilvinec et R pour Roscoff) et à l'année d'échantillonnage. Les valeurs de $\hat{\rho}$ sont indiquées au dessus de la diagonale et les valeurs de probabilités obtenus par des tests de permutations sont indiquées en dessous de la diagonale. Les valeurs en gras correspondent valeurs non significatives après réajustement du seuil de significativité en suivant une procédure de Bonferroni .

[illegible]

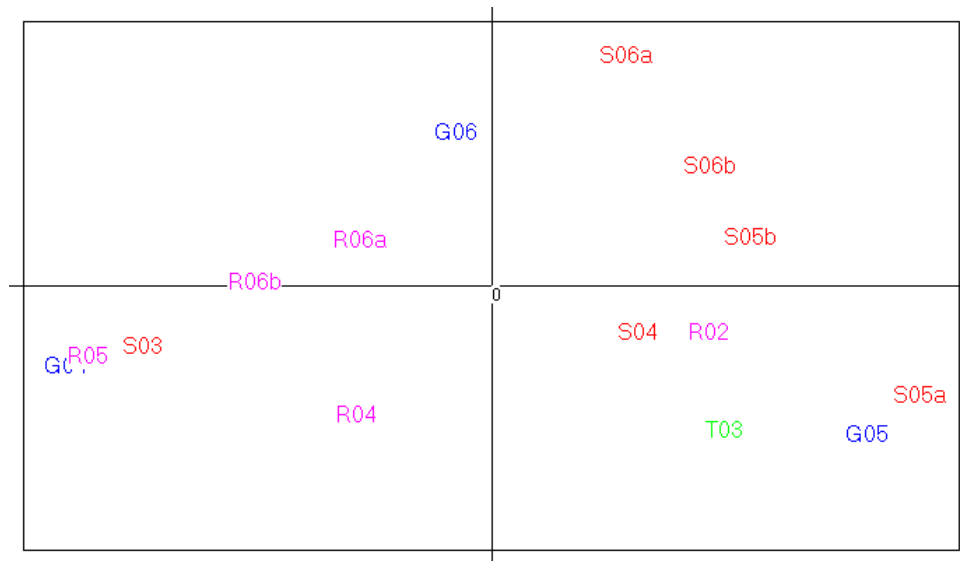


Figure 3.2 : Représentation des distances génétiques entre populations dans un espace à deux dimensions (analyse en composante principale réalisée avec le logiciel PCAGen)

Les notations utilisées renvoient au site des cultures (S pour St Malo, G pour le Guilvinec et R pour Roscoff) et à l'année d'échantillonnage. La population de Thau (T) a été intégrée à cette analyse, à titre de population de référence. Les couleurs permettent de visualiser les lots d'un même site. Seul le premier axe est significatif ($P=0,001$)

Tableau 3.5: Analyse de la structure génétique des lots cultivés entre années et entre sites

Les statistiques F (F_{is} , F_{st} et F_{it}) sont indiquées avec les résultats des tests exacts associés (valeur de probabilité entre parenthèse) pour (A) les trois cultures étudiées une même année (en 2004, 2005 et 2006) et (B) pour la culture réalisée à St-Malo (producteur de juvéniles) sur 4 années (de 2003 à 2006). Les notations des noms de populations utilisées renvoient au site des cultures (S pour St Malo, G pour le Guilvinec et R pour Roscoff) et à l'année d'échantillonnage.

Groupes de populations analysées	F_{is}	F_{st}	F_{it}
A- Analyse spatiale			
En 2004 : S-04/R-04/G-04	0.020 ($P=0.266$)	0.222 ($P<10^{-4}$)	0.238 ($P<10^{-4}$)
En 2005 : S-05/R-05/G-05	0.031 ($P=0.157$)	0.268 ($P<10^{-4}$)	0.290 ($P<10^{-4}$)
En 2006 : S-06/R-06/G-06 ⁽¹⁾	0.064 ($P<10^{-2}$)	0.073 ($P<10^{-4}$)	0.133 ($P<10^{-4}$)
B- Analyse temporelle (St-Malo)			
S-03/S-04/S-05/S-06	0.011 ($P=0.308$)	0.160 ($P<10^{-4}$)	0.169 ($P<10^{-4}$)

(1) en 2006, pour Roscoff, seul le lot issu de St-Malo est inclus dans l'analyse ; quand le second lot (produit sur place) est inclus, les résultats sont inchangés qualitativement bien que la valeur de F_{st} soit légèrement augmentée ($F_{st}=0.175$, $P<10^{-3}$)

significativité, en suivant une procédure de Bonferroni. La population de Thau en particulier se différencie de toutes les populations bretonnes. La figure 3.2 synthétise cette information : on note l'absence de regroupement clair par année ou par site et il existe des différences significatives même entre les lots d'une même année. Par ailleurs, comme le montrent les résultats des analyses des statistiques F (tableau 3.5), les lots cultivés en différents endroits une même année sont statistiquement génétiquement différenciés (tableau 3.5-A), de même que les lots produits à St-Malo d'une année sur l'autre (tableau 3.5-B). Ces deux résultats soulignent l'importance des effets d'échantillonnage lors du transfert de lots de juvéniles depuis St-Malo vers les sites de production ainsi que lors de la production des juvéniles de wakamé d'une année sur l'autre.

3. Discussion

3.1 La population de Thau à l'origine des cultures : une histoire ancienne

Les premiers essais de mise en culture ont été réalisés en Bretagne à partir d'individus issus de l'étang de Thau (Perez et al. 1990), site initial d'introduction accidentelle d'*U. pinnatifida* en France (Perez 1981). Lors de la création de jeunes plantules par les aquaculteurs, seulement 10 à 20 individus sont utilisés (M. Molla, com. pers.). Le maintien d'une origine unique aurait dû s'accompagner d'un goulot d'étranglement génétique dans les populations cultivées. Pourtant, les résultats de notre étude montrent que la diversité génétique observée dans les populations cultivées est du même ordre voire supérieure à celle de la population de Thau. Huit nouveaux allèles, absents de la population de Thau, ont même été identifiés dans les populations cultivées. Bien que les taux de mutations des microsatellites soient élevés (généralement de l'ordre de 10^{-2} à 10^{-4} ; Jarne & Lagoda 1996), il semble peu probable que ces nouveaux allèles soient apparus par mutation dans les cultures. De plus, ces allèles ne sont pas rares à une échelle plus globale : ils ont été identifiés dans de nombreuses populations spontanées européennes et françaises (figure 3.3). Ainsi, il est fortement plausible que la population de Thau ne soit pas la seule à l'origine des cultures actuelles. Des apports depuis des sources génétiquement différentes de la population de Thau semblent avoir eu lieu pour la création de lots cultivés. Ces origines différentes de Thau pourraient être :

- (i) des introductions « non officielles » depuis des populations cultivées de l'aire d'origine (Japon ou Corée)
- (ii) des utilisations par les cultivateurs de populations spontanées

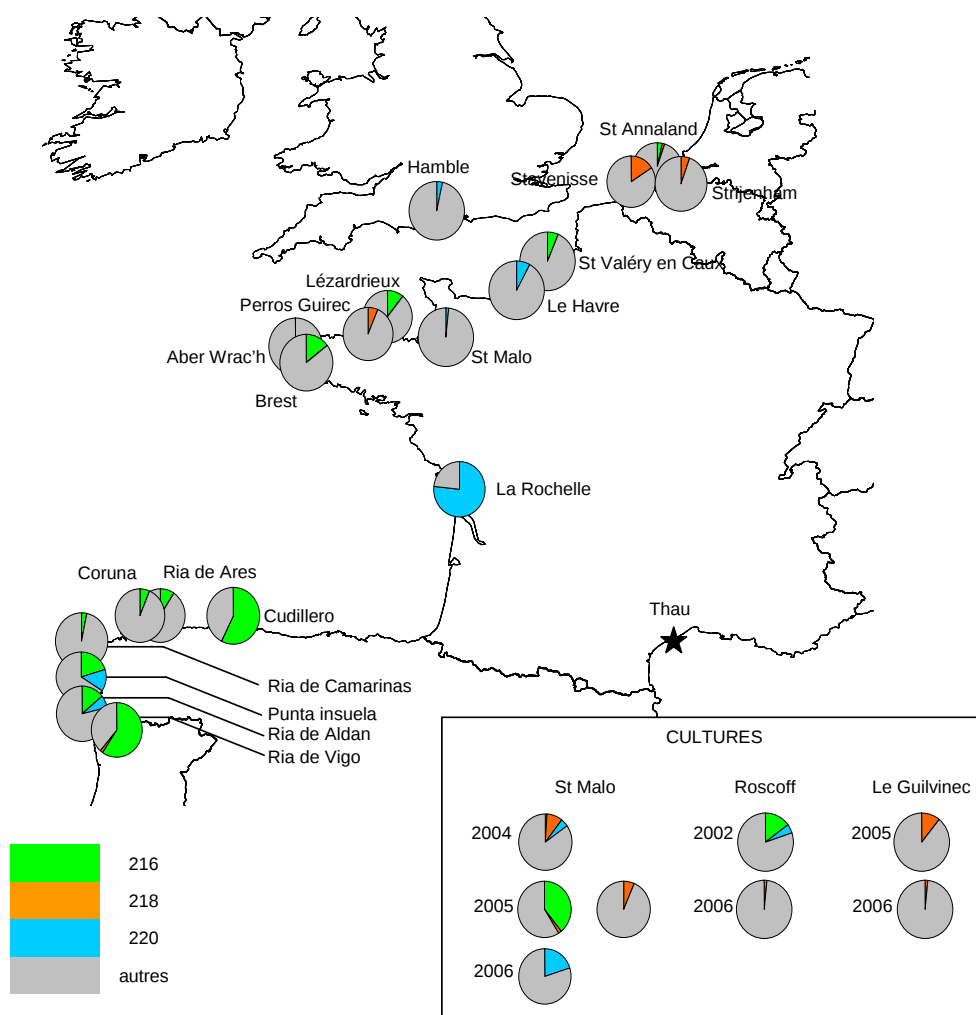


Figure 3.3 : Répartition géographique des allèles du locus 2E8, absents de la population de Thau mais présents dans les populations cultivées.

Alors que la population de Thau serait à l'origine des populations mises en cultures, les populations cultivées françaises sont composées d'allèles absents de la population de Thau. Au locus 2E8, trois allèles (216, 218 et 220) sont présents dans certaines populations cultivées mais sont également présents dans de nombreuses populations spontanées à l'échelle européenne. Seules les populations cultivées et européennes dans lesquelles ces 3 allèles sont présents ont été représentées. Les sections des camemberts sont proportionnelles à la fréquence des allèles dans chaque population : 216 en vert, 218 en orange et 220 en bleu. En gris sont cumulés les autres allèles du locus 2E8.

Si la première hypothèse ne peut être validée par manque d'informations, la seconde est indéniable à une échelle au moins locale. En effet, les producteurs de wakamé établis à St Malo utilisent des individus du milieu naturel pour enrichir leur « pool » d'individus reproducteurs (M. Molla, comm. pers.)

3.2 Une composition génétique fluctuante

Un résultat marquant de cette analyse est la très grande variabilité observée entre les différents sites bretons et entre années au sein d'un même site, comme l'ont révélé les analyses de structure génétique par les statistiques F, ainsi que la représentation graphique sous forme d'une analyse en composante principale (PCAGen). Ces variations, qui ne peuvent être mises en relation ni avec le site ni avec l'année de culture, semblent témoigner de l'absence de gestion rigoureuse des bases génétiques des cultures. Cette diversité rend peu vraisemblable l'existence d'une signature génétique claire des populations cultivées aux locus nucléaires. Ces résultats sont d'ailleurs d'autant plus surprenants que la plupart des lots analysés proviennent de croisements réalisés par la société C-Weed Aquaculture de St Malo. La variabilité de la composition génétique des cultures est d'autant plus visible si on compare les populations cultivées aux populations analysées à l'échelle européenne (voir chapitre 2 et figure 3.4). Sur la figure 3.4, bien qu'un groupe de trois populations s'individualisent (G-04, R-05, S03), sans toutefois représenter un site de culture donnée, ou une année de culture, la variabilité observée entre les sites, ou d'une année à l'autre, semble aussi importante que l'ensemble de la variabilité génétique observée à l'échelle européenne. Cette absence de signature génétique propre aux populations cultivées bretonnes, par rapport à l'ensemble des populations introduites en Europe, reflète les techniques culturales mises en œuvre avec plusieurs événements de croisements réalisés à partir (i) d'un faible nombre d'individus reproducteurs et (ii) d'individus aux origines très variables selon les années et les lots (*i.e.* issus en partie des cultures et du milieu naturel ou exclusivement du milieu naturel) (M. Molla, com. pers.). La réalisation de différents lots de jeunes plantules a pour but de s'assurer une quantité suffisante de cultures saines, en vue des ensemencements sur les filières, mises ensuite en milieu naturel. En effet, l'obtention des plantules se fait en plusieurs étapes (Perez et al. 1984). Il faut tout d'abord faire sporuler les individus matures et récupérer les jeunes gamétophytes issus de la germination des spores. Les solutions de gamétophytes sont ensuite maintenues dans des chambres de culture le temps de la croissance. Lorsque les gamétophytes ont atteint une taille suffisante et s'avèrent non contaminés par des microalgues, les solutions

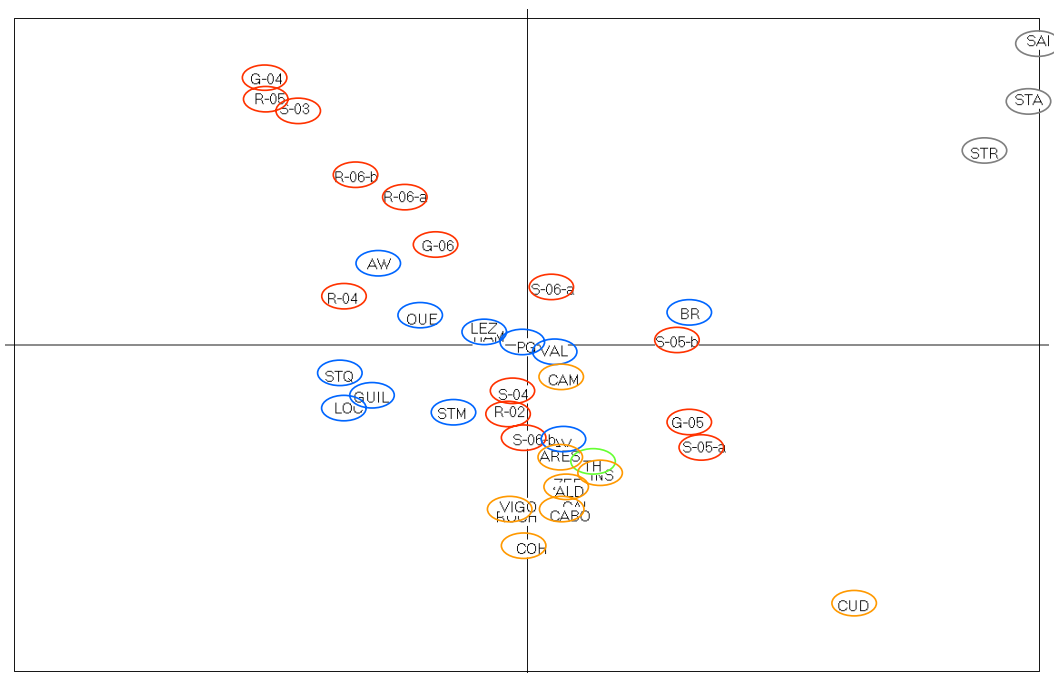


Figure 3.4 : Représentation des distances génétiques entre populations dans un espace à deux dimensions

Les notations utilisées renvoient au site des cultures (S pour St Malo, G pour le Guilvinec et R pour Roscoff) et à l'année d'échantillonnage. La population de Thau (TH) a été intégrée à cette analyse, à titre de population de référence ainsi que l'ensemble des populations analysées à l'échelle européenne (chapitre 2). Les couleurs permettent de visualiser les cultures en rouge, les populations espagnoles en jaune, les populations des Pays-Bas en gris et les populations du Nord de l'Europe en bleu. L'axe 1 synthétise 29,05% de la variance et l'axe 2 17,35%, tous les deux de façon significative ($P < 0,05$)

de gamétophytes sont pulvérisées sur des cordelettes (encadré 3.1). En fonction des lots réalisés, les solutions de gamétophytes peuvent donc être différentes, ce qui explique la forte variabilité, même au sein d'un même site de culture.

Le prélèvement d'individus en milieu naturel a deux objectifs : (i) maximiser la diversité des individus reproducteurs (bien qu'aucun critère « objectif » phénotypique ou génétique ne soit réellement pris en compte), mais aussi (ii) s'affranchir d'une gestion trop lourde des solutions de gamétophytes. Les récoltes sont réalisées au printemps, entre fin mars et début mai, selon les années, et la mise à l'eau de nouvelles cultures n'a pas lieu avant fin octobre-début novembre. L'utilisation des individus matures issus de la récolte nécessite donc le maintien, pendant 6 mois, des solutions de gamétophytes. En prélevant en milieu naturel quelques individus matures lors des marées de vives eaux au début de l'automne, la gestion des solutions est réduite à quelques semaines.

Ces différents résultats montrent que si des essais de cultures avaient comme origine initiale la population introduite de Thau, les populations cultivées aujourd'hui sur les côtes bretonnes sont génétiquement différentes, mais diversifiées. Ces différences ne sont pas le fruit d'une dérive génétique, mais d'un enrichissement des lots cultivés. Par ailleurs, les techniques utilisées pour la constitution des semences, avec l'utilisation d'individus aux origines variables selon les lots, ne permettent pas de définir clairement un « type cultivé ». La culture d'*U. pinnatifida* apparaît ainsi basée sur une démarche peu rationalisée, mais qui confère, par le jeu du hasard, une base génétique relativement large aux cultures, en comparaison de ce qui est observé dans les populations spontanées européennes.

C. Quel rôle les activités humaines jouent elles dans le développement de populations spontanées ? le cas de la baie de St Malo.

Depuis le début des années 1970, le nombre d'espèces introduites en milieu marin a dramatiquement augmenté en relation avec l'intensification des activités humaines. Par exemple, on estime que plusieurs milliers d'individus sont transportés chaque jour dans les

eaux de ballast des bateaux sur de très grandes distances et sont susceptibles d'être relarguées en dehors de leur aire d'origine (Carlton 1996b). Cette importante pression de propagules (*i.e.* nombre d'individus et fréquence des introductions d'une espèce dans une localité) est désignée comme l'un des principaux facteurs favorisant le succès d'installation d'une espèce dans un nouvel environnement (Lonsdale 1999, Lockwood et al. 2005). Dans leur article, Lockwood et al. (2005) soulignaient également, qu'une forte pression de propagule était liée à une intensification des transports entre deux régions, mais aussi à l'intérêt de l'homme pour une espèce particulière.

U. pinnatifida est l'une des espèces marines introduites à une échelle mondiale. En Asie *U. pinnatifida* est cultivée sous le nom de wakamé et des populations naturelles se développent également à proximité de bassins conchylicoles (Ohno & Largo 1998). Cette forte relation avec les activités humaines explique, en partie, le succès de son introduction en dehors de son aire d'origine. Dans nos précédentes études, nous avons ainsi mis en évidence que des mécanismes d'introductions différentiels pouvaient expliquer cette colonisation d'un large spectre d'environnement, avec des récurrences d'introduction liées au trafic maritime en Australasie et une introduction en relation avec l'aquaculture en Europe (Voisin et al. 2005). Ces vecteurs d'introduction – la navigation maritime et l'aquaculture- sont également reconnus comme des vecteurs potentiels de dispersion au sein des régions d'introduction. Nous avons montré dans le chapitre 2 qu'en Europe, au sein de chaque pays, en absence de profil d'isolement par la distance, la dispersion d'*U. pinnatifida* était certainement essentiellement due aux activités humaines, avec d'une part les activités nautiques et le transport d'individus en épiphytes sur les coques des bateaux de marinas en marinas, et d'autre part, l'implantation de zones de cultures en de nombreux points de la côte européenne.

U. pinnatifida colonise le milieu naturel et se développe en milieu rocheux, au milieu d'espèces natives. Toutefois, à de petites échelles spatiales (de l'ordre de quelques kilomètres), aucune étude ne permettait d'évaluer le rôle joué par les activités anthropiques dans la dispersion et le maintien des populations spontanées par rapport aux capacités de dispersion intrinsèques de l'espèce. Est-ce que les populations établies dans le milieu naturel sont encore dépendantes d'un apport récurrent d'individus depuis des populations réservoirs représentées par les marinas ou les cultures ?



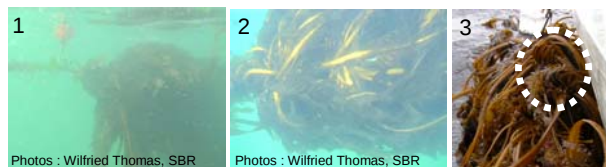
Figure 3.5 : Présentation des populations analysées dans la Baie de St Malo.

A- Localisation des sites d'échantillonnage dans la baie de St Malo.

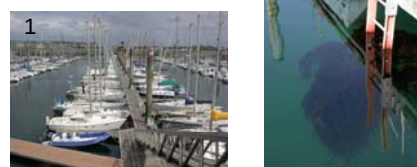
Les notations utilisées renvoient au type de population : C pour les cultures, M pour les populations des marinas, I pour les populations côtières (in-shore) et O pour les populations du large (off-shore). Toutes les populations à l'exception de I2, échantillonnées en 2006, ont été échantillonnées en 2005 et en 2006.

B- Mesures de densités réalisées lors de l'échantillonnage. Pour les populations échantillonnées en plongée (O), les densités ont été mesurées à l'aide de cadrats de 0,5m² lancés aléatoirement 20 à 30 fois sur le site.

A- culture de wakamé



B- Marinas



C- Population de milieu rocheux, à la côte



D- Population de milieu rocheux, au large



Figure 3.6 : Quatre types de populations coexistent à l'échelle de la baie de St Malo.

A- Culture de wakamé. Les individus sont cultivés sur des cordes, maintenues à 1m sous la surface de l'eau (1) et atteignent des densités élevées (quelques centaines d'individus par mètre de filière) (2), lors de la récolte, des individus sont quelque fois matures (3).

B- Des populations se développent dans les marinas (1), sur les pontons et les coques de bateaux (2) en forte densité (une centaine d'individus par m²)

C- Des populations se développent le long de la côte et sont accessibles à marée basse de vives eaux. Les densités sont faibles (2 ind/m²).

D- De nombreux enrochements, au large, sont colonisés et *U. pinnatifida* se développe au milieu des espèces natives, souvent en faible densité (~6 à 15ind/m²)

En France, *U. pinnatifida* présente des caractéristiques qui rendent pertinente l'étude de ces mécanismes de dispersion :

- (i) la dynamique d'expansion dans le milieu naturel est relativement lente, ce qui pourrait laisser supposer qu'à une échelle locale, des mécanismes de dispersion naturelle ont pris le pas sur des fondations liées à des introductions accidentelles
- (ii) l'existence d'un compartiment cultivé, implanté et maintenu par les activités humaines, peut constituer un réservoir de migrants pour les populations spontanées
- (iii) la colonisation de très nombreuses marinas et ports, où les densités sont importantes. Ces populations, lorsque les marinas sont ouvertes vers le large peuvent ainsi représenter des réservoirs de migrants, les activités nautiques constituant un vecteur de dispersion non négligeable.

Nous avons choisi d'aborder la question des relations actuelles entre les populations de différents compartiments (*i.e.* culture, marinas et milieu naturel rocheux), par une étude indirecte de la dispersion, basée sur l'analyse de la diversité génétique et des flux de gènes. Notre étude s'est basée sur l'analyse des populations d'*U. pinnatifida* dans la baie de St Malo (figure 3.5) choisie pour réaliser cette étude en raison de la coexistence à une échelle géographique réduite, de différents types de populations d'*U. pinnatifida* :

(1) Tout d'abord, des populations sont cultivées dans l'estuaire de la Rance, depuis le début des années 1990. La société C-Weed Aquaculture, qui y est implantée, est l'un des principaux sites de cultures en France. Les cultures sont initiées en automne. Plusieurs lots peuvent être mis en culture au cours de l'automne pour étaler la période de récolte et ne pas saturer le marché. Les récoltes ont lieu lorsque les individus arrivent à maturité (figure 3.6.A) entre fin février et début mai.

(2) Plusieurs types de populations spontanées se développent également dans la baie de St Malo. Des populations colonisent les marinas (figure 3.6.B), sur les pontons et les coques des bateaux. Les activités nautiques sont largement développées à St Malo, avec, dans le port principal « Bas-Sablons », la présence de bateaux de pêche, de plaisance et de plongée ainsi que des ferries faisant les navettes vers l'Angleterre et vers les îles de Jersey et de Guernesey. Par ailleurs, des populations se développent en milieu rocheux, au milieu des espèces locales. Certaines populations sont sur des sites accessibles à marée basse, le long de

la plage (figure 3.6.C), et d'autres au large, sur les nombreux enrochements de la baie de St Malo (figure 3.6.D).

Quatre catégories de populations d'*U. pinnatifida* seront ainsi distinguées au cours de ce travail: les populations (i) en cultures, (ii) dans les marinas, (iii) en milieu rocheux le long de la côte et (iv) au large. Leur niveau d'interaction avec les activités humaines va décroissant, des populations cultivées aux populations installées au large en milieu rocheux. Nous avons cherché à établir à l'aide de l'étude de locus mitochondriaux et de 10 locus microsattellites

- (i) si ces différentes catégories présentaient des caractéristiques génétiques différentes ; en particulier les marinas qui sont des centres de passage de nombreux vecteurs de dispersion pourraient être caractérisées par des diversités génétiques largement supérieures à celles rencontrées dans le milieu naturel rocheux, probablement fondé par un nombre plus limité d'individus et
- (ii) quelle était l'intensité relative des flux de gènes entre ces différentes catégories notamment dans le but de tester l'hypothèse de marinas agissant comme un réservoir de migrants vers les populations installées dans le milieu naturel au large.

1. Matériel et méthodes

1.1 Echantillonnage et acquisition des données moléculaires

Pour évaluer comment les activités humaines peuvent influencer les caractéristiques génétiques des populations et comment ces différentes populations se structurent à l'échelle de la baie, nous avons réalisé un échantillonnage comprenant des populations de chacune des quatre catégories décrites ci-dessus dans l'introduction :

- (1) Deux lots issus des cultures de la société C-Weed Aquaculture
- (2) Deux zones portuaires de Saint Malo, Bas-Sablons (M1) et Vauban (M2) ont été échantillonnées. Le port de Bas-Sablons est le principal port de St Malo. Il accueille plusieurs centaines de bateaux de plaisance, des bateaux de pêche et les ferries. Le port est ouvert sur le large et l'entrée dans le port se fait par le passage d'un seuil. Le port de Vauban est quant à lui situé aux pieds des remparts de Saint Malo. Il ne peut accueillir que quelques dizaines de bateaux de plaisance et son accès est limité par le passage d'une écluse.

(3) Deux populations ont été échantillonnées le long de la plage de St Malo : la population de Fort National (I1) et la population des Thermes (I2). A Fort National, la population se développe au niveau d'un ancien vivier submergé à marée haute mais facilement accessible à marée basse. La population des Thermes se développe sur un enrochement accessible par marée basse de vives eaux (figure 3.6.C).

(4) Quatre populations se développant au large ont également été échantillonnées : les populations de Bizeux (O1), la Rochardien (O2), le Grand Murier (O3) et la Grande Conchée (O4). Ces populations sont accessibles en bateaux et l'échantillonnage a été réalisé en plongée, grâce au concours du service Mer et Observation de la Station Biologique de Roscoff.

U. pinnatifida étant une algue annuelle, les profils observés une année pourraient n'être le reflet que des événements de recrutement de l'année en cours. Aussi afin de valider nos conclusions et la stabilité des schémas observés, l'échantillonnage et l'analyse a été conduite sur 2 années successives, en 2005 et en 2006. Seule la population des Thermes a été échantillonnée uniquement en 2006.

Tous les échantillons prélevés ont été stockés individuellement, dans du gel de silice, un dessiccateur, en vue d'une extraction d'ADN. Les 19 populations, représentant un total de 661 individus, ont été extraites et génotypées en suivant le même protocole que décrit dans la partie D.1 du chapitre 2 et en utilisant les 10 mêmes marqueurs microsatellites.

Dans les études précédentes, nous avons mis en évidence (i) l'existence d'un unique haplotype mitochondrial dans la population cultivée bretonne de 2003 et (ii) la présence d'un seul groupe d'haplotypes phylogénétiquement proche dans les populations européennes. Cette signature haplotypique a été recherchée dans les populations étudiées ici par séquençage des deux mêmes régions intergéniques W-I et atp8-S, comme décrits dans Voisin et al. (2005). Du fait du coup associé au séquençage systématiques, seuls 25% des individus de chaque population (N_{tot}=215) ont été analysés. L'enchaînement nucléotidique des séquences a été vérifié dans Chromas et les séquences alignées grâce à ClustalW dans Bioedit, comme décrit dans le chapitre 1.

1.2 Analyses statistiques

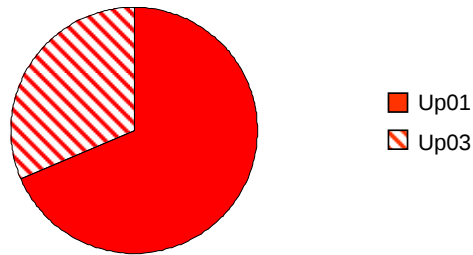
Pour les données mitochondriales, la diversité haplotypique (H_a) et nucléotidique (π) a été calculée pour chaque population et sur l'ensemble du jeu de données avec le logiciel Arlequin v.3.01 (Schneider et al. 2001).

Pour les données microsatellites, les indices de diversité (H_e , H_o , A_r) et de structure intrapopulation (F_{IS}) ont été estimés comme décrit dans la partie D.2 du chapitre 2 pour toutes les populations. Une comparaison des indices de diversité entre compartiments a été effectuée avec le logiciel FSTAT (Goudet 1995, 2002). Les indices de différenciation génétique ($\hat{\theta}$) ont été calculés entre chaque paire de populations d'une année ainsi qu'entre populations d'une année à l'autre. La distance génétique globale entre populations de chacun des deux jeux de données est illustrée grâce à une analyse en composante principale basée sur les fréquences alléliques, dans le logiciel PCA-GEN v.1.2.1 (<http://www.ie-zea.unil.ch>).

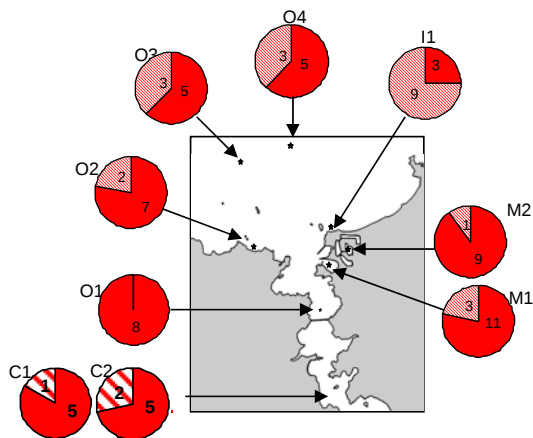
Une analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) a été réalisée avec les données nucléaires, dans Arlequin v3.01 (Schneider et al. 2001) pour étudier comment la variation génétique se distribue entre les populations sur l'ensemble du jeu de données (θ_{ST}), entre les populations au sein de chacun des 4 groupes (θ_{SC}) et entre groupes (θ_{CT}). Les 4 groupes ont été constitués en fonction des niveaux d'interaction *a priori* des populations avec les activités anthropiques : groupe 1, les populations cultivées ; groupe 2, les populations des marinas ; groupe 3, les populations le long de la côte et groupe 4, les populations du large. Ce regroupement de populations est basé sur des critères de type d'habitats défini *a priori*. Pour s'affranchir de ce type de classification *a priori* des populations, nous avons effectué deux autres types d'analyses, utilisant une technique Bayésienne de regroupement des populations. Il s'agit ici d'estimer combien d'unités panmictiques peuvent être trouvées dans notre jeu de données, et comment ces unités sont regroupées.

Dans un premier temps, nous avons cherché à évaluer dans quelle mesure les populations des différentes catégories sont fermées à la migration : des tests d'assignation des individus ont été réalisés en utilisant le logiciel GeneClass v. 2.0 (Piry et al. 2004). La méthode utilisée ici est basée sur l'approche bayésienne développée par Rannala & Moutain (1997) et l'algorithme de simulation de Paetkau et al. (2004), qui détermine la probabilité d'appartenance d'un individu à une population, en fonction de son génotype multilocus et des fréquences alléliques de la population, sous l'hypothèse d'indépendance des locus et de

A- fréquence des haplotypes mitochondriaux sur l'ensemble du jeu de données



B- repartition des haplotypes en 2005



C- repartition des haplotypes en 2006

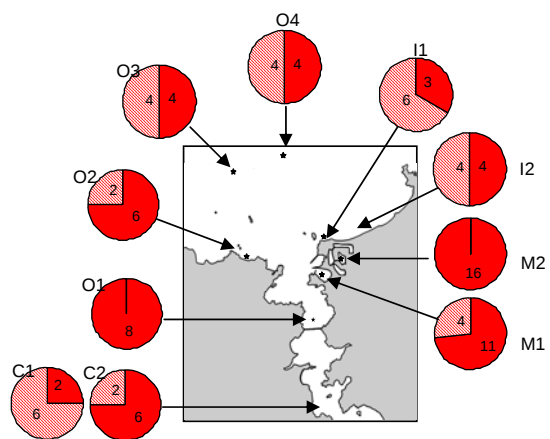


Figure 3.7 : Répartition des haplotypes mitochondriaux dans la baie de Saint Malo en 2005 et en 2006.

A- Fréquence des haplotypes sur l'ensemble du jeu de données. B- Fréquence des haplotypes au sein de chaque population en 2005 et C- en 2006. Chaque camembert correspond à une population. Le nombre d'individus identifiés avec chaque haplotype est inscrit dans les sections des camemberts. Les notations utilisées renvoient au type de population (« C » pour les cultures, « M » pour les populations des marinas, « I » pour les populations côtières et « O » pour les populations du large) et le code couleur utilisé est le même que celui utilisé dans le chapitre 1.

l'équilibre des populations aux proportions d'Hardy Weinberg. Chaque individu est ainsi assigné à la plus probable des populations, parmi les populations de l'étude. Pour évaluer si l'origine potentielle d'un individu est davantage la population dans laquelle il a été prélevé, ou une autre population de la baie, les simulations ont d'abord été réalisées séparément pour les populations échantillonnées en 2005 et en 2006, en considérant chaque population, comme source potentielle des individus. Ensuite, pour estimer si les individus échantillonnés dans une population étaient issus d'une reproduction entre individus de leur population d'origine, ou d'une autre population, les individus échantillonnés en 2006 ont été assignés en prenant les populations de 2005 comme sources potentielles. Pour toutes les assignations, seuls les individus présentant une probabilité d'être correctement assignés à une population de rang 1 de score supérieur à 50% ont été considérés.

Dans un second temps, nous avons cherché si la distribution de la diversité génétique était cohérente avec les positions géographiques des populations. Le logiciel Geneland utilisé ici, permet de représenter ces proximités génétiques en fonction des coordonnées spatiales des individus (Guillot et al. 2005). Les calculs et simulations sont réalisés en deux temps. La première simulation permet d'inférer, par un processus de chaîne de Markov, le nombre le plus probable de classes (K , ou unités panmictiques) composant le jeu de données. Pour la seconde simulation, l'utilisateur fixe K et les autres paramètres du modèle sont estimés, en particulier les probabilités d'assignations des individus aux différentes classes. Ces analyses ont été réalisées séparément pour les populations de 2005 puis de 2006. Nous avons d'abord évalué le nombre de classes K composant le jeu de données, en faisant varier ce paramètre entre 1 et le double de populations échantillonnées dans la baie de St Malo, conformément aux recommandations des auteurs (Guillot et al. 2005) et en réalisant 50 000 itérations. Pour la deuxième série de simulations, nous avons fixé K et utilisé les mêmes paramètres de simulations que pour l'étape 1. Les probabilités postérieures d'appartenance aux classes ont été calculées, et la précision des cartes de probabilité a été fixée à 50 pixels pour les deux gradients latitudinaux et longitudinaux.

2. Résultats

2.1 Polymorphisme sur l'ensemble du jeu de données :

Deux haplotypes mitochondriaux ont été identifiés parmi les 215 individus de la baie de St Malo analysés (figure 3.7). Ces deux haplotypes avaient déjà été identifiés lors de l'étude des mécanismes d'introduction primaires à l'échelle mondiale (Up01 et Up03 dans

Tableau 3.6 : Diversité génétique et taux d'autofécondation obtenus à partir des données des 10 locus microsatellites des populations d'*U. pinnatifida* de la baie de St Malo,

Les notations utilisées renvoient au type de population (C pour les cultures, M pour les populations des marinas, I pour les populations côtières et O pour les populations du large) et à l'année d'échantillonnage. Pour chaque population, le nombre d'individus (Nind), la richesse allélique (A_r), l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_e) sont indiquées. L'estimateur du f de l'indice de fixation (F_{IS}) est aussi donné pour chaque population et les valeurs significatives sont indiquées comme suit : * $p < 0,05$, ** $p < 0,0005$, *** $p < 5,10^{-5}$. Les valeurs de $\hat{s}(\hat{g}2)$ correspondent au taux d'autofécondation calculé avec le logiciel RMES.

Pop	Nind	A_r	H_o	H_e	f	$\hat{s}(\hat{g}2)$
Cultures 2005						
C ₂₀₀₅ -1	31	2,30	0,31	0,30	-0,04 ^{NS}	0,43***
C ₂₀₀₅ -2	29	2,44	0,38	0,35	-0,10 ^{NS}	-
Marinas 2005						
M ₂₀₀₅ -1	46	2,95	0,34	0,43	0,23***	0,43***
M ₂₀₀₅ -2	30	2,87	0,22	0,44	0,50***	0,43*
Populations côtières 2005						
I ₂₀₀₅ -1	46	2,65	0,29	0,37	0,20***	0,37*
Populations du large 2005						
O ₂₀₀₅ -1	31	2,90	0,39	0,38	-0,02 ^{NS}	-
O ₂₀₀₅ -2	31	2,90	0,37	0,40	0,06 ^{NS}	-
O ₂₀₀₅ -3	30	2,86	0,42	0,44	0,04 ^{NS}	-
O ₂₀₀₅ -4	30	2,56	0,31	0,40	0,23*	0,29 ^{NS}
Cultures 2006						
C ₂₀₀₆ -1	32	2,26	0,38	0,40	0,06 ^{NS}	-
C ₂₀₀₆ -2	32	2,27	0,39	0,32	-0,21 ^{NS}	-
Marinas 2006						
M ₂₀₀₆ -1	50	2,88	0,34	0,40	0,14*	0,33***
M ₂₀₀₆ -2	51	2,64	0,12	0,37	0,69***	0,76***
Populations côtières 2006						
I ₂₀₀₆ -1	32	2,77	0,35	0,39	0,10*	0,00 ^{NS}
I ₂₀₀₆ -2	32	2,84	0,34	0,38	0,12*	0,11 ^{NS}
Populations du large 2006						
O ₂₀₀₆ -1	32	2,97	0,39	0,40	0,03*	0,04 ^{NS}
O ₂₀₀₆ -2	32	2,88	0,33	0,35	0,06 ^{NS}	-
O ₂₀₀₆ -3	32	3,00	0,46	0,44	-0,06 ^{NS}	-
O ₂₀₀₆ -4	32	3,02	0,43	0,44	0,03 ^{NS}	-

Voisin et al. 2005). Ils appartiennent au même « cluster », le « cluster A », tel que défini dans le chapitre 1 (figure 1.11). Une seule mutation au locus W-I les distingue. Le niveau de diversité nucléotidique sur l'ensemble du jeu de données est faible ($\pi=1,39.10^{-4} \pm 1,39.10^{-4}$). Ces deux haplotypes Up01 et Up03 sont présents chez 69 et 31% des individus analysés respectivement ($H_{\text{tot}}=0,43 \pm 0,03$).

Les indices de diversité génétique calculés pour les données microsatellites sont présentés dans le tableau 3.5. Sur l'ensemble des 10 locus, 661 individus ont été génotypés et moins de 5% de données manquantes ont été obtenues pour chaque population et pour chaque locus. Le niveau de diversité observé pour chaque locus est limité avec un nombre d'allèle variant de 2 pour le locus 4C12 à 6 pour le locus 2E8. Sur l'ensemble des 10 locus, le niveau de diversité est moyen avec $H_e=0,38$ et $A_r=2,71$.

2.2 Diversité génétique par catégorie de populations :

Concernant les données mitochondriales, les quatre groupes de populations sont polymorphes et le groupe des marinas est le groupe dont la diversité nucléotidique moyenne est la plus faible les deux années du suivi avec $\pi_{\text{moy}}=9,02.10^{-4}$ en 2005 et $\pi_{\text{moy}}=6,72.10^{-4}$ en 2006.

Alors que l'haplotype Up01 avait été identifié comme le seul haplotype composant les cultures de St Malo en 2003 (Voisin et al. 2005), les cultures de 2005 et de 2006 sont polymorphes, ($H_a=0,33$ à $H_a=0,48$ respectivement en 2005 et 2006).

Au niveau des populations du milieu rocheux, seule O1, la population la plus proche du barrage de la Rance, est monomorphe et composée uniquement de l'haplotype Up01. Dans les cultures, la part de chacun des deux haplotypes est variable entre les lots et d'une année à l'autre. Le lot cultivé n°2 de 2006, est celui présentant la plus importante part d'individus caractérisés par l'haplotype Up03. Parmi les populations spontanées, les populations échantillonnées à la côte sont les populations les plus largement composées de l'haplotype Up03 (figure 3.7).

La composition haplotypique des populations spontanées semble peu variable de 2005 à 2006. On peut noter ici que la population M2 est monomorphe en 2006 et uniquement composée de l'haplotype Up01 alors que l'haplotype Up03 avait été identifié en 2005 pour 1/10 des individus analysés.

Concernant les données microsatellites, les niveaux de diversité moyens calculés dans chaque groupe sont présentés dans le tableau 3.7. Le détail par population est donné dans le

Tableau 3.7 : Diversité génétique et taux d'autofécondation obtenus à partir des données 10 locus microsatellites des différents groupes de populations d'*U. pinnatifida* de la baie de St Malo,

Les notations utilisées renvoient au type de population (C pour les cultures, M pour les populations des marinas, I pour les populations côtières et O pour les populations du large) et à l'année d'échantillonnage.

Pour chaque population, le nombre d'individus (Nind), la richesse allélique (A_r), l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_e) sont indiquées. L'estimateur du f de l'indice de fixation (F_{IT}) est aussi donné pour chaque groupe et les valeurs significatives sont indiquées comme suit : * $p < 0,05$, ** $p < 0,0005$, *** $p < 5,10^{-5}$.

Pop	Nind	A_r	H_o	H_e	f
C _{moy} 05	60	2,37	0,35	0,32	-0,07
M _{moy} 05	76	2,91	0,29	0,44	0,35**
I ₂₀₀₅ -1	46	2,65	0,29	0,37	0,20***
O _{moy} 05	122	2,80	0,37	0,40	0,08*
total 2005	304	2,71	0,33	0,39	0,14
C _{moy} 06	64	2,27	0,38	0,36	-0,06 ^{NS}
M _{moy} 06	101	2,76	0,22	0,38	0,41**
I _{moy} 06	64	2,80	0,33	0,37	0,11*
O _{moy} 06	128	2,97	0,40	0,41	0,01 ^{NS}
total 2006	357	2,75	0,34	0,39	0,13***
total 2005-2006	661	2,71	0,34	0,39	0,12***

Tableau 3.8 : Probabilité des tests de comparaisons des indices de diversité entre les compartiments

Les tests ont été réalisés dans FSTAT par permutations des populations entre les groupes. Les valeurs en gras correspondent aux valeurs significatives.

A- comparaison des valeurs moyennes de richesse allélique (A_r) entre les compartiments

B- comparaison des valeurs d'hétérozygotie observée (H_o) entre les compartiments

A- Richesse allélique

A_r 2005	CULTURES	MARINA
MARINA	0.05	
LARGE	0.06	0.69

B- Hétérozygotie observée

H_o 2005	CULTURES	MARINA
MARINA	0.46	
LARGE	0.73	0.26

A_r 2006	CULTURES	MARINA	LARGE
MARINA	0.06		
LARGE	0.00	0.40	
CÔTE	0.04	0.87	0.54

H_o 2006	CULTURES	MARINA	LARGE
MARINA	0.08		
LARGE	0.76	0.02	
CÔTE	0.61	0.17	0.40

tableau 3.6. En 2005, les cultures et les marinas présentent des niveaux de diversité génétique contrastés, avec les plus faibles valeurs trouvées dans les cultures et significativement différentes des niveaux de diversité plus élevés dans les marinas ($A_{\text{rmoy}}-C_{2005} = 2,37$; $A_{\text{rmoy}}-M_{2005} = 2,91$; $P=0,04$ et $H_{\text{emoy}}-C_{2005} = 0,32$; $H_{\text{emoy}}-M_{2005} = 0,44$; $P=0,01$). Les populations spontanées des milieux rocheux présentent des niveaux de diversité intermédiaires, non significativement différents des compartiments des cultures et des marinas ($A_{\text{rmoy}}-C_{2005} = 2,80$; $H_{\text{emoy}}-M_{2005} = 0,40$).

Au niveau « population », en 2005, les valeurs les plus faibles sont également retrouvées dans les deux lots cultivés ($A_r-C_{2005-1} = 2,30$; $A_r-C_{2005-2} = 2,44$ et $H_e-C_{2005-1} = 0,30$; $H_e-C_{2005-2} = 0,35$) et les valeurs les plus élevées dans les deux marinas ($A_r-M_{2005-1} = 2,95$; $A_r-M_{2005-2} = 2,87$ et $H_e-M_{2005-1} = 0,43$; $H_e-M_{2005-2} = 0,44$).

La situation est un peu différente en 2006. Les cultures présentent toujours le niveau de diversité le plus faible ($A_{\text{rmoy}}-C_{2006-1} = 2,27$; $H_{\text{emoy}}-C_{2006-1} = 0,36$) mais qui n'est plus significativement différent de celui observé dans les marinas ($A_{\text{rmoy}}-M_{2006-1} = 2,76$; $H_{\text{emoy}}-M_{2006-1} = 0,38$) et ce sont les populations des milieux rocheux qui sont les plus diversifiées avec des valeurs de richesse allélique significativement plus élevées que les cultures ($A_{\text{rmoy}}-C_{2006} = 2,27$; $A_{\text{rmoy}}-I_{2006} = 2,80$; $P=0,04$ et $A_{\text{rmoy}}-O_{2006} = 2,97$; $P=0,00$; tableau 3.7)

Au niveau populationnel, les populations du large en milieux rocheux présentent en 2006 les valeurs les plus élevées, avec notamment trois des quatre populations dont les richesses alléliques sont les plus élevées du jeu de données ($A_r-O_{2006-1} = 2,97$; $A_r-O_{2006-2} = 3,00$ et $A_r-O_{2006-3} = 3,02$).

Malgré ces différences, il faut noter que les valeurs de diversité sont globalement stables de 2005 à 2006 au niveau des groupes. Au niveau « population », la population O4 présente une importante augmentation de la diversité génétique avec une richesse allélique passant de 2,56 en 2005 à 3,02 en 2006. Cette augmentation est notamment liée à l'apparition de 7 nouveaux allèles sur 6 locus en 2006. Ces nouveaux allèles ne sont ni spécifiques de cette population ni de 2006, puisqu'ils ont tous été identifiés dans d'autres populations en 2005 et en 2006.

2.3 Structure génétique intra-groupe et intra-population aux locus nucléaires

En 2005, seul le groupe constitué des cultures ne présente pas de déficit en hétérozygotes global ($F_{IT} = 0,06^{\text{NS}}$) et les plus fortes structures sont mesurées pour le compartiment des marinas ($F_{IT} = 0,36$; $P < 5.10^{-6}$; tableau 3.9). Dans les marinas, ces fortes valeurs de F_{IT} sont principalement dues à de fortes valeurs de déficit en hétérozygotes au

Tableau 3.9 : Analyse de la structure génétique au sein des différents groupes d'*Undaria pinnatifida* dans la baie de St Malo.

A- groupes de populations en 2005; B- groupes de populations en 2006

Pour chaque groupe, le nombre de populations le composant (Npop) est indiqué. Tests des F_{IT} et F_{IS} par randomisation des allèles au sein des échantillons, test des F_{ST} par randomisation des génotypes entre les populations dans le logiciel FSTAT : ***, $P<0,001$; **, $P<0,01$; *, $P<0,05$.

2005	Npop	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
Cultures	2	-0,07 ^{NS}	0,12***	0,06 ^{NS}
Marinas	2	0,33***	0,04***	0,36***
Large (off-shore)	4	0,08**	0,03***	0,10***

2006	Npop	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
Cultures	2	-0,06 ^{NS}	0,14***	0,09**
Marinas	2	0,41***	0,10***	0,46***
Large (off-shore)	4	0,01 ^{NS}	0,03***	0,05*
Côte (in-shore)	2	0,11***	0,04***	0,14***

niveau des populations ($F_{IS} M1 = 0,23$; $P < 5.10^{-6}$ et $F_{IS} M2 = 0,50$; $P < 5.10^{-6}$), la différenciation génétique entre les deux marinas n'étant pas significative (voir plus bas).

Le même schéma général est observé en 2006, avec une absence de structure dans les populations cultivées et une structure marquée dans les marinas ($F_{IT} = 0,46$; $P < 5.10^{-6}$) liée à de très forts déficits en hétérozygotes, particulièrement dans la population M2 ($F_{IS} M2 = 0,69$; $P < 5.10^{-6}$).

Les déficits en hétérozygotes mesurés au sein des deux marinas semblent avoir des causes différentes. Dans la population M1, les déficits ne sont supportés que par un faible nombre de locus (5 et 2 des 10 en 2005 et 2006 respectivement), ce qui suggère la présence d'un effet Wahlund. Dans la population M2 en revanche, 8 et 9 des 10 locus sont concernés en 2005 et 2006 respectivement, ce qui semble refléter des événements de reproduction entre individus apparentés. Les estimations de taux d'autofécondation montrent d'ailleurs des valeurs très élevées et significatives des taux d'autofécondation les deux années (en 2005, $\hat{g}_2 = 0,43$ et en 2006 $\hat{g}_2 = 0,76$).

La situation est très différente pour les populations spontanées de milieu rocheux qui ne présentent aucun déficit en hétérozygotes, ni en 2005 ni en 2006, à l'exception de la population I_{2005} .

2.4 Différences génétiques entre populations

Sur l'ensemble du jeu de données, des valeurs significatives de structure génétique ont été observées en 2005 et en 2006 ($F_{ST} = 0,08$). La distribution de la diversité génétique entre populations est illustrée en figure 3.8, grâce à une analyse en composante principale réalisée avec le logiciel PCA-GEN. Cette représentation révèle en particulier l'isolement génétique des lots cultivés de 2005 ainsi que l'isolement génétique de la marina de Vauban en 2005.

Bien que les deux marinas ne soient pas significativement différentes l'une de l'autre, elles présentent des situations contrastées. La population M1 (Bas Sablons) ne se différencie pas de 3 des 4 populations du large (O1, O3 et O4) alors que les valeurs de F_{ST} entre la population M2 (Vauban) et les populations du milieu rocheux sont toutes significatives (tableau 3.9). Les populations spontanées du large ne présentent pas de différenciation génétique entre elles, à l'exception de la paire O1-O2 ($F_{ST} = 0,05$; $P = 0,00$).

Le même schéma est observé en 2006, avec des valeurs de différenciation génétique élevées et significatives pour toutes les paires de comparaisons impliquant les populations cultivées et la population M2. Sur les 20 paires de comparaisons impliquant la marina M2 et les populations spontanées de milieu rocheux, seules 6 présentent des valeurs significatives,

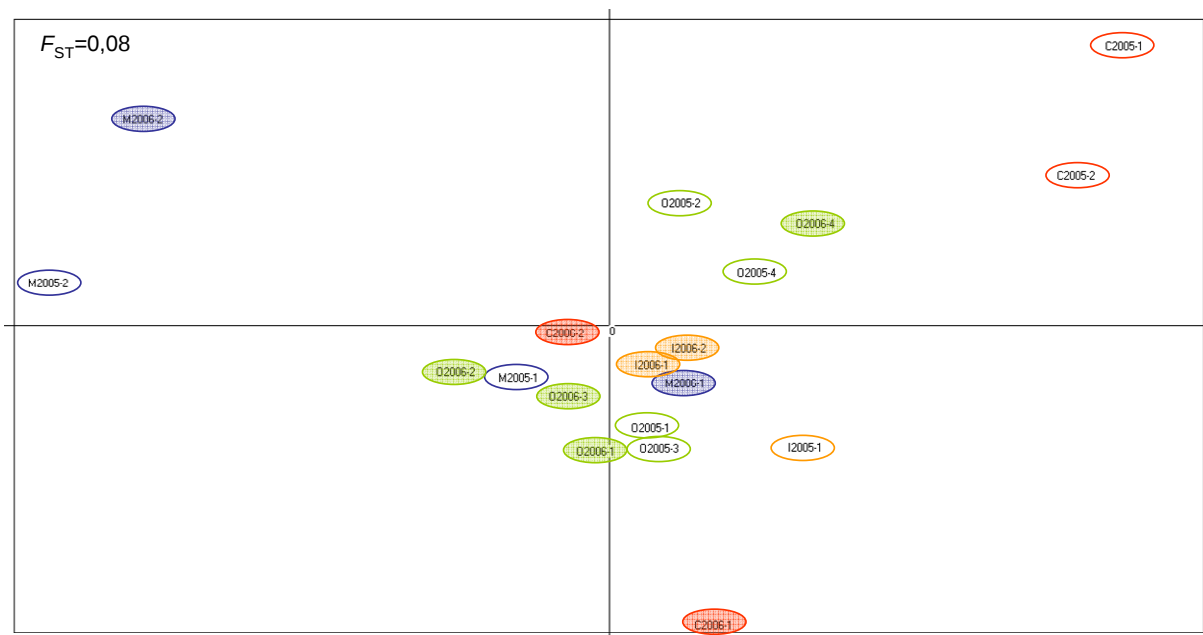


Tableau 3.10 : Estimation des valeurs de $\hat{\theta}$ par paire de populations de la baie de St Malo.

Les notations des noms de populations utilisées renvoient aux compartiments des populations (C pour culture, M pour marinas I pour les populations le long de la côte (in-shore) et O pour les populations au large (off-shore) et à l'année d'échantillonnage. Pour chaque paire de populations, les valeurs de $\hat{\theta}$ sont indiquées. Les valeurs en gras correspondent aux valeurs significatives après réajustement du seuil de significativité en suivant une procédure de Bonferroni .

A- comparaisons par paires de populations échantillonnées en 2005

B- comparaisons par paires de populations échantillonnées en 2006

C- comparaisons par paires de population entre 2005 et 2006

A- 2005

	C ₂₀₀₅ -1	C ₂₀₀₅ -2	M ₂₀₀₅ -1	M ₂₀₀₅ -2	I ₂₀₀₅ -1	O ₂₀₀₅ -1	O ₂₀₀₅ -2	O ₂₀₀₅ -3	O ₂₀₀₅ -4
C ₂₀₀₅ -1	-	0,12	0,13	0,21	0,13	0,15	0,06	0,13	0,09
C ₂₀₀₅ -2		-	0,11	0,18	0,15	0,14	0,10	0,12	0,08
M ₂₀₀₅ -1			-	0,04	0,04	0,02	0,03	0,00	0,03
M ₂₀₀₅ -2				-	0,13	0,08	0,07	0,06	0,08
I ₂₀₀₅ -1					-	0,03	0,08	0,04	0,06
O ₂₀₀₅ -1						-	0,05	0,02	0,02
O ₂₀₀₅ -2							-	0,03	0,02
O ₂₀₀₅ -3								-	0,02
O ₂₀₀₅ -4									-

B- 2006

	C ₂₀₀₆ -1	C ₂₀₀₆ -2	M ₂₀₀₆ -1	M ₂₀₀₆ -2	I ₂₀₀₆ -1	I ₂₀₀₆ -2	O ₂₀₀₆ -1	O ₂₀₀₆ -2	O ₂₀₀₆ -3	O ₂₀₀₆ -4
C ₂₀₀₆ -1	-	0,14	0,10	0,19	0,12	0,10	0,09	0,13	0,07	0,13
C ₂₀₀₆ -2		-	0,09	0,11	0,07	0,11	0,06	0,09	0,06	0,08
M ₂₀₀₆ -1			-	0,10	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,04
M ₂₀₀₆ -2				-	0,08	0,10	0,10	0,07	0,08	0,09
I ₂₀₀₆ -1					-	0,03	0,01	0,02	0,02	0,04
I ₂₀₀₆ -2						-	0,02	0,03	0,02	0,03
O ₂₀₀₆ -1							-	0,02	0,00	0,05
O ₂₀₀₆ -2								-	0,03	0,07
O ₂₀₀₆ -3									-	0,03
O ₂₀₀₆ -4										-

C- 2005-2006

	F_{ST}
C1	0,24
C2	0,13
M1	0,01
M2	0,02
I1	0,01
O1	0,01
O2	0,04
O3	0,00
O4	0,00

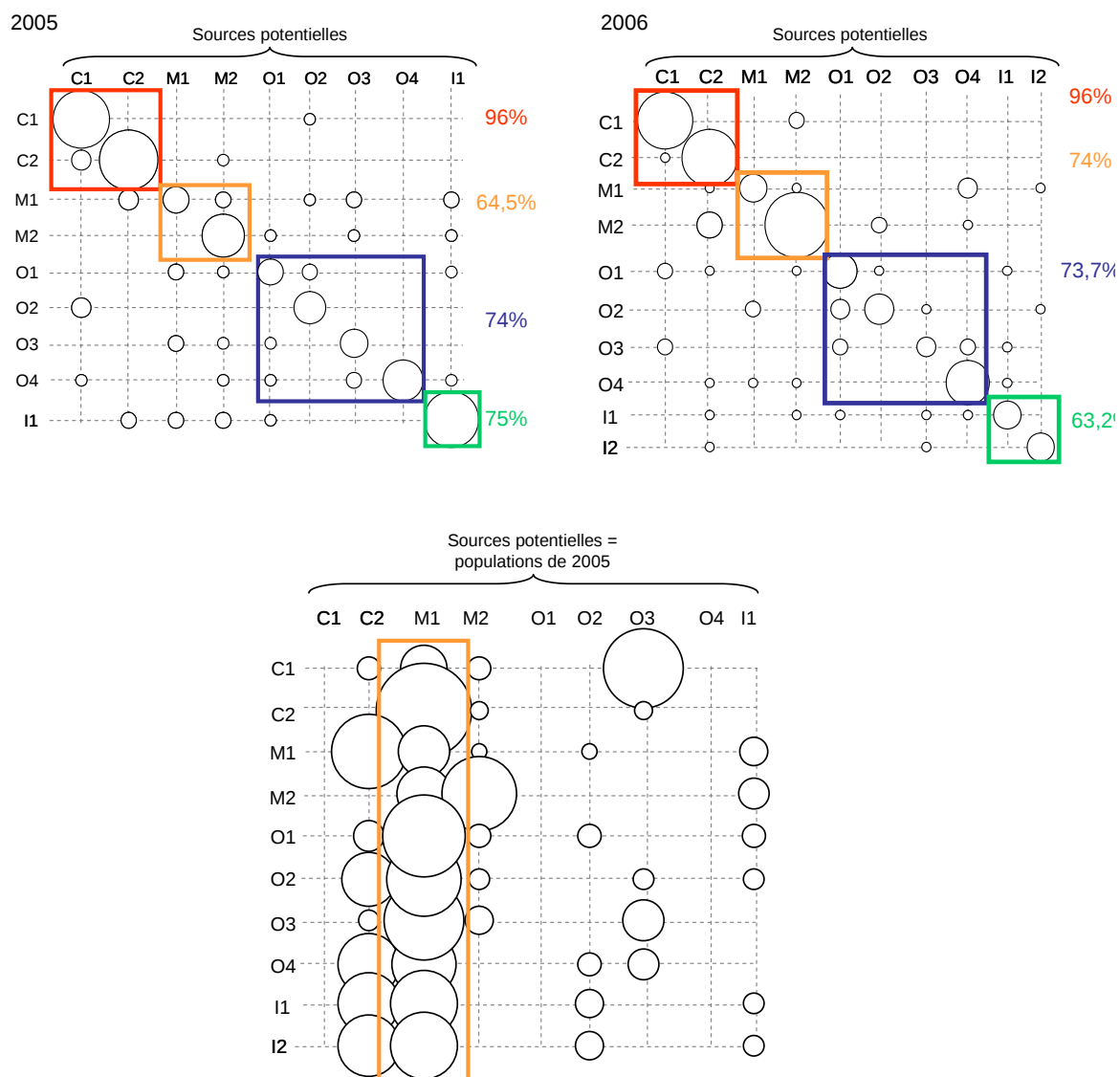


Figure 3.9 : Synthèse des résultats des tests d'assignation dans la baie de St Malo pour chacune des deux années d'échantillonnage.

Les codes utilisés font référence au compartiment des populations, avec les cultures (C), les populations des marinas (M), les populations du milieu rocheux au large (O) et les populations de la côte (I). Les populations sources sont en colonne. Le pourcentage d'individus assignés correctement à une population du même compartiment que son compartiment d'échantillonnage est noté à droite du tableau (ex : 96% des individus des cultures sont assignés à une population source « cultivée »).

A et B : les assignations sont réalisées pour les populations analysées en 2005 et 2006 respectivement, avec l'ensemble des populations comme source potentielle. Le pourcentage d'individu assigné à une population du même compartiment que celle dans laquelle il a été échantillonné est indiqué pour chaque compartiment. Par exemple, en 2005, 75% des individus échantillonnés dans une population du large sont assignés à une population du large.

C : les individus échantillonnés dans les populations en 2006 ont comme source potentielle les populations de 2005.

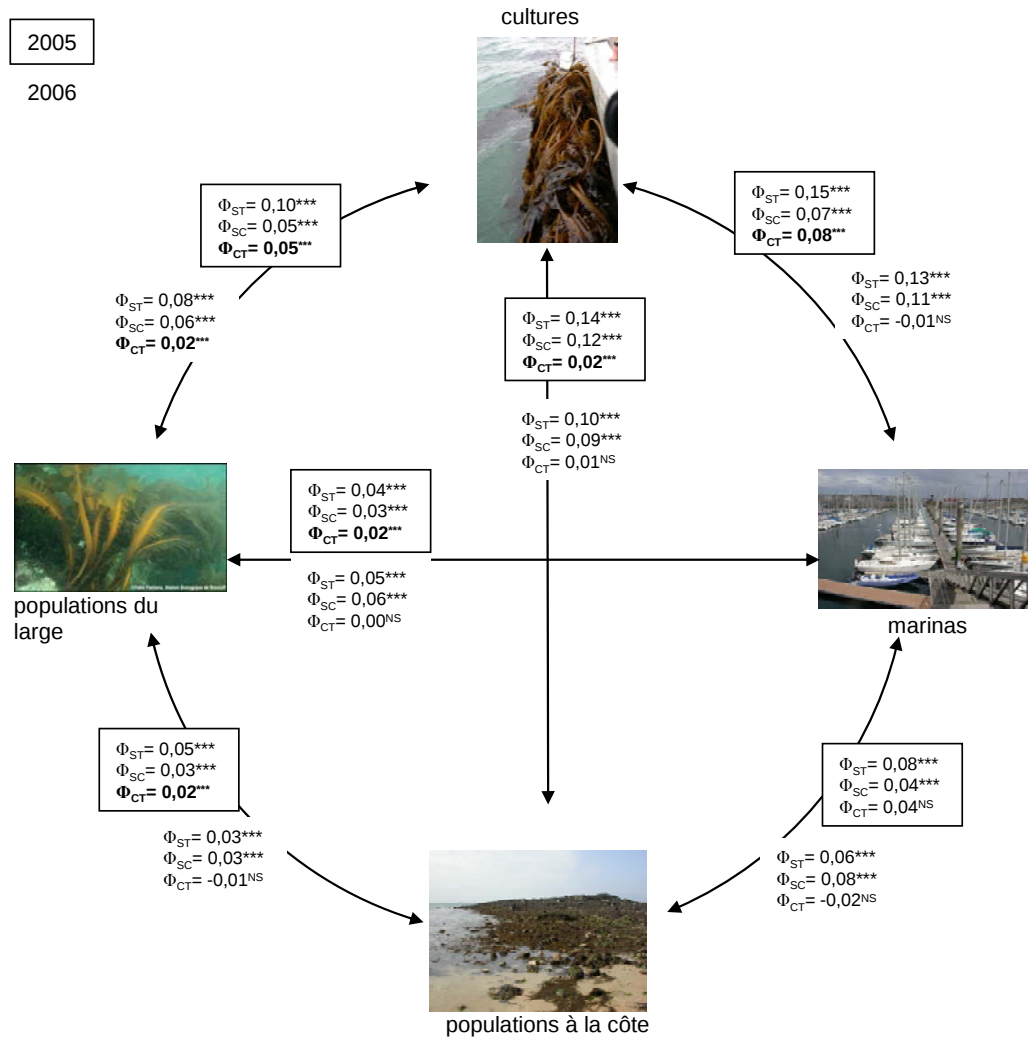


Figure 3.10 : Schéma synthétique des résultats d'AMOVA

Sur l'ensemble du jeu de données, une structure génétique significative est observée en 2005 ($\Phi_{ST} = 0,08$; $P < 10^{-5}$) et en 2006 ($\Phi_{ST} = 0,08$; $P < 10^{-5}$). Elle est expliquée selon les années par une structure génétique significative entre populations d'une même catégorie (Φ_{SC}) ou par des structures génétiques significatives entre catégories en 2005 (θ_{CT} 4 catégories-2005=0,04 ; $P=0,02$) mais non significatives en 2006 (θ_{CT} 4 catégories 2006=0,00; $P=0,49$) .

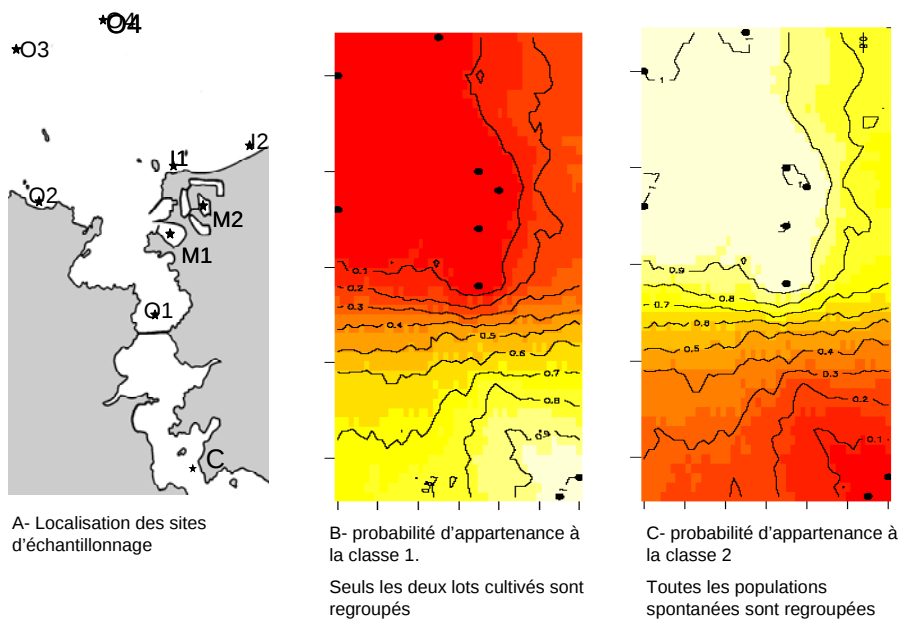


Figure 3.11 : Carte des probabilités postérieures d'appartenance aux 2 classes identifiées par Geneland pour les populations échantillonnées en 2005

La figure A rappelle la localisation des populations échantillonnées, Les figures B et C indiquent la position géographique des populations (points noirs) et les courbes d'isoprobabilités. Les populations se retrouvant au sein des courbes $P=0,9$ (la zone jaune clair à blanc) sont significativement proches génétiquement les unes des autres

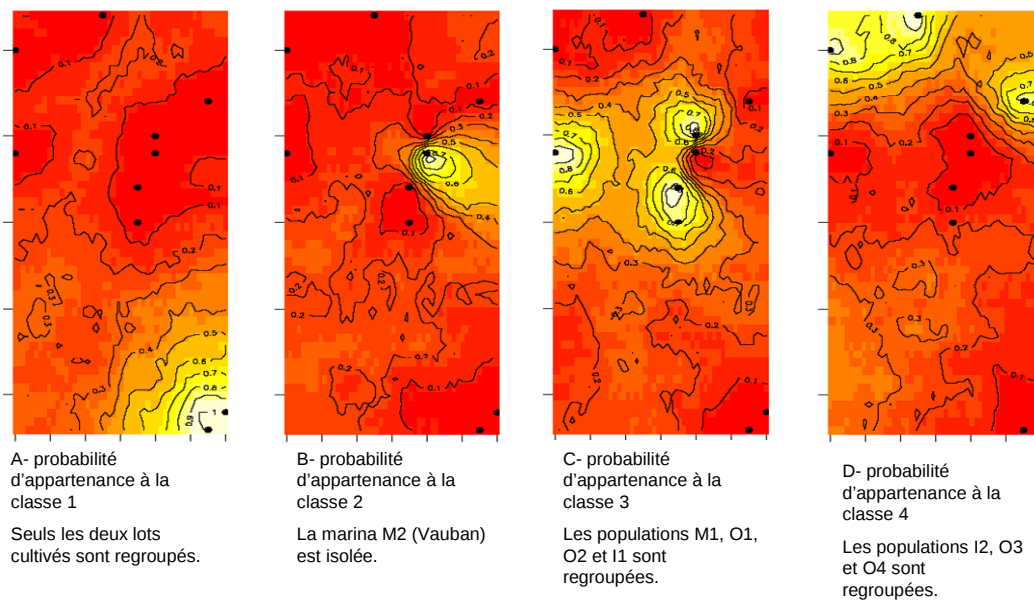


Figure 3.12 : Carte des probabilités postérieures d'appartenance aux 4 classes identifiées par Geneland pour les populations échantillonnées en 2006,

Les figures A-D indiquent la position géographique des populations (points noirs) et les courbes d'isoprobabilités. Les populations se retrouvant au sein des courbes $P=0,9$ sont significativement proches génétiquement les unes des autres.

suggérant un fond génétique commun et de fortes interactions entre la marina et les populations du milieu naturel.

Par ailleurs, toutes les populations spontanées analysées sont stables au cours du temps, avec des valeurs de F_{ST} non significatives entre 2005 et 2006, à l'exception de la population O2 ($F_{ST}=0,04$; $P=0,00$). En revanche, les cultures sont très variables d'une année à l'autre.

L'ensemble de ces différences deux à deux se retrouve dans les résultats des tests d'assignation individuelle réalisés avec le logiciel GeneClass (figure 3.9). Seuls 52,96% et 49,58% des individus du jeu de données en 2005 et 2006 respectivement présentent des valeurs de probabilités d'appartenance à une population supérieure à 5% avec une population de rang dont le score est supérieur à 50%. Cette importante part d'assignation non spécifique témoigne d'un fond génétique commun à l'ensemble des populations. Toutefois, les individus des populations cultivées sont assignés à 96% dans les cultures, indiquant une spécificité de la composition génotypique du pool cultivé. Au niveau populationnel, quelle que soit la population considérée, la majorité des individus assignés sont assignés dans la population dans laquelle ils ont été échantillonnés. On peut également noter ici, que plus de 40% des individus de la population M1 sont assignés à des populations n'appartenant pas au compartiment des marinas, suggérant une connexion entre cette population et les autres populations de la baie. De même, avec les tests d'assignation réalisés entre 2005 et 2006, en considérant les populations de 2005 comme source aux individus de 2006, 72,22% des individus de la population O1-2005 sont assignés dans la population M1 (figure 3.9.C).

Ces différences populations à populations sont retrouvées par le schéma général des résultats d'AMOVA réalisés en 2005 et en 2006 (figure 3.10). La faible structure génétique mesurée entre les trois groupes de populations en 2005 ($\theta_{CT}=0,04$, $P=0,01$) n'est pas retrouvée en 2006 ($\theta_{CT}=0,00$, $P=0,49$). Quelle que soit l'année, une structure génétique est mesurée au sein de chaque compartiment. En 2005, une structure génétique est observée entre chaque compartiment, sauf entre les marinas et les populations de la côte ($\theta_{CT}=0,04$, $P=0,01$, $P>0,05$). En 2006, la seule valeur de structure génétique significative est mesurée entre les cultures et les populations du large ($\theta_{CT}=0,02$, $P=0,01$). En outre, en 2006, les marinas ne sont plus significativement différenciées des autres compartiments de populations (figure 3.10).

La partition du jeu de données réalisée lors de l'AMOVA est basée sur des *a priori* d'appartenance à des catégories. Elle ne reflète probablement pas la structure réelle de notre

jeu de données. En effet, les simulations réalisées avec Geneland ne discriminent que 2 groupes en 2005 (figure 3.11), avec d'une part les populations cultivées et d'autre part l'ensemble des populations spontanées (i.e. les populations des marinas, les populations de milieu rocheux du large et de la côte). Les populations spontanées apparaissent ici largement connectées entre elles et les populations cultivées clairement isolées. Les simulations réalisées en 2006 confirment l'isolement des populations cultivées qui constituent à elles seules la classe 1 (figure 3.12). Le regroupement des populations spontanées est plus complexe en 2006. La marina M2, correspondant au port de Vauban, est isolée des autres populations et constitue la classe 2. La seconde marina M1, correspondant au port principal de St Malo et ouvert vers le large est regroupé avec 3 autres populations de milieu rocheux, O1, O2 et I1 dans la classe 3. Enfin, les populations de milieu rocheux O3, O4 et I2 sont regroupées dans la classe 4.

3. Discussion

Les activités humaines sont responsables de mouvements d'espèces au-delà de leur aire de répartition naturelle. Pourtant, au sein des aires d'introduction, leur rôle reste souvent mal caractérisé. Le principal objectif de cette étude était d'analyser comment les activités humaines peuvent contribuer à une échelle locale au développement d'une espèce exotique en milieu naturel et favoriser son expansion. Au cours de cette étude, deux résultats majeurs ont été obtenus et ont été validés sur les deux années consécutives d'observation: les différentes catégories de populations ne présentent pas les mêmes caractéristiques en terme de diversité et structure intra-population et les relations (*i.e.* flux de gènes) entre ces différentes catégories ne sont pas équiprobables et n'ont pas la même intensité.

3.1 Des populations aux caractéristiques contrastées

L'un des premiers résultats marquants mis en évidence par cette étude est l'existence de caractéristiques génétiques contrastées des populations en fonction de leur niveau d'interaction avec les activités humaines. Ainsi, les cultures, qui sont maintenues artificiellement, présentent des niveaux de diversité inférieurs à ceux des populations spontanées du milieu naturel et des marinas. Comme nous l'avons vu dans la partie B de ce chapitre, cette faible diversité peut être expliquée par l'utilisation d'un nombre limité d'individus pour la réalisation des semences, qui ne représente pas l'ensemble de la diversité

génétique des populations de la baie de St Malo. Les populations ne présentent pas de déficits en hétérozygotes suggérant que tous les individus utilisés pour la réalisation des semences se reproduisent librement, en panmixie.

Les populations des marinas et de milieu rocheux (*i.e.* du large et de la côte) sont des populations spontanées. Toutefois, leurs niveaux d'interaction avec les activités humaines sont différents, et des caractéristiques génétiques contrastées ont également pu être mises en évidence dans ces différents compartiments. En effet, bien que le niveau de diversité soit similaire entre les populations de milieu rocheux et les marinas, leur structure intrapopulation est différente. De très fortes structures intrapopulation ont été ainsi mesurées dans les marinas. De plus, des valeurs significatives de déficit en hétérozygotes voire de taux d'autofécondation ont été observées. Dans les populations du milieu rocheux, seules les populations de la côte sont associées à des déficits en hétérozygotes significatifs, mais aucun taux d'autofécondation significatif n'a été mesuré dans les populations de milieu rocheux. La sous-structure locale mesurée dans les populations de la côte pourrait ici être mise en parallèle avec des apports de propagules depuis d'autres populations. Lors des campagnes d'échantillonnage, des individus en épave ont en effet été trouvés sur les sites de la côte. Il est possible que de tels individus, s'ils étaient au pic de maturité sexuelle au moment de leur échouage, aient pu libérer localement leurs spores et soient ainsi à l'origine d'une hétérogénéité spatiale au sein des populations. Les populations échantillonnées au large ne présentent, en revanche, pas ce type de structure génétique (à l'exception de la population O1 en 2006). Il apparaît ici clairement que les populations du large fonctionnent comme des entités en panmixie où les individus présents échangent librement des gènes. De plus, les caractéristiques génétiques des populations de milieu rocheux se maintiennent entre 2005 et 2006 montrant une stabilité temporelle de ces populations. Il n'y a pas de signes de re-fondation de la population d'une année sur l'autre. Si les populations spontanées se sont installées en périphérie de populations soumises aux activités humaines, pouvant être assimilées comme des réservoirs de migrants, il semble ainsi que les populations de milieu rocheux sont désormais durablement installées dans le milieu naturel.

3.2 Les marinas et non les cultures au centre du processus d'expansion vers le milieu naturel

3.2.1 Des flux de gènes depuis le compartiment spontané vers les cultures

Il est avéré que des populations spontanées se sont développées en parallèle et à la suite d'échappement des sites de cultures d'*U. pinnatifida* (Floc'h et al. 1991). Dans nos

précédentes études, nous avons montré l'importance de la mise en culture d'*U. pinnatifida* dans les phénomènes d'introductions primaires et secondaires en Europe. Toutefois, depuis que des populations spontanées se développent en dehors des cultures, et en particulier en milieu naturel rocheux, aucune étude n'a permis d'évaluer dans quelle mesure les cultures continuent à alimenter les populations spontanées et à favoriser leur maintien.

En comparant les populations cultivées de la Rance et les populations spontanées de la baie de St Malo, d'importantes différences ont été observées entre ces compartiments, en termes de diversité mais aussi de structures génétiques. Les analyses nucléaires ont en effet révélé une diversité génétique plus faible dans les cultures que dans les populations spontanées et une importante différenciation génétique entre le compartiment cultivé et spontané. Les analyses de regroupement bayésien, réalisées avec le logiciel Geneland sur les échantillonnages de 2005 et de 2006, regroupent systématiquement les populations cultivées en une classe distincte des autres populations. Ce résultat peut être mis en parallèle avec les pratiques culturelles de la société C-Weed Aquaculture. Ainsi, si la création des plantules est réalisée avec un faible nombre d'individus et avec des individus provenant de différentes populations, les lots réalisés présentent des caractéristiques génétiques atypique, absentes du milieu naturel. De plus, les tests d'assignation des individus de 2006 dans des populations sources potentielles de 2005, n'a montré qu'une très faible part d'assignation d'individus de populations spontanées dans les populations cultivées de l'année précédente. Ces différents résultats indiquent que si les populations ont pu contribuer à l'introduction initiale d'*U. pinnatifida*, désormais les flux de gènes depuis ces populations vers les populations spontanées du milieu naturel sont quasi nuls. Au contraire même, les flux de gènes seraient davantage orientés depuis les populations spontanées vers les populations cultivées au travers des pratiques culturelles utilisées au sein de la société C-Weed Aquaculture : ils recherchent en effet à enrichir leur groupe de géniteurs en prélevant des individus du milieu naturel. La sélection réalisée est basée sur des critères phénotypiques, notamment la taille du thalle qui est la partie comestible de l'algue.

3.2.2 Certaines marinas pourraient favoriser la migration d'individus vers le milieu naturel

Nos résultats ont montré que les populations cultivées semblent isolées des populations spontanées et ne plus être à l'origine de flux de migrants vers les populations spontanées. La marina M2 apparaît également isolée, notamment en 2006 où les analyses bayésiennes de Geneland la montrent seule dans une classe.

Les populations de milieu rocheux et la population de la marina M1 semblent, en revanche, partager un fond génétique commun. D'une part, les valeurs de différenciation génétiques ne sont pas significatives pour la plupart des comparaisons réalisées entre M1 et les populations de milieux rocheux. Par ailleurs, les analyses réalisées dans Geneland associent systématiquement la marina M1 avec des populations du milieu rocheux (*i.e.* dans la même classe que toutes les populations du milieu rocheux en 2005 et avec 3 populations en 2006). Enfin, la population M1 est l'une des populations les plus diversifiées génétiquement et donc représente un réservoir potentiel de diversité génétique.

On peut toutefois se demander (i) si les marinas sont des réservoirs de propagules pour une dispersion naturelle d'*U. pinnatifida* dans la baie de St Malo ou (ii) si ce sont les bateaux de ces marinas qui agissent comme des vecteurs de dispersion de sporophytes (par exemple par du « fouling » sur les ancres des bateaux) ou de spores (dans les ballast) à l'échelle de la baie.

Chez les algues brunes, les spores sont compétentes à la germination dès leur libération et leur durée de vie n'excèdent en général pas quelques heures voire une journée (Santelices 1990). La grande majorité des spores germent donc sur des supports à proximité de l'individu qui les a émis, même si, dans certains cas, des dispersions à plus longues distances (*i.e.* de l'ordre du kilomètre ; Forrest et al. 2000, Gaylord et al. 2002), sont possibles grâce aux courants côtiers (Gaylord et al. 2002, Gaylord et al. 2004). Forrest et al. 2000) montraient que chez *U. pinnatifida*, 90% des spores pouvaient être maintenues en vie et compétentes au moins 5 jours en laboratoire et jusqu'à 14 jours au maximum. Les populations du milieu naturel présentent des valeurs de diversité génétique moyennes, suggérant que les populations sont issues d'un nombre relativement important de propagules. La dispersion de spores sur des distances de l'ordre du kilomètre est relativement rare chez les algues brunes (Gaylord et al. 2002, Gaylord et al. 2004) et la reproduction entre gamétophytes implique la germination de spores à de fortes densités. La dispersion naturelle d'un nombre limité de spores à l'échelle de la baie peut avoir eu lieu mais semble ne pas pouvoir, à elle seule, initier des populations spontanées en milieu rocheux avec de tels niveaux de diversité.

Les individus en épave peuvent également représenter des vecteurs de dispersion naturelle chez *U. pinnatifida*. Nous avons en effet déjà mentionné plus haut que, lors des campagnes d'échantillonnage à marée basse dans la baie de St Malo, quelques individus ont été observés en épave. Toutefois, contrairement à d'autres espèces comme *S. muticum*, *U. pinnatifida* n'est pas équipée de flotteurs la maintenant en surface et le thalle une fois

arraché dégénère rapidement. Il semble ici également peu probable que ce type de dispersion ait à lui seul contribué à la dispersion d'*U. pinnatifida* à l'échelle de la baie.

L'hypothèse d'une dispersion naturelle à l'échelle de la baie de St Malo ne peut être exclue. Néanmoins, compte tenu des distances de dispersion trouvées dans la littérature, il apparaît peu probable que suffisamment de propagules aient été transportées sur plusieurs miles nautiques et aient permis la colonisation du milieu naturel sans que des goulots d'étranglements ne soient encore visibles dans les populations, compte tenu de leur date récente d'installation (une dizaine ou quinzaine d'année).

Les activités nautiques pourraient donc avoir joué un rôle important dans le phénomène de dispersion à l'échelle de la baie. Cette hypothèse est d'autant plus probable que de nombreux bateaux ont été observés avec des individus sexuellement matures sur leur coque. Les sites rocheux étudiés sont, par ailleurs, des points de mouillage connus dans la baie et des sites importants de plongée. Les activités nautique dans le baie de St Malo sont très développées et la fréquentation des sites d'étude par des bateaux de plaisance sur lesquels des individus matures d'*U. pinnatifida* se développent, est probable. Les activités nautiques auraient pu ainsi permettre la fondation des populations par un nombre important d'individus, formant une population rapidement « autonome » et pouvant être plus ou moins fermée à la migration. Les populations I2, O3 et O4 sont en effet, contrairement aux populations I1, O1 et O2 proches de M1, assignées à une classe différente de M1 à la suite à l'analyse des regroupements bayésiens (cf. figure 3.9).

3.3 Des marinas spatialement hétérogènes et aux caractéristiques contrastées

Les analyses des données nucléaires ont révélé deux situations contrastées dans les marinas. La marina M1 (Bas Sablons) est génétiquement plus variable (en 2005 : $H_{0-M1}=0,34$; $H_{0-M2}=0,22$) que la marina M2 (Vauban), en particulier en 2006 où la diversité de Vauban est la plus faible de l'ensemble du jeu de données ($H_{0-M2}=0,12$). La façon dont se structure la diversité génétique au sein de ces deux marinas est également différente. La population M1 présente des déficits en hétérozygotes très inférieurs (bien que significatifs) à ceux observés à M2 (en 2006 : $F_{IS-M1}=0,14^*$; $F_{IS-M2}=0,69^{***}$). La population M2 présente de très importantes déviations aux proportions attendues sous l'équilibre de Hardy-Weinberg avec des taux d'autofécondation très élevés. De plus, 30% d'individus sont homozygotes à tous les locus, suggérant l'existence de parthénogenèse.

Chez *U. pinnatifida*, le principal stade de dispersion est la spore biflagellée. Les spores émises par les sporophytes matures se dispersent dans la colonne d'eau grâce aux courants et

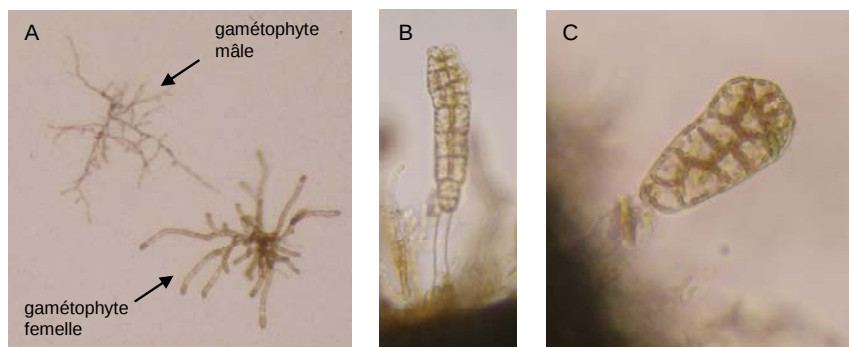


Figure 3.13 : Tests en laboratoire des capacités d'autofécondation d'*Undaria pinnatifida*

A- des gamétophytes mâles et femelles ont été obtenus à partir du même sporophyte et maintenus en contact dans des boîtes de pétri

B et C- résultats d'autofécondation : jeunes sporophytes de quelques cellules se développant dans les cultures de gamétophytes issus d'une seul individu

doivent germer en suffisamment grandes densités pour que les gamétophytes puissent se reproduire compte tenu de la très faible capacité de dispersion des gamétophytes mâles (Reed 1990). Le port de Vauban (où la population M2 a été échantillonnée) est une marina particulièrement isolée, dans un bassin fermé par une écluse où l'hydrodynamisme est très faible. En absence de courant, les spores émises par un individu ne vont donc probablement parcourir qu'une très faible distance, et il est fort probable que des gamétophytes mâles et femelles issus d'un même individu se retrouvent fixés à proximité. Des tests réalisés en laboratoire confirment la possibilité d'autofécondation de cette espèce : en mettant en cultures des gamétophytes issus du même individu, des stades sporophytiques de quelques cellules sont apparus après quelques semaines (Figure 3.13). Ce phénomène n'est pas unique chez les algues brunes. Billot et al. (2003) avait, par exemple, mis en évidence la possibilité d'autofécondation chez une autre Laminariales *Laminaria digitata*.

La parthénogenèse pourrait également expliquer les structures génotypiques observées et notamment la présence de 30% d'individus homozygotes aux 10 locus nucléaires. Fang (1983) a montré que chez *U. pinnatifida*, des phénomènes de parthénogenèse pouvaient avoir lieu, avec le développement d'un sporophyte à partir de gamétophyte femelle, s'accompagnant d'une diploïdisation spontanée. Les individus parthénogénétiques ne donneraient ensuite qu'une descendance entièrement femelle, capable elle aussi de parthénogenèse (Fang 1983). Toutefois, ces observations ont été réalisées exclusivement en laboratoire et la possibilité de parthénogenèse en milieu naturel chez cette espèce reste à vérifier ; la parthénogenèse étant souvent considérée comme un artefact de laboratoire. Une récente étude, réalisée dans des populations naturelles du Chili, chez l'algue brune *Lessonia nigrescens* semble pourtant indiquer que la parthénogenèse pourrait avoir lieu en faible fréquence en milieu naturel chez les Laminariales. Parmi 45 individus étudiés dans une population du milieu naturel, un individu de *L. nigrescens* n'a produit que des gamétophytes femelles, indiquant que cet individu pouvait être issu d'une parthénogenèse (Oppliger et al. 2007).

Le développement d'*U. pinnatifida* dans une marina très fermée, où l'hydrodynamisme est réduit, est surprenant. Cette espèce est généralement décrite comme affectionnant les milieux à fort hydrodynamisme. La possibilité d'une reproduction par autofécondation ou par parthénogenèse apparaîtrait ici comme une stratégie efficace de reproduction permettant le maintien de populations dans un environnement peu favorable. Toutefois, la part relative de chaque stratégie n'a pas pu être appréhendée plus finement dans

le cadre de cette thèse. Les individus parthénogénétiques ne produisent que des gamétophytes femelles, une mesure du sexe ratio des individus de Vauban pourrait être réalisée. Par ailleurs, des essais de cultures plus poussés pourraient permettre d'évaluer l'impact d'une reproduction entre individus apparentés, notamment en termes de survie et de reproduction.

La population M1 dans le port des Bas Sablons ne présente pas ces taux d'autofécondation, et aucun individu homozygote à tous les locus n'a été identifié. Le déficit en hétérozygotes de cette population n'est observé que sur un faible nombre de locus, ce qui suggère un effet Wahlund. Lors de l'échantillonnage, des individus de plusieurs classes de taille et de différents degrés de maturité ont été prélevés. Si ces décalages de développement correspondent au développement différentiel de groupes d'individus génétiquement différents, alors l'échantillonnage de toutes les classes d'individus crée un effet de structure au sein de la population (effet Wahlund temporel). La structure au sein de la population des Bas Sablons pourrait aussi être liée à une structure spatiale de la population à l'échelle du bassin. En effet, si la dispersion des spores est limitée, alors la reproduction se fait majoritairement entre individus proches, créant ainsi une sous structure de la population. L'échantillonnage réalisé ici avait pour objectif de décrire l'ensemble de la population et couvrir l'ensemble du bassin. Un échantillonnage plus adapté aux hypothèses formulées (ex : par pontons ou classe tailles) permettrait d'affiner notre compréhension de la structure de cette population.

4. Conclusion

Nous avons mis en évidence que les populations spontanées d'*U. pinnatifida* présentent des caractéristiques génétiques contrastées, y compris au sein d'une même catégorie de populations (ex : marinas). Les populations de milieu rocheux apparaissent comme des populations fonctionnant comme des entités autonomes et stables sur les deux années de suivi, caractérisées par une reproduction panmictique.

Nos résultats ont également mis en évidence que si les populations cultivées avaient pu contribuer à l'introduction initiale d'*U. pinnatifida*, elle ne semble aujourd'hui plus constituer un réservoir de migrants potentiels pour alimenter les populations spontanées. Les activités nautiques et les populations se développant dans certaines marinas semblent, en revanche, pouvoir constituer un réservoir important en migrants. La capacité d'*U. pinnatifida*

à se développer dans des milieux anthropisés et la possibilité d'être transportée par l'homme semble ici largement contribuer à son expansion locale. Cette situation compenserait ses faibles capacités de dispersion naturelle, limitant la fondation de nouvelles populations dans le milieu naturel avoisinant les sites primaires d'introduction. Passé ce cap, les populations du milieu rocheux semblent établies et se développer indépendamment des populations cultivées ou des populations des marinas. Des suivis à long terme sont néanmoins nécessaires pour confirmer l'hypothèse d'une stabilité durable de ces populations spontanées en milieu naturel.

CHAPITRE 4

DYNAMIQUE DEMOGRAPHIQUE ET GENETIQUE CHEZ UNE ESPECE INTRODUITE A CYCLE DE VIE ANNUEL

A. Introduction. Rappel de la problématique

Dans les trois premiers volets de ce travail de thèse, l'installation des populations d'*U. pinnatifida* a été étudiée par une approche spatiale à différentes échelles depuis une échelle quasi-mondiale jusqu'à une échelle locale (*i.e.* au sein d'une baie). Cette approche spatiale avait pour but d'étudier les relations (en terme de flux de gènes) entre les populations de différentes aires géographiques ou types de milieux à ces différentes échelles. Cette analyse avait essentiellement pour objectif d'évaluer le type d'activités humaines à l'origine de l'introduction initiale d'*U. pinnatifida* ainsi que d'établir l'influence des activités anthropiques sur le maintien de flux de gènes entre populations introduites. Dans cette dernière partie du travail de thèse, ce n'est plus l'espace mais le temps qui devient le paramètre essentiel : j'ai cherché ici à décrire et à comprendre comment les populations spontanées d'*U. pinnatifida*, s'installent puis se maintiennent, année après année. *U. pinnatifida* est, en effet, une algue annuelle, dont le cycle de vie est composé d'une phase microscopique, le gamétophyte, et d'une phase macroscopique, le sporophyte. Le sporophyte se développe en quelques semaines ou mois, puis, arrivé à maturité, libère des spores haploïdes dans la colonne d'eau et meurt. Une fois fixées, les spores germent et se développent en gamétophytes mâles ou femelles. La reproduction des gamétophytes permet le développement d'une nouvelle génération de sporophytes (Saito 1975). L'installation durable d'*U. pinnatifida* nécessite donc le rétablissement, année après année, de la population.

Les caractéristiques du cycle de vie des espèces annuelles, comme un taux de croissance élevé, un investissement important dans la reproduction et une forte production de propagules, sont associées à de fortes capacités de colonisation et souvent citées comme des critères majeurs dans la définition du potentiel invasif d'une espèce (*e.g.* Ruiz et al. 2000a). Les objectifs de ce travail étaient ainsi de caractériser les dynamiques temporelles de développement du stade visible sporophytique et d'estimer comment –et si– elles pouvaient participer au succès d'introduction d'*U. pinnatifida*. Pour cela, nous avons suivi deux types de populations spontanées : des populations spontanées établies dans deux ports et une population installée dans le milieu naturel pendant 4 et 5 ans respectivement.

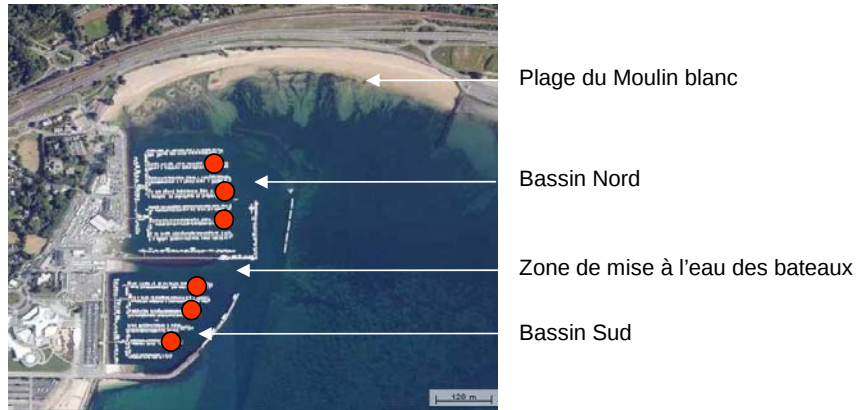
La première étude présentée ici est un suivi réalisé dans les ports de Brest et de Perros-Guirec entre décembre 2002 et décembre 2006. A partir d'observations de terrain, l'objectif principal de ce suivi était de caractériser les dynamiques temporelles de recrutement et de développement des individus, en partant de la colonisation de substrats vierges afin d'appréhender si ces dynamiques évoluaient dans le temps. Ces études de terrain ont été complétées par une approche indirecte de la dynamique d'installation de l'espèce via une étude de la variation temporelle de la diversité génétique. Lors de la mise en place du suivi, les seules études réalisées le long des côtes françaises sur les dynamiques démographiques d'*U. pinnatifida* concernaient des populations spontanées de milieu rocheux. Or, les populations d'*U. pinnatifida* se développent au niveau du zéro marégraphique, les rendant particulièrement difficiles d'accès. Une étude a été réalisée par Castric-Fey et al. (1999) dans la baie de St Malo : une population spontanée, accessible à marée basse, a été suivie mensuellement entre octobre 1994 et juin 1996 et a permis d'évaluer les périodes de recrutement de l'espèce et de mesurer les taux de croissance d'une vingtaine d'individus. Ce suivi n'a malheureusement pu inclure qu'un nombre limité d'individus et a dû être arrêté lorsque la population est devenue trop dense (Castric-Fey et al. 1999). L'étude mensuelle d'une population spontanée sur une période de 4 ans est donc rare pour cette espèce.

La seconde partie de ce chapitre comprend le suivi sur 5 années d'une population de milieu naturel rocheux. Compte tenu de la difficulté d'accès de ce type de populations comme mentionné plus haut, nous avons choisi d'étudier les dynamiques temporelles d'établissement de cette population de façon indirecte, en se basant sur des outils de génétique des populations. Les variations annuelles de la diversité génétique ont été étudiées afin d'évaluer l'importance des effets de dérive génétique au cours du temps. Cette population spontanée, située en Bretagne dans l'Aber Wrac'h, se développe dans un milieu rocheux, exempt de perturbations anthropiques majeures et directes sur la période du suivi.

B. Dynamique de recrutement et de croissance dans un milieu anthropisé, les marinas.

Les ports et marinas sont classiquement décrits comme le point d'entrée privilégié de nombreuses espèces exotiques marines. Ces milieux sont, de fait, en interaction directe avec le trafic maritime, classiquement décrit comme l'un des principaux vecteurs d'introduction

A) Port de plaisance de Brest



B) Port de plaisance de Perros Guirec



Figure 4.1 : Photographies des ports de plaisance où ont été réalisés les suivis phénologiques mensuels entre décembre 2002 et décembre 2006.

Le port de Brest (A) est l'un des principaux port de plaisance de Bretagne et est à proximité du port de commerce. Le port de Perros Guirec (B) est plus modeste. Son bassin est fermé par une écluse dont les portes ne sont ouvertes que quelques heures par jour en fonction des coefficients et des horaires de marée. Les points rouges indiquent les pontons où ont été effectués les suivis.

des espèces exotiques (Gouletquer et al. 2002) et sont également des milieux fortement perturbés dans lesquels les espèces exotiques peuvent trouver des niches écologiques vacantes pour leur installation durable (voir Sax & Brown 2000).

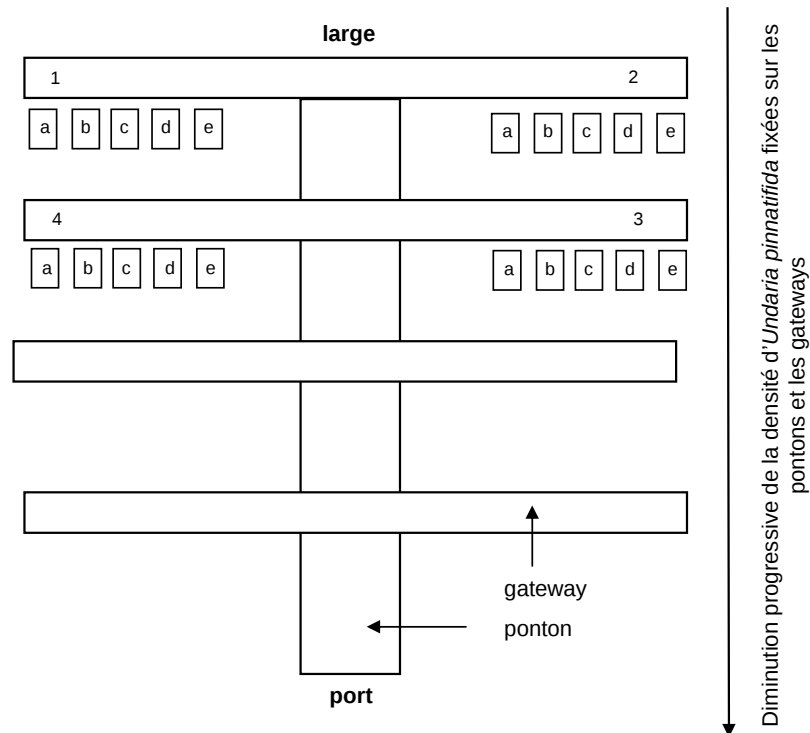
Dans le cas d'*U. pinnatifida*, nous avons mis en évidence, dans le chapitre 2, que le trafic maritime pouvait être l'un des principaux vecteurs d'expansion au sein même d'une région d'introduction. De même, l'étude réalisée dans le chapitre 3 à l'échelle d'une baie, la baie de St Malo (France), a mis en évidence que les populations se développant dans les marinas pouvaient représenter des réservoirs de migrants pour l'installation de populations spontanées en milieu naturel. Si ces populations semblent avoir un rôle primordial dans la dynamique d'installation et d'expansion de cette espèce, peu d'études se sont intéressées à leurs dynamiques démographiques. La mise en place d'un suivi phénologique mensuel avait pour objectif principal d'identifier les périodes de développement d'*U. pinnatifida*, de comprendre la dynamique démographique de la population en fonction des saisons, en mesurant des critères individuels tels que le taux de croissance et la maturité. Les populations des marinas se développent sur des pontons flottants et sont donc accessibles toute l'année et toute la journée, quel que soit le coefficient de marée, permettant un suivi régulier d'un grand nombre d'individus sans limitation de temps par les marées.

Depuis la mise en place de notre suivi, les résultats d'un suivi du recrutement, dans une marina de Californie –autre région d'introduction d'*U. pinnatifida*– ont été publiés et serviront de point de comparaison à nos résultats (Thornber et al. 2004). Dans cette étude, les auteurs avaient mis en évidence l'existence de deux cohortes, l'une mineure en automne et l'autre plus importante en hiver. Un autre résultat important de Thornber et al. (2004) est que, les dynamiques de développement des sporophytes d'*U. pinnatifida* sont particulièrement sensibles aux conditions environnementales et en particulier aux températures de l'eau de surface : les pics de recrutement apparaissant 2 mois après que la température de l'eau est descendue à 15°C dans la population qu'ils ont étudiés.

La mise en place de suivis similaires, dans deux régions différentes d'introduction, offre ici l'opportunité d'évaluer si les dynamiques démographiques d'une espèce exotique peuvent être variables entre les régions d'introduction. Les résultats obtenus dans la marina en Californie seront ainsi présentés en parallèle à mon travail et une partie des analyses réalisées ici suivra celles réalisées par Thornber et al. (2004) à des fins de comparaison.

A l'origine, une approche combinée de démographie et de génétique des populations avait été envisagée dans le cadre de cette thèse. En effet, l'analyse temporelle de la diversité génétique des populations couplée à l'étude des structures démographiques permet l'étude de

A) Dispositif expérimental mis en place sur chaque ponton



B) Plaques en aluminium de 12cm sur 20cm, fixées tous les 3 mois, de décembre 2002 à décembre 2003



C) Série de plaques fixées au gateway



Figure 4.2 : Dispositif expérimental mis en place pour le suivi phénologique

(A). Les plaques en aluminium (B) ont été installées tous les 3 mois entre décembre 2002 et décembre 2003 (a, b, c, d et e correspondent aux différentes séries de plaques) et repérées grâce à un code couleur installé sur le bout. Le suivi du recrutement et le devenir des individus a été réalisé mensuellement entre décembre 2002 et décembre 2007 sur les cinq séries de plaques (C).

différents mécanismes micro-évolutifs, notamment en liaison avec le système de reproduction, la taille efficace des populations ou encore l'importance relative de la migration et de la reproduction locale dans une population donnée (voir par exemple en milieu aquatique d'eau douce, (Charbonnel et al. 2002), en milieu marin (Palm et al. 2003) ou dans le cas d'une espèce marine introduite (Dupont et al. 2007). L'échantillonnage systématique des recrues et des individus se développant sur les pontons à proximité des plaques a ainsi été réalisé. Néanmoins, par faute de temps, seule une partie des analyses génétiques a pu être incluse à ce travail de thèse et seule une étude partielle de la diversité génétique temporelle des populations portuaires sera présentée dans ce mémoire de thèse.

1. Matériel et méthode

1.1 Présentation des sites d'étude

Un suivi phénologique a été mis en place dans deux marinas bretonnes, colonisées par *U. pinnatifida* : Brest-Le Moulin Blanc et Perros-Guirec. Ces deux marinas sont suffisamment proches pour que les suivis puissent être effectués le même jour, mais présentent des caractéristiques contrastées (ex : port en pleine eau vs port à écluse) qui permettront d'évaluer la susceptibilité des dynamiques de populations d'*U. pinnatifida* aux conditions environnementales locales. A Brest, la marina se divise en deux bassins, ouverts sur la rade de Brest. Elle accueille plus d'un millier de bateaux de plaisance (figure 4.1). A Perros-Guirec, le bassin est fermé par une digue et la centaine de bateaux qui y mouillent ne peut en sortir qu'en passant une écluse, ouverte quelques heures par jour, en fonction des horaires et des coefficients de marée (figure 4.1).

1.2 Dispositif expérimental et suivi phénologique

Un dispositif de suivis sur des supports vierges a été mis en place. Cinq séries de plaques en aluminium de 12*20cm ont été installées, tous les 3 mois de décembre 2002 à décembre 2003, sur 6 pontons à Brest et 3 pontons à Perros-Guirec, représentant un total de 180 plaques soit 86400cm² de surface disponible à la colonisation (figure 4.2). L'installation séquentielle de nouveaux supports tous les trois mois pendant la première année de suivi, avait pour but d'analyser la dynamique de colonisation d'un nouveau substrat en fonction de la période à laquelle il est disponible. En comparant les périodes de développement des premiers individus sporophytiques, avec la présence d'individus fertiles dans les populations, il sera alors possible d'émettre des hypothèses quant aux périodes de présence des spores dans

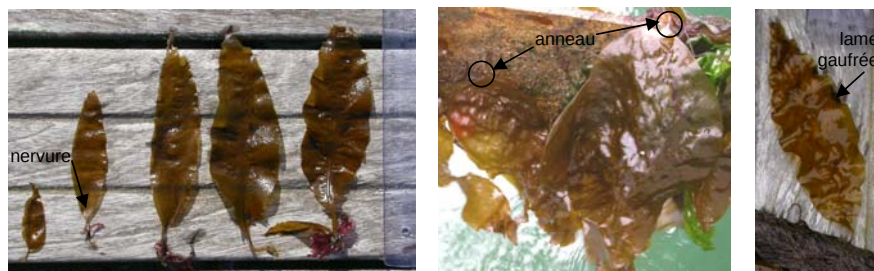


Figure 4.3 : Critères d'identification des jeunes sporophytes de Laminariales observées dans les marinas

La « nervure » centrale d'*Undaria pinnatifida* (a); l'anneau du bulbe de *Sacchoriza polyschides* (b); la lame gaufrée de *Saccharina latissima* (anciennement *Laminaria saccharina*) (c)

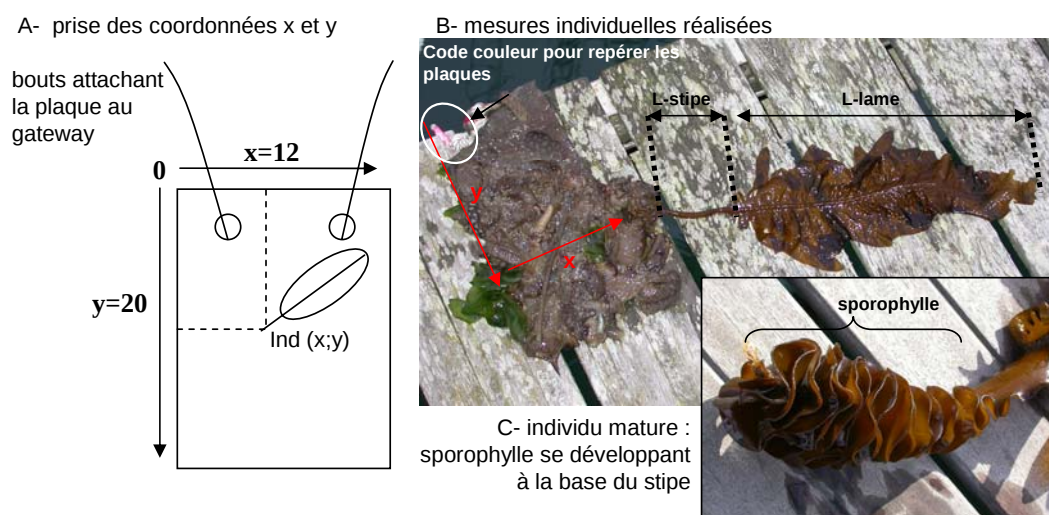


Figure 4.4 : Suivi individuel des sporophytes d'*Undaria pinnatifida*

Les individus sont repérés grâce à leurs coordonnées x et y sur chaque plaque (A). Les longueurs de lame et de stipe (B) et la maturité (C) ont été notées chaque mois. Les plaques installées à différentes périodes de l'année sont distinguables grâce à une marque de couleur sur le bout (rouge sur la photo).

la colonne d'eau et délais de développement des gamétophytes. Les suivis ont été réalisés tous les mois à la même date, de décembre 2002 à décembre 2006 et l'ensemble du dispositif expérimental était en place à partir de janvier 2004.

Les sporophytes des différentes espèces d'algues brunes et plus particulièrement des Laminariales sont distinguables dès les premiers centimètres. Pour *U. pinnatifida*, la « nervure » centrale est parfaitement visible à la base de la lame dès que l'individu mesure 5cm (figure 4.3). Ainsi, chaque individu de plus de 5cm, nouvellement apparu a été cartographié comme indiqué sur la figure 4.4. Les longueurs de lame et de stipe ont été mesurées et la présence de structures de reproduction (*i.e.* sporophylle) notée. Ces données individuelles permettent ainsi d'obtenir des données sur :

- la dynamique de recrutement (période et intensité),
- de taux de croissance individuelle mensuel pour les individus observés au moins deux mois successivement
- d'âge à la maturité et
- de durée de vie, ici corrélée au nombre d'observations d'un même individu.

Au cours du suivi de nombreuses plaques ont disparu, enlevées par les plaisanciers ou à cause du réagencement des pontons dans les ports. Par exemple, dans le port de Perros-Guirec, 25 % des plaques installées en décembre 2002 ont disparues. De même dans le port de Brest, sur un total de 11520cm² de plaques installées en juin 2003, seuls 3840cm² (soit 33% de la surface initiale) étaient encore en place à la fin du suivi en décembre 2006. Pour prendre en compte ces variations de supports disponibles, le nombre d'individus sera toujours exprimé par unité de surface totale disponible (ex : 11520 cm² dans le port de Brest et 5760 cm² dans le port de Perros-Guirec en début d'expérience).

Pour tester si les densités des populations évoluent au cours du temps, les densités moyennes mesurées mensuellement au cours des trois années seront comparées par un test de Student. Une ANOVA à un facteur a été réalisée pour chercher des variations significatives de durée de vie, d'âge à la maturité et de nombre de mois matures entre les individus arrivant à maturité et se développant précocement en automne-hiver (septembre à février) et ceux se développant au printemps-été (mars à août).

Dans l'étude réalisée par Thornber et al. (2004), les auteurs ont montré que les pics de développement des sporophytes étaient directement corrélés à une baisse de la température en

dessous de 15°C deux mois auparavant. Pour évaluer si le développement des sporophytes pouvait également être mis en relation avec les variations de température dans les deux ports, la température moyenne de surface de l'eau a été incluse à cette étude. Pour le port de Brest, les températures de surface sont des températures mesurées in situ par la bouée SOMLIT (Service d'Observation en Milieu Littoral, INSU-CNRS, à Brest) située à quelques centaines de mètres de la marina. A Perros-Guirec, les données de température nous ont été fournies par Météo France et correspondent à des températures estimées à partir d'images satellites. Les densités de recrues ont ensuite été mises en parallèle de la température de l'eau 2 mois auparavant comme décrit dans Thornber et al. (2004). Pour tester si la même relation pouvait être mise en évidence dans les deux marinas de notre étude, les densités moyennes des recrues apparaissant 2 mois après que la température soit descendue en dessous de 15°C ont été comparées à la densité des recrues apparaissant alors que la température de l'eau était supérieure à 15°C deux mois auparavant par un test de Student réalisé dans le logiciel Minitab v13.

1.3 Diversité génétique temporelle

En vue d'analyses génétiques, des prélèvements ont été réalisés dans les ports de Brest et de Perros-Guirec entre 2003 et 2006 : (i) un petit morceau de thalle de chaque nouvelle recrue identifiée lors du suivi phénologique a été prélevé et (ii) une fois par an, en avril, dans chacun des deux ports, 150 sporophytes se développant à proximité des plaques ont été échantillonnés. Un échantillonnage initial beaucoup plus modeste de Brest et de Perros Guirec avait également été réalisé en 2002, avec 29 et 22 individus respectivement. Dans le cadre de cette thèse, seule une partie de cet échantillonnage a été exploité. A Brest, 2 années ont été analysées, avec 29 individus en 2002 et 96 individus en 2005. A Perros-Guirec, 3 années ont été analysées, avec 22 individus en 2002, 32 en 2003 et 96 en 2005. Les échantillons de 2005 à Brest et les échantillons de 2003 et de 2005 à Perros-Guirec ont été sélectionnés parmi 150 individus échantillonnés dans les ports en avril, de telle sorte que les individus analysés soient répartis sur l'ensemble de la marina.

Les extractions et le génotypage de ces individus ont été réalisés comme décrit précédemment, dans la section D.1.b du chapitre 2. Les marqueurs microsatellites utilisés pour cette étude sont les mêmes 10 locus, que ceux utilisés dans les études précédentes à l'échelle européenne et dans la baie de St Malo. Toutes les analyses présentées ici sont basées sur des estimateurs de diversité (R_{all} , H_e , H_o), de structure intrapopulation (F_{IS}) et interpopulations (F_{ST}) décrits dans la partie D.1.c du chapitre 2.

Tableau 4.1 : Date de développement du premier sporophyte et délai associé en fonction de la date de mise à l'eau des plaques et dans chacun des deux ports.

Les plaques mises à l'eau en mars 2003 et en juin 2003 présentent des temps de latence avant le développement des premiers sporophytes similaires (8 à 11 mois). Les temps de latence les plus longs sont observés pour les plaques mises à l'eau en septembre 2003 pour lesquelles 17 et 15 mois dans les ports de Brest et de Perros-Guirec respectivement sont observés. Les plaques installées en décembre 2002 et décembre 2003 présentent des temps de latence variables selon les ports et les années considérées et sont compris entre 4 et 12 mois.

	Décembre 2002		Mars 2003		Juin 2003		Septembre 2003		Décembre 2003	
Brest	Décembre 2003	12	Novembre 2003	8	Mars 2004	9	Février 2005	17	Avril 2004	4
Perros Guirec	Mai 2003	5	Février 2004	11	Février 2004	8	Décembre 2004	15	Novembre 2004	11

Tableau 4.2 : Nombre total de sporophytes matures observés sur les plaques.

Les valeurs en gras indiquent que plus de 20% des individus sont matures. Les périodes auxquelles des individus fertiles sont observés sont relativement étendue au cours d'une année (de novembre 2003 à juin 2004 dans le port de Brest) mais des pics de maturité se dégagent à la fin du printemps et pendant l'été.

2004	janv	févr	mars	avr	mai	juin	juil	août	sept	oct	nov	déc
Brest			1	11	27	13	16				4	4
Perros Guirec				16	25	21	26					

2005	janv	févr	mars	avr	mai	juin	juil	août	sept	oct	nov	déc
Brest	3	2	2	2	2	9			1	1		
Perros Guirec			4	15	7	18	14			2		

2006	janv	févr	mars	avr	mai	juin	juil	août	sept	oct	nov	déc
Brest					6	5	2			1	2	
Perros Guirec	1	1		14	52	63	38	36				

2. Résultats

L'apparition de stades macroscopiques sur les plaques témoigne de la fixation des spores sur les supports, de leur germination, puis de la reproduction des gamétophytes fixés. Le dispositif expérimental mis en place avec l'installation séquentielle de supports vierges a permis le développement de 2450 individus sur l'ensemble de la période du suivi dont 892 à Brest et 1558 à Perros-Guirec.

2.1 Période de colonisation de supports disponibles : effets d'installation séquentielle de plaques

La première série de plaque a été mise en place en décembre 2002 dans les deux ports et les premiers recrutements ont été observés 5 mois plus tard dans le port de Perros-Guirec (mai 2003) mais seulement 11 mois plus tard dans le port de Brest (novembre 2003). Il est intéressant de noter que le temps de latence entre la mise en place des plaques et l'observation des premières recrues varie (de 4 à 17 mois) avec la date de mise en place des plaques.

Ainsi pour les plaques installées :

- en hiver (décembre), les délais sont variables selon les années et les ports. Pour les plaques installées en décembre 2002, les premiers sporophytes sont observés 12 mois plus tard à Brest et 5 mois plus tard à Perros-Guirec (mai 2003). Cette tendance s'inverse avec les plaques mises à l'eau en décembre 2003, où les temps de latence sont plus courts à Brest (4 mois) qu'à Perros-Guirec (11 mois). Ces résultats montrent que la colonisation de nouveaux substrats par *U. pinnatifida* peut être rapide, en 4 mois, entre la fin de l'hiver et le début du printemps, incluant la germination des spores, la maturation et la reproduction des gamétophytes et enfin le développement d'un jeune sporophyte. Ce développement rapide ne comprend cependant qu'un très faible nombre d'individus : 6 à Perros-Guirec en 2003 et 3 à Brest en 2004.
- en fin d'hiver et printemps (mars et juin), les premiers sporophytes ont été observés environ 9 mois après la mise en place des plaques (entre 8 et 11 mois ; tableau 4.1)
- en fin d'été (septembre), les délais avant le développement d'un sporophyte sont les plus importants, supérieurs à un an dans les deux ports (17 mois à Brest et 15 mois à Perros-Guirec). La mise en place de plaques à cette époque ne permet donc pas le développement d'individus plus précoces que sur les plaques mises à l'eau en décembre. De même, alors que les plaques ont été installées 3 mois après celles de juin 2003, il fait attendre plus d'un

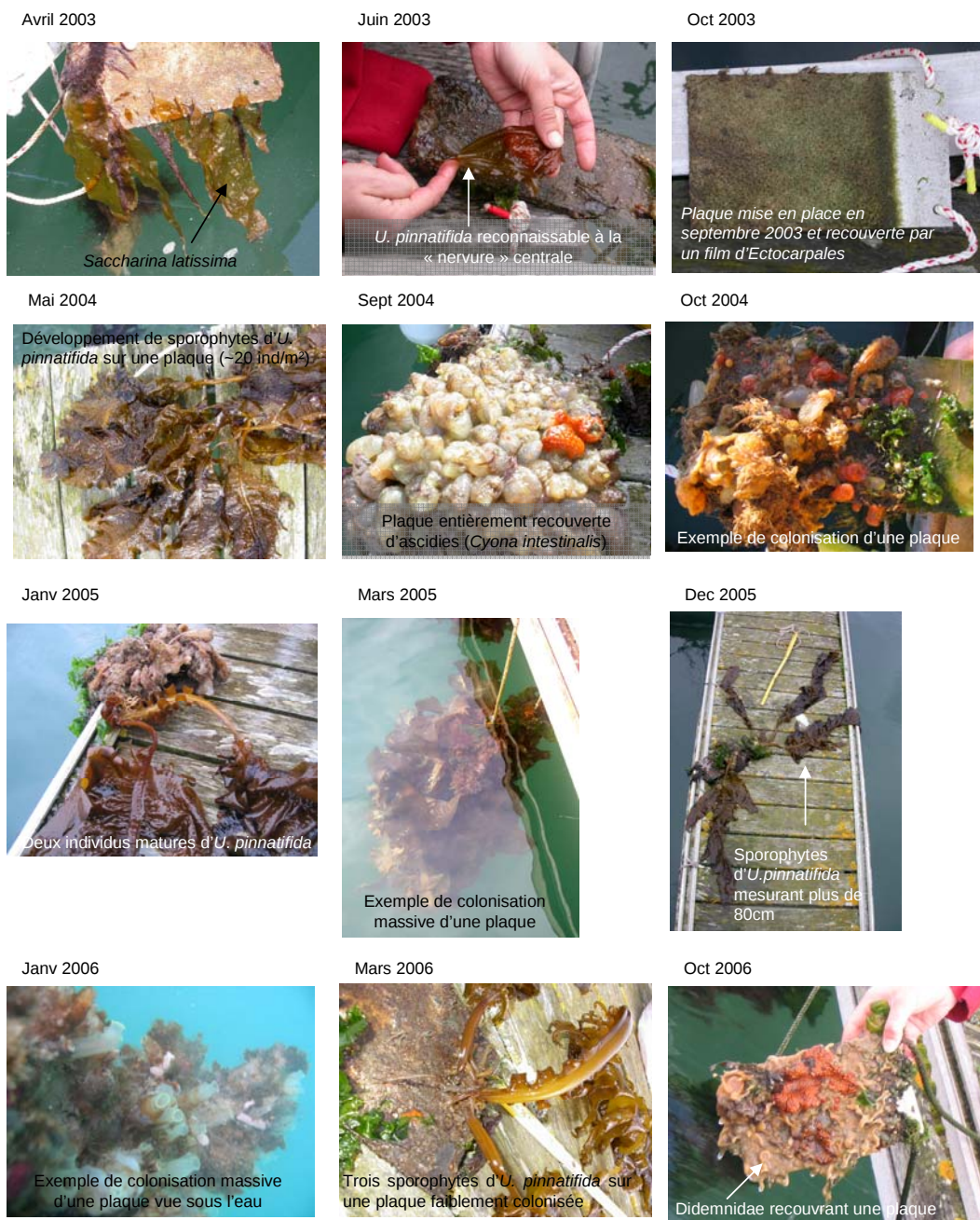


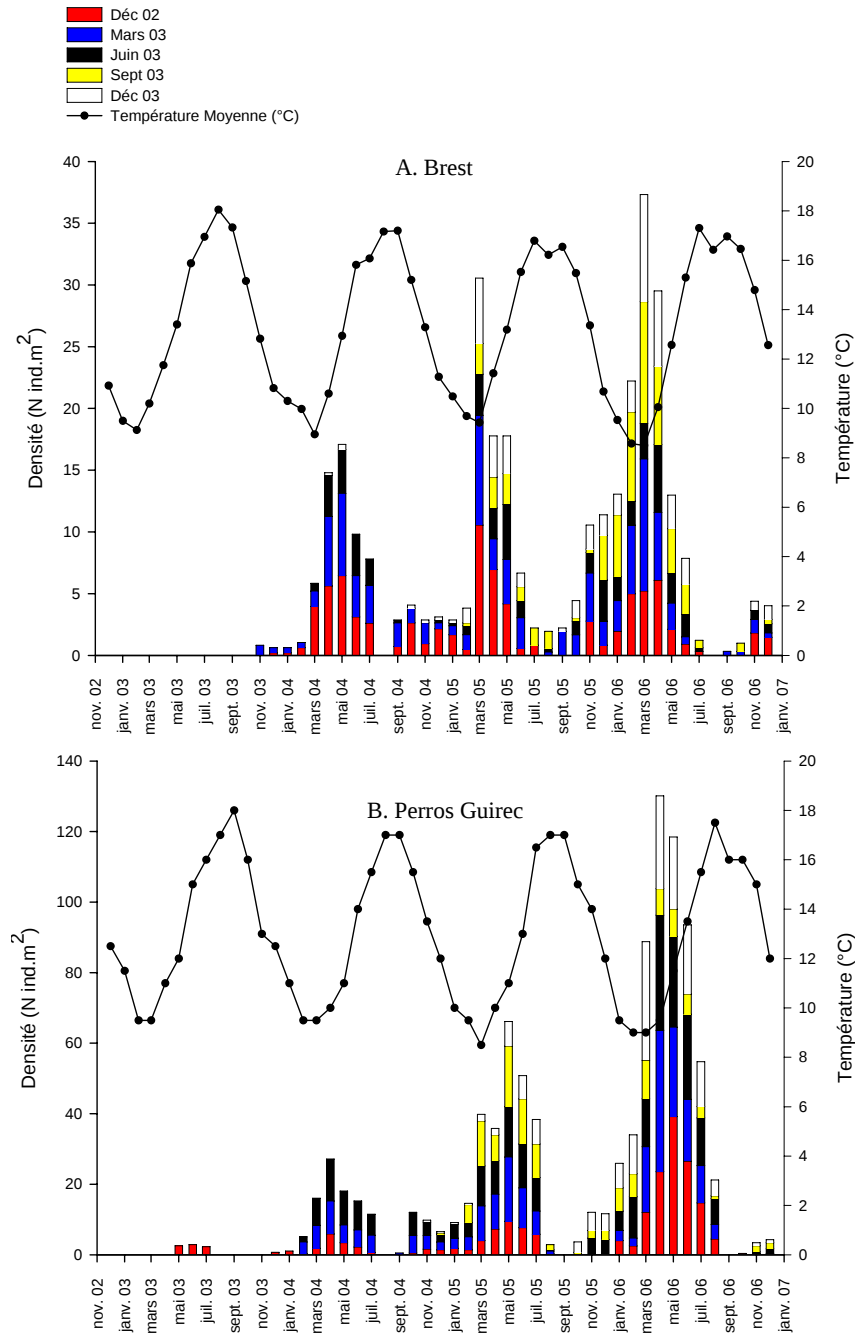
Figure 4.6 : Exemple de la colonisation de plaques au cours du suivi, de 2003 à 2006

an d'observation pour observer les premiers individus et non 8-11 mois comme pour les plaques de juin.

Ces résultats doivent être mis en parallèle des périodes auxquelles des individus matures sont présents dans les marinas et sont susceptibles de libérer des spores pouvant se fixer sur les substrats mis en place. Sur l'ensemble de la période d'étude, des individus matures ont été observés sur de longues périodes. Par exemple, dans le port de Brest des individus matures ont été observés de novembre 2003 à juin 2004, soit 8 mois consécutivement (tableau 4.2). Nos observations ont toutefois permis de mettre en évidence des cycles saisonniers, avec un pic de maturité entre avril et juillet (plus de 20% des individus observés sont alors matures), suivi d'une très forte diminution, voire une absence totale d'individus matures pendant la fin de l'été et l'automne (tableau 4.2). Lors de l'installation des plaques en décembre, peu de spores seraient présentes dans la colonne ce qui limite la probabilité que des spores se fixent sur les plaques. En revanche, en mars et en juin la concentration de spores doit être maximale et des spores peuvent se fixer sur les plaques dès leur mise en place dans les ports. En septembre enfin, aucun individu mature ou presque n'est présent dans les marinas et les plaques n'ont certainement pas pu recevoir des spores avant la saison suivante de reproduction, entre avril et juillet 2004.

2.2 Evolution de recrutement et de la densité de la population

U. pinnatifida n'est pas la seule espèce présente. Plusieurs espèces d'algues brunes ont été identifiées dans le port : *Saccharina latissima* (anciennement *Laminaria saccharina* ; voir Lane et al. 2006), *Saccorhiza polyschides*, *Laminaria digitata*. Dès les premiers mois suivant la mise à l'eau des plaques, des sporophytes de *S. latissima* et de *S. polyschides* ont été observés sur les plaques mises à l'eau en décembre et mars 2003 (figure 4.5-mai 2003). Les premiers sporophytes d'*U. pinnatifida* n'ont été identifiés que quelques mois plus tard et *L. digitata* au printemps suivant dans le port de Perros-Guirec. Toutes ces espèces, à l'exception de *L. digitata* ont été observées alors que le recouvrement des plaques était faible en terme de macrofaune et principalement constitué d'un film d'Ectocarpales (figure 4.5-avril 2003 et -juin 2003). La colonisation massive des plaques par une macrofaune benthique, dont des ascidies comme *Ciona intestinalis*, *Phallusia mamillata* et *Styela clava* a été postérieure au développement des Laminariales et en particulier d'*U. pinnatifida*. Aucun suivi précis des espèces associées n'a été réalisé lors de cette étude. Toutefois, lors des observations mensuelles, de nombreux individus ont été notés se développant sur les ascidies japonaises



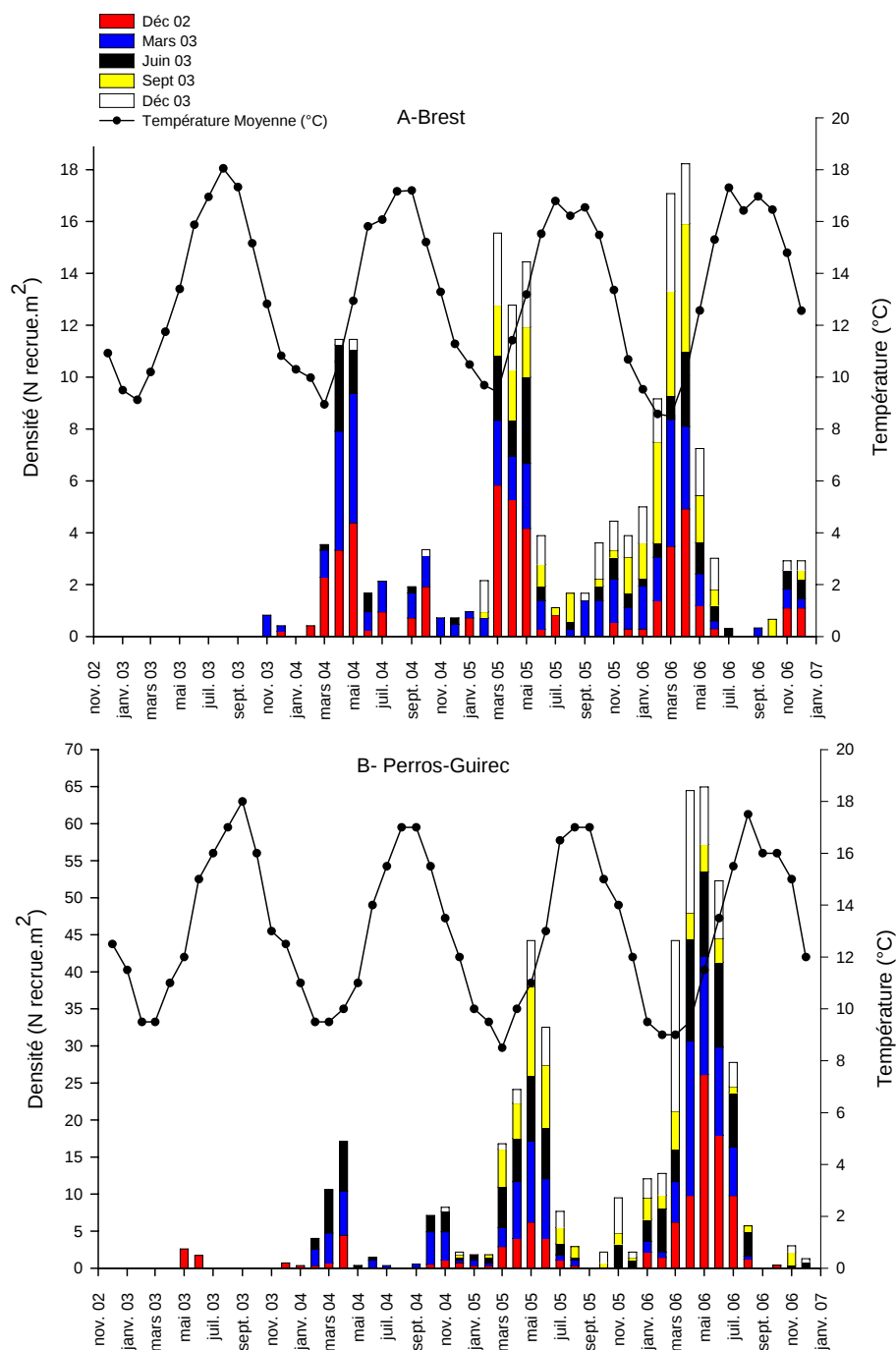


Figure 4.8 : Densité des recrues d'*Undaria pinnatifida* dans le port de Brest (A) et dans le port de Perros-Guirec (B).

Chaque série de plaques, installée de façon séquentielle de décembre 2002 à décembre 2003 est représentée par un code couleur différent : rouge pour les plaques de décembre 2002, bleu pour les plaques de mars 2003, noir pour les plaques de juin 2003, jaune pour les plaques de septembre 2003 et enfin blanc pour les plaques de décembre 2003. La température de l'eau de surface mesurée par la bouée SOMLIT de Brest et la température de surface estimée par Météo France à partir d'image satellites pour le port de Perros Guirec sont indiquées par la droite pleine noire.

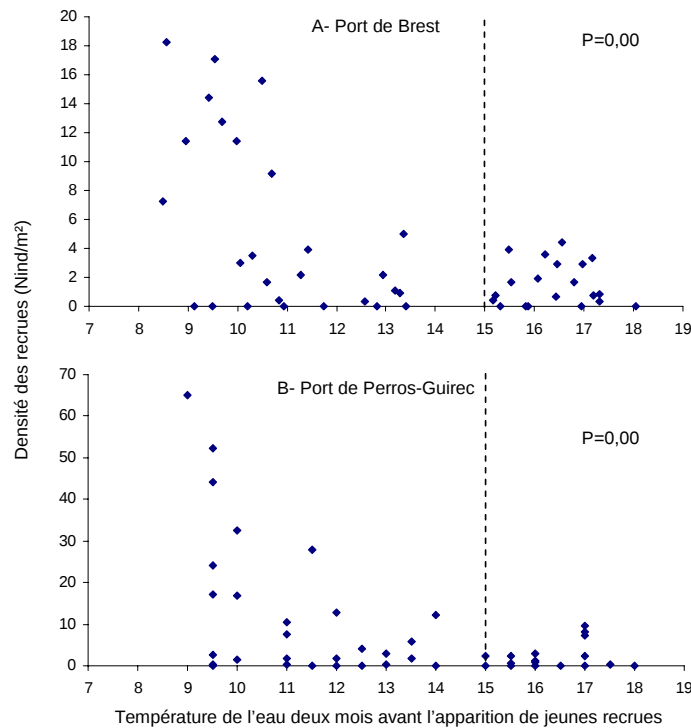


Figure 4.9 : Relation entre la température de l'eau 2 mois avant l'apparition de jeunes recrues et la densité des recrues (A) dans le port de Brest et (B) dans le port de Perros-Guirec.

La ligne pointillée permet de visualiser le seuil de 15°C mis en évidence par Thornber et al. (2004) et déclenchant l'apparition des recrues. Les différences de densités moyennes observées de part et d'autre du seuil de 15°C ont été testées par un test T de Student. Les probabilités sont indiquées pour chacune des deux marinas.

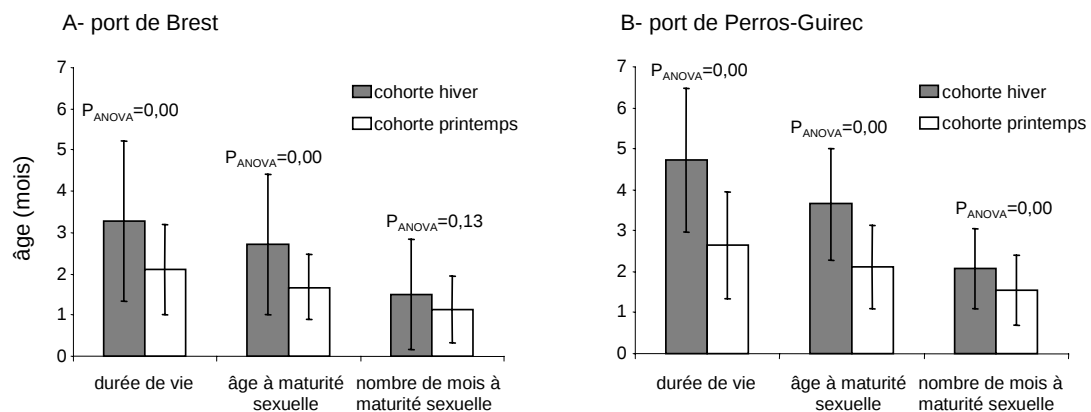


Figure 4.10 : Age et reproduction des individus arrivant à maturité sexuelle chez *Undaria pinnatifida*

A partir des données obtenues pour les individus observés à maturité sexuelle (94 individus à Brest et 219 à Perros-Guirec), la durée de vie moyenne, l'âge moyen à maturité sexuelle et le nombre de mois à maturité sexuelle est indiqué pour chaque port et pour les deux événements de développement de sporophytes, en hiver et au printemps. Les données ont été cumulées sur l'ensemble de 4 années de suivi (2003-2006). Les variations significatives de ces paramètres en fonction des périodes de développement ont été testées avec une ANOVA. Les valeurs de probabilité sont indiquées pour chacun des tests.

Styela clava (figure 4.6). Cette tendance n'a pas été quantifiée, mais *Styela clava* peut clairement servir de support à *U. pinnatifida*, de la fixation des spores jusqu'à la maturité. A noter qu'aucun autre sporophyte de Laminariales n'a été observé sur *S. clava*.

Le suivi a mis en évidence que des sporophytes d'*U. pinnatifida* étaient présents dans les marinas tout au long de l'année, mais avec des densités très variables selon les saisons (figure 4.7). Par exemple à Brest, aucun individu n'a été observé en août 2004 et 2006 et seulement 1,92 ind/m² ont été observés en août 2005, ce qui correspond à la plus faible densité mesurée sur l'ensemble de l'année 2005. Les plus fortes densités d'*U. pinnatifida* à Brest ont été mesurées chaque année entre mars et mai, avec en 2004 un maximum de densité mesuré en mai (17,08 ind/m²), et des maxima mesurés en mars 2005 et mars 2006 avec respectivement 30,56 et 37,33 ind/m² (figure 4.7). Dans le port de Perros-Guirec la même tendance générale se dégage avec des minima de densité mesurés en septembre : seulement 0,55 ind/m² en septembre 2004 et aucun individu en septembre 2005 et 2006. Au cours des 3 années de suivi, les densités maximales dans le port de Perros-Guirec ont été mesurées en avril 2004 (27,16 ind/m²), mai 2005 (66,15 ind/m²) et avril 2005 (130,11 ind/m²) soit avec un décalage apparent d'un mois par rapport au port de Brest.

L'apparition de nouveaux individus semble également conditionnée par la température (figure 4.8), les densités de recrues apparaissant préférentiellement lorsque les températures de l'eau sont basses (9-15°C). Dans les deux ports, les densités de recrues sont ainsi significativement supérieures lorsque la température de l'eau, 2 mois avant leur apparition était inférieure à 15°C ($P=0,00$; figure 4.9).

Ces différentes observations permettent de distinguer deux événements de recrutement : le premier mineur à la fin de l'automne et en hiver et un plus important au printemps. Il faut noter ici, que si des individus se développant précocement en hiver survivent jusqu'à l'arrivée massive de jeunes recrues au printemps, aucun individu se développant au printemps ne survit tout l'été jusqu'à l'arrivée de nouveaux individus en automne (voir densité en août et en septembre dans chacun des ports).

L'évolution des populations d'*U. pinnatifida* est contrastée entre les deux ports. Dans le port de Brest, les densités moyennes de 2005 et de 2006 sont comparables (Test de Student ; $P=0,62$) et ce, quelle que soit la série de plaque considérée (Test de Student ; $P>0,05$). La population de Brest semble avoir atteint un plateau. Dans le port de Perros-Guirec en revanche, les densités moyennes sont différentes d'une année à l'autre (Test de

Tableau 4.3 : Paramètres démographiques comparés dans les ports de Brest et de Perros-Guirec.

Pour chaque port, les valeurs moyennes et maximales de : densité totale d'*U. pinnatifida*, densité des recrues (*i.e.* individu observé pour la première fois), durée de vie moyenne des individus (*i.e.* sur la base d'observations réalisées mensuellement), taux de croissance (*i.e.* calculé pour les individus observés au moins deux fois), taille totale et taille à maturité (*i.e.* développement de sporophylles sur le stipe) sont données. Les écarts type (E.T.) sont également précisés pour chaque moyenne calculée.

	Brest		Perros Guirec	
	moyenne (E.T.)	maximum	moyenne (E.T.)	maximum
Densité (Nind.m ⁻²)	8.78 (9.37)	37.33	27.32 (33.78)	130.11
Densité recrues (Nind.m ⁻²)	7.02 (8.2)	32.78	17.33 (24.75)	102.34
Durée de vie (mois)	1.31 (0.69)	6	1.57 (1.02)	8
Taux de croissance (cm/mois)	15.72 (11.41)	45.00	19.94 (13.43)	60.50
Taille totale (cm)	15.74 (16.61)	150.00	23.63 (21.03)	130.00
Age à maturité sexuelle	1,9 (1,1)	6	2,33 (1,20)	6
Taille à maturité (cm)	32.66 (19.09)	138.00	37.06 (24.81)	130.00

Student ; $P=0,02$). Il semble qu'il y ait un effet « boule de neige » avec une augmentation de la densité au cours du temps. Par exemple, la densité sur les plaques a été multipliée par 3,59 en avril et par 1,86 en mai et en juin, entre 2005 et 2006. Ces dynamiques temporelles contrastées pourraient être mises en relation avec des conditions biotiques et/ou abiotiques différentes entre les deux ports. Par exemple, le fait que le port de Brest soit un port ouvert peut entraîner une exportation des spores au-delà des pontons plus importante que dans le port de Perros-Guirec qui est un port fermé. De même, bien qu'aucun test n'ait été réalisé, il semble que la communauté associée aux populations d'*U. pinnatifida* soit différente dans les deux ports. Notamment, de nombreuses plaques du port de Brest ont été recouvertes d'ascidies coloniales du type *Didemnidae* sur lesquelles aucune autre espèce ne semble pouvoir s'installer (figure 4.6-octobre 2006).

2.3 Renouvellement de la population et investissement dans la reproduction

Le tableau 4.3, synthétise les valeurs moyennes des paramètres démographiques comparés dans les deux ports, avec des indices calculés sur la période s'étalant de décembre 2003 à décembre 2006 (soit 3 ans, la première année d'installation initiale n'étant pas prise en compte). Le taux de croissance des individus est élevé, avec une moyenne de 15,72 cm/mois à Brest et de 19,94 cm/mois à Perros-Guirec et des valeurs maximales de 45 cm/mois à Brest et 60,5 cm/mois à Perros-Guirec. La taille moyenne atteinte par les individus est proche du taux de croissance moyen avec 15,74 cm à Brest et de 23,63 cm à Perros-Guirec bien que certains individus aient atteint 150 cm à Brest et 103 cm à Perros-Guirec. Cette taille moyenne faible comparativement aux valeurs maximales s'explique notamment par une mortalité importante des individus au cours des deux premiers mois de leur vie. Sur les 2450 individus observés seuls 705 (28,78%) ont été observés plus d'une fois. La durée de vie des sporophytes -ici assimilée au nombre d'observations- est en effet courte, avec une moyenne de 1,31 mois (+/- 0,69) à Brest et de 1,57 mois (+/- 1,02) à Perros-Guirec, traduisant un renouvellement très rapide de la population. Quelques individus ont néanmoins survécu plusieurs mois, avec un maximum de 6 mois à Brest et de 8 mois à Perros-Guirec.

Cette dynamique démographique rapide se retrouve également avec le faible âge à maturité sexuelle, de 1,90 mois (+/- 1,10) à Brest et de 2,33 mois (+/- 1,20) à Perros-Guirec (tableau 4.3). L'investissement dans la reproduction est donc rapide. Il faut également noter ici, que les dynamiques de maturité sexuelle sont différentes entre les individus se développant précocement, entre septembre et février, et les individus apparus sur les plaques

Tableau 4.4 : Diversité génétique et structure intra-population

N_{ind} : nombre d'individus analysés ; R_{al} : richesse allélique ; H_o : hétérozygotie observée ; H_e : hétérozygotie calculée ; F_{is} : indice représentant l'écart aux proportions attendues sous l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; P:probabilité du test exact associé au F_{is} ; en gras, les probabilités significatives au seuil de 5%. Pour chaque population, le nombre de locus présentant des déficits en hétérozygotes par rapport au nombre de locus polymorphes est indiqué (N_{loc}/N_{pol})

	N_{ind}	A_r (22 ind)	H_e	H_o	F_{is}	N_{loc}/N_{pol}
Brest 2002	29	2,23	0,34	0,23	0,31	9/9
Brest 2005	96	2,38	0,37	0,23	0,39	2/9
Perros-Guirec 2002	22	2,55	0,42	0,28	0,34	6/9
Perros-Guirec 2003	32	2,67	0,41	0,28	0,31	3/9
Perros-Guirec 2005	96	2,64	0,41	0,31	0,24	5/9

Tableau 4.5 : Différences génétiques entre années d'échantillonnage (valeurs de F_{st} ; au dessus de la diagonale) et probabilités des tests exacts associés (en dessous de la diagonale)

Les valeurs de F_{st} en gras sont associées à un test significatif dont le seuil de significativité est ajusté par la méthode de Bonferroni (seuil à 0.3%).

	Brest 2002	Brest 2005
Brest 2002	-	0,14
Brest 2005	0,01	-

	Perros-Guirec 2002	Perros-Guirec 2003	Perros-Guirec 2005
Perros-Guirec 2002	-	0,00	0,02
Perros-Guirec 2003	0,08	-	-0,01
Perros-Guirec 2005	0,00	0,62	-

de mars à août (figure 4.10). Ainsi, parmi les individus d'*U. pinnatifida* observés matures au moins une fois lors du suivi, nos résultats montrent que les individus se développant précocement ont des durées de vie significativement supérieures aux individus se développant au printemps ($P_{\text{anova}}=0,00$; pour les deux ports) et que les délais pour atteindre la maturité sexuelle sont supérieurs ($P_{\text{anova}}=0,00$; pour les deux ports). Dans le port de Perros-Guirec, les individus précoces restent en vie plus longtemps à maturité que les individus du printemps ($P_{\text{anova}}=0,00$). Cette tendance n'est en revanche pas observée dans le port de Brest ($P_{\text{anova}}=0,13$).

2.4 Diversité génétique dans les populations des deux ports

Pour chacune des deux marinas, les indices de diversité génétique sont stables au cours du temps malgré un nombre d'individus analysés hétérogène entre les années. Ainsi, les valeurs obtenues dans les populations de 2005 sont similaires (Brest, $H_{e2002}=0,23$ et $H_{e2005}=0,23$; Perros-Guirec $H_{e2002}=0,28$ et $H_{e2005}=0,31$, tableau 4.4) à celles obtenues en 2002 bien que 3,3 à 4,4 fois plus d'individus aient été analysés en 2005 respectivement à Brest et à Perros-Guirec.

Quel que soit l'échantillon considéré, de très fortes valeurs de déficit en hétérozygotes ont été observées (tableau 4.4). En fonction des années et des ports considérés, ces déficits en hétérozygotes sont observés sur un nombre variable de locus. Ainsi, pour les populations de Brest-2002, Perros-Guirec-2003 et Perros-Guirec-2005, plus de la moitié des locus polymorphes sont concernés par ce déficit, suggérant des événements de reproduction entre individus apparentés. Dans les populations de Brest 2005 et de Perros-Guirec-2003, les déficits en hétérozygotes ne sont en revanche observés que pour respectivement 2 et 3 locus sur les 9 locus polymorphes. Ce résultat serait ainsi plutôt en faveur d'une microstructure spatiale au sein de la population. Sur cet échantillonnage on observe globalement une identité génétique au cours du temps dans les deux marinas, bien qu'une différence génétique significative soit observée entre les années de 2002 et de 2005 à Perros-Guirec (tableau 4.5).

3. Discussion

Les espèces annuelles, à dynamique démographique rapide, sont considérées comme des espèces colonisatrices particulièrement performantes dans des environnements perturbés, ou lorsque de nouveaux substrats sont disponibles. *U. pinnatifida* est une espèce annuelle,

pour laquelle des dynamiques d'expansion rapide ont été observées, notamment en Nouvelle-Zélande où elle est reconnue comme une espèce hautement invasive (Hay 1990). De même, l'étude réalisée par Nyberg & Wallentinus (2005) la classe parmi les cinq espèces d'algues potentiellement très invasives. L'installation de nouveaux supports disponibles à la colonisation et le suivi des populations d'*U. pinnatifida* pendant 4 ans a permis de préciser la phénologie de cette espèce en Bretagne Nord, en milieu portuaire, milieu fortement artificialisé.

3.1 Période de développement d'*Undaria pinnatifida* : des temps de latence parfois longs

La mise en place séquentielle de nouveaux supports disponibles a mis en évidence des périodes de latence variables avant le développement des premiers sporophytes, selon la période d'installation des plaques.

Les plaques installées en décembre 2003 à Brest et en décembre 2002 à Perros-Guirec présentent les plus courts temps de latence. Ce développement rapide n'est toutefois observé que dans 2 cas sur 4 (ni pour les plaques de décembre 2002 à Brest ni pour les plaques de décembre 2003 à Perros-Guirec) et ne concerne qu'un faible nombre d'individus (9 au total). Bien que marginal, ce résultat indique que si les conditions environnementales sont favorables, des spores peuvent se fixer, germer et permettre le développement de sporophytes en seulement quelques mois.

Cependant la tendance générale mise en évidence est un délai de l'ordre de 8 à 12 mois, entre la mise en place de substrats disponibles et le développement de sporophytes. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ces temps de latence longs : (i) la fixation et la germination des spores nécessitent la mise en place d'un biofilm particulier, (ii) aucune spore n'a été libérée et n'était présente dans la colonne d'eau au moment de la mise en place des plaques et (iii) les conditions environnementales n'étaient pas favorables pour que le cycle de vie soit bouclé (développement et reproduction des gamétophytes par exemple). La fixation et la germination de spores d'*U. pinnatifida* ne nécessite *a priori* aucune condition particulière en terme de biofilm. Par exemple, lors de la mise en culture d'*U. pinnatifida* sur des cordes, la seule précaution prise est l'élimination d'éléments toxiques pouvant être relargués par les cordes. Les cordes sont simplement trempées plusieurs heures dans de l'eau douce, quelques jours avant l'ensemencement (Perez et al. 1984). Dans notre cas, le fait de réaliser des observations avec une périodicité d'un mois permet de supposer que le biofilm est constitué lors de la première observation des plaques. D'ailleurs après un mois dans le port,

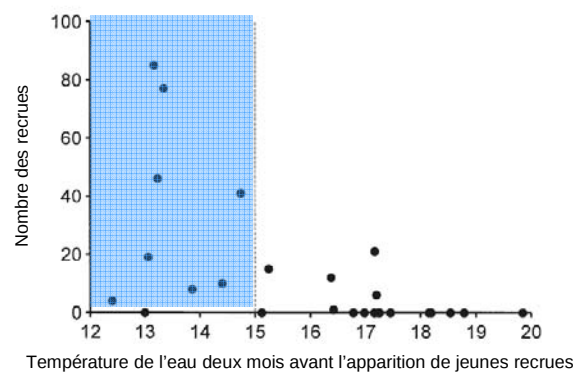


Figure 4.11 : Relation entre la température de l'eau 2 mois avant l'apparition de jeunes recrues et la densité des recrues (issue de Thornber *et al.* 2004).

Le rectangle bleu permet de visualiser qu'un nombre plus importants de recrues apparaît dans la population lorsque la température de l'eau était inférieure à 15°C 2 mois auparavant.

les plaques ne sont pas vierges ; un film d'algues vertes et d'Ectocarpales est en place, ce qui montre la possibilité de recrutement de différentes espèces.

L'absence de spores dans la colonne d'eau est peu probable dans le cas des plaques installées en mars et en juin. En effet la majorité des individus matures ont été observés à la fin du printemps et au début de l'été. Cela reste néanmoins une explication plausible dans le cas des plaques installées en septembre 2003. A cette date, aucun individu mature n'a en effet été observé. Il est probable qu'aucune spore ne se soit fixée sur ces plaques avant le printemps suivant, lorsque des individus matures étaient présents en grand nombre dans la population. L'absence de spores dans la colonne d'eau expliquerait le délai supérieur à un an avant le développement de sporophytes sur ces plaques.

D'une façon générale, les délais importants observés sont certainement liés aux conditions nécessaires à la germination des gamétophytes. Le cycle de vie d'*U. pinnatifida* est un cycle digénétique ; le sporophyte se développant à partir d'un gamétophyte fécondé. Les conditions abiotiques, notamment de températures en été, pourraient ne pas être favorables au développement ou à la fertilisation des gamétophytes. En particulier, il semblerait qu'une diminution des températures soit nécessaire au développement de la population sporophytique ; la majorité des nouveaux sporophytes étant observés 2 mois après que les températures soient descendues à 15°C. Ce résultat est similaire à celui mis en évidence par Thornber et al. (2004) dans des populations introduites de Californie (figure 4.12) et dans l'aire d'origine (Saito 1975). L'induction du développement des stades sporophytiques serait donc une caractéristique de l'espèce, commune aux populations des différentes régions d'introduction et de l'aire d'origine.

Le caractère pionnier de l'espèce apparaît ici largement dépendant de la période à laquelle les surfaces sont disponibles. Cette susceptibilité du développement sporophytique aux conditions environnementales pourrait limiter le caractère invasif de l'espèce. Les espèces natives bénéficient en effet de fenêtres temporelles de plusieurs mois pour se développer sur des substrats libres, avant que les stades macroscopiques d'*U. pinnatifida* ne s'y développent. L'importance entre la période de « disponibilité » d'un substrat et le succès de colonisation d'*U. pinnatifida* avait également été mis en évidence en Tasmanie –autre région d'introduction– par Valentine & Johnson (2003). La colonisation du milieu rocheux a été plus rapide en hiver, lorsque la canopée native a été supprimée, qu'au printemps (Valentine & Johnson 2003).

Les analyses génétiques réalisées dans cette étude ont montré des valeurs de déficit en hétérozygotes élevées et significatives (F_{IS}). Dans deux des cinq populations analysées, peu de locus supportent ce déficit en hétérozygotes, suggérant des effets Wahlund spatiaux ou temporels. Un effet Wahlund temporel traduirait l'existence de plusieurs pools génétiquement différenciés au cours du temps. Les différents échantillonnages réalisés pour les analyses de génétique, ont eu lieu au printemps et des individus, de toutes les classes de taille, ont été prélevés. Nous avons vu, avec le suivi démographique, que les individus présents au printemps pouvaient être, soit des individus âgés de plusieurs mois, recrutés prématurément en hiver, soit de jeunes individus de quelques semaines. L'échantillonnage utilisé ici ne permet pas de tester ce type d'hypothèse. L'analyse des recrues prélevées chaque mois sur les plaques permettra de mettre en évidence si la précocité de certains individus par rapport aux autres peut s'expliquer par la coexistence à l'échelle de la marina de plusieurs groupes d'individus génétiquement différenciés. Il est également possible que ces forts déficits en hétérozygotes soient dus à des microstructures spatiales, les individus ne se reproduisant pas librement à l'échelle de la marina mais préférentiellement entre individus proches. Les forts déficits en hétérozygotes mesurés dans les trois autres populations (Brest-2002, Perros-Guirec-2003 et Perros-Guirec-2005) suggèrent des reproductions entre individus apparentés. Ces résultats peuvent être mis en parallèle avec ceux obtenus dans d'autres populations portuaires analysées à l'échelle européenne (voir chapitre 2), dans lesquelles nous suspectons que des distances de dispersion faibles ou quasi-nulles des spores émises par les sporophytes entraînaient localement la constitution, au fil des générations, de groupes d'individus apparentés, se reproduisant entre eux. Notre échantillonnage ne permet pas de tester cette hypothèse. Là aussi, une analyse des recrues en parallèle de l'échantillonnage des pontons est nécessaire.

3.2 Le maintien d'*Undaria pinnatifida* au cours du temps : opportuniste ou super-compétitrice ?

La capacité à coloniser de multiples substrats, en particulier des substrats artificiels comme les bouées, les coques des bateaux, les cordages est une des caractéristiques du profil type d'une espèce d'algue invasive tel que décrit par Nyberg & Wallentinus (2005). La colonisation de substrats artificiels augmente en effet la possibilité d'établissement des espèces mais peut également contribuer à la dispersion de l'espèce lorsque ces substrats sont également des vecteurs (ex : coques de bateaux).

Dans le cas d'*U. pinnatifida*, le développement de populations spontanées a déjà été mis en parallèle avec l'existence de substrats libres. Par exemple, dans l'estuaire de la Rance (St Malo, Bretagne), une explosion démographique a eu lieu en 1992 via la colonisation de multiples substrats disponibles (bouées, cordes, pontons, bateaux ; Castric-Fey et al. 1993). Cette tendance a également été observée dans les deux marinas de Brest et Perros-Guirec. *U. pinnatifida* est quasiment la seule espèce de Laminariales, présente dans les marinas, qui colonise à la fois les bouées, les cordages et les coques des bateaux. *Saccharina latissima* est elle aussi trouvée régulièrement sur les coques de bateau et les pontons. De plus, *U. pinnatifida* coexiste dans les marinas avec d'autres espèces introduites dont l'ascidie japonaise *Styela clava*. Sans pouvoir conclure à un effet synergique de *Styela clava* sur le développement d'*U. pinnatifida* et réciproquement, on peut ici souligner qu'*U. pinnatifida* est la seule espèce de Laminariales s'étant développée en épiphyte sur *S. clava*. Une analyse plus précise serait nécessaire pour estimer quelle a été l'importance de *S. clava* dans le maintien des populations d'*U. pinnatifida*. Le développement d'*U. pinnatifida* en épiphyte sur cette ascidie n'est pas rare (obs. personnelle) et a également été signalé par Farrell & Fletcher (2006) dans le port de Torquay en Angleterre.

Cette capacité à investir de nombreux supports artificiels pourrait expliquer sa présence dans de très nombreuses marinas, mais pourrait aussi permettre le maintien d'un réservoir d'individus, sur des surfaces non colonisées par les laminaires natives.

Sur les plaques, après un établissement réussi, l'évolution temporelle des populations est contrastée selon les marinas avec un effet « boule de neige » dans le port de Perros-Guirec mais une stabilisation des densités dans le port de Brest en 2005 et 2006. Ces dynamiques temporelles contrastées peuvent en partie être liées aux conditions abiotiques des marinas, avec une rétention possible des spores dans le bassin fermé de Perros-Guirec contrairement à une exportation possible dans le port de Brest. La composition de la communauté associée pourrait également avoir joué un rôle prépondérant dans les dynamiques temporelles. Dans le port de Brest, de nombreuses plaques ont été entièrement recouvertes par une ascidie coloniale du genre *Didemnum*, reconnue comme une autre espèce fortement invasive et sur laquelle aucune autre espèce ne se développe (voir la série d'articles la concernant dans les actes de colloque édité par Whitlatch & Bullard (2007)). Cette colonisation massive des plaques pourrait ainsi à terme profondément affecter le maintien de la population d'*U. pinnatifida* mais aussi de l'ensemble de la communauté portuaire de Brest. Le développement d'*U. pinnatifida* dans les marinas ne semble pas exclure les espèces de

Laminariales natives, puisque des individus de *S. latissima* ont été observés sur les plaques en 2006 en parallèle d'*U. pinnatifida*. Cette situation contraste avec l'étude réalisée dans la marina de Torquay par Farrell & Fletcher (2006) où les Laminariales natives telles que *L. digitata* et *S. latissima* ont été progressivement exclues. Ces différentes observations suggèrent un potentiel compétitif d'*U. pinnatifida* limité dans les marinas bretonnes et un maintien des populations largement dépendant de la composition de la communauté envahie et des conditions environnementales.

3.3 Le renouvellement de la population et l'investissement dans la reproduction

Seulement 28,78% d'individus ont été observés plus d'une fois, mais des sporophytes sont présents toute l'année, traduisant un renouvellement important de la population. Ainsi, deux événements de recrutement on pu être mis en évidence, avec l'apparition de quelques individus précoces à la fin de l'automne et au début de l'hiver et un événement majeur de recrutement au printemps. Cette dynamique démographique observée dans les deux marinas bretonnes est similaire à celle mise en évidence dans une population naturelle de la baie de St Malo par Castric-Fey et al. (1999), ainsi que par Thornber et al. (2004) en Californie, où deux pics de recrutement sont observés au printemps et en automne-hiver. Ces dynamiques diffèrent avec celles décrites dans l'aire d'origine, où les populations disparaissent totalement plusieurs mois en automne et ne présentent qu'un seul événement de recrutement (Saito 1975, Yamanaka & Akiyama 1993). Ces différentes dynamiques de populations en fonction des régions pourraient s'expliquer par les conditions environnementales et en particulier par les températures maximales de la colonne d'eau. En effet, en Asie, lorsque les températures dépassent 25°C les sporophytes dégénèrent en masse (Saito 1975). Des températures d'eau plus basses en Californie (10 à 21°C, Thornber et al. 2004) ou sur les côtes bretonnes (8-19°C dans les marinas étudiées ici et 5-21°C à St Malo, Castric-Fey et al. 1999) pourraient ainsi permettre une persistance plus longue des stades macroscopiques et allonger la période d'apparition de jeunes recrues.

L'investissement dans la reproduction semble également conditionné par la température de l'eau. Ainsi, les individus qui apparaissent au printemps ou au début de l'été, arrêtent prématurément leur croissance et développent des structures de reproduction après quelques semaines de croissance. Les individus qui apparaissent en hiver atteignent leur maturité sexuelle plus tardivement. Cette précocité de maturité sexuelle avait également été mise en évidence en Nouvelle-Zélande lorsque l'eau est la plus chaude (Hay & Villouta 1993)

et désigné comme un avantage majeur pour la colonisation du milieu naturel par *U. pinnatifida*. Hay & Villouta (1993) estimait ainsi qu'en cas d'altération des populations naturelles par des événements exceptionnels comme des tempêtes ou par des activités anthropiques, *U. pinnatifida* pourrait coloniser le milieu naturel avant les espèces natives ou entrer en compétition avec les espèces natives qui ont des taux de croissance moins élevés.

En France, *U. pinnatifida* entre en compétition avec une autre espèce annuelle *S. polyschides* également décrite comme une espèce opportuniste (Castric-Fey et al. 1993). Castric-Fey et al. (1993) suggéraient que les capacités de compétition des deux espèces seraient largement liées à la période de recrutement et de fertilité, la résistance des spores et des zygotes. Les données obtenues pour *U. pinnatifida* montrent une période de recrutement et de maturité des sporophytes relativement étalée dans les temps, avec un investissement rapide dans la reproduction. Des suivis des populations d'*U. pinnatifida*, en parallèle des populations de Laminariales natives dans des habitats plus ou moins soumis aux pressions anthropiques et aux perturbations, permettraient d'appréhender plus finement le potentiel compétitif des différentes espèces de Laminariales.

4. Conclusion

Si des temps de latence de plusieurs mois sont observés avant le développement de stades macroscopiques, nos résultats ont mis en évidence que les populations d'*U. pinnatifida* présentaient des dynamiques démographiques rapides au stade sporophyte, avec un renouvellement important de la population au cours du temps et l'apparition de jeunes recrues presque toute l'année. De même, cette espèce présente un investissement important dans la reproduction, avec des individus pouvant atteindre la maturité sexuelle en seulement quelques semaines. *U. pinnatifida* apparaît également comme une espèce opportuniste, capable de coloniser de nombreux substrats, artificiels ou non, mais sa persistance dans le milieu ne semble pas exclure les autres espèces de Laminariales. Toutefois, un suivi plus approfondi des relations entre les différentes espèces de Laminariales permettrait d'améliorer notre compréhension des mécanismes de compétition et clarifier le potentiel compétitif d'*U. pinnatifida*.

C. Evolution temporelle des caractéristiques génétiques d'une population de milieu rocheux d'*Undaria pinnatifida*.

En milieu marin, les suivis directs des individus et populations peuvent s'avérer difficiles à réaliser du fait d'un accès limité aux populations naturelles. C'est notamment le cas d'*U. pinnatifida* qui se développe à la limite du zéro marégraphique et qui, par conséquent, ne peut être étudiée sur le terrain à pied, que dans des conditions de marée basse avec de forts coefficients. Une alternative au suivi direct est d'appréhender de façon indirecte la dynamique d'installation et de renouvellement d'une espèce annuelle, par des outils de génétique des populations, notamment en comparant les variations de diversité génétique au cours du temps. C'est la méthode que nous avons choisie pour étudier une population de milieu naturel rocheux colonisé par *U. pinnatifida*.

La population choisie pour cette étude est la population spontanée de l'Aber Wrac'h. Cette population se développe au pied de la balise du Breac'h Ver et a été signalée pour la première fois en 2002. Cette population présente plusieurs particularités intéressantes pour étudier les mécanismes de recrutement et les dynamiques temporelles d'une population spontanée. Contrairement à de nombreuses zones colonisées par *U. pinnatifida*, la situation à l'Aber Wrac'h est relativement simple : en l'absence de structures portuaires, sa présence peut être mise en parallèle avec l'implantation en 1987 d'une concession de wakamé dans l'Aber (Castric-Fey et al. 1993). Le développement de populations en périphérie des sites cultivés a en effet déjà été mis en évidence dans d'autres sites de cultures (Floc'h et al. 1991, Floc'h et al. 1996). Toutefois, à l'Aber Wrac'h, la concession pour culture d'*U. pinnatifida* a été abandonnée en 2001, soit l'année précédant la mise en place de notre étude temporelle (2002). Aucun apport de migrants depuis la zone cultivée n'a donc pu avoir lieu pendant la période de notre étude de 2002 à 2006..

En analysant la variation de la diversité génétique observée sur 10 locus microsatellites, j'ai ici étudié comment une population spontanée en milieu rocheux se maintient, après la disparition d'une source potentielle importante de migrants, les cultures.

1. Matériel et méthodes

La population de l'Aber Wrac'h (figure 4.13) est une population spontanée qui se développe au milieu d'espèces natives comme *Laminaria ochroleuca*, *Himanthalia elongata*, sous la zone à *Fucus serratus*. Cette population a été échantillonnée chaque année de 2002 à

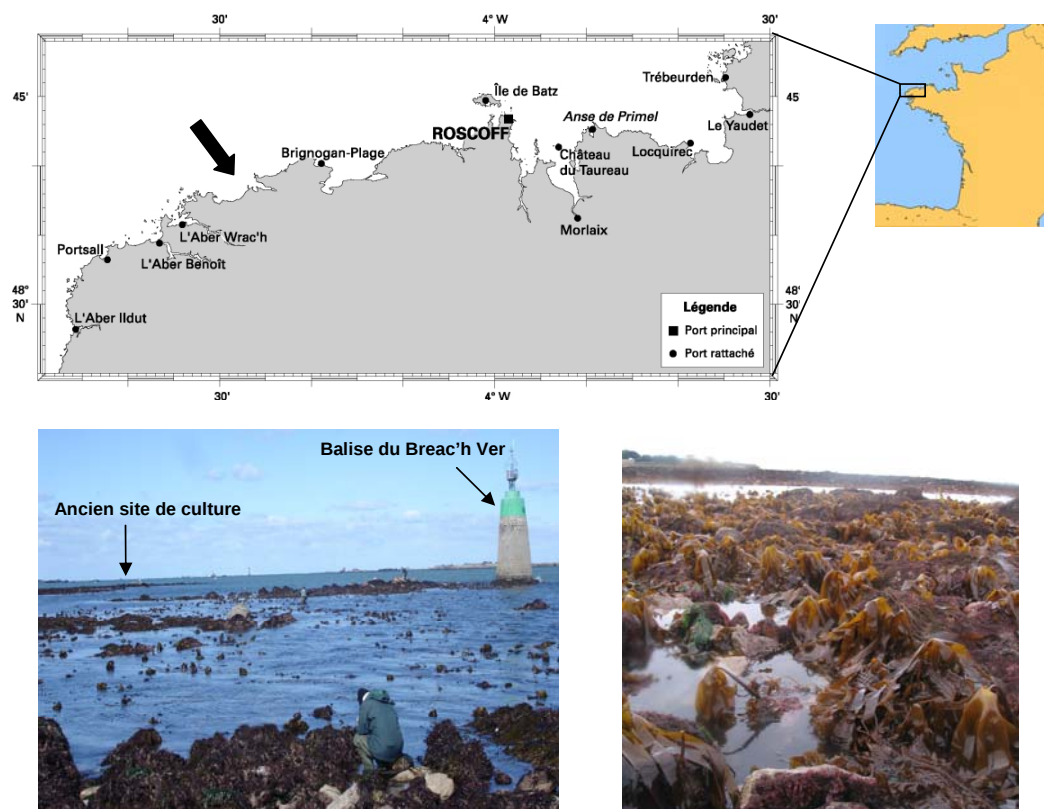


Figure 4.13 : Présentation du site du Breac'h Ver dans lequel la population spontanée d'*U.pinnatifida* a été échantillonnée de 2002 à 2006. Ce site situé sur les côtes de la Manche, à la pointe bretonne (A) n'est découvert que lors des marées basses de vive eaux (B) et est colonisé par de nombreuses espèces de macroalgues brunes natives (C).

2005 autour de la balise du Breac'h Ver en plongée. En 2006, un échantillonnage plus large a été réalisé pied par grand coefficient de marée basse (>110) avec trois zones prospectées dont une correspondant à la zone prospectée les années précédentes autour de la balise. Des données de densités de la population ont également été obtenues en mars 2006 avec des cadrats de $0,5 \times 0,5$ m, lancés aléatoirement dans une bande comprise entre +1 et -2m de profondeur (profondeur corrigée).

Tous les échantillonnages réalisés lors de notre étude sont non destructifs pour que les individus échantillonnés puissent se reproduire et que le suivi temporel ne soit pas biaisé. Quelques cm^2 de thalle ont été prélevés à la base de la lame. Les échantillons ont été stockés dans des sachets contenant des cristaux de gel de silice jusqu'à leur extraction. Les extractions et le génotypage de ces individus ont été réalisés comme décrit précédemment, dans la section D.1. du chapitre 2. Les marqueurs microsatellites utilisés pour cette étude sont les mêmes 10 locus, que ceux utilisés dans les études précédentes.

L'estimation de la diversité génétique (R_{all} , H_e , H_o), de la structure intrapopulation (F_{IS}) et interpopulation (F_{ST}) a été réalisée de la même façon que dans les chapitre précédents. Pour tester un isolement génétique temporel des populations, un test de Mantel a été réalisé avec le logiciel Genepop V3.4. L'hypothèse testée est une corrélation positive entre le nombre d'années séparant deux échantillons et leur distance génétique. L'estimateur de différence génétique utilisé ici est l'estimateur θ_{ST} de l'indice F_{ST} qui sert à déterminer la distance génétique $\theta_{ST}/(1 - \theta_{ST})$ (Rousset 1997).

2. Résultats

2.1 Densité, taille et maturité sexuelle en 2006

En avril 2006, 67 individus au total ont été observés sur un total de 101 cadrats. La densité moyenne de la population obtenue est ainsi de $2,65 \text{ ind.m}^{-2}$ avec 7,46% des individus sexuellement matures. En mars, lors de l'échantillonnage réalisé à pied, sur les 52 individus échantillonnés, 23% étaient matures.

Tableau 4.6 : Diversité génétique et structure intra-population

N_{ind} : nombre d'individus analysés ; R_{all} : richesse allélique; H_o : hétérozygotie observée ; H_e : hétérozygotie calculée ; F_{is} : indice représentant l'écart aux proportions attendues sous l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; P:probabilité du test exact associé au F_{is} ; en gras, les probabilités significatives au seuil de 5%.

Population	N_{ind}	A_r (21 ind)	H_e	H_o	F_{is}
2002	27	1,96	0,23	0,16	0,30
2003	27	1,97	0,27	0,21	0,20
2004	17	1,70	0,26	0,24	0,08
2005	32	1,88	0,27	0,24	0,08
2006	52	2,11	0,31	0,28	0,11
2006 balise	21	1,96	0,26	0,20	0,24
Moyenne	31	1,94	0,26	0,24	-

2.2 Comparaison inter-annuelle (2002-2006)

2.2.1 Diversité génétique et structure intra-population

Les indices de diversité obtenus pour chaque échantillon annuel sont présentés dans le tableau 4.6. Une légère augmentation de la diversité génétique est observée de 2002 à 2006, notamment en terme d'hétérozygotie attendue ($H_{e-02}=0,23$; $H_{e-06}=0,31$). En 2006, une zone plus importante a été échantillonnée et si l'échantillonnage de 2006 est restreint à la zone prospectée les années précédentes, cette légère augmentation de la diversité génétique disparaît (Tableau 4.6 « 2006 ballise » ; $H_{e-02}=0,23$; $H_{e-06}=0,26$)

Un écart significatif aux proportions attendues sous l'équilibre de Hardy-Weinberg n'a été observé que dans l'échantillon de 2002 ($F_{IS}= 0,30$; $P<10^{-6}$) et ce déficit en hétérozygotes ne concerne que 3 des 10 locus utilisés : 4E9, 1C1 et 2C1, suggérant l'existence d'une microstructure dans la population (*i.e.* effet Wahlund) plutôt que des effets de consanguinités.

2.2.2 Structure génétique des populations entre 2002-2006

Les valeurs de F_{ST} entre années d'échantillonnage, prises deux à deux, varient de -0,01 à 0,05. Seule la comparaison réalisée entre les populations de 2002 et 2006 présente une valeur de différenciation génétique significative après un ajustement du seuil de significativité selon la méthode de Bonferroni (tableau 4.7). Il faut néanmoins noter ici que les valeurs de cet indice augmentent avec le nombre d'années séparant deux échantillons (par exemple : $F_{ST-02-03}=0,02$ $P>0,05$ et $F_{ST02-06}=0,06$, $P<5.10^{-6}$), ce qui se traduit par un isolement génétique significatif entre les échantillons au cours du temps (Test de Mantel ; $P=0,01$; figure 4.14). La population de l'Aber Wrac'h semble donc soumise à un effet de dérive génétique significatif d'une année sur l'autre.

3. Discussion

3.1 Une population viable en dehors des apports de la culture

La population spontanée d'*U. pinnatifida* à l'Aber Wrac'h colonise le milieu naturel rocheux, parmi les espèces natives, à quelques centaines de mètres d'une ancienne concession de wakamé. L'aquaculture est l'un des principaux vecteurs d'introduction primaire des espèces exotiques et en particulier d'*U. pinnatifida* comme nous avons pu le voir dans le chapitre 1. Elle est également un vecteur majeur de la dispersion au sein des régions d'introduction des espèces introduites. Dans le cas d'*U. pinnatifida*, dès les premières années

Tableau 4.7 : Différences génétiques entre années d'échantillonnage (valeurs de F_{st} ; au dessus de la diagonale) et probabilités des tests exacts associés (en dessous de la diagonale)

Les valeurs de F_{st} en gras sont associées à un test significatif dont le seuil de significativité est ajusté par la méthode de Bonferroni (seuil à 0,005%).

	2002	2003	2004	2005	2006 (balise)
2002	*	0,00	0,01	0,02	0,11
2003	0,18	*	-0,01	0,00	0,06
2004	0,10	0,79	*	0,00	0,07
2005	0,00	0,51	0,73	*	0,06
2006 (balise)	0,00	0,00	0,00	0,00	*

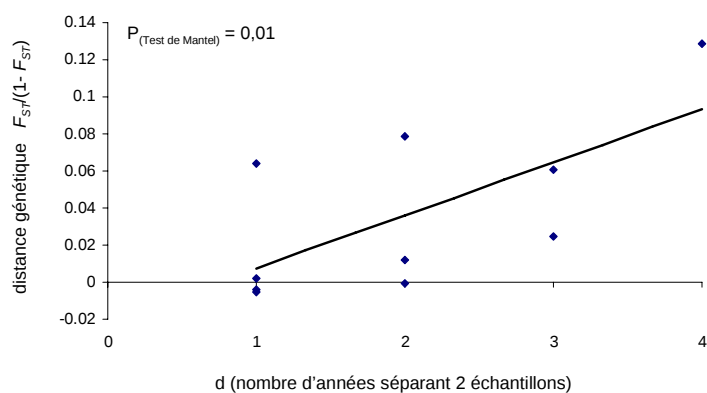


Figure 4.14 : Test du modèle d'isolement par la distance dans les populations du Breac'h Ver de 2002 à 2006

Les distances génétiques ($F_{st}/(1-F_{st})$) entre chaque paire d'individus sont représentées en fonction de la distance temporelle (d); nombre d'années séparant deux échantillons).

suivant l'installation de fermes aquacoles en Bretagne, des populations spontanées ont été observées en périphérie (Floc'h et al. 1991). Dans la baie de Lampaul notamment, sur l'île d'Ouessant, des individus se sont développés en milieu rocheux à quelques centaines de mètres des fermes (Floc'h et al. 1991).

A l'Aber Wrac'h, la cessation d'activité de la ferme aquacole à la fin de l'année 2001 ne s'est pas traduite pas une disparition de la population de la balise du Breac'h Ver. Au contraire, il semble que la population s'étende progressivement de la balise vers le sud de l'enrochement (obs. personnelle). Le suivi temporel de la population de l'Aber Wrac'h présenté dans le cadre de cette thèse est poursuivi au sein de l'équipe de recherche. Une nouvelle campagne d'échantillonnage a ainsi été réalisée en 2007, lors de laquelle tous les individus d'une zone donnée ont été cartographiés afin d'évaluer ultérieurement les relations d'apparement entre individus. Cette cartographie réalisée par GPS différentiel ont ainsi permis d'obtenir de nouvelles données de densité et de maturité sexuelle des individus. Il s'avère que les densités mesurées en 2007, bien que différentes, restent dans la même gamme que celles que j'avais observées en 2006 avec 2,65 ind.m⁻² en 2006 et 0,41 à 1,46 ind.m⁻² selon les zones en 2007. De même, la proportion d'individus matures observée chaque année est stable avec 7,46% et 10,41 % d'individus matures en mars 2006 et mars 2007 respectivement. Ces données semblent indiquer que la population est relativement stable d'un point de vue démographique, d'une année à l'autre. Ce résultat est d'autant plus intéressant qu'*U. pinnatifida* colonise un milieu rocheux occupé par de nombreuses espèces natives pérennes comme *L. hyperborea* et *L. digitata* ainsi que les espèces annuelles *H. elongata* et *S. polyschides*. Valentine & Johnson (2003) montrait qu'en Nouvelle-Zélande le maintien de la population d'*U. pinnatifida* en milieu rocheux était limité par le développement d'espèces natives pérennes : ils montraient que les populations d'*U. pinnatifida* installées, après la mise à nu d'un récif rocheux, présentaient des densités plus faibles dès la deuxième année du fait de la recolonisation de cet espace par des espèces natives. Il faut néanmoins noter ici, que si la population de l'Aber Wrac'h semble se maintenir durablement, les densités mesurées en milieu naturel rocheux sont très nettement inférieures à celles observées dans les milieux anthropisés comme les marinas avec, par exemple, des densités atteignant environ 35 individus par mètres carrés dans le port de Brest en mars 2006 (voir partie B). La présence de *S. polyschides* décrite comme la principale espèce compétitrice d'*U. pinnatifida* en Manche (Castric-Fey et al. 1993) et de nombreuses autres espèces natives pourrait ici jouer un rôle important dans la limitation de la prolifération locale d'*U. pinnatifida*.

Cette hypothèse d'une stabilité de la population et de sa capacité à se maintenir sans apports extérieurs venant des cultures est renforcée par les données génétiques. Les indices de diversité génétique obtenus avec les 10 locus microsatellites sont globalement stables au cours des 5 années du suivi. Les valeurs de diversité génétique en 2006, légèrement supérieures à celles obtenues dans les populations de 2002-2005, seraient principalement dues à la stratégie d'échantillonnage mise en place en 2006. En effet, alors que les échantillonnages de 2002 à 2005 étaient principalement localisés autour de la balise, l'échantillonnage de 2006 a couvert une zone plus importante du site. Un sous échantillonnage de la population, ne comprenant que les individus les plus proches de la balise, montre d'ailleurs des niveaux de diversité plus faibles que pour l'ensemble de la population de 2006 ($H_{e\text{-balise}}=0,26$; $H_{e\text{-tot06}}=0,31$) et identiques à ceux obtenus en 2004-2005. Ce résultat rejoint d'ailleurs ceux obtenus pour les populations du milieu rocheux de la baie de St Malo, dont la diversité génétique était stable sur les deux années de l'étude. Le maintien des niveaux de diversité de la population de l'Aber Wrac'h sur une période de 5 ans confirme qu'en Bretagne Nord les populations d'*U. pinnatifida* semblent pouvoir s'installer et se maintenir durablement en milieu rocheux au milieu d'espèces natives, en l'absence de migrants depuis des sources anthropiques.

3.2 L'impact d'apports extérieurs se dilue au cours du temps

L'étude de la population de l'Aber Wrac'h a débuté en 2002, l'année après l'arrêt de la culture. Il est ici intéressant de noter que seule la population de 2002 présente un déficit significatif en hétérozygotes. Peu de locus montrent des déficits en hétérozygotes traduisant probablement l'existence de structures spatiales au sein de la population. La structure intrapopulation pourrait refléter le mélange d'individus provenant de la reproduction de deux « pools » génétiques différenciés. En effet, la population de 2002 ayant été échantillonnée seulement quelques mois après l'arrêt de la culture dans l'Aber, les sporophytes échantillonnés pourraient être issues de spores (1) relâchées par les individus sexuellement matures se trouvant en cultures et (2) émises par les individus déjà en place sur le site du Breac'h Ver en 2001. L'existence de ces deux groupes génétiquement différenciés disparaît ensuite rapidement : les valeurs de l'indice F_{IS} diminuent en effet progressivement au cours du temps et dès l'année suivante (2003), les écarts aux proportions attendues sous l'équilibre de Hardy-Weinberg ne sont plus significatives. Ceci suggère que des individus issus des cultures se seraient rapidement (l'année de reproduction suivant leur installation) reproduits librement (en panmixie) avec les individus présents sur le site étudié.

Le suivi sur plusieurs années de la population du Breac'h Ver a également mis en évidence que la composition allélique varie légèrement mais progressivement au cours du temps. Les indices de différenciation génétique entre échantillons annuels sont en effet de plus en plus importants en fonction du nombre d'années séparant deux échantillons. Cette fluctuation des fréquences alléliques dans la population reflète un effet de dérive génétique. Lorsque la taille efficace d'une population est limitée, la loi des grands nombres ne s'applique plus, et des modifications des fréquences alléliques apparaissent, liées au hasard d'échantillonnage des allèles dans la population d'une génération à l'autre.

4. Conclusion

Les résultats de ce suivi ont permis de mettre en évidence la capacité d'une population à se maintenir dans un milieu naturel rocheux au milieu des espèces natives, sans apports récurrents depuis des sources anthropiques. La population semble même s'étendre progressivement, pas à pas, sur les enrochements. Dans ce contexte, il apparaît intéressant d'analyser plus finement les modalités de reproduction, de recrutement local et en particulier de déterminer, quelles sont les distances de dispersion naturelle chez cette espèce ; les vecteurs naturels de dispersion étant supposés être des facteurs limitant à l'expansion locale d'*U. pinnatifida*. Par ailleurs, la poursuite des études sur ce site est d'autant plus intéressante que vient de s'implanter (été 2007) un port de plaisance, en eau profonde, dans l'Aber Wrac'h. Dans une telle situation, il sera particulièrement intéressant de surveiller l'apparition d'*U. pinnatifida* dans ce milieu et d'analyser la possibilité d'échanges entre cette éventuelle population portuaire et les populations installées dans le milieu rocheux.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

- Phase de dispersion

- ★ - Distribution géographique
- ★ - Probabilité d'être transportée (ex : l'existence de stades microscopiques est ici considérée comme un atout à la dispersion)
- NS - Survie à la dessiccation

- Phase d'établissement

- NS - Gamme de tolérance à la salinité
- NS - Gamme de tolérance à la température
- ★ - Tolérance aux polluants (ex : pour le développement dans des zones anthropisées comme les marinas)
- ★ - Mode de reproduction (ex : période de reproduction, par parthénogenèse, reproduction clonale)
- NS - Croissance (ex : tolérance aux stress, ratio surface volume)
- ★ - Résistance au broutage et mécanismes de défense

- Conséquences écologiques

- ★ - Gamme de taille (la taille maximale de chaque stade de vie a été considérée)
- ★ - Morphologie (ex : formation de structure encroutante)
- ★ - Impact sur l'habitat (ex : abondance, répartition dans la colonne d'eau et la possibilité de déplacer d'autres espèces)
- NS - Mode de reproduction (ex : période de reproduction, par parthénogenèse, reproduction clonale)
- NS - Durée de vie

Figure C.1 : Critères utilisés par Nyberg & Wallentinus, (2005) pour mesurer le potentiel invasif d'une macroalgue dans les eaux européennes.

Pour chaque critère, une échelle de 0 à 1, divisée en 10 intervalles a été utilisée (0 correspondant au risque le plus faible et 1 au risque le plus élevé). Les auteurs ont par la suite comparé les valeurs obtenues pour des espèces introduites en Europe, par rapport aux espèces natives. Les étoiles symbolisent les critères pour lesquels des différences significatives ont été mesurées et apparaissant comme un avantage lors du phénomène d'introduction. Les critères pour lesquels aucun effet n'a été mis en évidence sont symbolisés par « NS ».

Les critères soulignés correspondent à des caractéristiques biologiques retrouvées chez *U.pinnatifida*, pouvant favoriser son succès d'introduction et d'installation dans une aire d'introduction et abordés lors de ce travail de thèse. La « distribution géographique » correspond à la proximité des populations de l'aire d'origine avec des activités anthropiques (*i.e.* développant de populations dans des bassins conchylicoles). La « probabilité d'être transportée » peut être mise en parallèle avec le développement de gamétophytes microscopiques sur les coquilles, sur les coques des bateaux, et la capacité des gamétophytes à survivre dans des conditions abiotiques extrêmes. De nombreuses populations se développent dans des environnements perturbés comme les marinas (« tolérance aux polluants »). Le « mode de reproduction » peut ici être mis en parallèle de la possibilité d'autofécondation, voire de parthénogenèse. Enfin, « croissance » peut être associée à la croissance rapide des individus dans des environnements anthropisés comme les marinas.

Conclusions & perspectives

Un des principaux objectifs de ce travail de thèse était d'évaluer le rôle joué par les activités humaines dans les dynamiques d'expansion et de maintien des populations d'une espèce introduite à une échelle mondiale, l'algue brune *Undaria pinnatifida*. Nous avons choisi d'aborder cette question par une approche de génétique des populations qui offre des outils pertinents dans l'analyse des introductions biologiques. En effet, l'observation comparée de la diversité et de la structure génétique des populations introduites permet dans de nombreux cas de retracer les modalités de l'introduction ainsi que les échanges entre populations au sein des régions d'introduction. Quant au choix du modèle biologique, *U. pinnatifida*, il était notamment basé sur la relation étroite que cette espèce entretient avec les activités humaines, en particulier en tant qu'espèce cultivée dans son aire d'origine mais également en Europe, une des régions d'introduction. Ce caractère d'algue cultivée associé à la présence de l'algue dans de nombreux sites anthropisés (*i.e.* zones portuaires) nous plaçait dans des conditions idéales pour analyser l'effet des activités humaines dans l'« effort d'introduction » ou la « pression en propagules » (Lockwood et al. 2005). Par ailleurs, au sein même des régions où l'espèce a été introduite, l'installation de populations cultivées pourrait constituer de véritables réservoirs de migrants favorisant l'expansion dans le milieu naturel (Floc'h et al. 1991). Certaines caractéristiques biologiques (figure C.1), comme la présence de stades microscopiques dans le cycle de vie, pourraient également favoriser le succès d'introduction d'*U. pinnatifida*, tel que mis en évidence par Nyberg & Wallentinus (2005), qui classaient *U. pinnatifida* parmi les espèces présentant le plus fort potentiel d'introduction.

Dans cette conclusion générale, je reprendrai les principaux résultats obtenus au cours de ce travail en tâchant de montrer en quoi les activités humaines ont pu favoriser le développement d'*U. pinnatifida* et quelles caractéristiques du cycle de vie apparaissent comme des atouts dans le processus d'introduction. Dans un second temps, à partir des résultats obtenus au cours de mon travail de doctorat, j'exposerai différentes perspectives de recherche à venir.

Principaux résultats obtenus

1. Des mécanismes d'introduction contrastés conduisant à une redistribution de la diversité génétique à une échelle globale

A partir du développement de nouveaux marqueurs génétiques, situés dans les espaces inter-géniques du génome mitochondrial, j'ai pu montrer que les modalités d'introduction selon les régions d'introduction étaient différentes :

(1) En Australasie, la diversité génétique est supérieure à celle observée dans la région d'origine asiatique à une échelle locale (exemple, la population de Dunedin, voir Chapitre 1) et des haplotypes géographiquement séparés dans l'aire d'origine sont désormais réunis au sein d'une même population. **L'introduction (répétée), probablement liée au trafic maritime, a ainsi transformé la diversité génétique interpopulation de l'aire d'origine en une diversité intrapopulation dans l'aire d'introduction.** Cette augmentation de la diversité génétique et ces phénomènes de mélanges (dits d'« admixture »), à la suite d'un événement d'introduction ont été mis en évidence dans d'autres cas d'introduction en milieu marin (voir par exemple le cas de *Cyclope neritea*, Simon-Bouhet et al. 2006) comme en milieu terrestre (voir par exemple le cas du lézard cubain introduit en Floride ; Kolbe et al. 2004). Ces profils de mélange et de redistribution de la diversité génétique pourraient conférer aux espèces introduites un avantage avec la co-existence d'individus provenant de populations ayant évolué dans différents environnements au sein de l'aire native ; cette diversité des origines conférerait une capacité d'adaptation importante aux populations introduites.

(2) En Europe, seule une faible partie de la diversité génétique de l'aire d'origine a été identifiée, témoignant d'événements d'introduction depuis des sources génétiquement similaires et proches des populations cultivées japonaises et coréennes (chapitre 1). L'analyse de la distribution de la diversité génétique à l'échelle européenne (chapitre 2) a mis en évidence l'existence de trois groupes génétiquement différenciés répartis le long de la côte européenne (*i.e.* les « Pays-Bas », « Nord Europe » et « Espagne »), suggérant des événements d'introduction primaires différents à l'échelle européenne bien qu'ayant une

origine commune. A la différence de la Nouvelle Zélande, où *U. pinnatifida* a dès le départ de son introduction colonisé le milieu naturel (jusqu'à former des peuplements monospécifiques, Hay & Luckens 1987, Hay 1990), la localisation européenne des populations spontanées a, au départ, été essentiellement restreinte à des zones portuaires et des milieux artificialisés suggérant l'importation d'un « type » adapté à ce genre d'environnement dans son aire d'origine (Floc'h et al. 1991, Fletcher & Manfredi 1995). Ici **l'aquaculture a joué un rôle essentiel dans l'installation primaire des populations européennes.**

Nos résultats montrent ici que **différents processus peuvent être à l'origine d'une introduction réussie et soulignent l'importance de considérer l'ensemble de l'aire de distribution d'une espèce exotique** pour comprendre quels mécanismes peuvent favoriser le succès d'introduction d'une espèce exotique en fonction d'un milieu donné.

2. Après l'introduction primaire, les activités humaines restent au centre du processus d'expansion en Europe

Si les activités humaines sont par définition à l'origine des introductions primaires d'espèces exotiques (Carlton 1996a), on peut se demander quelle influence peuvent avoir ces activités au sein même d'une région d'introduction par rapport aux processus naturels de dispersion. En effet au sein des régions d'introduction, les mêmes vecteurs que les vecteurs d'introductions primaires sont présents (ex : le trafic maritime, l'aquaculture) et les mêmes phénomènes de transports accidentels peuvent avoir lieu. Par ailleurs, en colonisant des environnements fortement anthropisés au sein desquels la compétition avec les espèces locales peut être moins importante que dans le milieu naturel (voir Sax & Brown 2000), des réservoirs de migrants peuvent se constituer pour une colonisation future du milieu naturel. Sakai et al. (2001) notait ainsi que pour de nombreuses espèces exotiques des temps de latence importants pouvaient être observés entre leur installation initiale dans une région d'introduction et leur expansion au-delà de leur point initial d'introduction.

Les résultats obtenus au cours de mon travail de doctorat ont effectivement apporté des éléments de confirmation de ce rôle majeur des vecteurs de dispersion d'origine humaine dans l'expansion locale des populations introduites. **Dans le cas d'*U. pinnatifida*, les faibles capacités de dispersion naturelle sont ainsi contrebalancées par une dispersion d'origine anthropique.** Les phases dispersives naturelles d'*U. pinnatifida* sont les spores et les

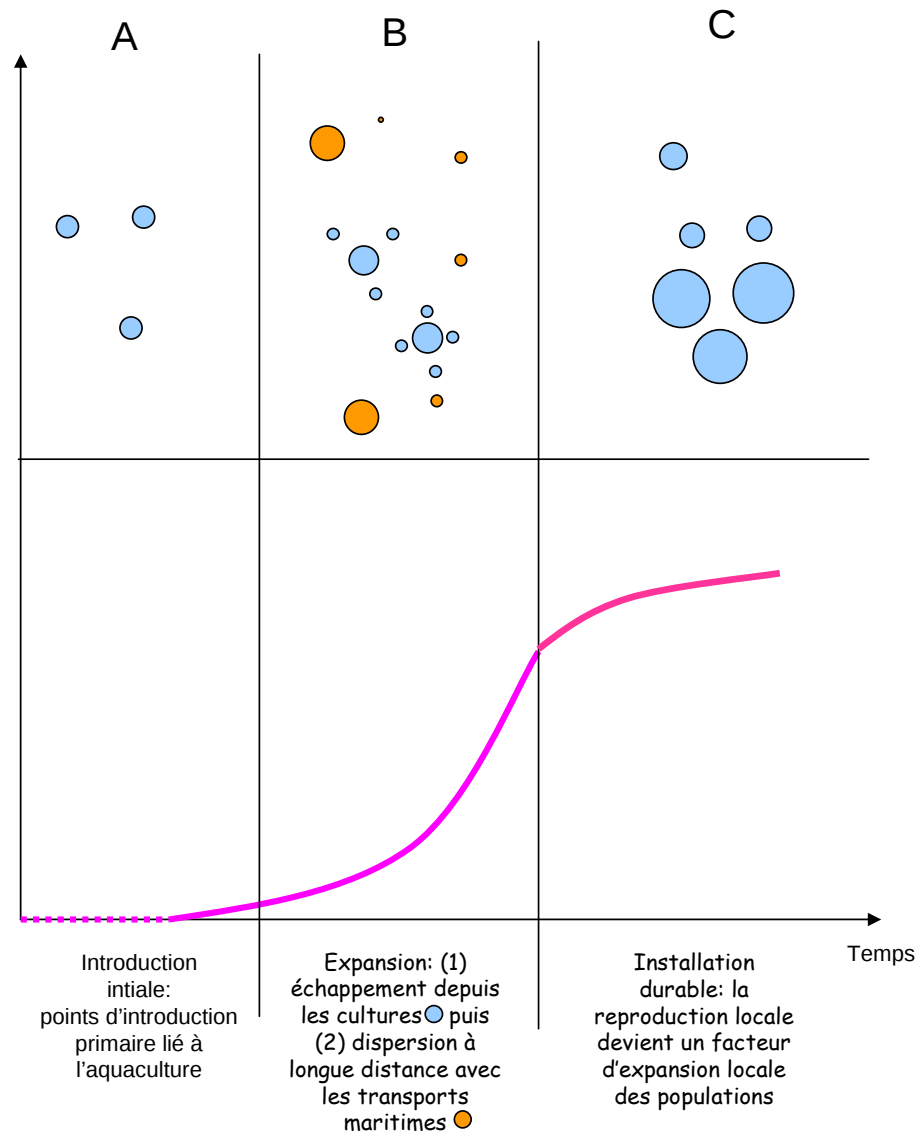


Figure C.2 : Représentation schématique de l'évolution de la dynamique spatio-temporelle des populations d'*U. pinnatifida* en Europe en fonction des vecteurs de dispersion

individus en épaves. Les spores ont des durées de vie limitées en milieu naturel et la distance de dispersion serait au mieux de l'ordre de quelques centaines de mètre par an (Forrest et al. 2000). Les individus en épave quant à eux pourraient disperser sur des distances de l'ordre de la dizaine de kilomètres (Forrest et al. 2000) mais représentent des événements rares. Compte-tenu de ces distances de dispersion faibles, en l'absence de transports par l'homme, une expansion « pas à pas » des populations est attendue avec un isolement génétique progressif des populations en fonction de leur distance géographique. L'absence de telle signature au sein des différentes zones européennes étudiées (cf. chapitre 2) indique que **des transports de propagules par les activités humaines favorisent l'expansion rapide des populations le long des côtes européennes**. Le scénario proposé est représenté dans la figure C2 dans le cadre B : après une dynamique spatio-temporelle relativement modérée liée à l'introduction en un nombre restreint de sites européens en relation avec l'aquaculture suit une période d'expansion spatiale rapide du fait de ces transports maritimes. *U. pinnatifida* est ainsi largement distribuée le long des côtes européennes. Par ailleurs, il contraste avec la situation observée chez d'autres espèces introduites largement répandues comme le mollusque *Crepidula fornicata*. Chez cette espèce, si l'introduction initiale a été largement favorisée par les échanges entre bassins conchylicoles, la phase larvaire a ensuite permis la colonisation de nombreuses baies, par dispersion naturelle (Dupont et al. 2007 in press).

Le cas d'*U. pinnatifida* illustre que la capacité d'une espèce à se développer en périphérie des activités humaines, ou sur des substrats artificiels (ex. coques des bateaux, coquilles de bivalves, bouées...) peut largement compenser une capacité de dispersion limitée pour l'expansion des populations. **L'introduction primaire a été largement sous la dépendance des activités de culture de l'algue mais à une échelle locale, ce sont les activités nautiques et les transports maritimes qui semblent contribuer le plus fortement à une colonisation durable du milieu naturel**. Lors de l'étude des populations de la baie de St-Malo (chapitre 3) nous avons en effet mis en évidence que ce sont les populations des marinas qui semblent désormais jouer un rôle central à l'échelle de la baie en continuant à échanger des gènes avec les populations du milieu naturel.

3. Vers une installation durable sur les côtes de Bretagne Nord ?

Le développement de populations denses, génétiquement diversifiées dans les marinas pourrait constituer un formidable réservoir de migrants vers le milieu naturel. Toutefois, cette étape ne pourrait être que transitoire car **le maintien de populations naturelles ne semble pas être systématiquement sous la dépendance d'apports extérieurs ce qui pourrait laisser supposer une relative décélération de la dynamique spatio-temporelle à l'avenir au profit d'une expansion locale plus importante** (cadre C dans la figure C.2). Après l'arrêt des cultures à l'Aber Wrac'h (cf. Chapitre 4), la population étudiée au site du Breac'h Ver ne montre pas de signe de décroissance démographique et semble se reproduire année après année de façon autonome. De même, certaines des populations du milieu naturel étudiées dans la baie de St-Malo (Chapitre 3) montrent des profils de populations autonomes, fermées à la migration et dans lesquelles il existe peu d'effets de dérive génétique. Bien que nécessitant un suivi à long terme, notamment en terme démographique, il semble que ces populations sont durablement installées dans le milieu naturel et leur « autonomie » suggère la possibilité d'adaptations locales. Par ailleurs, le suivi des populations portuaires (Chapitre 4) a montré que la colonisation de substrats vierges est efficace et que les populations spontanées parviennent à se reproduire efficacement chaque année avec un recrutement mineur toute l'année et un événement majeur au printemps. **Ces différents résultats confirment le caractère d'espèce pionnière d'*U. pinnatifida* caractérisée par une colonisation précoce des substrats et un investissement important dans la reproduction.**

Ce travail de doctorat n'avait pas pour ambition d'analyser les facteurs biotiques et abiotiques modulant la dynamique démographique des populations. Cependant, des études réalisées dans les deux ports, deux facteurs ressortent comme pouvant limiter cette installation durable : (i) la température : le développement des stades macroscopiques semble en effet corrélé aux conditions environnementales -notamment la température de l'eau-, ce qui rejoint les observations faites par Thornber et al. (2004) en Californie, une autre région d'introduction et (ii) la compétition inter-spécifique : par exemple, le développement d'*U. pinnatifida* semble sensible au développement d'autres espèces comme les ascidies de la famille des *Didemnidae*, au sein desquelles se trouvent également des espèces introduites.

Perspectives

Les différents résultats obtenus au cours de ce travail de thèse nous ont permis d'apporter des éléments de réponse quant au succès d'introduction et d'expansion de populations d'*U. pinnatifida* en dehors de son aire d'origine. Il apparaît clairement que sa capacité à se développer en parallèle des activités humaines a très fortement contribué à son introduction mondiale ainsi qu'à son expansion au sein des régions d'introduction et a compensé des capacités de dispersion naturelle limitée. Cependant les échelles d'étude choisies dans le cadre de cette thèse n'ont pas permis d'appréhender finement les processus naturels de dispersion et de nouvelles questions émergent au regard de nos résultats.

1. Taux et distances de dispersion dans les populations naturelles d'*U. pinnatifida*

Les études sur lesquels nous nous sommes appuyés pour qualifier de limitantes les capacités de dispersion naturelle sont des études expérimentales de terrain ou de laboratoire. Par exemple, Forrest et al. (2000) ont suivi la colonisation de substrats vierges placés à des distances variables de la population. Dans de telles études, il n'est pas possible d'affirmer que les recrues viennent effectivement de la reproduction de la population cible. Par ailleurs, des expériences en laboratoire ont étudié les durées de vie des spores (Forrest et al. 2000) et gamètes mais ces données sont difficilement transférables au milieu naturel où interagissent de multiples facteurs biotiques (prédation) et abiotiques (ex. courants ; voir Gaylord et al. 2002). On peut ainsi s'interroger sur les capacités réelles (efficaces) de dispersion dans le milieu naturel. Pour répondre à cette question, deux approches complémentaires pourraient être développées dans la continuité des travaux que j'ai mis en place au cours de mon doctorat.

Dans un premier temps, **les outils microsatellites que j'ai contribué à développer et que j'ai optimisé pourraient être mis en œuvre pour analyser, par des techniques d'autocorrélation génétique spatiale, les distances de dispersion « parents-descendants »**. Une telle approche a été testée au cours du printemps dernier au laboratoire lors du stage de Master 2 de Daphné Grulois, que j'ai co-encadré. Au sein de la population de l'Aber Wrac'h, que nous avons suivi depuis plusieurs années, une approche associant la cartographie précise

des individus à l'aide d'un GPS différentiel et leur géotypage a permis d'évaluer les degrés d'apparentement entre les individus en fonction de leur position spatiale dans la population et d'estimer des distances de dispersion efficaces au sein d'une population de l'ordre d'un mètre. Des techniques d'assignation ou de regroupement s'appuyant sur des approches bayésiennes individuelles permettraient en outre d'évaluer comment les individus se ségrègent au sein d'une population. Les résultats obtenus sont préliminaires et il m'apparaît essentiel de ne pas se contenter d'un seul site. En particulier, l'Aber Wrac'h représente une situation assez atypique puisque depuis 2002 et jusqu'à cet été, aucun ports n'existait et aucune cultures n'avait lieu. Il serait intéressant de conduire une approche similaire dans un site où de multiples activités se concentrent, tel que dans la baie de St Malo.

Un second volet qui pourrait être développé s'appuierait sur les suivis réalisés pendant 4 années dans les ports de Brest et Perros-Guirec. En effet, au cours de ce suivi, chaque mois les recrues ont été échantillonnées ainsi que la population adulte avoisinante une fois par an (au pic de maturité sexuelle). **Ainsi, en comparant la signature génétique des individus échantillonnés sur chaque plaque et au cours du temps, il serait possible de tester l'hypothèse de microstructure spatiale au sein des populations portuaires**, hypothèse que j'ai avancé au cours de ma thèse pour expliquer les importants déficits en hétérozygotes observés.

2. Les stades microscopiques du cycle de vie : une boîte noire à explorer

Les dynamiques temporelles mises en évidence lors du suivi démographique dans les deux ports ainsi que toutes les études génétiques conduites ne concernent que le stade sporophytique, c'est-à-dire le stade macroscopique du cycle de vie d'*U. pinnatifida*. Pourtant cette espèce, comme toutes les Laminariales, présentent un cycle digénétique avec une alternance de stades microscopiques et macroscopiques. Dans notre suivi démographique, les dynamiques temporelles des stades microscopiques (*i.e.* le développement des gamétophytes, la présence de spores dans la colonne d'eau) n'ont été appréciées que de façon très indirecte en fonction des dates d'apparition des sporophytes et de leur période de maturité.

Comme dans le cas des larves dans les cycles benthopélagique des invertébrés marins, les spores sont pourtant des éléments déterminants de la dynamique démographique des populations benthiques adultes (ex. Kinlan & Hastings 2005). Or contrairement aux invertébrés marins chez lesquels la phase larvaire est largement étudiée, **l'étude des spores des algues en milieu naturel est limitée. Dans le cas d'une espèce introduite, leur étude**

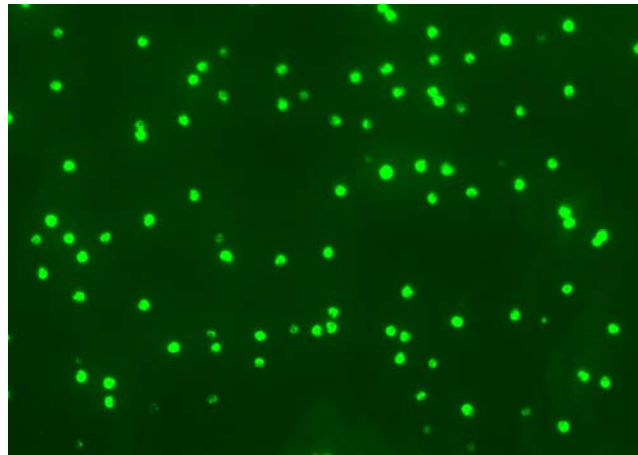


Figure C.3 : Résultats des essais de marquage de spores d'*Undaria pinnatifida* par une technique d'hybridation in situ (technique FISH adaptée au marquage du phytoplancton). La sonde utilisée était une sonde universelle eucaryote

apparaît d'autant plus importante que ces spores microscopiques sont des agents de dispersion potentiellement particulièrement efficaces et il apparaît ici intéressant de préciser la période de présence des spores dans la colonne d'eau notamment en fonction des présences de spores d'autres espèces avec lesquelles elle entrent en compétition, par exemple des algues brunes de la famille des laminaires. **Ces questions pourraient être abordées par des techniques dérivées des marquages réalisées sur des échantillons d'eau de mer pour évaluer la composition planctonique (voir par exemple Not et al. 2002).** Au cours de ma thèse, des résultats préliminaires ont montré la faisabilité d'un tel marquage des spores des principales espèces de Laminariales trouvées en Bretagne Nord. Ces essais ont été réalisés avec des sondes universelles (figure C.3) et il conviendra dans un premier temps de rechercher des sondes spécifiques d'*U. pinnatifida* ou des autres laminaires cibles.

En parallèle du suivi des spores dans le milieu, une perspective également concernant le cycle de vie de l'algue concerne l'étude fine des modalités de la reproduction. En effet, lors de l'étude des populations introduites nous avons mis en évidence que des reproductions entre individus apparentés semblait avoir lieu au sein d'une population spontanée. Dans les cas les plus extrêmes, nos résultats ont mis en évidence **l'existence d'individus homozygotes sur l'ensemble des locus qui suggérait des événements de parthénogenèse dans les populations spontanées d'*U. pinnatifida*.** Ce type de reproduction avait déjà été mis en évidence chez cette espèce en laboratoire (Fang 1983) mais aucune étude ne révèle que ce phénomène puisse avoir lieu dans les populations spontanées. La possibilité de parthénogenèse conférerait un avantage certain pour la colonisation de nouveaux milieux. La parthénogenèse chez les laminariales se traduit par des descendance gamétophytiques exclusivement femelles. L'hypothèse d'une parthénogenèse au sein de populations pourrait donc être vérifiée en analysant le sexe ratio de gamétophytes prélevés sur le terrain (par exemple en utilisant des substrats artificiels) ou produits en laboratoire à partir de sporophytes prélevés sur le terrain. La population du port de Vauban (cf. Chapitre 3) est une candidate intéressante pour ce travail car la plus susceptible de présenter un tel mode de reproduction.

3. Adaptation et évolution des populations introduites

L'une des originalités de ce travail de thèse a été l'intégration d'une dimension temporelle dans l'étude des dynamiques génétiques et démographiques des populations et d'évaluer comment les populations introduites évoluaient au cours du temps. Si nos résultats ont permis d'évaluer la stabilité temporelle des caractéristiques des populations quelques

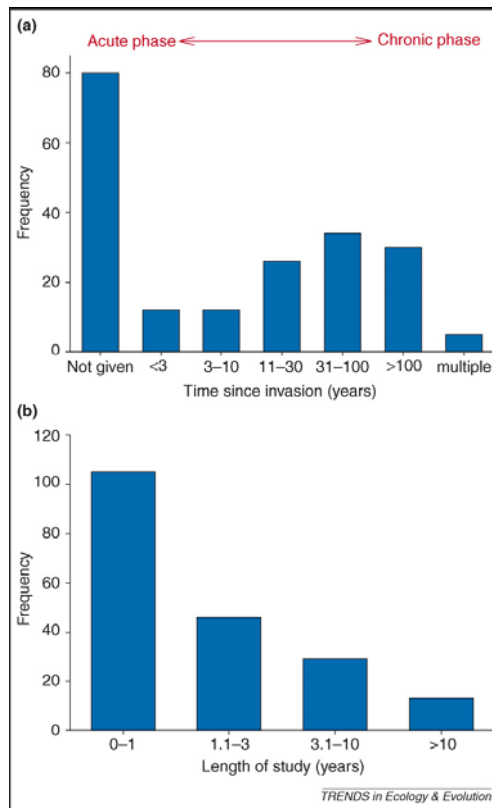


Figure C.4 issue de Strayer et al. (2006) montrant en (A) la proportion d'études d'espèces invasives en fonction du temps écoulé depuis l'introduction et en (B) le proportion d'études se déroulant sur une période donnée.

Il ressort de ce graphique que (A) rares sont les études qui s'intéressent à des espèces/populations caractérisés par des temps variables d'introduction et (B) rares sont les études menées sur une période supérieure à un an.

années après l'introduction initiale d'*U. pinnatifida*, il apparaît indispensable de mettre en place un suivi à plus long terme pour évaluer précisément l'évolution des populations et leurs conséquences sur les communautés associées. Strayer et al. (2006) soulignait en effet le manque (figure C.4) et la nécessité d'analyses temporelles à long terme des invasions biologiques : des modifications dans les caractéristiques de l'espèce exotique ou de l'environnement introduit peuvent, à terme, modifier l'impact des espèces introduites sur les écosystèmes envahis (ex. Daehler 2003).

L'étude réalisée dans la baie de St Malo, dans laquelle des populations de plusieurs compartiments ont été analysés et pour lesquelles des premières données de densité des populations ont été acquises pourrait être reconduite tous les 5 ans pour évaluer l'évolution des populations non seulement en terme de diversité et de structure génétique mais également en terme d'abondance par rapport aux espèces natives. Une étude plus globale de la communauté envahie pourrait également être envisagée, en acquérant davantage de données sur la composition de la communauté associée à *U. pinnatifida* et notamment sur les autres espèces de Laminariales. L'importance de suivre les populations introduites rejoint ici le constat fait par Facon & David (2006) qui mettait en avant la nécessité d'étudier conjointement les environnements envahis et les espèces introduites ; le succès d'introduction et donc l'impact des espèces exotiques résultant de l'adéquation de ces caractéristiques.

Le succès d'introduction d'*U. pinnatifida* est non seulement mondial, avec des populations se développant dans les deux hémisphères et dans la plupart des océans et des mers du globe, mais les populations colonisent au sein même des régions d'introduction une large gamme d'environnements. Il pourrait ici être intéressant de développer des approches permettant la **détection d'éventuels effets sélectifs dans les populations introduites par rapport aux populations de l'aire d'origine ou entre des populations de différents habitats, par exemple en travaillant avec des marqueurs de type AFLP** (Meudt & Clarke 2007) pour rechercher des locus, qui ont des comportements très différents et qualifiés d'« outliers », marqueurs de sélection (Campbell & Bernatchez 2004). D'une manière générale, une étude plus détaillée des mécanismes qui gouvernent le maintien des populations localement et des capacités d'adaptation de l'espèce dans différents habitats ou régions d'introduction permettrait d'améliorer notre compréhension des mécanismes sous jacents au succès d'installation des espèces en dehors de leur aire d'origine.

BIBLIOGRAPHIE

- Abdelkrim J, Pascal M, Samadi S (2007) Establishing Causes of Eradication Failure Based on Genetics: Case Study of Ship Rat Eradication in Ste. Anne Archipelago. *Conserv Biol* 21:719-730
- Aguilar-Rosas R, Aguilar-Rosas L, Àvila-Serrano G, Marcos-Ramirez R (2004) First record of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Laminariales, Phaeophyta) on the Pacific coast of Mexico. *Botanica Marina* 47:255-258
- Allendorf FW, Lundquist LL (2003) Introduction : Population Biology, Evolution, and Control of Invasive Species. *Conserv Biol* 17:24-30
- Amsellem L, Noyer JL, Le Bourgeois T, Hossaert-McKey M (2000) Comparison of genetic diversity of the invasive weed *Rubus alceifolus* Poir. (Rosaceae) in its native range and in areas of introduction, using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Mol Ecol* 9:443-455
- Anttila CK, King RA, Ferris C, Ayres DR, Strong DR (2000) Reciprocal hybrid formation of *Spartina* in San Francisco Bay. *Mol Ecol* 9:765-770
- Bakan G, Büyükgüngör H (2000) The Black Sea. *Marine Pollution Bulletin* 41:24-43
- Baker HG (1974) The evolution of weeds. *Annu Rev Ecol Syst* 5:1-24
- Bazin E, Glémin S, Galtier N (2006) Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals. *Science* 312:570-572
- Berg DJ, Garton DW, Macisaac HJ, Panov VE, Telesh IV (2002) Changes in genetic structure of North American Bythotrephes populations following invasion from Lake Ladoga, Russia. *Freshw Biol* 47:275-282
- Bilio M, Niermann U (2004) Is the comb jelly really to blame for it all? *Mnemiopsis leidyi* and the ecological concerns about the Caspian Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 269:173-183
- Billot C, Engel CR, Rousvoal S, Kloareg B, Valero M (2003) Current patterns, habitat discontinuities and population genetic structure: the case of the kelp *Laminaria digitata* in the English Channel. *Mar Ecol Prog Ser* 253:11-121
- Birkett DA, Maggs CA, Dring MJ, Boaden PJS (1998) Infralittoral reef biotopes with kelp species, Vol VII. Scottish Association of Marine Science (UK Marine SACs Project)
- Blanchard M (1997) Spread of the slipper limpet *Crepidula fornicata* (L. 1758) in Europe. Current state and consequences. *Scientia Marina* 61:109-118
- Boudouresque CF, Ribera MA (1994) Les introductions d'espèces végétales et animales en milieu marin. Conséquences écologiques et économiques et problèmes législatifs. In: Boudouresque C-F, Meisnez A, Gravez V (eds) First International Workshop on *Caulerpa taxifolia*. GIS Posidonie Publ., France, p 29-94
- Bremer JRA, Mejuto J, Greig TW, Ely B (1996) Global population structure of the swordfish (*Xiphias gladius* L.) as revealed by analysis of the mitochondrial DNA control region. *J Exp Mar Biol Ecol* 197:295-310

- Briggs M, Funge-Smith S, Subasinghe R, Phillips M (2004) Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific, Food and Agriculture organization of the United Nations, Bangkok
- Byers JE (2000) Competition between two estuarine snails: implications for invasions of exotic species. *Ecology* 81:1225-1239
- Caamaño JS, Neira CD, Castroviejo RA (1990) Aparicion de *Undaria pinnatifida* en las costas de Galicia (España). Un nuevo caso en la problematica de introduccion de especies foraneas. informes tecnicos del centro de investigaciones submarinas 3
- Cain ML, Milligan BG, Strand AE (2000) Long-distance seed dispersal in plant populations. *Am J Bot* 87:1217-1227
- Callaway RM, Maron J, L. (2006) What have exotic plant invasions taught us over the past 20 years? *Trends in Ecology and Evolution* 21:369-374
- Campbell D, Bernatchez L (2004) Generic Scan Using AFLP Markers as a Means to Assess the Role of Directional Selection in the Divergence of Sympatric Whitefish Ecotypes. *Mol Biol Evol* 21:945-956
- Carlton JT (1996a) Biological invasions and cryptogenic species. *Ecology* 77:1653-1655
- Carlton JT (1996b) Pattern, process, and prediction in marine invasion ecology. *Biol Conserv* 78:97-106
- Carlton JT, Geller JB (1993) Ecological Roulette : The Global Transport of nonindigenous Marine Organisms. *Science* 261:78-81
- Carlton JT, Ruiz GM (2005) Vector Science and Integrated Vector Managment in Bioinvasion Ecology: Conceptual Framework. In: Mooney HA, Mack RN, McNeely JA, Neville LE, Schei PJ, Waage JK (eds) *Invasive alien species A new synthesis*. Island Press, Washington, Covelo, London, p 36-58
- Casas GN, Piriz ML (1996) Surveys of *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta) in Golfo Nuevo, Argentina. *Hydrobiologia* 326/327:213-215
- Castric-Fey A, Beaupoil C, Bouchain J, Pradier E, L'Hardy-Halos MT (1999) The Introduced Alga *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Alariaceae) in the Rocky Shore Ecosystem of the St Malo Area; Growth Rate and Longevity of the Soporophyte. *Botanica Marina* 42:83-96
- Castric-Fey A, Girard A, L'Hardy-Halos MT (1993) The distribution of *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae, Laminariales) on the coast of St. Malo (Brittany, France). *Botanica Marina* 36:351-358
- Cecere E, Petrocelli A, O.D. S (2000) *Undaria pinnatifida* (Fucophyceae, Laminariales) in the central Mediterranean : its occurence in the Mar Piccolo of Taranto (Ionian Sea, southern Italy). *Cryptogamie, Algol* 21:305-309
- Charbonnel N, Quesnoit M, Razatavonjizay R, Brémond P, Jarne P (2002) A spatial and temporal approach to microevolutionary forces affecting population biology in the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi*. *The American Naturalist* 160:741-755
- Chauvaud L (1998) La coquille Saint-Jacques en rade de Brest : Un modèle biologique d'études des réponses de la faune benthique aux fluctuations de l'environnement. Thèse de dcotorat, Université de Bretagne Occidentale

- Chavanich S, Viyakarn V, Senanan W, Panutrakul (2007) Introduction of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* for aquaculture purposes: is it good or bad for Thailand? Fifth international conference on marine bioinvasions, Boston
- Colautti RI, Grigorovich IA, MacIsaac HJ (2006) Propagule pressure: a null model for biological invasions. *Biol Invasions* 8:1023-1037
- Colautti RI, MacIsaac HJ (2004) A neutral terminology to define 'invasive' species. *Divers Distrib* 10:135-141
- Colautti RI, Ricciardi A, Grigorovich IA, MacIsaac HJ (2004) Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters* 7:721-733
- Cornuet J-M, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent populations bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001-2014
- Coyer JA, Hoarau G, Oudot-Le Secq M-P, Stam WT, Olsen JL (2006) A mtDNA-based phylogeny of the brown algal genus *Fucus* (Heterokontophyta; Phaeophyta). *Mol Phylogenet Evol* 39:209-222
- Coyer JA, Peters AF, Hoarau G, Stam WT, Olsen JL (2002a) Hybridization of the marine seaweeds, *Fucus serratus* and *Fucus evanescens* (Heterokontophyta: Phaeophyceae) in a 100-year-old zone of secondary contact. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological sciences* 269:1829-1834
- Coyer JA, Peters AF, Hoarau G, Stam WT, Olsen JL (2002b) Inheritance patterns of ITS1, chloroplasts and mitochondria in artificial hybrids of the seaweeds *Fucus serratus* and *F. evanescens* (Phaeophyceae). *Eur J Phycol* 37:173-178
- Daehler CC (2003) Performance comparisons of co-occurring native and aliens invasive plants: implications for conservation and restoration. *Annu Rev Ecol Syst* 3:183-211
- Daguin C, Voisin M, Engel C, Viard F (2005) Microsatellites isolation and polymorphism in introduced populations of the cultivated seaweed *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae, Laminariales). *Conservation Genetics* 6:647-650
- David P, Pujol B, Viard F, Castella V, Goudet J (2007) Reliable selfing rate from imperfect population genetic data. *Mol Ecol*
- Davies N (1999) Determining the source of individuals: multilocus genotyping in nonequilibrium population genetics. *Trends Ecol Evol* 4:17-21.
- Davies N, Villanblanca FX, Roderick GK (1999) Bioinvasions of the medfly *Ceratitidis capitata*: source estimation using DNA sequences at multiple intron loci. *Genetics* 153:351-360
- Davis MA, Thompson JD (2000) Eight ways to be a colonizer; two ways to be an invader: a proposed nomenclature scheme for invasion ecology. *Bulletin of the Ecological Society of America* 81:226-230
- Davis MA, Thompson JD (2001) Invasion terminology: should ecologists define their terms differently than others? No, Not if We Want to be of Any Help! *Bulletin of the Ecological Society of America* 82:206
- De Reviers B, Rousseau F, Draisma S (in press) Classification of the Phaeophyceae from past to present and current challenges. In: *Unravelling the Algae - the past, present and future of algal molecular systematics*. Systematics Association, London, p 265-282

- Desplanque B, Viard F, Forcioli D, Bernard J, Saumitou-Laprade J, Cuguen J, Van Dijk H (2000) The linkage disequilibrium between cpDNA and mtDNA haplotypes in *Beta vulgaris* subsp *maritima* (L.): the usefulness of both genomes for population genetic studies. *Mol Ecol* 9:141-154
- Drake JM, Lodge CS (2004) Global hot spots of biological invasions: evaluating options for ballast-water management. *Proceedings of the The Royal Society, London* 271:575-580
- Dukes JS, Mooney HA (1999) Does global change increase the success of biological invaders? *Tree* 14:135-139
- Dupont L, Bernas D, Viard F (2007) Sex and genetic structure across age groups in populations of the European marine invasive mollusc, *Crepidula fornicata* L. (Gastropoda). *Biol J Linn Soc Lond* 90:365-374
- Dupont L, Ellien C, Viard F (2007 in press) Microsatellite data and larval-dispersal model reveal subtle limits to gene flow within a highly dispersive marine invertebrate, the exotic gastropod *Crepidula fornicata*. *Mar Ecol Prog Ser*
- Dupont L, Jollivet D, Viard F (2003) High genetic diversity and ephemeral drift affects in a successful introduced mollusc (*Crepidula fornicata*: Gastropoda). *Mar Ecol Prog Ser* 253:183-195
- Eckert CG, Manicacci D, Barrett SCH (1996) Genetic drift and founder effect in native versus introduced populations of an invading plant, *Lythrum salicaria* (Lythraceae). *Evolution* 50:1512-1519
- Ehara M, Kitayama T, Watanabe KI, Inagaki Y, Hayashi-ishimaru Y, Ohama T (1999) Comprehensive molecular phylogenetic analysis of a heterokont alga (NIES 548) using genes from all three cellular compartments. *Phycol Res* 47:225-231
- Ehrhold A, Blanchard M, Auffret J-P, Garlan T (1998) The role of *Crepidula proliferation* in the modification of the sedimentary tidal environment in Mont-Saint-Michel Bay (The Channel, France). *Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences Série II Fascicule A-Sciences de la Terre et des Planètes* 327:583-588
- El Mousadik, Petit RJ (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels) endemic to Morocco. *Theor Appl Genet* 92:832-839
- Ellstrand NC, Prentice HC, Hancock JF (1999) Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 30:539-563
- Ellstrand NC, Schierenbeck KA (2000) Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants ? *Proceeding National Academic Science* 97:7043-7050
- Engel CR, Daguin C, Serrao EA (2005) Genetic entities and mating system hermaphroditic *Fucus spiralis* and its close dioecious relative *F. vesiculosus* (Fucaceae, Phaeophyceae). *Mol Ecol* 14:2033-2046
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure : a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611-2620
- Facon B, David P (2006) Metapopulation Dynamics and Biological Invasions: A Spatially Explicit Model Applied to a Freshwater Snail. *The American Naturalist* 168:769-783

- Facon B, Genton BJ, Shykoff J, Jarne P, Estoup A, David P (2006) A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends Ecol Evol* 21:130-135
- Fang Z (1983) A summary of the genetic studies of *Laminaria japonica* in China. In: Tseng CK (ed) *Proceedings of the joint China-US phycology symposium*. Science press, Beijing, p 123-136
- Farrell P, Fletcher RL (2006) An investigation of dispersal of the introduced brown alga *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar and its competition with some species on the man-made structures of Torquay Marina (Devon, UK). *J Exp Mar Biol Ecol* 334:236-243
- Fletcher RL, Farrel P (1999) Introduced brown algae in the North East Atlantic, with particular respect to *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar. *Helgolander Meeresuntersuchungen* 52:259-275
- Fletcher RL, Manfredi C (1995) The Occurrence of *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae, Laminariales) on the South Coast of England. *Botanica Marina* 38:335-338
- Floc'h JY, Pajot R, Mouret V (1996) *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta) 12 years after its introduction into the Atlantic Ocean. *Hydrobiologia* 326/327:217-222
- Floc'h JY, Pajot R, Wallentinus I (1991) The japanese brown alga *Undaria pinnatifida* on the coast of France and its possible establishment in European waters. 47:379-390
- Forrest BM, Blakemore KA (2006) Evaluation of treatments to reduce the spread of a marine plant pest with aquaculture transfers. *Aquaculture* 257:333-345
- Forrest BM, Brown SN, Taylor MD, Hurd CL, Hay CH (2000) The role of natural dispersal mechanisms in the spread of *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyceae). *Phycologia* 39:547-553
- Frankham R (2005) Resolving the genetic paradox in invasive species. *Heredity* 94:385
- Galil BS (2007) Loss or gain? Invasive aliens and biodiversity in the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin* 55:314-322
- Gamache I, Jaramillo-Correa J, P., Payette S, Bousquet J (2003) Diverging patterns of mitochondrial and nuclear DNA diversity in subarctic black spruce: imprint of a founder effect associated with postglacial colonization. *Mol Ecol* 12:891-901
- Gaylord B, Reed DC, Raimondi PT, Washburn L, McLean SR (2002) A physically based model of macroalgal spore dispersal in the wave and current-dominated nearshore. *Ecology* 83:1239-1251
- Gaylord B, Reed DC, Washburn L, Raimondi PT (2004) Physical-biological coupling in spore dispersal of kelp forest macroalgae. *Journal of Marine Systems* 49:19-39
- Geller JB, Walton ED, Grosholz ED, Ruiz GM (1997) Cryptic invasions of the crab *Carcinus* detected by molecular phylogeography. *Mol Ecol* 6:901-906
- Genton BJ, Kotanen PM, Cheptou PO, Adolphe C, Shykoff JA (2005) Enemy release but no evolutionary loss of defence in a plant invasion: an inter-continental reciprocal transplant experiment. *Oecologia* 146:404-414
- Goudet J (1995) Fstat version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. *Journal of heredity* 86:485-486
- Goudet J (1999) PCA-GEN, a program to perform a Principal Component Analysis (PCA) on

- genetic data. Available from <http://www.unil.ch/izea/software/PCA-GEN.html>.
- Goudet J (2002) FstatVersion 2.9.3.2, a Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices. Available at <http://www2.unil.ch/izea/software/fstat.html> (last accessed 15 January 2005).
- Goulletquer P, Bachelet G, Sauriau PG, Noel P (2002) Open Atlantic coast of Europe - A century of introduced species into french waters. In: Leppäkoski E, Gollash S, Olenin S (eds) Introduced species in Atlantic French waters. Kluwer Academic Publishers, p 276-290
- Grosholz E (2002) Ecological and evolutionary consequences of coastal invasions. Trends Ecol Evol 17:22-27
- Guillot G, Estoup A, ortier F, Cosson J-F (2005) A Spatial Statistical Model for Landscape Genetics. Genetics 170:1261-1280
- Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nuclear Acids Symposium Series 41:95-98
- Hallegraeaf G (1998) Transport of toxic dinoflagellates via ships'ballast water: bioeconomic risk assessment and efficacy of possible ballast water management strategies. Mar Ecol Prog Ser 168:297-309
- Hamon D, Blanchard M (1994) Etat de la prolifération de la crépidule (*Crepidula fornicata*) en baie de St Brieuc, Rapport Ifremer del 94.14
- Hartl DL, Clark AG (1997) Principles of population genetics, Vol. Sinauer Associates Inc., Sunderland
- Harvell CD, Km K, Burkholder JM, Colwell RR, Epstein PR, Gimes DJ, Hofmann EE, Lipp E. K., Osterhaus ADME, Overstreet RM, Porter JW, Smith GW, Vasta GR (1999) Emerging marine diseases -Climate Links and Anthropogenic Factors-. Science 285:1505-1510
- Hay CH (1990) The dispersal of sporophytes of *Undaria pinnatifida* by coastal shipping in New Zealand, and implications for further dispersal of *Undaria* in France. Br Phycol J 25:301-313
- Hay CH, Luckens PA (1987) The Asian kelp *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta: Laminariales) found in a New Zealand harbour. N Z J Bot 25:329-332
- Hay CH, Villouta E (1993) Seasonality of the Adventive Asian Kelp *Undaria pinnatifida* in New Zealand. Botanica Marina 36:461-476
- Hayashi K (1991) PCR-SSCP: a simple and sensitive method for detection of mutations in the genomis DNA. PCR Methods Appl 1
- Herborg L-M, Weetman D, Van Oosterhout C, Hanfling B (2007) Genetic population structure and contemporary dispersal patterns of a recent European invader, the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. Mol Ecol 16:231-242
- Hewitt CL, Campbell ML, McEnnulty F, Moore KM, Murfet NB, Robertson B, Schaffelke B (2005) Efficacy of physical removal of a marine pest: the introduced kelp *Undaria pinnatifida* in a Tasmanian Marine Reserve. Biol Invasions 7:251-263
- Hoarau G, Coyer JA, Veldsink J, Stam WT, Olsen JL (2007) Glacial refugia and recolonization pathways in the brown seaweeds *Fucus serratus*. Mol Ecol 16:3606-3616

- JACUMAR (2000) Estudio sobre la viabilidad del cultivo del alga marina *Undaria pinnatifida* en las rias bajas gallegas, JUNTA ASESORA DE CULTIVOS MARINOS
- Jarne P, Lagoda PJJ (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol Evol* 11:424-429
- Jousson O, Pawlowski J, Zaninetti L, Meinesz A, Boudouresque CF (1998) Molecular evidence for aquarium origin of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced to the Mediterranean Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 172:275-280
- Kelly DW, Muirhead JR, Heath DD, Macisaac HJ (2006) Contrasting patterns in genetic diversity following multiple invasions of fresh and brackish waters. *Mol Ecol* 15:3641-3653
- Kinlan BP, Gaines SD, Lester SE (2005) Propagule dispersal and the scales of marine community process. *Divers Distrib* 11:139-148
- Kinlan BP, Hastings A (2005) Rates of population spread and geographic range expansion. In: Sax DF, Stachowicz JJ, Gaines SD (eds) *Species Invasions Insights into ecology, evolution, and biogeography*. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, Massachusetts 01375, p 381-419
- Kolar CS, Lodge D (2001) Progress in invasion biology : predicting invaders. *Trends Ecol Evol* 16:199-204
- Kolbe JJ, Glor RE, Schettino LR, Lara AC, Larson A, Losos JB (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* 431:177-181
- Lane CE, Mayes C, Druehl LD, Saunders GW (2006) A MULTI-GENE MOLECULAR INVESTIGATION OF THE KELP (LAMINARIALES, PHAEOPHYCEAE) SUPPORTS SUBSTANTIAL TAXONOMIC RE-ORGANIZATION. *Journal of Phycology* 42:493-512
- Lavergne S, Molofsky J (2007) Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:3883-3888
- Le Pape O, Guérault D, Désaunay Y (2004) Effect of an invasive mollusc, American slipper limpet *Crepidula fornicata*, on habitat suitability for juvenile common sole *Solea solea* in the Bay of Biscay. *Mar Ecol Prog Ser* 277:107-115
- Locke A, Reid DM, van Leeuwen HC, Sprules WG, Carlton JT (1993) Ballast water exchange as a means of controlling dispersal of freshwater organisms by ships. *Can J Fish Aquat Sci* 50:2086-2093
- Lockwood JL, Cassey P, Blackburn T (2005) The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends Ecol Evol* 20:223-228
- Lonsdale WM (1999) Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology* 80:1522-1536
- Louda SM, Kendall D, Connor J, Simberloff D (1997) Ecological Effects of an Insect Introduced for the Biological Control of Weeds. *Science* 277:1088-1090
- Luikart G, Cornuet JM (1997) Empirical evaluation of a test for identifying recently bottleneck populations from allele frequency data. *Conserv Biol* 12:228-237
- Luikart G, Cornuet JM, Allendorf FW (1998) Temporal changes in allele frequencies provide estimates of population bottleneck size. *Conserv Biol* 13:525-530

- MacArthur RH, Wilson EO (1963) An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution* 17:373-387
- MacIsaac HJ, Grigorovich IA, Hoyle JA, Yan ND, Panov VE (1999) Invasion of Lake Ontario by the Ponto-Caspian predatory cladoceran *Cercopagis pengoi*. *Can J Fish Aquat Sci* 56:1-5
- Manel S, Berthier P, Luikart G (2002) Detecting Wildlife Poaching: Identifying the Origin of Individuals with Bayesian Assignment Tests and Multilocus Genotypes. *Conserv Biol* 16:650-659
- Manel S, Gaggiotti OE, Waples RS (2005) Assignment methods: matching biological questions with appropriate techniques. *Trends Ecol Evol* 20:136-142
- Martel C, Viard F, Bourguet D, Garcia-Meunier P (2004) Invasion by the marine gastropod *Ocenebrillus inornatus* in France I. Scenario for the source of introduction. *J Exp Mar Biol Ecol* 305:155-170
- Martin JP, Cuevas JM (2006) First record of *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta) in Southern Patagonia, Argentina. *Biol Invasions*
- Martins-Lopez P, Zhang H, Koebner R (2001) Detection of Single Nucleotide Mutations in Wheat Using Single Strand Conformation Polymorphism Gels. *Plant Molecular Biology Reporter* 19:159-162
- Maruyama T, Fuerst PA (1984) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. I. Allele numbers when populations evolve from zero variability. *Genetics* 108:745-763
- Maruyama T, Fuerst PA (1985) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. III. Genic homozygosity in populations which experience periodic bottlenecks. *Genetics* 111:691-703
- Matisoo-Smith E, Roberts RM, Irwin GJ, Allen JS, Penny D, Lambert DM (1998) Patterns of prehistoric human mobility in Polynesia indicated by mtDNA from the Pacific rat. *Proceeding National Academic Science, USA* 95:15145-15150
- McGlashan DJ, Ponniah M, Cassey P, Viard F (in press) Clarifying marine invasions with mtDNA: lessons from mistaken calyptraeid gastropod identifications. *Biol Invasions*
- McKinney ML, Lockwood JL (1999) Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends Ecol Evol* 14:450-453
- Meudt HM, Clarke AC (2007) Almost Forgotten or Latest Practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends in Plant Science* 12:106-117.
- Meusnier I, Valero M, Olsen JL, Stam WT (2004) Analysis of rDNA ITS1 indels in *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) supports a derived, incipient species status for the invasive strain. *Eur J Phycol* 39:83-92
- Mooney HA, Cleland EE (2001) The evolutionary impact of invasive species. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:5446-5451
- Muraoka D, Saitoh K (2005) Identification of *Undaria pinnatifida* and *Undaria undarioides* Laminariales, Phaeophyceae using mitochondrial 23S ribosomal DNA sequences. *Fisheries Science* 71:1365-1369
- Myers JH, Simberloff D, Kuris AM, Carey JR (2000) Eradication revisited: dealing with exotic species. *Trends Ecol Evol* 15:316-320

- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics.*, Vol. Columbia University Press, New-York
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29:1-10
- Newton AC, Allnutt TR, Gillies ACM, Lowe AJ, Ennos RA (1999) Molecular phylogeography, intraspecific variation and conservation of tree species. *Trends Ecol Evol* 14:140-145
- Nikula R, Väinölä R (2003) Phylogeography of *Cerastoderma glaucum* (*Bivalvia: Cardiidae*) across Europe: a major break in the Eastern Mediterranean. *Marine Biology* 143:339-350
- Not F, Simon N, Biegala IC, Vaultot D (2002) Application of fluorescent in situ hybridization coupled with tyramide signal amplification (FISH-TSA) to assess eukaryotic picoplankton composition. *Aquatic microbial ecology* 28:157-166
- Novak SJ, Mack RN (2005) Genetic bottlenecks in alien species. In: Sax DF, Stachowicz JJ, Gaines SD (eds) *Species Invasions Insights into ecology, evolution, and biogeography*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts 01375, p 201-228
- Nyberg CD, Wallentinus I (2005) Can species traits be used to predict marine macroalgal introductions? *Biol Invasions* 7:265-279
- Occhipinti-Ambrogi A (2007) Global change and marine communities: Alien species and climate change. *Marine Pollution Bulletin* 55:342-352
- Occhipinti-Ambrogi A, Savini D (2003) Biological invasions as a component of global change in stressed marine ecosystems. *Marine Pollution Bulletin* 46:542-551
- Ohno M, Largo DB (1998) The seaweed resources of Japan. In: Critchley AT, Ohno M (eds) *Seaweed resources of the world*. Japan International Cooperation Agency, Kanagawa International Fisheries Training Center, p 1-45
- Oppliger LV, Correa JA, Peters AF (2007) Parthenogenesis in the brown alga *Lessonia nigrescens* (Laminariales, Phaeophyceae) from central Chile. *Journal of Phycology* 43:DOI: 10.1111/j.1529-8817.2007.00408.x
- Oudot-Le Secq M-P, Fontaine J-M, Rousvoal S, Kloareg B, Loiseaux de Goër S (2001) The complete sequence of a brown algal mitochondrial genome, ectocarpale *Pylaiella littoralis* (L.) Kjellm. *J Mol Evol* 53:80-88
- Oudot Le Secq MP, Kloareg B, Loiseaux de Goër S (2002) The mitochondrial genome of the brown alga *Laminaria digitata*: a comparative analysis. *Journal of Phycology* 37:163-172
- Oudot Le Secq MP, Loiseaux de Goër S, Stam WT, Olsen JL (2006) Complete mitochondrial genomes of the three brown algae (Heterokonta: Phaeophyceae) *Dictyota dichotoma*, *Fucus vesiculosus* and *Desmarestia viridis*. *Current Genetic* 49:47-58
- Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol Ecol* 13:55-65
- Palm S, Laikre L, Jorde PE, Ryman N (2003) Effective population size and temporal genetic change in stream resident brown trout (*Salmo trutta*, L.). *Conservation Genetics* 4:249-264.

- Palumbi SR (1992) Marine speciation on a small planet. *Trends in Ecology and Evolution* 7:114-118
- Pemberton RW (2000) Predictable risk to native plants in weed biological control. *Oecologia* 125:489-494
- Pérez-Ruzafa I, Menéndez JL, Salinas JM (2002) Mapas de distribución de algas marinas de la Península Ibérica e Islas Baleares. XV. *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Laminariales, Fucophyceae). *Botanica Complutensis* 26:147-151
- Perez R (1981) Observations sur la biologie de l'algue japonaise *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar introduite accidentellement dans l'étang de Thau. *Science et Pêche, Bull Inst Pêches marit* 315:1-12
- Perez R, Kaas R, Barbaroux O (1984) Culture expérimentale de l'algue *Undaria pinnatifida* sur les côtes de France. *Science et Pêche, Bull Inst Pêches marit* 343
- Perez R, Kaas R, Barbaroux O, Arbault S, Le Bayon N, Moigne JY (1990) Technique de culture pour les côtes bretonnes de l'algue alimentaire *Undaria pinnatifida* -Tableau de marche - étude économique- ArchiMer, Institutional Archive of Ifremer (French Research Institute for Exploitation of the Sea), p 1-68
- Perrings C, Dalmazzone S, Williamson M (2005) The Economics of Biological Invasions. In: Mooney HA, Mack RN, McNeely JA, Neville LE, Schei PJ, Waage JK (eds) *Invasive Alien Species A New Synthesis*. Island Press, Washington, Covelo, London, p 16-35
- Peters AF, Scornet D, Müller DG, Kloareg B, Cock JM (2004) Inheritance of organelles in artificial hybrids of the isogamous multicellular chromist alga *Ectocarpus siliculosus*. *Eur J Phycol* 39:235-242
- Pimentel D, Zuniga R, Morrison D (2005) Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics* 52:273-288
- Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A (2004) GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *J Hered* 95:536-539
- Posada D, Crandall KA (2001) Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends Ecol Evol* 16:37-45
- Pritchard J, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959
- Ragueneau O, Chauvaud L, Leynaert A, Thouzeau G, Paulet YM, Bonnet S, Lorrain A, Grall J, Corvaisier R, Le Hir M, Jean F, Clavier J (2002) Direct evidence of a biologically active coastal silicate pump: ecological implications *Limnology and oceanography* 47:1849-1854.
- Rannala B, Moutain JL (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *PNAS* 94:9197-9201
- Raymond M, Rousset F (1995) GENETPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *The Journal of Heredity* 86:248-249
- Reed DC (1990) The effects of variable settlement and early competition on patterns of kelp recruitment. *Ecology* 71:776-787
- Rejmanek M, Reichard S (2001) Predicting invaders. *Trends Ecol Evol* 16:545

- Rejmanek M, Richardson D, M., Higgins SI, Pitcairn M, J., Grotkopp E (2005a) Ecology of invasive plants: State of the Art. In: Mooney HA, Mack RN, McNeely JA, Neville LE, Schei PJ, Waage JK (eds) *Invasive Alien species A new synthesis*. Island Press, Washington, Covelo, London, p 104-161
- Rejmanek M, Richardson DM (1996) What attributes makes some plant species more invasive? *Ecology* 77:1655-1661
- Rejmanek M, Richardson DM, Barbour MG (2002) Biological invasions : politics and the discontinuity of ecological terminology. *Bulletin of the Ecological Society of America* 83:131-133
- Rejmanek M, Richardson DM, Higgins DG, Pitcairn MJ, Grotkopp E (2005b) Ecology of Invasive Plants: State of the Art. In: Mooney HA, Mack RN, McNeely JA, Neville LE, Schei PJ, Waage JK (eds) *Invasive Alien Species A New Synthesis*. Island Press, Washington, Covelo, London, p 104-162
- Ricciardi A (2001) Facilitative interactions among aquatic invaders: is an “invasional meltdown” occurring in the Great Lakes? *Can J Fish Aquat Sci* 58:2513-2525
- Ricciardi A, MacIsaac HJ (2000) Recent mass invasion of the North American Great Lakes by Ponton-Caspian species. *Trends Ecol Evol* 15:62-65
- Roman J, Darling JA (2007) Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends Ecol Evol* 22:454-464
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F -statistics under isolation by distance. *Genetics* 145:1219-1228
- Ruiz GM, Fofonoff P, Carlton JT, Wonham MJ, Hines A, H. (2000a) Invasion of Coastal Marine Communities in North America : Apparent Patterns, Process and Biases. *Annu Rev Ecol Syst* 31
- Ruiz GM, Rawlings TK, Dobbs FC, Drake LA, Mullady T, Huq A, Colwell RR (2000b) Global spread of microorganisms by ships. *Nature* 408:49-50
- Saito Y (1972) On the effects of environmental factors on morphological characteristics of *Undaria pinnatifida* and the breeding of hybrids in the genus *Undaria*. In: Abbott A, Kurogi M (eds) *Contribution to the Systematics of the Benthic Marine Algae of the North Pacific*. Jap. Soc. Phycol., Kobe, p 117-132
- Saito Y (1975) *Undaria*. In: Tokida J, Hirose H (eds) *Advance in phycology in Japan*. Junk, The Hague, p 304-320
- Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS, Lodge M, Molofsky J, K.A. W, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC, Mc Cauley DE, O'Neil P, Parker IM, Thompson JN, Weller SG (2001) The population biology of invasive species. *Annu Rev Ecol Syst* 32:305-332
- Salinas JM, Llera EM, Fuertes C (1996) Nota sobre la presencia de *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Laminariales, Phaeophyta) en Asturias (mar Cantabrico). *Bol Inst Esp Oceanogr* 12:77-79
- Sambrook J, Russel DW (2001) *Molecular Cloning*, Vol. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York
- Sanderson JC (1990) A Preliminary Survey of the Distribution of the Introduced Macroalga, *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar ont the East Coast of Tasmania, Australia. *Botanica Marina* 33:153-157

- Santelices B (1990) Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 28:177-276
- Sax DF, Brown JH (2000) The paradox of invasion. *Global Ecology & Biogeography* 9:363-371
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2001) Arlequin : a software for population data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland
- Shiganova TA, Mirzoyan ZA, Studenikina EA, Volovik SP, Siokou I, Zervoudaki S, Christou ED, Skirta AY, Dumont HJ (2001) Population development of the invader ctenophore *Mnemiopsis leidyi*, in the Black Sea and in other seas of the Mediterranean basin. *Marine Biology* 139:431-445
- Silva PC, Woodfield AR, Cohen AN, Harris LH, Goddard JHR (2002) First report of the Asian kelp *Undaria pinnatifida* in the northeastern Pacific Ocean. *Biol Invasions* 4:333-338
- Simberloff D (2006) Invasional meltdown 6 years later: important phenomenon, unfortunate metaphor, or both? *Ecology Letters* 9:912-919
- Simberloff D, Von Holle B (1999) Positive interactions of nonindigenous species: invasional meltdown? *Biol Invasions* 1:21-32
- Simon-Bouhet B, Garcia-Meunier P, Viard F (2006) Multiple introductions promote range expansion of the mollusc *Cyclope neritea* (Nassaaridae) in France: evidence from mitochondrial sequence data. *Mol Ecol* 15:1699-1711
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdeña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana A, Lourie SA, Martin KD, McManus E, Molnar J, Recchia CA, Robertson J (2007) Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *Bioscience* 57:573-583
- Stachowicz JJ, Whitlatch RB, Osman RW (1999) Species Diversity and Invasion Resistance in a Marine Ecosystem. *Science* 286:1577-1579
- Stephens PA, Sutherland WJ, Freckleton RP (1999) What is Allee effect. *Oikos* 87:185-190
- Strayer DL, Eviner VT, Jeschke JM, Pace ML (2006) Understanding the long-term effects of species invasions. *Trends Ecol Evol* 21:645-651
- Stuart MD, Hurd CL, Brown MT (1999) Effects of seasonal growth rate on morphological variation of *Undaria pinnatifida* (Alariaceae, Phaeophyceae). *Hydrobiologia* 398/399:191-199
- Suetsuna K, Maekawa K, Chen J-R (2004) Antihypertensive effects of *Undaria pinnatifida* (wakame) peptide on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Biochem* 15:267-272
- Tajima F (1983) Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105,: 437-460
- Therriault TW, Orlova MI, Docker MF, MacIsaac HJ, Heath DD (2005) Invasion genetics of a freshwater mussel (*Dreissena rostriformis bugensis*) in eastern Europe: high gene flow and multiple introductions. *Heredity* 95:16-23
- Thieltges DW, Strasser M, Reise K (2003) The American slipper limpet *Crepidula fornicata* (L.) in the northern Wadden Sea 70 years after its introduction. *Helgol Mar Res* 57:27-33

- Thompson KD, Dragar C (2004) Antiviral Activity of *Undaria pinnatifida* against Herpes Simplex Virus. *Phytother Res* 18:551-555
- Thornber CS, Kinlan BP, Graham MH, Stachowicz JJ (2004) Population ecology of the invasive kelp *Undaria pinnatifida* in California : environmental and biological controls on demography. *Mar Ecol Prog Ser* 268:69-80
- Torchin ME, Lafferty KD, Kuris AM (2001) Release from parasites as natural enemies: increased performance of a globally introduced marine crab. *Biol Invasions* 3:333-345
- Torchin ME, Lafferty KD, Kuris AM (2002) Parasites and marine invasions. *Parasitology* 124 Suppl:S137-151
- Tsutsui ND, Suarez AV, Holway DA, Case TJ (2000) Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceeding National Academic Science* 97:5948-5953
- Uwai S, Nelson W, Neill K, Wang WD, Aguilar-Rosas LE, Min Boo S, Kitayama T, Kawai H (2006a) Genetic diversity in *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyceae) deduced from mitochondrial genes -origins and succession of introduced populations. *Phycologia* 45:687-695
- Uwai S, Yotsukura N, Serisawa Y, Muraoka D, Hiraoka M, Kogame K (2006b) Intraspecific genetic diversity of *Undaria pinnatifida* in Japan, based on mitochondrial *cox3* gene and the ITS of nrDNA. *Hydrobiologia* 553:345-335
- Valentine JP, Johnson CR (2003) Establishment of the introduced kelp *Undaria pinnatifida* in Tasmania depends on disturbance to native algal assemblages. *J Exp Mar Biol Ecol* 295:63-90
- Vermeij JG (1996) An agenda for invasion biology. *Biol Conserv* 78:3-9
- Voisin M, Engel CR, Viard F (2005) Differential shuffling of native genetic diversity across introduced regions in a brown alga: Aquaculture vs. maritime traffic effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:5432-5437
- Waters JM, Roy MS (2003) Global phylogeography of the fissiparous sea-star genus *Coscinasterias*. *Marine Biology* 142:185-191
- Wattier R, Engel CR, Saumitou-Laprade P, Valero M (1998) Short allele dominance as a source of heterozygote deficiency at microsatellite loci: experimental evidence at the dinucleotide locus Gv1CT in *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta). *Mol Ecol* 7:1569-1573
- Wattier R, Maggs CA (2001) Intraspecific variation in seaweeds: the application of new tools and approaches. *Adv Bot Res* 35:171-212
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358-1370
- Whitlatch RB, Bullard SG (2007) Special Issue - 1st International Invasive Sea Squirt Conference. *J Exp Mar Biol Ecol* 342
- Williamson MH, Fitter A (1996a) The characters of successful invaders. *Biol Conserv* 78:163-170
- Williamson MH, Fitter A (1996b) The varying success of invaders. *Ecology* 77:1661-1666
- Wilson AB, Naish K-A, Boulding EG (1999) Multiple dispersal strategies of the invasive quagga mussel (*Dreissena bugensis*) as revealed by microsatellites analysis. *Can J Fish Aquat Sci* 56:2248-2261

- Wolff WJ (2005) Non-indigenous marine and estuarine species in the Netherlands. *Zoologische Mededelingen* 79:1-116
- Wolff WJ, Reise K (2002) Oyster imports as a vector for the introduction of alien species into northern and western European coastal waters. In: Leppakoski E (ed) *Invasive Aquatic Species of Europe*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p 193-205
- Wright JT (1943) Isolation by distance. *Genetics* 28
- Yamanaka R, Akiyama K (1993) Cultivation and utilization of *Undaria pinnatifida* (wakame) as food. *Journal of Applied Phycology* 5:249-253
- Yoon HS, Boo SM (1999) Phylogeny of Alariaceae (Phaeophyta) with special reference to *Undaria* based on sequences of the RuBisCo spacer region. *Hydrobiologia* 398/399:47-55
- Zuccarello GC, Schidlo N, McIvor L, Guiry MD (2005) A molecular re-examination of speciation in the intertidal red alga *Mastocarpus stellatus* (Gigartinales, Rhodophyta) in Europe. *Eur J Phycol* 40:337-344

ANNEXE 1

Protocole d'échantillonnage

Annexe 1. Protocole d'échantillonnage d'*U. pinnatifida* envoyé à nos collaborateurs

Sampling protocol for *Undaria pinnatifida* (wakamé) for DNA analysis

Analyses will be done on (when possible) 35-50 individuals. If there are fewer than 30 individuals, sample as many as possible.

It is essential that each individual be kept separate (*i.e.* only one sample per bag; see below).

The 35-50 individuals are sampled from one given site. A site is defined as

- a relatively uniform spatial entity, for example, a series of docks within a single port or marina;
- a limited area, for example, a transect of up to 100 m within a zone where individual plants are continuously distributed.

Together, these individuals constitute a population. As the concept of a "population" is frequently vague, it is important to briefly describe the sampling site and the surface area covered (*e.g.* 3 docks, each separated by 10 m; a transect 100 m long; etc.).

N.B. When possible, any other information concerning the spatial position of the plants is useful (*e.g.* "individuals 1-10 come from the same dock, individuals 11-18 from a dock 10 m away from the previous dock"; "individuals sampled every metre").

For the sampling itself:

- Tear or cut a piece of thallus tissue from the base of the blade. Do not sample the sporophylls, "frills" found at the very base of the plant near the holdfast that are specialised reproductive tissues. Try to sample a "healthy" piece of tissue (*i.e.* non-decaying). The size of the tissue fragment only needs to be 2-3 cm².
- Put the fragment of tissue in a small plastic (Ziploc type) bag containing some (*ca.* 10 g) silica gel (blue drying beads). Write the number (1 to x), the name of the sampling site and the date on the plastic bag with a permanent marker.
- Seal the plastic bag (ziploc it).
- Proceed in the same manner for the next individual with a new Ziploc bag...

N.B. To speed up the procedure, it is also possible to only write the number on the bags, as long as the different bags from one site are kept together in an envelop or in a larger bag indicating the sampling location and the date of the samples within.

ANNEXE 2

Conditions d'amplification des locus
mitochondriaux

&

Séquençage et détection du polymorphisme de
conformation simple brin

Annexe 2-a. Amplification des locus mitochondriaux

Tableau synthétique des caractéristiques des locus mitochondriaux chez *Undaria pinnatifida*

Locus	Séquences des amorces (5'-3')	Type de séquence	Nature de la séquence	Condition de PCR ¹	Taille du fragment (pb)]	N° accession GenBank.
trnP/rnl	GAGGTGACGCAGTGGTAGC CGCCTATATTTTCTTCCAAGG	Zone intergénique	Non codante	TD 60-55	206/ [180-781]	DQ841647- DQ841668
trnW/trnI	GGGGTTCAAATCCCTCTCTT CCTACATTGTTAGCTTCATGAGAA	Zone intergénique	Non codante	TD 59-54	292/ [257-299]	DQ841669- DQ841692
rps14/ atp8 ¹	GCGCAAAGCGTGTGTAA CGCTAAAGAAGGTAATATGAAACG	Zone intergénique	Non codante	TD 60-55	342/ [279-337]	DQ841579- DQ841588
atp8/trnS ¹	TGTACGTTTCATATTACCTTCTTTAGC TAGCAAACCAAGGCTTTCAAC	Zone intergénique	Non codante	TD 60-55	244/ [182-245]	DQ841607- DQ841624
rpl31/rns	CCAGTGTGGACAGGAAAACG CTCTGAGCCAGGATCAAACCTC	Zone intergénique	Non codante	TD 60-55	346/ [272-350]	DQ841625- DQ841646

¹ détail des conditions de PCR ci-dessous

Mix de PCR

		ATP8S	WI
	[C] solution mère	Vol (µL) pour 1 ind	Vol (µL) pour 1 ind
H2O		5,30	5,70
BSA	1mg/mL	2,00	2,00
TP 10X		2,00	2,00
MgCl2	25mM	2,00	1,60
dNTP	2.5mM	1,60	1,60
Primer F	5µM	1,00	1,00
Primer R	5µM	1,00	1,00
Taq		0,10	0,10

Programme d'amplification du locus Atp8-S et autres locus

- 1- dénaturation initiale de 4 minutes à 94°C
- 2- 5 cycles en « touch down », -1°C/cycle
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec à la température d'appariement (température initiale 60°C)
 - 45 sec à 72°C
- 3- 30 cycles en « touch down », -1°C/cycle
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec 55°C
 - 45 sec à 72°C
- 4- élongation finale : 12 min à 72°C

Programme d'amplification du locus W-I

- 1- dénaturation initiale de 4 minutes à 94°C
- 2- 5 cycles en « touch down », -1°C/cycle
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec à la température d'appariement (température initiale 59°C)
 - 45 sec à 72°C
- 3- 30 cycles
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec 54°C
 - 45 sec à 72°C
- 4- élongation finale : 12 min à 72°C

Annexe 2-b. Détection du polymorphisme de conformation simple brin (SSCP)

Pour 20µL de produit de PCR, rajouter :

8µL de tampon ficoll ⁽¹⁾	} Tampon de charge
5,3µL d'urée à 5M	
19,7µL de TBE 1X	

⁽¹⁾ Tampon ficoll :

Pour 10mL de tampon :

Ficoll à 15%	1500mg
0,25% de Bleu de Bromophénol	25mg
0,25% Xylène Cyanol	25mg

Gel d'acrylamide à 10% (37,5:1, acrylamide-bisacrylamide)

Gel	10%
Eau	28mL
TBE 10X	2mL
Acryl (37,5:1)	10mL
APS 10%	228µL
Temed	35µL
Volume final	40mL

Dénaturer les échantillons 4min à 94°C puis les stocker dans la glace jusqu'au chargement.
Charger l'ensemble du produit de PCR et du tampon de charge.

Migration à 4°C, voltage constant (200V) pendant 20H

Tampon de migration : TBE 0,5X

Visualisation des profils :

Bain de 20 min de Sybr Gold à 2,5X et de TBE 1X sous agitation,
(SYBR Gold : 5µL de 10 000X dans 20mL de TBE 1X).

Visualisation sous U.V.

Annexe 2-c. Séquençage des locus mitochondriaux (protocoles utilisés à la plateforme de séquençage de la Station Biologique de Roscoff)

Purification des produits de PCR (avec le Kit Montage μ PCR)

- 1- ajouter 50 μ L d'eau milliQ dans chaque puits
- 2- transférer le total de chaque puits dans la plaque à membranes
- 3- Filtrer par le vide à 15mmHg pendant 10min ou jusqu'à ce que les puits soient tous vides
- 4- Ajouter 50 μ L d'eau milliQ dans chaque puits
- 5- Refaire le vide comme précédemment
- 6- Ajouter 40 μ L d'eau milliQ par puits
- 7- Laisser la plaque 10 min sur un agitateur horizontal
- 8- Transférer le tout dans une plaque à fond V

Réaction de séquence :

	Vol (μ L) pour 1 ind
ADN	1
Tampon 5X applied	0.75
Amorce (5 μ M)	1
Big Dye Terminator 3.1	0.5
H2O	1.75

Programme de séquence :

- 1- Dénaturation initiale, 5 min à 94°C
- 2- 50 cycles :
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec T_m⁽¹⁾
 - 45 sec à 60°C

⁽¹⁾ Les températures d'appariement des amorces sont différentes selon le locus utilisé :

W-I : T_m=54°C

Atp8-S : T_m=55°C

Purification des produits de séquence :

- 1- ajouter 25 μ L de solution d'injection à chaque réaction de séquence
- 2- Transférer les 30 μ L de chaque puits dans une plaque à membrane
- 3- Filtrer par le vide à 23 inches de Hg pendant 3 minutes
- 4- Ajouter 25 μ L de solution d'injection par puits
- 5- Refaire le vide comme précédemment
- 6- Ajouter 25 μ L de solution d'injection par puits
- 7- Laisser 10 min sur un agitateur horizontal
- 8- Transférer le tout dans une plaque pour le séquenceur (Applied ou Abgene)

ANNEXE 3

Définition et fréquences des haplotypes
mitochondriaux d'*Undaria pinnatifida*

Annexe 3a. Séquences des haplotypes mitochondriaux des locus Atp8-S et W-I concaténés

[illegible]

Annexe 3b. Haplotypes mitochondriaux locus Atp8-S et W-

Concatenated haplotype	haplotype atp8-S	N° accession GenBank	haplotype W-I	N° accession GenBank
Up1	ATP8-S2	AY821890	W-I1	AY821898
Up2	ATP8-S1	AY821889	W-I4	AY821901
Up3	ATP8-S2	AY821890	W-I4	AY821901
Up4	ATP8-S1	AY821889	W-I1	AY821898
Up5	ATP8-S2	AY821890	W-I3	AY821900
Up6	ATP8-S2	AY821890	W-I2	AY821899
Up7	ATP8-S3	AY821891	W-I1	AY821898
Up8	ATP8-S3	AY821891	W-I2	AY821899
Up9	ATP8-S3	AY821891	W-I4	AY821901
Up10	ATP8-S4	AY821892	W-I1	AY821898
Up11	ATP8-S1	AY821889	W-I9	AY821906
Up12	ATP8-S2	AY821890	W-I7	AY821904
Up13	ATP8-S2	AY821890	W-I9	AY821906
Up14	ATP8-S1	AY821889	W-I7	AY821904
Up15	ATP8-S1	AY821889	W-I6	AY821903
Up16	ATP8-S2	AY821890	W-I6	AY821903
Up17	ATP8-S3	AY821891	W-I7	AY821904
Up18	ATP8-S4	AY821892	W-I7	AY821904
Up19	ATP8-S2	AY821890	W-I5	AY821902
Up20	ATP8-S5	AY821893	W-I5	AY821902
Up21	ATP8-S6	AY821894	W-I5	AY821902
Up22	ATP8-S7	AY821895	W-I5	AY821902
Up23	ATP8-S8	AY821896	W-I5	AY821902
Up24	ATP8-S9	AY821897	W-I5	AY821902
Up25	ATP8-S9	AY821897	W-I8	AY821905

I

Annexe 3c. Haplotypes mitochondriaux locus Atp8-S et W-I

POPULATION	Up- 1	Up- 2	Up- 3	Up- 4	Up- 5	Up- 6	Up- 7	Up- 8	Up- 9	Up- 10	Up- 11	Up- 12	Up- 13	Up- 14	Up- 15	Up- 16	Up- 17	Up- 18	Up- 19	Up- 20	Up- 21	Up- 22	Up- 23	Up- 24	Up- 25	Nind
Asie																										
Dolsando KO											17			1			6									24
Chine														24												24
Nagasaki JAP																								4	19	23
Shimoda JAP									1										23							24
Tsurimi JAP																							23			23
Europe																										
Thau FCE	24																									24
Brest FCE	15						1	3	1																	21
St Malo FCE	6						13																			24
Catalis FCE	16								7																	23
Hamble UK	12						6		4																	23
Zeebrugge BEL	17						1	3	1																	23
Oosterschelde PB	20									1																23
Galice ESP	21																									24
Asturies ESP	1						22																			23
Australasie																										
Diam NZ	6										13						3	2								24
Dunedin NZ	2						1	3	1	3				1	7			1	3							24
Tinderbox TAS																						24				24
Bicheno TAS																					6	18				24
Melb AUS																		6								24
Argentine																										
Nuevo Gulf ARG																			4							24
USA																										
St Barbara USA																										23
Cultures																										
Corée culti	2																									3
Jap culti	1																									4
St Sulfac FCE	24																									24
Totale	167	1	45	13	1	5	13	4	3	1	17	17	1	71	3	2	7	13	23	23	6	42	23	4	19	524
Haplotype	Up- 1	Up- 2	Up- 3	Up- 4	Up- 5	Up- 6	Up- 7	Up- 8	Up- 9	Up- 10	Up- 11	Up- 12	Up- 13	Up- 14	Up- 15	Up- 16	Up- 17	Up- 18	Up- 19	Up- 20	Up- 21	Up- 22	Up- 23	Up- 24	Up- 25	Nind
Asie	3	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	17	0	26	0	0	6	0	23	0	0	0	23	4	19	125
Europe	156	1	45	12	0	1	12	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	232
Australasie	8	0	0	1	0	3	1	3	0	0	15	0	1	25	3	2	1	9	0	0	6	42	0	0	0	120
Argentine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	24
USA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	0	0	0	0	0	23

ANNEXE 4

Conditions d'amplification et de migration des
locus microsatellites d'*Undaria pinnatifida*

Annexe 4-a. Réactions de PCR

Tableau synthétique des caractéristiques des locus utilisés en routine

Locus	amorce directe (5'-3')	amorce indirecte (5'-3')	Condition de PCR	gamme de taille des allèles
1B2	AAAGAGTCTGGCGTGCGG	AGACTTGATTGGACCTCACCC	TD 60-50 10+20 cycles	262-272
1G2	TTA CCT GAC GGA CGG AGC C	TGAACAGGGGATGAGGGTGC	TD 55-45 10+20 cycles	371-375
4G2	ACCATTGTGTCAGGCATCGTTTG	ACCGCACCATGCTAGTCTATTAAC	TD 65-55 10+20 cycles	261-227
1H5	GTCGGGTGACAACGGTAACACG	CGCACCTGAGGCACATTATCC	TD 60-50 10+20 cycles	358-366
1B5	CCAACCTGTTCTGTGAGCCTTTAG	GGGATCGCTGAACCCTACGC	TD 65-55 10+20 cycles	276-279
1C1	ACG CCA CCC TCC CCA ACA TC	AACACGCACTGACGGTCCATACAC	TD 65-55 10+20 cycles	214-220
2C1	GAGAGAAAAACACGGTGCCCC	GAGGACATCCCCAAGATTACGG	TD 60-50 10+20 cycles	154-162
4C12	TTATTGCCCCACAGACAGTGAGATG	GACCACGGACTTGATTATGCGAG	TD 65-55 10+20 cycles	173-179
4E9	GTTGTTTGTGCTGTAGGG TCATC	AGATTT CGCTCGTCGGTCC	TD 60-50 10+20 cycles	149-157
2E8	GTGTGACAGCTATCACGATTCCG	GGATGTCGAGTAAAGAACGG	TD 60-50 10+20 cycles	210-220

Mix de PCR commun à tous les locus

	[C]solution mère	[C] finale	Volume (µM) pour 1 individus
Tampon	10X	1XµM	1,5
dNTP	2,5mM	0,25µM	1,5
MgCl ₂	50mM	2,5µM	0,75
Amorce 1 marquée	5µM	0,1µM	0,3
Amorce 1 non marquée	10µM	0,26µM	0,4
Amorce 2	10µM	0,33µM	0,5
BSA	1mg/mL	0,13mg/mL	2
Taq	5U/µL	0,02U/µL	0,07
ADN	1/100		2,5
H ₂ O			5,48
Volume total			15

Programme d'amplification : PCR « touch-down » 60-50 ; locus 1B2, 1H5, 2C1, 4E9 et 2E8

- 1- dénaturation initiale de 4 minutes à 94°C
- 2- 10 cycles en « touch down », -1°C/cycle
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec à la température d'appariement (température initiale 60°C)
 - 45 sec à 72°C
- 3- 20 cycles
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec 50°C
 - 45 sec à 72°C
- 4- élongation finale : 12 min à 72°C

Programme d'amplification : PCR « touch-down » 65-55 ; locus 4G2, 1B5, 1C1 et 4C12

- 1- dénaturation initiale de 4 minutes à 94°C
- 2- 10 cycles en « touch down », -1°C/cycle
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec à la température d'appariement (température initiale 65°C)
 - 45 sec à 72°C
- 3- 20 cycles
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec 55°C
 - 45 sec à 72°C
- 4- élongation finale : 12 min à 72°C

Programme d'amplification : PCR « touch-down » 55-45 ; locus 1G2

- 1- dénaturation initiale de 4 minutes à 94°C
- 2- 10 cycles en « touch down », -1°C/cycle
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec à la température d'appariement (température initiale 55°C)
 - 45 sec à 72°C
- 3- 20 cycles
 - 45 sec à 94°C
 - 45 sec 45°C
 - 45 sec à 72°C
- 4- élongation finale : 12 min à 72°C

Annexe 4-b Migration et visualisation

- ajouter 10µL de solution STOP-Congo Red⁽¹⁾
- dénaturer 3 minutes à 94°C
- charger 0,5µL par puits dans un gel d'acrylamide à 6%⁽²⁾

⁽¹⁾ Solution STOP-Congo Red :

solution stock : 25mg de Congo-Red /mL de solution d'EDTA à 0,125M

solution de travail : ajouter 80µL de Rouge Stock à 950µL de formamide déionisé

⁽²⁾ Gel d'acrylamide à 6%. Pour un volume final de 30mL (gel de 41cm)

12,6g d'urée (7M)

3,6mL de Long Ranger ® 50% Cambrex

3mL de TBE 10X

La solution doit ensuite être filtrée pour éliminer les cristaux d'urée non dissous.

Au moment de couler le gel ajouter :

200µL d'APS (1X)

20µL de Temed

Plan de chargement envisageable :

locus	taille	programme PCR	longueur d'onde préférée	plan de chargement possible
1B5	275	TD 65-55 10+20 cycles	800	gel n°2
4E9	157	TD 60-50 10+20cycles	800	gel n°1
1H5	359	TD 60-50 10+20cycles	800	gel n°2
2E8	211	TD 60-50 10+20cycles	800	gel n°1
4G2	263	TD 65-55 10+20 cycles	800	gel n°1
4C12	176	TD 65-55 10+20 cycles	700	gel n°1
1C1	217	TD 65-55 10+20 cycles	700	gel n°1
1B2	270	TD 60-50 10+20cycles	700	gel n°2
1G2	364	TD 55-45 10+20cycles	700	gel n°2
2C1	158	TD 60-50 10+20cycles	700	gel n°2

NB : Tous les chargements d'un gel sont réalisés à 20s d'intervalle

ANNEXE 5

Fréquences alléliques des marqueurs
microsatellites d'*Undaria pinnatifida*

Annexe 5-a : Fréquences alléliques et diversité génétique des populations européennes de la Mer du Nord à la façade Atlantique Française.

Pour chaque population et chaque locus, l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_e) sont indiquées. (résultats obtenus avec le logiciel GeneClass)

Locus	allèle	St Annala- land	Stave- nisse	Strijen- ham	Zee- brugge	Calais	Ham- ble	St Valéry	Le Havre	Saint Malo	St Quay	Lezar- drieux	Perros Guirec	Aber Wrac'h	Oues- sant	Brest	Loc- tudy	Le Guilvi- nec	La Rochel- le
1B2	(Nind)	31	32	29	25	28	31	29	32	32	32	32	32	27	32	28	31	24	28
	262	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.083	0
	264	0.481	0.438	0.404	0.825	0.759	0.867	0.722	0.726	0.75	0.844	0.656	0.813	0.944	0.656	0.75	1	0.889	0.833
	265	0	0	0	0	0	0	0.019	0.016	0.017	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	270	0	0	0	0.025	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	272	0.519	0.563	0.596	0.15	0.241	0.133	0.259	0.258	0.233	0.156	0.344	0.188	0.056	0.344	0.25	0	0.028	0.167
	Ho	0.577	0.375	0.346	0.3	0.407	0.2	0.296	0.355	0.333	0.125	0.438	0.188	0.111	0.563	0.429	0	0.222	0.185
	He	0.509	0.5	0.491	0.304	0.372	0.235	0.419	0.413	0.389	0.268	0.458	0.31	0.107	0.458	0.382	0	0.208	0.283
1G2		St Annala- land	Stave- nisse	Strijen- ham	Zee- brugge	Calais	Ham- ble	St Valéry	Le Havre	Saint Malo	St Quay	Lezar- drieux	Perros Guirec	Aber Wrac'h	Oues- sant	Brest	Loc- tudy	Le Guilvi- nec	La Rochel- le
	371	31	32	29	25	28	31	29	32	32	32	32	32	27	32	28	31	24	28
	375	1	1	1	0.891	0.64	1	0.981	0.844	0.844	1	0.984	0.828	1	0.984	1	1	0.952	1
		0	0	0	0.109	0.36	0	0.019	0.156	0.156	0	0.016	0.172	0	0.016	0	0	0.048	0
	Ho	0	0	0	0.217	0.16	0	0.038	0.188	0.188	0	0.031	0.219	0	0.031	0	0	0.095	0
	He	0	0	0	0.198	0.47	0	0.038	0.268	0.268	0	0.031	0.289	0	0.031	0	0	0.093	0
1H5		St Annala- nd	Stave- nisse	Strijen- ham	Zee- brugge	Calais	Ham- ble	St Valéry	Le Havre	Saint Malo	St Quay	Lezar- drieux	Perros Guirec	Aber Wrac'h	Oues- sant	Brest	Loc- tudy	Le Guilvi- nec	La Rochel- le
	358	31	32	29	25	28	31	29	32	32	32	32	32	27	32	28	31	24	28
	363	0	0.219	0	0	0	0.067	0	0.097	0	0	0.203	0	0	0	0.018	0	0	0
	364	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	365	1	0.781	1	1	1	0.933	1	0.903	1	1	0.797	1	1	1	0.982	1	0.864	1
	366	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.136	0
	Ho	0	0.125	0	0	0	0.133	0	0.194	0	0	0.156	0	0	0	0.036	0	0.091	0
	He	0	0.347	0	0	0	0.127	0	0.178	0	0	0.329	0	0	0	0.036	0	0.241	0
2E8		St Annala- land	Stave- nisse	Strijen- ham	Zee- brugge	Calais	Ham- ble	St Valéry	Le Havre	Saint Malo	St Quay	Lezar- drieux	Perros Guirec	Aber Wrac'h	Oues- sant	Brest	Loc- tudy	Le Guilvi- nec	La Rochel- le
	210	31	32	29	25	28	31	29	32	32	32	32	32	27	32	28	31	24	28
	212	0	0	0	0.31	0.143	0.067	0.406	0.297	0.359	0	0.297	0.297	0.556	0.375	0	0.667	0.19	0
	214	0.948	0.839	0.946	0.667	0.571	0.167	0.313	0.422	0.219	0.047	0.219	0.063	0.037	0.063	0.625	0	0	0.089
		0	0	0	0.024	0.286	0.733	0.219	0.203	0.406	0.953	0.375	0.578	0.407	0.563	0.229	0.333	0.81	0.143

	St Anna- land	Stave- nisse	Strijen- ham	Zee- brugge	Calais	Ham- ble	St Valéry	Le Havre	Saint Malo	St Quay	Lezar- drieux	Perros Guirec	Aber Wrac'h	Oues- sant	Brest	Loc- tudy	Le Guilvin ec	La Rochel -le
4C12	173	31 0	29 0	25 0	28 0	31 0	29 0	32 0	32 0	32 0	32 0	32 0	27 0	32 0	28 0	31 0	24 0	28 0
	176	0.984	0.875	1	1	0.967	0.931	0.875	0.875	1	0.953	0.516	1	0.969	0.589	0.984	1	1
	179	0.016	0.125	0	0	0.033	0.069	0.125	0.125	0	0.047	0.484	0	0.031	0.411	0.016	0	0
	Ho	0.032	0.188	0	0	0.067	0.069	0.25	0.188	0	0.031	0.406	0	0.063	0.321	0.032	0	0
	He	0.032	0.222	0	0	0.066	0.131	0.222	0.222	0	0.091	0.507	0	0.062	0.493	0.032	0	0
1B5		St Anna- land	Stave- nisse	Strijen- ham	Zee- brugge	Calais	Ham- ble	St Valéry	Le Havre	Saint Malo	St Quay	Lezar- drieux	Perros Guirec	Aber Wrac'h	Oues- sant	Brest	Loc- tudy	Le Guilvin ec
	276	31 0	29 0	25 0	28 0.019	31 0.067	29 0.08	32 0.145	32 0.259	32 0.484	32 0.344	32 0.125	27 0.568	32 0.453	28 0.241	31 0	24 0.457	28 0
	278	1	1	1	0.696	0.981	0.92	0.823	0.741	0.516	0.656	0.813	0.432	0.547	0.759	1	0.543	1
	279	0	0	0	0	0	0	0.032	0	0	0	0.063	0	0	0	0	0	0
	Ho	0	0	0	0.261	0.067	0.08	0.226	0.517	0.219	0.375	0.063	0.318	0.469	0.259	0	0.391	0
	He	0	0	0	0.433	0.127	0.15	0.306	0.39	0.507	0.458	0.325	0.502	0.503	0.372	0	0.507	0
2C1		St Anna- land	Stave- nisse	Strijen- ham	Zee- brugge	Calais	Ham- ble	St Valéry	Le Havre	Saint Malo	St Quay	Lezar- drieux	Perros Guirec	Aber Wrac'h	Oues- sant	Brest	Loc- tudy	Le Guilvi- nec
	154	31 0	29 0	25 0	28 0	31 0	29 0	32 0	32 0	32 0	32 0	32 0	27 0	32 0	28 0	31 0.968	24 0	28 0
	156	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	158	0	0	0	0	0.129	0.143	0	0.047	0	0	0.065	0	0.016	0	0	0	0
	160	1	1	1	0.9	0.468	0.643	0.717	0.313	0.766	0.469	0.355	0.692	0.578	0.889	0.032	0.364	0.5
	162	0	0	0	0.08	0.403	0.214	0.283	0.641	0.234	0.531	0.581	0.308	0.406	0.111	0	0.636	0.5
	Ho	0	0	0	0.12	0.323	0.5	0.433	0.375	0.094	0.438	0.29	0.231	0.406	0.148	0.065	0.273	0.214
	He	0	0	0	0.187	0.612	0.53	0.413	0.498	0.365	0.506	0.542	0.434	0.508	0.201	0.063	0.474	0.509

Annexe 5-b Fréquences alléliques et diversité génétique des populations européennes d’Espagne.

Pour chaque population et chaque locus, l’hétérozygotie observée (H_o) et l’hétérozygotie attendue (H_e) sont indiquées. (résultats obtenus avec le logiciel GeneClass)

Locus	allèle	Cudil- lero	ría de ares	coruna harbor	ría de camari nas	Cabo Cee	punta insuela	ría de aldan	ría de vigo
1B2	(Nind)	29	32	32	32	31	32	32	30
	262	0	0	0	0	0	0	0	0
	264	0.089	0.938	0.906	1	1	0.938	0.984	0.948
	265	0	0	0	0	0	0	0	0
	270	0	0	0	0	0	0	0	0
	272	0.911	0.063	0.094	0	0	0.063	0.016	0.052
1G2	Ho	0.107	0.125	0.125	0	0	0.063	0.031	0.103
	He	0.166	0.119	0.173	0	0	0.119	0.031	0.1
1H5	Cudille ro	29	32	32	32	31	32	32	30
	371	1	0.929	1	0.919	0.968	0.906	1	0.929
	375	0	0.071	0	0.081	0.032	0.094	0	0.071
	Ho	0	0.143	0	0.097	0.065	0.125	0	0.143
	He	0	0.135	0	0.151	0.063	0.173	0	0.135
	Cudille ro	29	32	32	32	31	32	32	30
1H5	358	0	0.031	0.094	0.156	0	0.094	0.276	0.148
	363	0	0	0	0	0	0	0	0
	364	0	0	0	0	0	0.031	0	0.019
	365	0.857	0.938	0.906	0.844	1	0.828	0.655	0.778
	366	0.143	0.031	0	0	0	0.047	0.069	0.056
	Ho	0	0.125	0.188	0.313	0	0.188	0.379	0.444
	He	0.249	0.121	0.173	0.268	0	0.307	0.498	0.377

	Cudille ro	ría de ares	coruna harbor	ría de camari nas	Cabo Cee	punta insuela	ría de aldan	ría de vigo
	29	32	32	32	31	32	32	30
2E8	210	0	0.203	0	0.453	0	0.047	0.089
	212	0.429	0.328	0	0.094	0	0.156	0.089
	214	0	0.375	0.938	0.422	1	0.453	0.607
	216	0.571	0.094	0.063	0.031	0	0.203	0.143
	218	0	0	0	0	0	0.016	0
	220	0	0	0	0	0.141	0	0.071
4E9	Ho	0.429	0.719	0.125	0.625	0	0.594	0.5
	He	0.499	0.713	0.119	0.617	0	0.718	0.601
4G2	261	0	0	0	0.31	0	0.031	0
	263	0	0.403	0.194	0.129	0	0.297	0.125
	265	1	0.597	0.806	0.871	1	0.703	0.875
	267	0	0	0	0	0	0	0
	Ho	0	0.613	0.258	0.194	0	0.406	0.25
	He	0	0.489	0.317	0.228	0	0.424	0.223

		Cudille ro	ría de ares	coruna harbor	ría de camari nas	Cabo Cee	punta insuela	ría de aldan	ría de vigo
1C1	212	29	32	32	32	31	32	32	30
	214	0	0	0	0	0	0	0	0
	216	0.914	0.823	0.906	0.379	0.533	0.613	0.714	0.85
	218	0	0	0	0	0	0	0	0
	220	0.086	0.097	0.078	0.259	0.467	0.226	0.286	0.083
			0.081	0.016	0.362	0	0.161	0	0.067
4C12	173	0	0.29	0.188	0.69	0.6	0.516	0.429	0.167
	176	0.068	0.313	0.175	0.67	0.506	0.556	0.416	0.271
	179								
		Cudille ro	ría de ares	coruna harbor	ría de camari nas	Cabo Cee	punta insuela	ría de aldan	ría de vigo
1B5	276	29	32	32	32	31	32	32	30
	278	0	0	0	0	0.032	0.017	0.141	0.135
	279	1	0.984	1	0.969	0.968	0.983	0.859	0.865
		0	0.016	0	0	0	0	0	0
	Ho	0	0.032	0	0.063	0.065	0.034	0.031	0.192
	He	0	0.032	0	0.062	0.063	0.034	0.246	0.238
		Cudille ro	ría de ares	coruna harbor	ría de camari nas	Cabo Cee	punta insuela	ría de aldan	ría de vigo
2C1	154	29	32	32	32	31	32	32	30
	156	0	0	0	0	0	0	0	0
	158	0	0	0	0	0	0	0	0
	160	0.983	0.017	0.125	0	0.696	0.21	0	0.019
	162	0.017	0.967	0.857	1	0.286	0.79	1	0.942
			0.017	0.018	0	0.018	0	0	0.038
	Ho	0.034	0.067	0.107	0	0.5	0.226	0	0.115
	He	0.034	0.066	0.254	0	0.441	0.337	0	0.112

Annexe 5-c Fréquences alléliques et diversité génétique des populations cultivées et de la population de Thau.
 Pour chaque population et chaque locus, l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_e) sont indiquées. (résultats obtenus avec le logiciel GeneClass)

Locus	allèle	Thau	S-03 ou "cult Fr"	S-04	S-05-a	S-05-b	S-06-a	S-06-b	G-04	G-05	G-06	R-02	R-04	R-05	R-06-a	R-06-b
1B2	(Nind)	34	25	43	31	29	32	32	32	32	32	10	32	26	32	32
	262	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	264	0.766	1	0.917	0.596	0.759	0.609	0.969	0.984	0.483	0.906	0.95	0.984	1	1	0.922
	265	0	0	0.036	0.25	0.241	0.016	0	0	0.3	0.094	0	0	0	0	0.031
	270	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	272	0.234	0	0.048	0.154	0	0.375	0.031	0.016	0.217	0	0.05	0.016	0	0	0.047
	Ho	0.344	0	0.167	0.538	0.345	0.625	0.063	0.031	0.7	0	0.1	0.031	0	0	0.094
	He	0.365	0	0.158	0.569	0.373	0.496	0.062	0.031	0.64	0.173	0.1	0.031	0	0	0.149
1G2		Thau	S-03 ou "cult Fr"	S-04	S-05-a	S-05-b	S-06-a	S-06-b	G-04	G-05	G-06	R-02	R-04	R-05	R-06-a	R-06-b
		34	25	43	31	29	32	32	32	32	32	10	32	26	32	32
	371	0.838	0.952	0.977	1	1	0.953	0.79	1	1	1	0.95	1	1	1	1
	375	0.162	0.048	0.023	0	0	0.047	0.21	0	0	0	0.05	0	0	0	0
	Ho	0.265	0.095	0.047	0	0	0.094	0.355	0	0	0	0.1	0	0	0	0
	He	0.275	0.093	0.046	0	0	0.091	0.337	0	0	0	0.1	0	0	0	0
1H5		Thau	S-03 ou "cult Fr"	S-04	S-05-a	S-05-b	S-06-a	S-06-b	G-04	G-05	G-06	R-02	R-04	R-05	R-06-a	R-06-b
		34	25	43	31	29	32	32	32	32	32	10	32	26	32	32
	358	0.152	0	0.058	0.081	0.071	0.297	0.078	0	0.047	0.266	0	0	0	0.219	0.016
	363	0	0	0	0	0.232	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	364	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	365	0.848	1	0.942	0.919	0.696	0.703	0.922	1	0.953	0.734	1	1	1	0.781	0.984
	366	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ho	0.303	0	0.116	0.161	0.5	0.406	0.094	0	0.094	0.406	0	0	0	0.375	0.031
	He	0.261	0	0.111	0.151	0.464	0.424	0.146	0	0.091	0.396	0	0	0	0.347	0.031
2E8		Thau	S-03 ou "cult Fr"	S-04	S-05-a	S-05-b	S-06-a	S-06-b	G-04	G-05	G-06	R-02	R-04	R-05	R-06-a	R-06-b
		34	25	43	31	29	32	32	32	32	32	10	32	26	32	32
	210	0.044	0.52	0.233	0.081	0.071	0.375	0.266	0.438	0.109	0.403	0.2	0.406	0.327	0.453	0.578
	212	0.5	0.04	0.233	0.774	0.375	0.125	0.063	0	0.594	0.145	0.4	0.016	0	0.172	0.078
	214	0.456	0.44	0.384	0.081	0.143	0.5	0.469	0.563	0.188	0.435	0.2	0.578	0.673	0.359	0.344
	216	0	0	0.012	0	0.393	0	0	0	0.109	0	0.15	0	0	0	0
	218	0	0	0.093	0.065	0.018	0	0	0	0.109	0.016	0	0	0	0.016	0
	220	0	0	0.047	0	0	0	0.203	0	0	0	0.05	0	0	0	0

Ho 0.471 0.52 0.698 0.355 0.893 0.625 0.813 0.438 0.469 0.452 0.9 0.594 0.269 0.563 0.438
He 0.548 0.545 0.742 0.39 0.692 0.603 0.675 0.5 0.598 0.637 0.774 0.508 0.449 0.646 0.55

4E9

Thau
S-03 ou
"cult F1"

34 0.132 0.06 0.151 0.5 0.448 0 0.19 0 0.547 0 0.2 0.32 0.26 0.32 0.32
149 0.382 0.88 0.477 0.419 0.517 0.677 0.638 0 0.328 0.859 0.5 1 0.891 0.031 0.031
153 0.471 0.06 0.209 0 0 0 0 0 0 0.125 0.3 0 0 0.063 0.969
155 0.015 0 0.14 0.081 0.034 0.323 0 0 0.125 0.016 0 0 0.016 0 0
157 0 0 0.023 0 0 0 0.172 0 0 0 0 0 0 0 0
159 0 0 0.023 0 0 0 0.172 0 0 0 0 0 0 0 0

Thau
S-04

43 0.651 0.516 0.586 0.452 0.724 0 0.563 0.281 0.3 0 0 0 0.156 0
He 0.624 0.223 0.694 0.577 0.54 0.444 0.537 0 0.587 0.25 0.653 0 0 0.205 0.062

Thau
S-03 ou
"cult F1"

34 0.015 0 0.349 0.226 0.19 0.266 0.031 0 0 0.375 0.328 0.26 0.32 0.32
261 0.439 0.78 0.593 0.774 0.81 0.734 0.969 0 0.625 0.625 0.5 0.813 0.788 0.609 0.406
263 0.545 0.18 0.058 0 0 0 0 0 0 0.047 0 0 0.188 0.212 0.391 0.594
265 0 0.04 0.058 0 0 0 0 0 0 0.047 0 0 0 0 0 0
267 0 0.04 0.058 0 0 0 0 0 0 0.047 0 0 0 0 0 0

4G2

Thau
S-04

43 0.395 0.387 0.31 0.344 0.063 0.25 0.375 0.375 0.4 0.375 0.346 0.531 0.688
Ho 0.273 0.44 0.529 0.355 0.313 0.396 0.062 0.268 0.476 0.507 0.526 0.31 0.34 0.484 0.49
He 0.517 0.365 0.529 0.355 0.313 0.396 0.062 0.268 0.476 0.507 0.526 0.31 0.34 0.484 0.49

Thau
S-03 ou
"cult F1"

34 0.882 0.104 0.674 0.919 0.431 0.188 0 0.641 0 0.906 0.172 0.75 0.26 0.32 0.32
214 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0.031 0 0 0.203 0.094
216 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0.031 0 0 0 0
218 0.118 0.063 0.128 0 0.414 0.719 0.031 0 0.469 0.359 0.2 0.156 0 0.328 0
220 0 0.833 0.198 0.081 0.155 0.094 0 0.969 0.094 0.05 0.109 1 0.469 0.906

1C1

Thau
S-04

43 0.628 0.161 0.759 0.375 0.656 0 0.188 0.719 0.5 0.406 0 0.625 0
Ho 0.176 0.333 0.495 0.151 0.63 0.446 0.468 0.062 0.173 0.631 0.416 0.476 0 0.173
He 0.211 0.297 0.495 0.151 0.63 0.446 0.468 0.062 0.173 0.631 0.416 0.476 0 0.173

Thau
S-03 ou
"cult F1"

34 0 0 0.663 0.935 0.948 0.781 0.938 0 0.875 0.781 0.6 0.578 0.673 0.781 0.703
173 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
176 0.529 0.56 0.44 0.337 0.065 0.052 0.219 0.063 0.125 0.219 0.4 0.422 0.327 0.219 0.297
179 0.471 0.44 0.337 0.065 0.052 0.219 0.063 0.125 0.219 0.4 0.422 0.327 0.219 0.297

4C12

Thau
S-04

43 0.581 0.129 0.103 0.375 0.125 0.5 0.188 0.375 0.4 0.469 0.423 0.438 0.531
Ho 0.412 0.64 0.503 0.452 0.123 0.1 0.347 0.347 0.4 0.469 0.423 0.438 0.531
He 0.506 0.503 0.452 0.123 0.1 0.347 0.347 0.4 0.469 0.423 0.438 0.531

	Thau	S-03 ou "cult Fr"										R-05	R-04	R-06-a	R-06-b
		34	25	43	S-05-a	S-05-b	S-06-a	S-06-b	G-04	G-05	G-06				
1B5	276	0.044	0.405	0.107	0.133	0.017	0.172	0.29	0.125	0.017	0.219	10	32	32	32
	278	0.912	0.595	0.869	0.867	0.983	0.828	0.71	0.875	0.983	0.594	0.6	0.953	0.797	0.969
	279	0.044	0	0.024	0	0	0	0	0	0	0.188	0	0	0.078	0
	Ho	0.176	0.238	0.167	0.267	0.034	0.281	0.516	0.125	0.033	0.25	0.2	0.094	0.25	0.063
	He	0.167	0.494	0.236	0.235	0.034	0.289	0.419	0.222	0.033	0.573	0.505	0.091	0.349	0.062
	Thau	S-03 ou "cult Fr"										R-05	R-04	R-06-a	R-06-b
		34	25	43	S-05-a	S-05-b	S-06-a	S-06-b	G-04	G-05	G-06				
2C1	154	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	32	32	32
	156	0.032	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	158	0.016	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	160	0.742	0.94	0.581	0.581	0.776	0.435	0.726	0.969	0.609	0.645	0.3	0.938	0.766	0.828
	162	0.21	0.06	0.419	0.419	0.224	0.565	0.274	0.031	0.391	0.355	0.7	0.063	0.234	0.172
	Ho	0.258	0.12	0.512	0.645	0.31	0.226	0.484	0.063	0.531	0.452	0.4	0.125	0.344	0.281
	He	0.411	0.115	0.492	0.495	0.354	0.5	0.405	0.062	0.484	0.465	0.442	0.119	0.365	0.289

Annexe 5-d Fréquences alléliques et diversité génétique de la population spontanée de l'Aber Wrac'h ainsi que des marinas de Brest et de Perros-Guirec.

Pour chaque population et chaque locus, l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_e) sont indiquées. (résultats obtenus avec le logiciel Geneclss)

Locus	allèle	AW-02	AW-03	AW-04	AW-05	AW-06	Brest-02	Brest-05	Perros-Guirec-02	Perros-Guirec-03	Perros-Guirec-05
1B2	(Nind)	27	27	17	32	52	29	96	22	32	96
	262	0	0.074	0	0.103	0.029	0	0	0	0	0
	264	0.944	0.852	0.857	0.672	0.779	0.75	0.813	0.813	0.913	0.8
	265	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.039
	272	0.056	0.074	0.143	0.224	0.192	0.25	0.187	0.188	0.087	0.161
1G2	Ho	0.111	0.222	0.286	0.31	0.288	0.429	0.154	0.188	0.174	0.178
	He	0.107	0.268	0.254	0.495	0.359	0.382	0.306	0.31	0.162	0.334
	(Nind)	27	27	17	32	52	29	96	22	32	96
	371	1	1	1	1	1	1	1	0.828	0.841	0.861
	375	0	0	0	0	0	0	0	0.172	0.159	0.139
1H5	Ho	0	0	0	0	0	0	0	0.219	0.227	0.211
	He	0	0	0	0	0	0	0	0.289	0.274	0.241
	(Nind)	27	27	17	32	52	29	96	22	32	96
	357	0	0	0	0	0.01	0	0	0	0	0
	358	0	0	0	0	0.058	0.018	0.098	0	0.023	0
1H5	365	1	1	1	1	0.933	0.982	0.902	1	0.977	1
	Ho	0	0	0	0	0.135	0.036	0.065	0	0.045	0
	He	0	0	0	0	0.128	0.036	0.177	0	0.045	0
	(Nind)	27	27	17	32	52	29	96	22	32	96
	357	0	0	0	0	0.01	0	0	0	0	0
2E8	212	0.037	0	0	0	0.029	0.625	0.527	0.063	0.091	0.177
	214	0.407	0.32	0.324	0.297	0.24	0.229	0.299	0.578	0.523	0.478
	216	0	0	0	0	0	0.146	0.168	0	0	0
	218	0	0	0	0	0	0	0	0.063	0.114	0.129
	220	0	0	0	0	0	0	0.005	0	0	0
2E8	Ho	0.593	0.32	0.412	0.344	0.385	0.458	0.5	0.469	0.409	0.495
	He	0.534	0.444	0.451	0.424	0.411	0.547	0.608	0.579	0.646	0.68

4E9	(Nind) 149 153 155 157	AW-02	27 0.074 0.907 0 0.019	AW-03	27 0.019 0.963 0 0.019	AW-04	17 0 1 0 0	AW-05	32 0 0.984 0 0.016	AW-06	52 0 0.865 0 0.135	Brest-02	29 0.393 0.536 0.071 0	Brest-05	96 0.33 0.591 0.045 0.034	Perros- Guirec-02	22 0.297 0.484 0.016 0.203	Perros- Guirec-03	32 0.205 0.614 0.136 0.045	Perros- Guirec-05	96 0.255 0.62 0.043 0.082	
		Ho	0.037	0.074	0	0	0.031	0.231	0.143	0.364	0.406	0.318	0.446	0.545								
		He	0.174	0.073	0	0	0.031	0.235	0.564	0.542	0.646	0.574	0.545									
		4G2	AW-02	27 0.056 0.944 0	AW-03	27 0.167 0.833 0	AW-04	17 0.25 0.75 0	AW-05	32 0.109 0.891 0	AW-06	52 0.269 0.731 0	Brest-02	29 0.089 0.893 0.018	Brest-05	96 0.266 0.701 0.033	Perros- Guirec-02	22 0.306 0.645 0.048	Perros- Guirec-03	32 0.211 0.684 0.105	Perros- Guirec-05	96 0.139 0.767 0.094
			Ho	0.111	0.111	0.375	0.387	0.219	0.198	0.385	0.214	0.198	0.217	0.439	0.323	0.496	0.105	0.105	0.378	0.386		
He	0.107		0.283	0.387	0.387	0.198	0.198	0.397	0.198	0.198	0.217	0.439	0.496	0.489	0.489	0.489	0.386	0.386				
1C1	AW-02		27 0.154 0.019 0.135 0.692 0	AW-03	27 0.296 0 0.13 0.537 0.037	AW-04	17 0.147 0 0.118 0.735 0	AW-05	32 0.226 0 0.113 0.661 0	AW-06	52 0.385 0 0.135 0.471 0.01	Brest-02	29 0.357 0 0.5 0.143 0	Brest-05	96 0.375 0 0.424 0.201 0	Perros- Guirec-02	22 0.469 0 0.531 0 0	Perros- Guirec-03	32 0.636 0 0.364 0 0	Perros- Guirec-05	96 0.581 0 0.419 0 0	
	Ho		0.231	0.444	0.471	0.484	0.507	0.654	0.357	0.613	0.402	0.643	0.438	0.506	0.273	0.474	0.323	0.49	0.323	0.49		
	He	0.488	0.617	0.437	0.507	0.507	0.618	0.613	0.613	0.643	0.506	0.474	0.474	0.474	0.474	0.49	0.49	0.49	0.49			
	4C12	AW-02	27 1 0	AW-03	27 1 0	AW-04	17 1 0	AW-05	32 1 0	AW-06	52 0.981 0.019	Brest-02	29 0.589 0.411	Brest-05	96 0.728 0.272	Perros- Guirec-02	22 0.516 0.484	Perros- Guirec-03	32 0.5 0.5	Perros- Guirec-05	96 0.407 0.593	
		Ho	0	0	0	0	0	0.038	0.321	0.493	0.196	0.398	0.406	0.507	0.391	0.511	0.352	0.485	0.352	0.485		
He		0	0	0	0	0	0.038	0.493	0.398	0.398	0.398	0.507	0.507	0.511	0.511	0.485	0.485	0.485	0.485			

1B5		AW-02	AW-03	AW-04	AW-05	AW-06	Brest-02	Brest-05	Perros-Guirec-02	Perros-Guirec-03	Perros-Guirec-05
	(Nind)	27	27	17	32	52	29	96	22	32	96
	276	0.568	0.5	0.471	0.419	0.356	0.241	0.304	0.125	0.104	0.104
	278	0.432	0.5	0.529	0.565	0.644	0.759	0.696	0.813	0.875	0.857
	279	0	0	0	0.016	0	0	0	0.063	0.021	0.038
2C1	Ho	0.318	0.556	0.588	0.484	0.25	0.259	0.239	0.063	0.25	0.143
	He	0.502	0.509	0.513	0.513	0.463	0.372	0.426	0.325	0.228	0.254
		AW-02	AW-03	AW-04	AW-05	AW-06	Brest-02	Brest-05	Perros-Guirec-02	Perros-Guirec-03	Perros-Guirec-05
	(Nind)	27	27	17	32	52	29	96	22	32	96
	158	0	0	0	0	0	0	0.005	0.065	0.196	0.28
	160	0.692	0.648	0.529	0.594	0.644	0.889	0.897	0.355	0.457	0.409
	162	0.308	0.352	0.471	0.406	0.356	0.111	0.098	0.581	0.348	0.312
	Ho	0.231	0.407	0.235	0.563	0.404	0.148	0.141	0.29	0.522	0.581
	He	0.434	0.465	0.513	0.49	0.463	0.201	0.187	0.542	0.646	0.661

Annexe 5-e Fréquences alléliques et diversité génétique des populations de la Baie de St Malo.

Pour chaque population et chaque locus, l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie attendue (H_e) sont indiquées. (résultats obtenus avec le logiciel GeneClass)

Locus	allèle	C1-05	C2-05	M1-05	M2-05	O1-05	O2-05	O3-05	O4-05	I1-05
1B2	(Nind)	31	29	46	30	31	31	30	30	46
	264	0.596	0.759	0.761	0.828	0.865	0.7	0.759	0.8	0.886
	265	0.25	0.241	0.08	0.034	0.019	0	0.069	0.017	0
	272	0.154	0	0.159	0.138	0.115	0.3	0.172	0.183	0.114
	Ho	0.538	0.345	0.295	0.069	0.269	0.28	0.276	0.3	0.091
1G2	He	0.569	0.373	0.393	0.3	0.242	0.429	0.397	0.332	0.204
	(Nind)	31	29	46	30	31	31	30	30	46
	369	0	0	0	0.052	0	0	0	0	0
	371	1	1	0.795	0.603	0.935	1	0.917	0.968	0.891
	375	0	0	0.205	0.345	0.065	0	0.083	0.032	0.109
	Ho	0	0	0.136	0.207	0.065	0	0.167	0.065	0.217
	He	0	0	0.329	0.523	0.123	0	0.155	0.063	0.196
	(Nind)	31	29	46	30	31	31	30	30	46
	358	0.081	0.071	0.034	0.054	0.032	0.067	0.05	0.033	0.011
	363	0	0.232	0.011	0	0	0	0	0	0
1H5	365	0.919	0.696	0.955	0.946	0.968	0.933	0.95	0.967	0.989
	Ho	0.161	0.5	0.091	0.036	0.065	0.133	0.1	0.067	0.022
	He	0.151	0.464	0.089	0.103	0.063	0.127	0.097	0.066	0.022
	(Nind)	31	29	46	30	31	31	30	30	46
	210	0.081	0.071	0.304	0.15	0.242	0.224	0.333	0.242	0.5
2E8	212	0.774	0.375	0.109	0.15	0.161	0.397	0.267	0.452	0.13
	214	0.081	0.143	0.457	0.667	0.435	0.276	0.383	0.177	0.261
	216	0	0.393	0.087	0.017	0.048	0	0	0.129	0.087
	218	0.065	0.018	0.033	0	0.048	0.052	0.017	0	0
	220	0	0	0.011	0.017	0.065	0.052	0	0	0.022
	Ho	0.355	0.893	0.391	0.233	0.806	0.586	0.5	0.613	0.565
	He	0.39	0.692	0.686	0.519	0.729	0.724	0.682	0.701	0.664
	(Nind)	31	29	46	30	31	31	30	30	46
	210	0.081	0.071	0.304	0.15	0.242	0.224	0.333	0.242	0.5
	212	0.774	0.375	0.109	0.15	0.161	0.397	0.267	0.452	0.13
	214	0.081	0.143	0.457	0.667	0.435	0.276	0.383	0.177	0.261
	216	0	0.393	0.087	0.017	0.048	0	0	0.129	0.087
	218	0.065	0.018	0.033	0	0.048	0.052	0.017	0	0
	220	0	0	0.011	0.017	0.065	0.052	0	0	0.022
	Ho	0.355	0.893	0.391	0.233	0.806	0.586	0.5	0.613	0.565
	He	0.39	0.692	0.686	0.519	0.729	0.724	0.682	0.701	0.664

Locus	allèle	C1-05	C2-05	M1-05	M2-05	O1-05	O2-05	O3-05	O4-05	I1-05
1B5	(Nind)	31	29	46	30	31	31	30	30	46
	276	0.133	0.017	0.256	0.339	0.267	0.233	0.276	0.258	0.211
	278	0.867	0.983	0.744	0.661	0.733	0.75	0.724	0.726	0.789
	279	0	0	0	0	0	0.017	0	0.016	0
	Ho	0.267	0.034	0.465	0.464	0.533	0.3	0.414	0.419	0.244
	He	0.235	0.034	0.385	0.456	0.398	0.389	0.407	0.413	0.337
Locus	allèle	C1-05	C2-05	M1-05	M2-05	O1-05	O2-05	O3-05	O4-05	I1-05
2C1	(Nind)	31	29	46	30	31	31	30	30	46
	154	0	0	0	0.017	0	0	0.033	0	0
	156	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	158	0	0	0.011	0	0.048	0	0.083	0.065	0
	160	0.581	0.776	0.6	0.767	0.371	0.717	0.417	0.597	0.311
	162	0.419	0.224	0.389	0.217	0.581	0.283	0.467	0.339	0.689
	Ho	0.645	0.31	0.511	0.167	0.516	0.3	0.7	0.452	0.356
	He	0.495	0.354	0.494	0.371	0.531	0.413	0.611	0.534	0.433

Locus	allèle	C1-06	C2-06	M1-06	M2-06	O1-06	O2-06	O3-06	O4-06	I1-06	I2-06
1B2	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	264	0.609	0.969	0.81	0.931	0.823	0.797	0.656	0.813	0.859	0.672
	265	0.016	0	0.04	0	0.016	0.063	0.078	0.031	0	0.156
	272	0.375	0.031	0.15	0.069	0.161	0.141	0.266	0.156	0.141	0.172
	Ho	0.625	0.063	0.3	0.098	0.29	0.344	0.563	0.25	0.156	0.344
	He	0.496	0.062	0.323	0.129	0.302	0.347	0.5	0.319	0.246	0.502
Locus	allèle	C1-06	C2-06	M1-06	M2-06	O1-06	O2-06	O3-06	O4-06	I1-06	I2-06
1G2	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	369	0	0	0	0.14	0	0	0	0	0	0
	371	0.953	0.79	0.86	0.62	0.969	0.766	0.883	1	0.813	0.953
	375	0.047	0.21	0.14	0.24	0.031	0.234	0.117	0	0.188	0.047
	Ho	0.094	0.355	0.28	0.16	0.063	0.344	0.167	0	0.313	0.094
	He	0.091	0.337	0.243	0.544	0.062	0.365	0.21	0	0.31	0.091
Locus	allèle	C1-06	C2-06	M1-06	M2-06	O1-06	O2-06	O3-06	O4-06	I1-06	I2-06
1H5	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	358	0.297	0.078	0.02	0.039	0.016	0.016	0.031	0.047	0.016	0.031
	363	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	365	0.703	0.922	0.98	0.961	0.984	0.984	0.969	0.953	0.984	0.969
	Ho	0.406	0.094	0.04	0	0.031	0.031	0.063	0.094	0.032	0
	He	0.424	0.146	0.04	0.076	0.031	0.031	0.062	0.091	0.032	0.062
Locus	allèle	C1-06	C2-06	M1-06	M2-06	O1-06	O2-06	O3-06	O4-06	I1-06	I2-06
2E8	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	210	0.375	0.266	0.24	0.088	0.25	0.328	0.177	0.125	0.281	0.125
	212	0.125	0.063	0.28	0.314	0.031	0.156	0.21	0.531	0.25	0.328
	214	0.5	0.469	0.4	0.51	0.547	0.438	0.532	0.219	0.453	0.453
	216	0	0	0.06	0.069	0.094	0.047	0.065	0.109	0.016	0.094
	218	0	0	0.02	0	0	0.016	0	0	0	0
	220	0	0.203	0	0.02	0.078	0.016	0.016	0.016	0	0
	Ho	0.625	0.813	0.48	0.157	0.563	0.625	0.645	0.656	0.656	0.656
	He	0.603	0.675	0.707	0.635	0.632	0.685	0.647	0.652	0.663	0.673

Locus	allèle	C1-06	C2-06	M1-06	M2-06	O1-06	O2-06	O3-06	O4-06	I1-06	I2-06
4E9	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	149	0	0.19	0.2	0.049	0.161	0.177	0.167	0.145	0.177	0.063
	153	0.677	0.638	0.72	0.618	0.613	0.597	0.633	0.726	0.581	0.766
	155	0	0	0.04	0	0.145	0.048	0.133	0.097	0.081	0.125
	157	0.323	0	0.04	0.333	0.065	0.177	0.05	0.032	0.129	0.031
	159	0	0.172	0	0	0.016	0	0.017	0	0.032	0.016
4G2	Ho	0.452	0.724	0.42	0.098	0.677	0.581	0.6	0.548	0.548	0.281
	He	0.444	0.537	0.443	0.51	0.582	0.588	0.56	0.449	0.617	0.399
1C1	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	262	0	0	0	0	0	0	0	0	0.016	0
	263	0.266	0.031	0.42	0.186	0.297	0.452	0.234	0.125	0.188	0.469
	265	0.734	0.969	0.5	0.735	0.672	0.452	0.734	0.828	0.703	0.531
	267	0	0	0.08	0.078	0.031	0.097	0.031	0.047	0.094	0
	Ho	0.344	0.063	0.42	0.176	0.5	0.516	0.469	0.219	0.406	0.438
1C12	He	0.396	0.062	0.573	0.423	0.467	0.592	0.411	0.301	0.469	0.506
4C12	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	214	0.188	0.641	0.64	0.843	0.625	0.766	0.594	0.656	0.734	0.578
	218	0.719	0.359	0.19	0.069	0.203	0.078	0.313	0.234	0.047	0.172
	220	0.094	0	0.17	0.088	0.172	0.156	0.094	0.109	0.219	0.25
	Ho	0.375	0.656	0.58	0.118	0.5	0.469	0.719	0.531	0.406	0.5
	He	0.446	0.468	0.531	0.279	0.547	0.389	0.55	0.51	0.417	0.583
4C12	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	176	0.781	0.938	0.83	0.51	0.797	0.781	0.688	0.813	0.875	0.844
	179	0.219	0.063	0.17	0.49	0.203	0.219	0.313	0.188	0.125	0.156
	Ho	0.375	0.125	0.22	0.157	0.344	0.25	0.5	0.313	0.25	0.25
	He	0.347	0.119	0.285	0.505	0.329	0.347	0.437	0.31	0.222	0.268

Locus	allèle	C1-06	C2-06	M1-06	M2-06	O1-06	O2-06	O3-06	O4-06	I1-06	I2-06
1B5	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	276	0.172	0.29	0.114	0.18	0.234	0.344	0.274	0.234	0.172	0.203
	278	0.828	0.71	0.83	0.82	0.672	0.578	0.726	0.766	0.797	0.797
	279	0	0	0.057	0	0.094	0.078	0	0	0.031	0
	Ho	0.281	0.516	0.25	0.12	0.344	0.5	0.355	0.281	0.219	0.406
	He	0.289	0.419	0.299	0.298	0.493	0.55	0.405	0.365	0.34	0.329
Locus	allèle	C1-06	C2-06	M1-06	M2-06	O1-06	O2-06	O3-06	O4-06	I1-06	I2-06
2C1	(Nind)	32	32	50	51	32	32	32	32	32	32
	154	0	0	0	0	0	0.016	0.031	0.031	0.016	0.016
	156	0	0	0	0	0	0	0	0.016	0	0
	158	0	0	0.04	0	0.113	0.016	0.063	0.031	0	0.016
	160	0.435	0.726	0.45	0.843	0.435	0.531	0.469	0.594	0.422	0.578
	162	0.565	0.274	0.51	0.157	0.452	0.438	0.438	0.328	0.563	0.391
	Ho	0.226	0.484	0.44	0.078	0.613	0.625	0.563	0.438	0.406	0.563
	He	0.5	0.405	0.541	0.267	0.603	0.534	0.593	0.546	0.513	0.521

ANNEXE 6

Matrices de distances génétiques et
géographiques entre paires de populations à
l'échelle européenne

Annexe 6.a Matrice de F_{ST} et de distance géographique entre paires de populations en Manche Orientale et aux Pays Bas

F_{ST}	SA	STA	STJ	ZEE	CAL	HAM	VAL
STA	0.07						
STJ	0.38	0.23					
ZEE	0.71	0.59	0.60				
CAL	0.71	0.60	0.60	0.09			
HAM	0.57	0.49	0.46	0.32	0.31		
VAL	0.50	0.41	0.43	0.13	0.16	0.11	
HAV	0.52	0.42	0.42	0.08	0.10	0.15	0.03

Distance (km)	SA	STA	STJ	ZEE	CAL	HAM	VAL
STA	8						
STJ	26	18					
ZEE	86	78	96				
CAL	196	188	206	110			
HAM	436	428	446	350	240		
VAL	346	338	356	260	150	180	
HAV	411	403	421	325	215	200	65

Annexe 6-b. Matrice de F_{ST} et de distance géographique entre paires de populations en Bretagne Nord et Atlantique français

F_{ST}	SM	SQ	LZ	PG	AW	OUE	BRE	LOC	GUIL
SQ	0.26								
LZ	0.03	0.24							
PG	0.08	0.33	0.10						
AW	0.19	0.49	0.14	0.25					
OUE	0.06	0.25	0.03	0.13	0.09				
BRE	0.20	0.44	0.16	0.13	0.26	0.18			
LOC	0.32	0.52	0.34	0.38	0.57	0.40	0.52		
GUIL	0.07	0.27	0.08	0.13	0.20	0.05	0.26	0.45	
LR	0.17	0.46	0.20	0.26	0.41	0.25	0.32	0.51	0.28

Distance (km)	SM	SQ	LZ	PG	AW	OUE	BRE	LOC	GUIL
SQ	75								
LZ	105	30							
PG	130	60	35						
AW	230	140	135	110					
OUE	280	190	185	160	50				
BRE	290	200	195	170	60	50			
LOC	365	275	265	245	135	120	130		
GUIL	355	265	255	230	125	110	110	10	
LR	685	595	585	565	455	440	450	330	320

Annexe 6-c. Matrice de F_{ST} et de distance géographique entre paires de populations en Espagne

F_{ST}	CUD	ARES	COH	CABO	CAM	INS	ALD
ARES	0.38						
COH	0.47	0.09					
CAM	0.44	0.10	0.16				
CABO	0.65	0.36	0.30	0.30			
INS	0.33	0.05	0.08	0.07	0.28		
ALD	0.42	0.12	0.16	0.14	0.37	0.12	
VIGO	0.43	0.06	0.06	0.13	0.33	0.09	0.06

Distance (km)	CUD	ARES	COH	CABO	CAM	INS	ALD
ARES	210						
COH	220	11					
CAM	380	170	160				
CABO	460	250	240	80			
INS	520	311	300	140	60		
ALD	571	361	340	180	100	50	
VIGO	571	361	340	180	100	45	5

ANNEXE 7

Suivi démographique dans deux ports de
Bretagne Nord

Données brutes

Annexe 7-a. Nombre d'individus total d'*U. pinnatifida* observé chaque mois et sur chaque série de plaque, dans le port de Brest

BREST		Date de mise en place des plaques				Nind total
Date d'observation	déc-02	mars-03	juin-03	sept-03	déc-03	
déc-02						
janv-03						
févr-03						
mars-03						
avr-03						
mai-03						
juin-03						
juil-03						
août-03						
sept-03						
oct-03						
nov-03		3				3
déc-03	1	2				3
janv-04	1	2				3
févr-04	3	2				5
mars-04	19	6	3			28
avr-04	27	27	16		1	71
mai-04	31	32	17		2	82
juin-04	13	14	14			41
juil-04	11	13	9			33
août-04						
sept-04	3	8	1			12
oct-04	11	5			1	17
nov-04	4	7			1	12
déc-04	9	2	1		1	13
janv-05	7	3	1		1	12
févr-05	2	5	3	1	5	16
mars-05	38	32	12	9	19	110
avr-05	25	9	9	9	12	64
mai-05	15	13	16	9	11	64
juin-05	2	9	5	4	4	24
juil-05	3			5		8
août-05		1	1	5		7
sept-05		7			1	8
oct-05		6	4	1	5	16
nov-05	10	14	6	1	7	38
déc-05	3	7	12	13	6	41
janv-06	7	9	7	18	6	47
févr-06	18	20	7	26	9	80
mars-06	18	37	10	34	30	129
avr-06	21	19	19	22	21	102
mai-06	7	7	8	12	9	43
juin-06	3	2	6	8	7	26
juil-06	1		1	2		4
août-06						
sept-06		1				1
oct-06		1		2		3
nov-06	5	3	2		2	12
déc-06	4	1	2	1	3	11

Annexe 7-b. Nombre d'individus total d'*U. pinnatifida* observé chaque mois et sur chaque série de plaque, dans le port de Perros-Guirec

PERROS GUIREC		Date de mise en place des plaques				Nind total
Date d'observation	déc-02	mars-03	juin-03	sept-03	déc-03	
déc-02						
janv-03						
févr-03						
mars-03						
avr-03						
mai-03	3					3
juin-03	5					5
juil-03	4					4
août-03						
sept-03						
oct-03						
nov-03						
déc-03	2					2
janv-04	3					3
févr-04	1	9	4			14
mars-04	5	18	21			44
avr-04	16	25	32			73
mai-04	9	13	25			47
juin-04	6	13	22			41
juil-04	2	13	16			31
août-04						
sept-04		1				1
oct-04	1	9	12			22
nov-04	3	7	7		1	18
déc-04	4	6	6	1	1	18
janv-05	5	8	11		1	25
févr-05	4	10	11	14	1	40
mars-05	11	27	31	35	5	109
avr-05	20	27	26	20	5	98
mai-05	26	50	39	47	19	181
juin-05	21	31	34	35	18	139
juil-05	16	18	26	26	19	105
août-05	1	2	1	4		8
sept-05						
oct-05				2	8	10
nov-05			13	6	14	33
déc-05			12	7	13	32
janv-06	11	8	15	18	19	71
févr-06	7	6	32	18	30	93
mars-06	33	51	37	30	92	243
avr-06	60	102	83	19	67	331
mai-06	96	62	63	19	50	290
juin-06	65	43	59	14	48	229
juil-06	36	26	33	8	31	134
août-06	11	10	18	2	11	52
sept-06						
oct-06	1					1
nov-06	1		1	4	2	8
déc-06	1		3	4	2	10

Annexe 7-c. Nombre de jeunes recrues d'*U. pinnatifida* observé chaque mois et sur chaque série de plaque, dans le port de Brest

Date d'observation	Date de mise en place des plaques					Nind tot
	déc-02	mars-03	juin-03	sept-03	déc-03	
déc-02						
janv-03						
févr-03						
mars-03						
avr-03						
mai-03						
juin-03						
juil-03						
août-03						
sept-03						
oct-03						
nov-03		3				3
déc-03	1	1				2
janv-04						
févr-04	2					2
mars-04	11	5	1			17
avr-04	16	22	16		1	55
mai-04	21	24	8		2	55
juin-04	1	3	3			7
juil-04	4	5				9
août-04						
sept-04	3	4	1			8
oct-04	8	5			1	14
nov-04		3				3
déc-04		2	1			3
janv-05	3	1				4
févr-05		3		1	5	9
mars-05	21	9	9	7	10	56
avr-05	19	6	5	7	9	46
mai-05	15	9	12	7	9	52
juin-05	1	4	2	3	4	14
juil-05	3			1		4
août-05		1	1	4		6
sept-05		5			1	6
oct-05		5	2	1	5	13
nov-05	2	6	3	1	4	16
déc-05	1	3	2	5	3	14
janv-06	1	6	1	5	5	18
févr-06	5	6	2	14	6	33
mars-06	12	17	3	14	13	59
avr-06	17	11	10	17	8	63
mai-06	4	4	4	6	6	24
juin-06	1	1	2	2	4	10
juil-06			1			1
août-06						
sept-06		1				1
oct-06				2		2
nov-06	3	2	2		1	8
déc-06	3	1	2	1	1	8

Annexe 7-d. Nombre de jeunes recrues d'*U. pinnatifida* observé chaque mois et sur chaque série de plaque, dans le port de Perros-Guirec

Date d'observation	Date de mise en place des plaques					Nind tot
	déc-02	mars-03	juin-03	sept-03	déc-03	
déc-02						
janv-03						
févr-03						
mars-03						
avr-03						
mai-03	3					3
juin-03	3					3
juil-03						
août-03						
sept-03						
oct-03						
nov-03						
déc-03	2					2
janv-04	1					1
févr-04	1	6	4			11
mars-04	2	11	16			29
avr-04	12	16	18			46
mai-04			1			1
juin-04		3	1			4
juil-04		1				1
août-04						
sept-04		1				1
oct-04	1	8	4			13
nov-04	2	7	5		1	15
déc-04	2	1	1	1	1	6
janv-05	1	2	2			5
févr-05	1	1	2	1		5
mars-05	8	7	15	14	2	46
avr-05	11	21	16	13	5	66
mai-05	17	30	24	33	17	121
juin-05	11	22	19	23	14	89
juil-05	3	2	4	6	6	21
août-05	1	2	1	4		8
sept-05						
oct-05				2	4	6
nov-05			9	4	13	26
déc-05			3	1	2	6
janv-06	6	4	8	8	7	33
févr-06	4	2	16	5	8	35
mars-06	17	15	12	14	63	121
avr-06	25	53	35	9	42	164
mai-06	64	39	28	9	19	159
juin-06	44	29	28	8	19	128
juil-06	24	16	18	2	8	68
août-06	3	1	8	2		14
sept-06						
oct-06	1					1
nov-06			1	4	2	7
déc-06			2		1	3

Annexe 7-e. Surface disponible suivie chaque mois (cm²) dans le port de Brest

Date d'observation	Date de mise en place des plaques					surface tot disponible (cm ²)
	déc-02	mars-03	juin-03	sept-03	déc-03	
déc-02	11520					11520
janv-03	11520					11520
févr-03	11520					11520
mars-03	11520	11520				23040
avr-03	11520	11520				23040
mai-03	11520	11520				23040
juin-03	11520	11520	11520			34560
juil-03	11520	11520	11520			34560
août-03	9600	11520	11520			32640
sept-03	9600	7680	7680	11520		36480
oct-03	9600	7680	7680	11520		36480
nov-03	9600	7680	7680	11520		36480
déc-03	9600	7680	7680	11520	11520	48000
janv-04	9600	7680	7680	11520	11520	48000
févr-04	9600	7680	7680	11520	11520	48000
mars-04	9600	7680	7680	11520	11520	48000
avr-04	9600	7680	7680	11520	11520	48000
mai-04	9600	7680	7680	11520	11520	48000
juin-04	8160	6240	6240	10560	10560	41760
juil-04	8640	6240	6240	10560	10560	42240
août-04	8160	6240	6240	10560	10560	41760
sept-04	8160	6240	6240	10560	10560	41760
oct-04	8160	6240	6240	10560	10560	41760
nov-04	8160	6240	6240	10560	10560	41760
déc-04	8160	6240	6240	10560	10560	41760
janv-05	8160	6240	6240	10560	10560	41760
févr-05	8160	6240	6240	10560	10560	41760
mars-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
avr-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
mai-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
juin-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
juil-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
août-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
sept-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
oct-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
nov-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
déc-05	7200	5280	5280	9120	9120	36000
janv-06	7200	5280	5280	9120	9120	36000
févr-06	7200	5280	5280	9120	9120	36000
mars-06	6720	5280	5280	8640	8640	34560
avr-06	6720	5280	5280	8640	8640	34560
mai-06	6240	5280	5280	8160	8160	33120
juin-06	6240	5280	5280	8160	8160	33120
juil-06	6240	5280	4800	8160	8160	32640
août-06	5760	4800	4320	7680	7680	30240
sept-06	5760	4800	4320	7680	7680	30240
oct-06	5760	4800	4320	7680	7680	30240
nov-06	5280	4320	3840	6720	7200	27360
déc-06	5280	4320	3840	6720	7200	27360

Annexe 7-f. Surface disponible suivie chaque mois (cm²) dans le port de Perros-Guirec

Date d'observation	Date de mise en place des plaques					surface tot disponible (cm ²)
	déc-02	mars-03	juin-03	sept-03	déc-03	
déc-02	5760					5760
janv-03	5760					5760
févr-03	5760					5760
mars-03	5760	5760				11520
avr-03	5760	5760				11520
mai-03	5760	5760				11520
juin-03	5760	5760	5760			17280
juil-03	5760	5760	5760			17280
août-03	5280	5760	5760			16800
sept-03	5280	5760	5760	5760		22560
oct-03	5280	5760	5280	5760		22080
nov-03	5280	5760	5280	5760		22080
déc-03	4800	5760	5280	5760	5760	27360
janv-04	4800	5760	5280	5760	5760	27360
févr-04	4800	5760	5280	5760	5760	27360
mars-04	4800	5760	5280	5760	5760	27360
avr-04	4800	5760	4800	5760	5760	26880
mai-04	5280	5280	4800	5280	5280	25920
juin-04	4800	5760	4800	5760	5760	26880
juil-04	4800	5760	4800	5760	5760	26880
août-04	3840	3840	2880	3840	3840	18240
sept-04	3840	3840	2880	3840	3840	18240
oct-04	3840	3840	2880	3840	3840	18240
nov-04	3840	3840	2880	3840	3840	18240
déc-04	5280	5760	4800	5760	5760	27360
janv-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
févr-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
mars-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
avr-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
mai-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
juin-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
juil-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
août-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
sept-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
oct-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
nov-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
déc-05	5280	5760	4800	5760	5760	27360
janv-06	5280	5760	4800	5760	5760	27360
févr-06	5280	5760	4800	5760	5760	27360
mars-06	5280	5760	4800	5760	5760	27360
avr-06	4800	5280	4800	5280	5280	25440
mai-06	4320	5280	4320	5280	5280	24480
juin-06	4320	5280	4320	5280	5280	24480
juil-06	4320	5280	4320	5280	5280	24480
août-06	4320	5280	4320	5280	5280	24480
sept-06	4320	4800	4320	4800	4800	23040
oct-06	4320	4800	4320	4800	4800	23040
nov-06	4320	4800	4320	4800	4800	23040
déc-06	4320	4800	4320	4800	4800	23040

ANNEXE 8

Articles publiés

ANNEXE 8 a

Conservation and polymorphism of mitochondrial intergenic
sequences in brown algae

Engel C. R., Billard E., Voisin M., & Viard, F.

European Journal of Phycology (in press-2008)

ANNEXE 8 b

Differential shuffling of native genetic diversity across introduced regions in a brown alga: Aquaculture vs. maritime traffic effects

Voisin M., Engel C. R. & Viard, F.

PNAS : 102 (15), 5432-5437 (2005)

ANNEXE 8 c

Microsatellites isolation and polymorphism in introduced populations
of the cultivated seaweed *Undaria pinnatifida*
(Phaeophyceae, Laminariales)

Daguin C., Voisin M., Engel C. & Viard F.

Conservation Genetics : 6, 647-650 (2005)

ANNEXE 8 d

Processus et dynamique d'installation des espèces introduites en milieu marin : une illustration avec l'algue brune asiatique *Undaria pinnatifida*

Voisin M., Daguin C., Engel C. R., Grulois D., Javanaud C. & Viard F.

Journal de la Société de Biologie, 201 (3) in press (2007)

Les processus d'invasions biologiques en milieu côtier marin: le cas de l'algue brune *Undaria pinnatifida* introduite et cultivée à l'échelle mondiale

Les invasions biologiques sont une menace majeure pour la biodiversité dans les milieux côtiers. Elles sont souvent considérées comme les témoins d'un paradoxe écologique et évolutif : comment une espèce peut-elle s'installer dans un environnement dans lequel elle n'a pas évolué, et parfois même, remplacer les espèces natives ? Pour résoudre ce paradoxe apparent, différentes hypothèses ont été proposées, dont le rôle joué par les activités humaines dans la perturbation des systèmes naturels et le renforcement démographique des populations introduites. En utilisant des outils de génétique des populations, l'objectif principal de ce travail de thèse a été d'analyser le rôle des activités humaines dans le succès d'introduction d'une espèce exotique introduite à une échelle mondiale en moins de trente ans : l'algue brune japonaise *Undaria pinnatifida*, qui présente en outre l'originalité d'être cultivée dans son aire native et dans les régions d'introduction.

Dans un premier temps, une étude du polymorphisme mitochondrial de deux régions intergéniques a été réalisée dans 27 populations (524 individus) réparties sur l'ensemble de l'aire de répartition actuelle d'*U. pinnatifida*. Des processus d'introduction contrastés ont été mis en évidence dans les différentes régions d'introduction : en Australasie, un scénario d'introductions récurrentes (probablement dues au trafic maritime), depuis des sources génétiquement diversifiées, s'oppose au schéma Européen où l'introduction primaire d'origine aquacole est issue de sources génétiquement proches. L'étude de 26 populations européennes à l'aide de 10 locus microsatellites suggère néanmoins que divers vecteurs de dispersion anthropiques (trafic maritime et aquaculture) ont participé à l'expansion secondaire en Europe. Ce processus est mis en relation avec la présence d'*U. pinnatifida* dans différents types d'habitats (ports, milieux rocheux, cultures) : l'étude de la diversité génétique sur deux années, à l'échelle d'une baie (Baie de St-Malo, 9 populations), montre que les populations se développant à proximité des activités humaines sont des réservoirs potentiels de migrants pour certaines populations établies en milieu naturel, bien que ces dernières puissent également se maintenir de façon autonome. Un suivi (4 années) démographique dans deux ports a permis de montrer l'efficacité de colonisation de substrats vierges dans ces habitats grâce à une reproduction et un recrutement rapide.

Ces différents résultats soulignent l'importance des activités humaines dans les processus d'introduction primaire et d'expansion secondaire pour des espèces partageant des relations étroites avec l'homme. Dans le cas d'*U. pinnatifida*, les capacités de dispersion naturelles limitées sont compensées par son développement rapide, dans des habitats où des vecteurs de dispersion anthropiques peuvent favoriser son expansion régionale. Un suivi à long terme de cette espèce permettrait à présent d'examiner l'évolution d'éventuelles adaptations locales dans les différents habitats colonisés par cette algue.

Mots-clés : introduction biologique, macro-algue, pression de propagule, diversité génétique, trafic maritime, aquaculture

Processes associated to biological invasions in marine coastal habitats:

A case study with the Japanese kelp *Undaria pinnatifida* introduced and cultivated at a worldwide scale

Biological invasions are a major threat for coastal marine biodiversity. These processes have been considered as a latent ecological and evolutionary paradox: how a species may settle and even replace native species in an environment where it did not evolved? Facing this paradox, many hypotheses have been raised; among them the role played by human activities by increasing the propagule pressure as well as ecosystems' perturbations. In this scientific context, this PhD work aimed at investigating the role played by human activities on the introduction success of one invasive species that spread rapidly (less than 30 years) all over the world, the Japanese kelp *Undaria pinnatifida*, a cultivated macro-alga in its native and introduced distribution range.

Firstly, the sequence polymorphism of two mitochondrial spacers was investigated in 27 populations (524 individuals) sampled over the present-day distribution range of *U. pinnatifida*. Contrasted processes were evidenced in the different regions where the species has been introduced: in Australasia, recurrent introductions (likely due to maritime exchanges) from genetically differentiated sources were shown whereas in Europe, the primary introduction was likely to be due to intentional or accidental introduction in relation to aquaculture from sources genetically close. Based on 10 microsatellite loci, 26 European populations were then analyzed. The output of this analysis suggested that various dispersal vectors linked to human activities (like ship or cultures) enhanced the secondary expansion at the regional level within Europe. Such a process is explained by the occurrence of *U. pinnatifida* in various kind of habitats (marinas, rocky shores, cultures): A two-year study of the microsatellite genetic diversity within a bay of North Brittany showed that populations inhabiting habitats influenced by human activities (e.g. marinas) can act as a reservoir of migrants for some of the populations located in the wild although others may be self-sustained. The role played by marinas is even more important when considering the results of a four-years demographic survey showing the efficiency (in relation to the life-history traits) of the colonisation by *U. pinnatifida* on recruitment panels within two marinas.

Altogether, the above mentioned results underline the major role played by trade activities and man-made habitats on both primary and secondary introductions, especially for those species that are sustainably interacting with human activities like aquaculture. Here, the limited natural ability of *U. pinnatifida* to disperse is balanced by its rapid development in habitats where dispersal vectors related to human activities promote its regional expansion. A long-term survey might help to examine the possibility for evolution of local adaptation in the different habitats colonized by this alga.

Mots-clés : biological introduction, macro-alga, propagule pressure, genetic diversity, maritime exchanges, aquaculture