

BIODIVERSITE ET COMPLEXE D'ESPECES *Perinereis cultrifera*: UN EXEMPLE DE SPECIATION

Reçu le 10-12-2006 – Accepté le 04-06-2007

Résumé

Les outils de mesure de la biodiversité intra spécifique, sont généralement basés sur les caractères phénotypiques ou visibles des populations. Cependant, les mesures génétiques s'avèrent souvent très utiles lorsqu'on cherche à distinguer des populations entre elles. L'étude comparative de deux formes épitoques de l'annélide polychète *Perinereis cultrifera*, présentes en Manche-Atlantique et en Méditerranée, met en évidence d'importantes différences morphologiques et biochimiques qui permettent de les différencier. Nous avons quantifié la variabilité génétique entre les deux populations en appliquant pour la première fois, la technique d'électrophorèse bidimensionnelle à haute résolution des protéines aux annélides polychètes. La congruence des données d'ordre écologique, morphologique et biochimique indique que sous l'appellation *Perinereis cultrifera* se dissimule un complexe d'espèce.

Mots clés : Biodiversité, Spéciation, Annélides, Polychètes, Nereididae, Cycle de vie

Abstract

The tools of measured intra-specific biodiversity are generally based for the phenotypic characters or the visible characters of the populations. However, genetic measures turn out to be usually very useful when we are try to distinguish among populations. A comparative study between the two epitokous forms of *Perinereis cultrifera* located in English Channel and the Mediterranean Sea, showed significant morphological and biochemical differences allowing the distinction of the two forms. The work is the first time that two-dimensional electrophoresis analysis of proteins has been applied to polychaetes in order to analyse levels and patterns of genetic differentiation between populations. Congruence of all reported results from ecological, morphological and biochemical investigations agree with the assignment that *P. cultrifera* is complex of species.

Key words : Biodiversity, speciation, Annelids, Polychaetes, Life Cycle.

A. ROUABAH
L. ROUABAH

Département des Sciences de
la Nature & de la Vie
Faculté des Sciences de la
Nature & de la Vie
Université Mentouri
Constantine
Route d'Aïn-El-Bey 25000
Constantine, ALGERIE

ملخص

إن وسائل قياس التنوع الحيوي داخل الأنواع يعتمد أساسا على خصائص الأنواع الوراثية الظاهرة أو المرفولوجية للعشائر. لدى فإن القياس الوراثي يبدو ضروريا في معظم الأحيان عند تصنيف العشائر.

إن دراسة شكلين من الديدان الحلقية كثيرة الأشواك *Perinereis cultrifera* التي توجد في المحيط الأطلسي و في البحر الأبيض المتوسط و مقارنتها تمثل اختلافات مرفولوجية و بيوكيميائية هامة تسمح بالترقية بين الأنواع.

قمنا بتشخيص التغييرات الوراثية بين العشيرتين تطبقيا و لأول مرة بانتهاج طريقة الحمل الإلكتروني ثنائ الأبعاد ذات فصل عال Electrophorèse bidimensionnelle à haute résolution لبروتينات الديدان الحلقية كثيرة الأشواك.

إن جميع المعطيات البيئية و المرفولوجية و البيوكيميائية تدل أن تحت التسمية *Perinereis cultrifera* . يختفي نوع معقد

الكلمات المفتاحية : التنوع الحيوي، الديدان الحلقية كثيرة الأشواك، النيريديات، دورة الحياة.

La biodiversité a été considérée depuis longtemps comme de simples inventaires de la diversité biologique. Actuellement, cette dernière est de plus en plus incluse dans les évaluations environnementales, grâce à l'utilisation d'indicateurs destinés aux travaux de protection de la nature et de détection de la pollution. L'étude de la biodiversité marine au sein des espèces et entre les espèces, ainsi que celle des écosystèmes sera d'une grande utilité pour ce qui est des espèces d'intérêt commerciale ou écologique ou encore pour la protection de la nature.

De par la diversité des milieux marins qu'ils ont colonisé, la variété de leur régime alimentaire et leur forte biomasse, les polychètes jouent un rôle majeur dans le fonctionnement des communautés benthiques (Fauchald et Jumars, 1979). Ainsi, certaines espèces, de par leur intense activité galéicole, tubicole et/ou d'alimentation jouent un rôle déterminant dans le recyclage, le remodelage et la bioturbation des sédiments ainsi que dans l'enfouissement de la matière organique (Stephens, 1975 ; Davis, 1993 ; Hutchings, 1998).

Les potentialités d'utilisation des annélides polychètes sont multiples tant dans le secteur industriel (production d'appâts de pêche, production d'aliments pour les animaux d'élevage, traitement des eaux usées) que dans le domaine environnemental (test d'écotoxicité, bio surveillance du milieu marin). Parmi les quelques 10 000 espèces de polychètes décrites actuellement (Minelli, 1993), seul l'exploitation et l'élevage d'un faible nombre d'entre elles peut être envisagé. Olive (1994) signale l'exploitation régulière de plusieurs dizaines d'espèces parmi lesquelles quelques membres de la famille des *Nereididae*.

Perinereis cultrifera (Grübe, 1840), espèce connue en Algérie sous l'appellation vernaculaire de « ver vert de roche », exploitée de façon régulière, de par sa répartition géographique intéresse les pays de la façade atlantique (France; Grande Bretagne; Portugal) et du pourtour méditerranéen (Algérie; Espagne; France; Italie; Tunisie).

Comme l'ont déjà signalé de nombreux auteurs, il est fondamental de bien préciser le statut taxonomique des espèces d'importance économique et/ou écologique. La synthèse des données portant sur la biologie de *Perinereis cultrifera* a mis en évidence que la période et le mode de reproduction, ainsi que l'âge à maturité et les paramètres biométriques varient fortement selon la localisation géographique des populations. Si l'on s'en tient aux populations qui ont été les mieux étudiées, c'est à dire celles présentes en Manche-Atlantique d'une part et en Méditerranée d'autre part, on constate que l'on peut distinguer trois formes de *Perinereis cultrifera* :

- La forme épitoque des côtes de la Manche et de l'Océan Atlantique, caractérisée par son poids important et son grand nombre de segments, plus de 120 segments.
- La forme atoque de la baie d'Alger, nettement moins grosse et possédant moins de 80 segments.
- La forme épitoque de Salammbô en Tunisie, intermédiaire entre les deux formes.

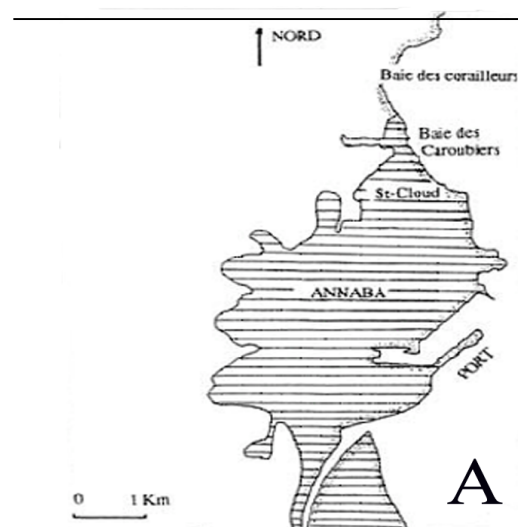
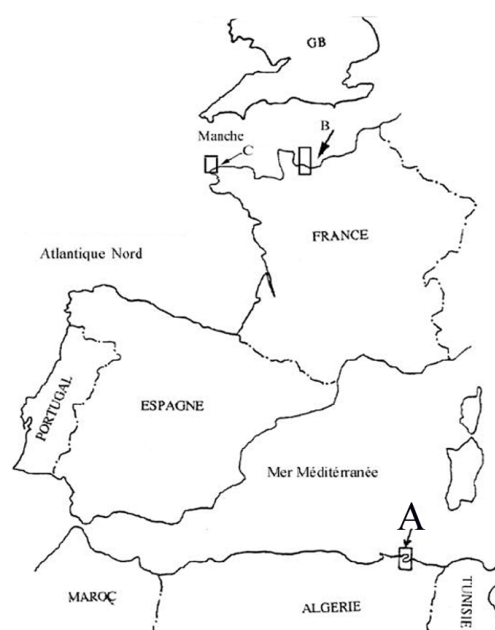
Compte tenu du fait que la description de cette espèce est ancienne et uniquement fondée sur le nombre et la distribution des paragnathes ou denticules cornés à la surface du proboscis, qu'elle présente de fortes variabilités selon la localisation géographique des populations, nous sommes en droit de se demander si sur l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce, les populations sont génétiquement identiques ? La présence de deux stratégies de reproduction (atoque et épitoque) et de trois morphotypes selon les caractéristiques biométriques, résulte t'elle seulement des différentes conditions écologiques ou est-elle en relation avec l'existence d'un complexe d'espèce ?

MATERIEL

Deux populations de *Perinereis cultrifera* ont été respectivement échantillonnées sur le littoral algérien en Méditerranée (plage de Saint-Cloud à Annaba) et en Manche Orientale, en Atlantique (plage de Saint-Aubin-sur-mer au Calvados, Normandie). Une troisième population, échantillonnée à la pointe de la Corn-Ar-Gazel en Atlantique sur le littoral nord Finistérien, Bretagne, a été utilisée dans l'étude comparative afin d'évaluer la variabilité génétique intra-régions entre les deux populations provenant de la Manche-Atlantique (Normandie et Bretagne) d'une part, et la variabilité inter-régions entre les populations provenant de la Manche-Atlantique et de la Méditerranée (Figure 1).

Les individus des trois populations se reproduisent à l'état épitoque et ont une longévité de trois ans (Scaps et al., 1992 ; Rouabah et al., 2000). Néanmoins, la nature du biotope occupé par les individus ainsi que les

caractéristiques biométriques sont différents. En Normandie et en Bretagne, les vers élaborent un réseau de galeries dans les strates de calcaire bathonien de la zone intertidale, essentiellement au niveau de la ceinture à *Fucus serratus*, les adultes dépassent souvent les 3g pour 120 sétigères (Scaps et al., 1998). Par contre les individus formant la population de Méditerranée, échantillonnés à Annaba, proviennent du trottoir de *Rhodophyceae* dans lequel les vers élaborent des galeries, les adultes pèsent au maximum 0.8g pour le même nombre de segments (Rouabah et al., 2003). Les vers ont été récoltés à vue, ramenés puis triés au laboratoire afin d'en prélever les adultes. Ces derniers ont été pesés ensuite fixés et conservés dans une solution de formol diluée pour l'étude morphologique ou congelés directement dans de l'azote liquide et stockés à -80°C pour l'étude biochimique.



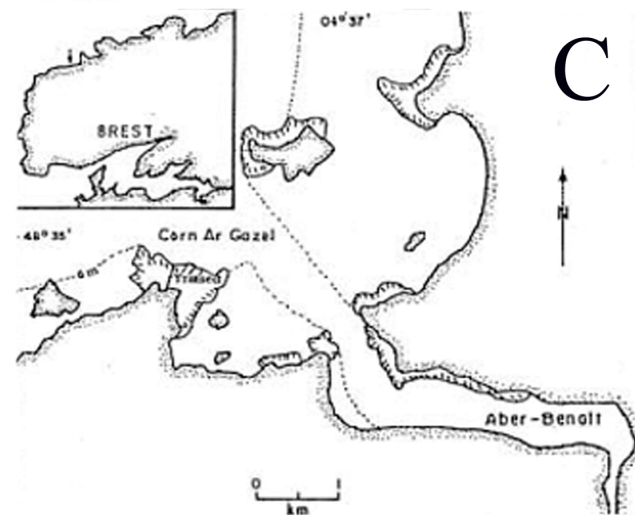
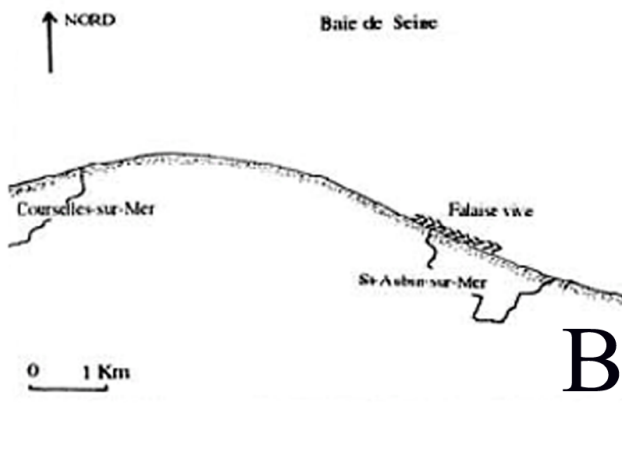


Figure 1: Carte de l'Afrique du Nord et de l'Europe de l'ouest : localisation des sites de prélèvement, St-Cloud près 'Annaba en Méditerranée (A), St-Aubin-sur-mer en Normandie (B) et de la pointe de Corn Ar gazel sur la côte nord de Bretagne (C).

METHODES

1. Etude morphologique

Pour l'étude de la morphologie des paragnathes et des mâchoires, les vers ont été fixés dans une solution de formole diluée à 5% dans de l'eau de mer ensuite, ils ont été déshydratés dans une série de bains d'éthanol à concentration croissante. Après séchage les individus ont été montés sur une grille en cuivre puis examinés par microscopie électronique à balayage à l'aide d'un microscope électronique à scanner JEOL - JEM 100X + ASID4 - D.

2. Etude biochimique

2.1. Etude des allozymes

Les individus sont broyés et homogénéisés à 4°C dans deux volumes par unité de poids de tampon d'extraction Tris-HCl 50mM pH 7.5. Les homogénats sont ensuite soniqués aux ultrasons pendant 30s à 4°C dans de la glace fondante afin de rompre les membranes cellulaires puis centrifugés à 15 000 g à 4°C pendant 15 mn. Le surnageant est recueilli, aliquoté puis conservé au congélateur à - 80°C jusqu'à l'utilisation.

L'analyse électrophorétique a été réalisée par séparation des enzymes sur gel horizontal d'amidon à 12% (SGE) et coloration spécifique (Selander et *al.*, 1971 ; Pasteur et *al.*, 1987). Les migrations ont été effectuées à voltage constant, 95 - 97 V, l'ampérage variant de 75 à 120 mA pendant 7 heures. Le système de migration utilisé est le système Tris-Versène-Borate. La détection des enzymes se fait grâce à une réaction colorée (Ayala, 1978).

2.2. Etude des protéines totales

- **Electrophorèse monodimensionnelle**

Les profils électrophorétiques non spécifiques ont été réalisés après extraction des protéines sur un échantillon de 30 individus par population. Les vers ont été broyés puis homogénéisés à 4°C dans 4 volumes par unité de poids de tampon d'extraction congelé Tris-HCl 0.01 M pH 8. Les homogénats sont par la suite centrifugés à 15 000 g à 4°C pendant 30 mn. Le surnageant est recueilli, aliquoté puis conservé à - 80°C.

La séparation des protéines a été réalisée par électrophorèse en gel polyacrylamide en gradient de porosité 5%-30% (PAGE), sous conditions non dénaturantes selon la méthode décrite par Scaps et *al.* (1996). La migration a lieu à 4°C pendant 20 à 22 heures, après séparation, les protéines générales ont été révélées à l'aide d'une solution à 0.1%(v/v) de Bleu de Commassie-Isopropanol-Acide acétique (2.5/1/6.5). Les gels ont été par la suite fixés dans une solution à 10% d'acide acétique.

- **Electrophorèse bidimensionnelle**

La préparation des échantillons a été réalisée selon la méthode décrite par Broyer et *al.* (1993) avec de légères modifications pour l'adapter à l'espèce étudiée. Une partie des métamères a été sectionnée puis réduite en poudre fine après broyage dans de l'azote liquide. Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon d'extraction (10% v/v d'acide trichloracétique, 0.07% v/v β -mercaptoéthanol dans de l'acétone congelé), les protéines ont été précipitées à - 20°C pendant 45 mn. Après centrifugation à 30 000 g pendant 20 mn à 4°C, le surnageant est éliminé et le culot est repris dans 1ml β -mercaptoéthanol (0.07% v/v) dans de l'acétone congelé à - 20° C pendant 45 mn. Après une deuxième centrifugation le culot, qui représente le matériel protéique précipité, est séché à température ambiante pendant 2 heures, pesé puis homogénéisé dans un tampon de lyse UKS (Damerval et *al.*, 1986) à raison de 60 μ g/ml de culot protéique sec. Après incubation à température ambiante pendant 2 heures, l'échantillon est centrifugé

pendant 20 mn à 4°C, le surnageant est récupéré puis stocké à -70°C jusqu'à analyse.

L'électrophorèse bidimensionnelle (SDS-PAGE) est une technique particulièrement résolutive. Nous avons utilisé la technique décrite par O'Farrell (1975) avec les modifications de Hilbert *et al.*, (1992) utilisant la protéine II Xicell (Bio-Rad, Richmond, CA). Les gels d'isoélectrofocalisation utilisés résultent de la polymérisation de monomères d'acrylamide par un agent réticulant, la pipérazine diacrylamide. Les gels ont un diamètre de 1 mm et une longueur de 13.5 cm. 5.5% d'ampholytes composés de 90% d'ampholytes (pH 3-10) et 10% d'ampholytes (pH 5-7) sont ajoutés et 100µg de protéines par tube d'IEF sont déposés dans les tubes capillaires remplis d'une solution basique (NaOH 20mM). L'isofocalisation a lieu dans un tampon de migration (Run 5X pH 8.3) à température ambiante pendant 17 h 30 mn à 1 200 V, puis à 1 500 V pendant 30 mn, sous une puissance de 3 W. L'électrophorèse de la deuxième dimension a lieu dans un tampon SDS pendant 3 h à voltage constant de 320 V. A l'issue de l'électrophorèse les gels sont fixés puis colorés au nitrate d'argent selon le protocole décrit par Blum *et al.* (1987). Les masses moléculaires et les points isoélectriques des polypeptides révélés sont déterminés par l'emploi de standards (Bio-Rad) composés d'un mélange de protéines de références de poids moléculaires compris entre 17.5 et 76 KDa.

2.3. Traitement statistique et Analyse des gels

Dans le cas des allozymes, la lecture des bandes est réalisée selon les techniques indiquées par Hensley *et al.* (1995), Abbiati & Maltagliati (1996) et Pasteur *et al.* (1987). Les fréquences alléliques de chaque locus des systèmes enzymatiques correctement révélés ont été calculés.

L'analyse phénétique des profils des protéines générales, obtenus après séparation par électrophorèse sur gel polyacrylamide en gradient de porosité sous conditions non dénaturantes, a été réalisée sur la base de la présence ou l'absence de bandes après révélation.

Les profils électrophorétiques des fractions polypeptidiques solubles, obtenus par la 2-DGE, ont été comparés visuellement par superposition des gels séchés sur une table lumineuse. Une zone de bonne résolution contenant environ 150 spots a été sélectionnée pour l'ensemble des gels et les patrons ont été comparés par couple. L'indice de similarité « F », basé sur le rapport du nombre de spots communs aux populations (n_{xy}) et le nombre de spots spécifiques pour chaque individu provenant respectivement de la population x (n_x) et de la population y (n_y), est estimé à partir de la relation $2n_{xy} / (n_x + n_y)$. La distance génétique pour chaque couple est obtenue à partir de l'équation « $D = 1 - F$ » (Aquadro & Avise, 1981). Les données sont reportées sur une matrice puis analysées par la méthode phénétique UPGMA (unweighted pair group method using averages), qui permet le calcul et la construction d'un arbre phylogénétique ou dendrogramme par agglomération successive des différents individus étudiés (Sneath et Sokal, 1973).

RESULTATS MORPHOLOGIQUE ET DISTRIBUTION DES PARAGNATHES

L'étude de la morphologie et de la distribution des paragnathes ou denticules cornés à la surface du proboscis des individus des deux populations, provenant de St-Cloud sur le littoral Méditerranéen algérien et de St-Aubin-sur-mer dans le Calvados en Normandie, met en évidence que la morphologie des paragnathes répartis sur l'anneau maxillaire diffère fortement selon la localisation géographique des populations (Figure 2).

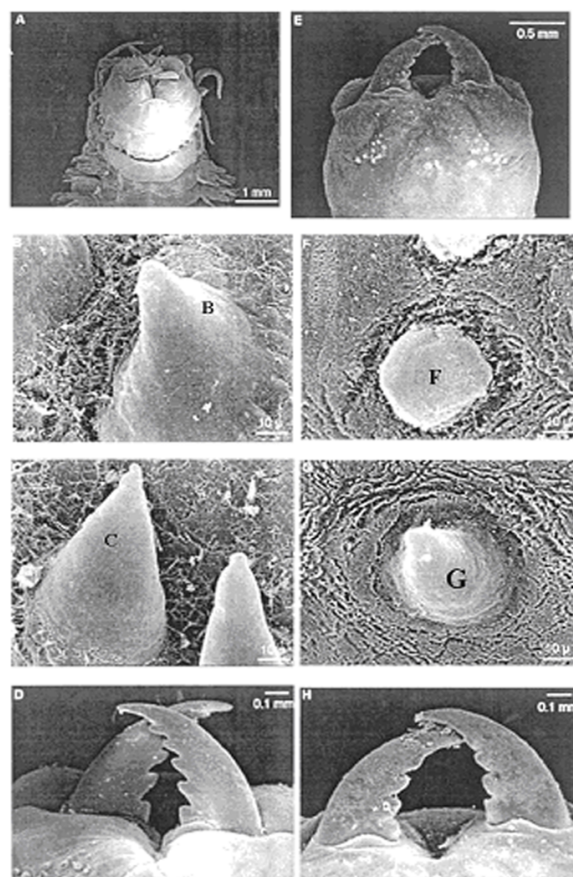


Figure 2: Détail du proboscis, des paragnathes et des mâchoires d'individus provenant de St-Aubin (A, B, C, D) et de St-Cloud (E, F, G, H). (A & H). Vue ventro-frontal du proboscis ; (B & F) Paragnathe du groupe I et II ; (C & G) paragnathe du groupe III et IV ; (D & H) détail des mâchoires.

Les paragnathes de la face dorsale, groupe I et II, des individus provenant de St-Cloud sont circulaires (Fig. 2E & 2F), tandis qu'ils sont coniques pour les groupes III et IV situés sur la face ventrale (Fig. 2G). En revanche chez les individus provenant de St-Aubin, on ne distingue aucune différence morphologique entre les paragnathes des différents groupes, ils sont tous de forme conique et à pointe recourbée (Fig. 2B & 2C). Par ailleurs, chaque demi-mâchoire dentelée est constituée par 5 denticules pour la forme épitoque de St-Aubin (Fig. 2D) et seulement 3 denticules pour la forme de St-Cloud (Fig. 2H). D'autre part, nous n'avons pas mis en évidence de relation d'allométrie entre le nombre des paragnathes et la taille, ce

qui semble indiquer un déterminisme génétique du patron de distribution des paragnathes à la surface du proboscis. Le nombre de paragnathes distribués sur les groupes I, II, III VII-VIII du proboscis est significativement plus élevé pour la forme méditerranéenne.

2. ETUDE BIOCHIMIQUE

2.1. Les allozymes

Après séparation des enzymes et coloration spécifique, 4 systèmes enzymatiques ont été révélés de façon convenable. Il s'agit des estérases non spécifiques (EST, E.C. 3.1.1.2), leucine aminopeptidase (LAP, E.C. 3.4.11.1), malate déshydrogénase (MDH, E.C. 1.1.37) et phosphoglucose isomérase (PGI, E.C. 5.3.1.9). Les résultats relatifs aux différents allèles et à leurs fréquences alléliques sont représentés au niveau du tableau 1. LAP et PGI sont deux locus monomorphes dans chacune des populations étudiées ; cependant les individus des deux populations respectives ne représentent aucun allèle en commun. EST se divise en deux locus selon la vitesse de migration par rapport à l'anode, EST-1 représentant le locus migrant le plus rapidement et EST-2 celui migrant le plus lentement. EST-1 se présente comme un locus monomorphe chez les individus provenant de St-Cloud en revanche il est polymorphe chez les spécimens prélevés à St-Aubin-sur-mer. EST-2 est monomorphe chez les deux populations, aucun allèle n'étant cependant partagé. MDH est un locus monomorphe pour les individus issus de St-Aubin-sur-mer et polymorphe pour ceux provenant de St-Cloud. Les deux formes épitoques de *Perinereis cultrifera* peuvent être facilement distinguées car elle ne partagent aucun allèle en commun.

Tableau 1: Allèles et fréquences alléliques des cinq locus pour les deux populations de *Perinereis cultrifera*. N, taille de l'échantillon.

Locus	Allèle	N	St-Cloud Annaba	N	St-Aubin Normandie
EST-1	a	29	-	30	0.03
	b		1.00		-
	c		-		0.97
EST-2	a	29	-	30	1.00
	b		1.00		-
LAP	a	24	1.00	30	-
	b		-		1.00
MDH	a	26	-	27	1.00
	b		0.04		-
	c		0.96		-
PGI	a	30	-	30	1.00
	b		1.00		-

2.2. Profils des protéines générales

Après séparation des protéines par électrophorèse monodimensionnelle, différents profils électrophorétiques ont été obtenus entre les individus provenant de St-Cloud et de St-Aubin-sur-mer (Figure 3). L'observation des patrons de distribution des protéines non spécifiques montre la présence de six bandes « exclusives » rencontrées uniquement chez les individus issus de St-Aubin-sur-mer et sept bandes « exclusives » pour la population de St-Cloud.

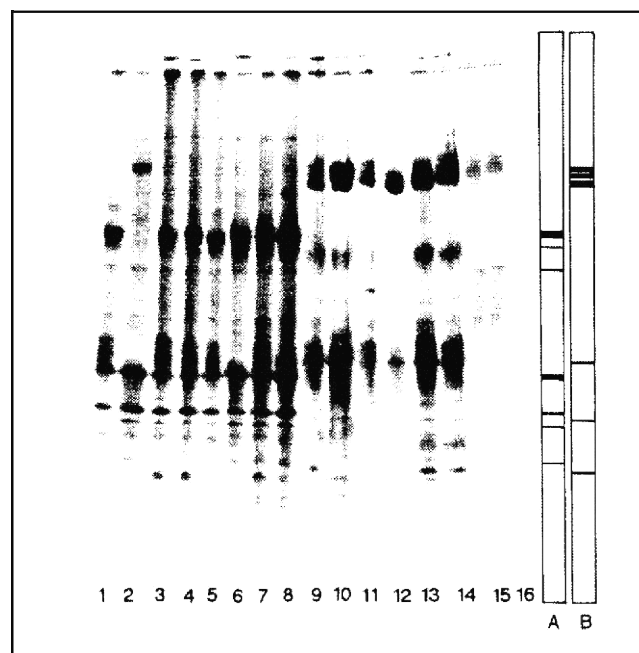


Figure 3: Patrons de distribution générale des protéines d'individus provenant de St-Cloud (1-8) et de St-Aubin-sur-mer (9-16). Les bandes marquées sont « exclusives » n'apparaissent que chez les individus de St-Cloud (A) ou St-Aubin-sur-mer (B).

2.3. Profils des protéines solubles

L'observation des patrons de distribution des fractions des protéines solubles obtenues par électrophorèse bidimensionnelle (Fig. 4), montre que la population de St-Cloud est caractérisée par la présence de 5 spots exclusifs (Fig. 4A). Il s'agit des polypeptides 1 ; 2 ; 3 ; 4 et 5, qu'on ne retrouve pas au niveau des profils électrophorétiques correspondant aux individus des deux populations provenant de la Manche Atlantique Corn Ar Gazel (Fig. 4B) et St-Aubin-sur-mer (Figure 4C). Cependant, ces dernières partagent un spot en commun à savoir le polypeptide n°6.

Analyse phénétique des fractions solubles

Les meilleurs gels après électrophorèse bidimensionnelle ont été sélectionnés afin d'évaluer les variations inter et intra-populations. Les patrons de distribution des fractions solubles de trois individus de St-Cloud représentant la forme Méditerranéenne (M₁, M₂ et M₃), quatre individus de St-Aubin-sur-mer formant la population de Normandie (N₁, N₂, N₃ et N₄) et trois

individus de la population provenant de la côte Nord Bretagne (B₁, B₂ et B₃) ont été retenus. La matrice des indices de similarité des différents taxons formant les populations de *Perinereis cultrifera* analysées est consignée dans le tableau 2.

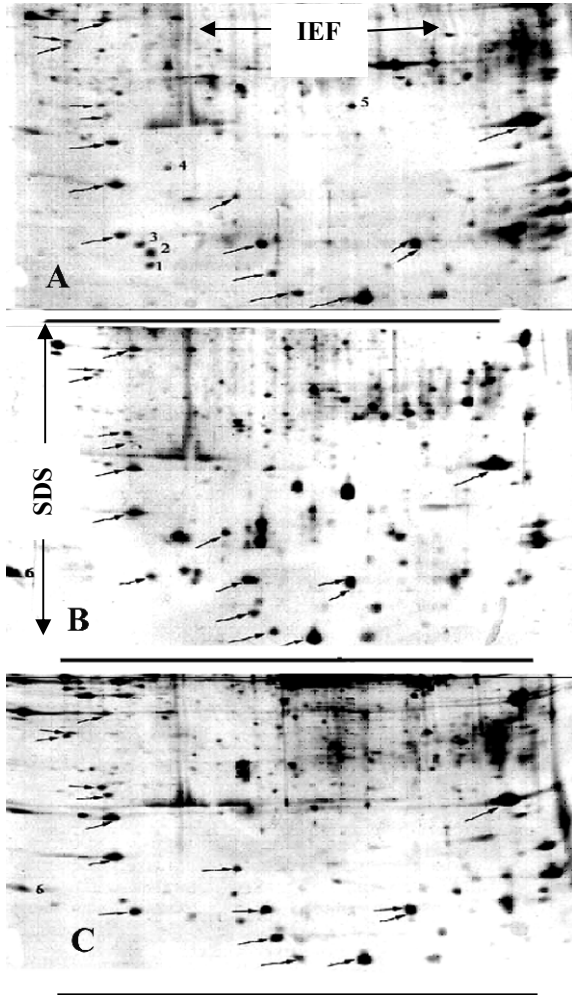


Figure 4: Patterns de distribution des fractions des protéines solubles d'individus *P. cultrifera* des populations analysées les flèches indiquent les spots monomorphes. (A. St-Cloud Méditerranée; (B. Corn Ar Gael) Bretagne; (C. St-Aubin) Normandie

L'indice de similarité est très élevé pour les individus issus de la même population, il est de 0.952 entre l'individu 1 et 3 de Normandie, il est de 0.716 entre l'individu 1 provenant de la Méditerranée et l'individu 4 provenant de Normandie.

Le dendrogramme élaboré à partir des indices de similarités (Figure 5), montre que la population de la côte Nord Bretagne (Corn Ar Gazel) est plus proche de celle de la Normandie (St-Aubin-sur-mer) que de celle de la Méditerranée (St-Cloud, Annaba). Les distances génétiques moyennes calculées sur la base de la matrice des données (Tableau 2), obtenue à partir de l'électrophorèse bidimensionnelle des fractions des protéines solubles des populations de *P. cultrifera* analysées, indiquent que les valeurs moyennes intra-population donc entre les individus

provenant d'une même population sont très faibles, elles sont de 0.067 (0.056-0.078) ; 0.072 (0.048-0.092) et 0.075 (0.059-0.087) pour les individus provenant respectivement de Bretagne, de Normandie et de la Méditerranée. En revanche, les distances génétiques moyennes inter-population sont beaucoup plus importantes entre les deux populations de la Manche et la population de Méditerranée, elles sont de 0.152 entre Normandie et Bretagne (0.134-0.186), 0.216 entre Bretagne et Méditerranée (0.171-0.252) et 0.214 entre Normandie et Méditerranée (0.206-0.284). Ce qui indique certainement une très grande variabilité génétique inter-région.

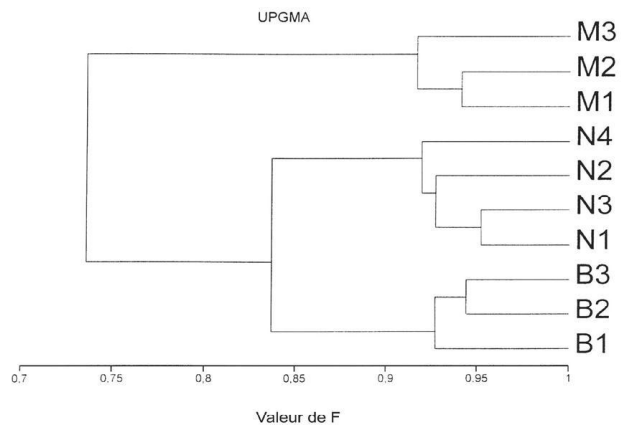


Figure 5: Dendrogramme des distances génétiques, construit sur la base des indices de similarité F obtenu par 2-DGE, entre les trois formes épitoques de *P. cultrifera* provenant de la Manche et de la Méditerranée. M : Méditerranée ; N : Normandie ; B : Bretagne.

Tableau 2: Indices de similarité F des différents taxons provenant de la Manche et de la Méditerranée M : Méditerranée ; N : Normandie ; B : Côte Nord Bretagne

	B ₁	B ₂	B ₃	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	M ₁	M ₂	M ₃
B ₁		0.932	0.932	0.829	0.814	0.849	0.789	0.748	0.767	0.734
B ₂			0.944	0.865	0.862	0.866	0.814	0.817	0.830	0.785
B ₃				0.848	0.839	0.855	0.815	0.800	0.806	0.773
N ₁					0.920	0.952	0.937	0.753	0.771	0.782
N ₂						0.934	0.908	0.771	0.776	0.794
N ₃							0.913	0.739	0.757	0.770
N ₄								0.716	0.721	0.758
M ₁									0.941	0.913
M ₂										0.920
M ₃										

DISCUSSION

De nombreux travaux ont montré l'existence de complexes d'espèces jumelles chez les Annélides polychètes appartenant aux genres *Arenicola*, *Capitella*, *Eulalia*, *Glycera*, *Hediste*, *Marenzelleria*, *Neanthes*, *Nephtys* et *polydora* (Grassle et grassle, 1976 ; Nicklas et Hoffmann, 1979 ; Mustaquim, 1988 ; Pesch et al., 1988 ; Cadman et Nelson-Smith, 1990 ; Weinberg et al., 1990 ; Fong et Garthwaite, 1994 ; Schmidt et Westheide, 1994 ;

Manchenko et Radashevsky, 1994 & 1998 ; Bastrop et al., 1995 ; Bonse et al., 1996 ; Röhner et al., 1996 ; Sato et Masuda, 1997 ; Gamernick et al., 1998 ; Sato, 1999).

Les données de la littérature indiquent que *Perinereis cultrifera* peut être considérée comme une espèce à répartition cosmopolite. Cependant, le statut taxonomique de nombreuses espèces d'annélides polychètes demeure à ce jour peu développé et celui de certaines espèces n'est toujours pas résolu. Ainsi, le grand nombre d'espèces à répartition cosmopolite reflète en partie nos lacunes dans ce domaine plutôt qu'une réelle tendance à une large répartition géographique. Fréquemment une révision attentionnée révèle qu'une espèce cosmopolite est souvent composée d'un certain nombre d'espèces possédant une aire de répartition géographique limitée (Hartley, 1984 ; Williams, 1984 ; Kupriyanova et Badyaev, 1998)

D'autre part, on peut noter que selon la localisation géographique des populations, le mode et la période de reproduction, la durée de vie ainsi que la morphologie des individus varie fortement. A l'échelle géographique plus restreinte de la Manche-Atlantique et de la Méditerranée et dans l'état actuel de nos connaissances, on peut donc émettre l'hypothèse que l'existence de deux stratégies de reproduction et de deux morphes distincts est l'aboutissement d'un mécanisme de spéciation reflétant l'histoire évolutive des populations. Cette hypothèse semble particulièrement bien étayée par les résultats d'ordre morphologique et biochimique que nous avons obtenu lors de la comparaison des formes épitoques présent en Manche et en Méditerranée. En effet, nous avons constaté d'importantes différences dans la morphologie et le nombre de paragnathes à la surface du proboscis. De plus, l'étude des patrons de distribution des protéines montre que les deux formes épitoques ne partagent qu'un faible nombre de bandes protéiques et se distinguent nettement par la présence de bandes exclusives. D'autre part, l'étude des isoenzymes révèle que ces deux formes épitoques n'ont aucun allèle en commun.

Par ailleurs, l'analyse phénétique des protéines indique que les individus issus des deux populations provenant de la Manche-Atlantique, Normandie et côte Nord Bretagne, se regroupe en un ensemble alors que les individus provenant de la Méditerranée constituent un groupe distinct. Les distances génétiques entre les populations de Normandie/Méditerranée (0.24) et Bretagne/Méditerranée (0.22), sont similaires à la distance génétique calculée entre les espèces jumelles *Drosophila melanogaster* et *Drosophila similens* (0.19) (Ohnishi et al., 1983) ainsi qu'à celle établie entre les espèces parthénogénétiques de némathodes du genre *Meloidogyne* (0.20 à 0.37) (Van der Beek et al., 1998).

La congruence des données d'ordre écologique, morphologique et biochimique indiquent donc clairement que jusqu'à une révision plus poussée du complexe d'espèce *Perinereis cultrifera*, ce nom spécifique devrait être utilisé avec précautions de façon à éviter des comparaisons non justifiées d'études à caractères écologique ou biochimique conduites à partir d'individus issus de différentes régions géographiques.

Au cours des différents épisodes géologiques qui ont bouleversé la mer Méditerranée, il est connu que se sont

succédées plusieurs périodes d'assèchement et de remplissage qui auraient eu lieu à la transition Miocène-Pliocène, il y a environ 6 millions d'années. Ainsi la majorité des auteurs s'accorde à reconnaître que le peuplement actuel de la Méditerranée est récent, au moins pour l'essentiel, postérieur à l'ouverture de Gibraltar (in Bellan-Santini et al., 1994). Lors de la remise en eau de la Méditerranée la recolonisation se serait effectuée à partir des apports d'espèces provenant du proche Atlantique. L'étude des peuplements actuels de la mer Méditerranée montre que se sont les espèces à répartition nord atlantique qui sont les mieux représentées puis on trouve les endémiques et enfin les espèces qui proviennent de la mer Rouge (espèces lessepsiennes). On peut émettre l'hypothèse que les quelques millions d'années qui se sont écoulés depuis que la communication entre la Méditerranée et l'Atlantique a été rétablie ont été suffisants pour que des individus en provenance du nord atlantique ont donnés naissance à un complexe d'espèce jumelles étroitement apparentées, comprenant au moins une espèce distincte (la forme épitoque de St-Cloud et de Salammbô) sinon deux, si l'on prend en considération la forme atoque signalée à Marseille et Alger, par un mécanisme récent de spéciation allopatrique par effet de fondatrice. Ce mécanisme aurait eu lieu grâce à l'isolement géographique et aux pressions de sélection propre aux conditions écologique particulières de la Méditerranée mer presque complètement fermée.

REFERENCES

- [1]- **Abbiati M. & Maltagliati F. 1992** - Genetic population structure of *Neanthes succinea* (Polychaeta : Nereididae). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **72**: 511-517
- [2]- **Abbiati M. & Maltagliati F. 1996** - Allozyme evidence of genetic differentiation between population of *Hediste diversicolor* (Polychaeta : Nereididae) from the western Mediterranean. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **76**: 637-647
- [3]- **Allen E.J. & Tood R.A. 1900** - The fauna of the Salcombe Estuary. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **VI (2)** : 150-217
- [4]- **Ambrose W.G., Dawson M., Gailey C., Ledkovsky P., O'Lery S., Tassinari B., Vogel H. & Wilson C. 1998** - Effects of baitworm digging on the soft-shelled clam, *Mya arenaria*, in Maine: shell damage and exposure on the sediment surface. *J. Shellfish. Res.*, **17**: 1043-1049
- [5]- **Aquadro C.F. & Avise J.C. 1981** - Genetic divergence between rodent species assessed by using two-dimensional electrophoresis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **6**: 3784-3788
- [6]- **Ayala F. 1978** - Les mécanismes de l'évolution, *Pour la Science*, **13**: 46-63
- [7]- **Bastrop R., Röhner M. & Jürss K. 1995** - Are there two species of the genus *Marenzelleria* in Europe? *Mar. Biol.*, **121**: 509-516
- [8]- **Bellan-Santini, D., Lacaze, J.C. & Poizat, C., 1994** - Les biocénoses marines et littorales de Méditerranée, synthèse, menaces et perspectives. *Collection Patrimoines Naturels. Volume n°19. Série patrimoine écologique. Muséum National d'Histoire Naturelle*: 1-246
- [9]- **Beukema J.J. 1995** - Long-term effects of mechanical harvesting of lugworms *Arenicola marina* on the zoobenthic community of atidal flat in the Wadden Sea. *Neth. J. Sea. Res.*, **33**: 219-227
- [10]- **Blum H., Beier H. & Gross H.J. 1987** - Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electrophoresis* **8**: 93-99

- [11]-Bonse S., Schmidt H., Eibye-Jacobsen D. & Westheide W. 1996 - *Eulalia viridis* (Polychaeta: Phyllodoctidae) is complex of two species in northern Europe: results from biochemical and morphological analyses. *Cah. Biol. Mar.*, **37**: 33-48
- [12]-Cabioch L., L'Hardy J.P. & Rulier F. 1968 - Inventaire de la faune marine de Roscoff – Annélides. Editions de la station marine de Roscoff., pp. 1-98
- [13]-Cadman P.S. & Nelson-Smith A. 1990 - Genetic evidence for two species of lugworm (*Arenicola*) in South Wales. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **64**: 107-112
- [14]-Cazaux C. 1965 - Evolution de *Perinereis cultrifera* (Grübe) au cours d'un cycle annuel à Arcachon. *P. V. Soc. Linn. Bordeaux.*, **101**: 1-18
- [15]-Damerval C., De Vienne D., Zivy M. & Thiellement H. 1986 - Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat seedlings proteins. *Electrophoresis* **7**: 52-54
- [16]-Davis W.R. 1993 - The role of bioturbation in sediment resuspension and its interaction with physical shearing. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **171**: 187-200
- [17]-Durchon M. 1955 - Sur le polymorphisme présenté par quelques néréidiens (Annélides Polychètes) au moment de leur reproduction. *Bull. Soc. Hist. Nat. De l'Afrique du Nord*, **46**: 180-193
- [18]-Fage L. & Legendre R. 1927 - Pêches planctoniques à la lumière effectuées à Banuyils-sur-Mer et à Concarneau. *Arch. Zool. Exp. Gen.*, **67**: 23-222
- [19]-Fauchald K. & Jumars P.A. 1979 - The diet of worms a study of polychaetes feeding guilds. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, **17**: 193-284
- [20]-Fong P.P. & Garthwaite R.L. 1994 - Allozyme electrophoretic analysis of the *Hediste limnicola* – *H. diversicolor* – *H. japonica* species complex (Polychaeta: Nereididae). *Mar. Biol.*, **118**: 463-470
- [21]-Grassle J.P. & Grassle J.F. 1976 - Sibling species in the marine pollution indicator *Capitella capitata* (Polychaeta). *Science.*, **192**: 567-569
- [22]-Hateley J., Grant A., Taylor S.M. & Jones N.V. 1992 - Morphological and other evidence on the degree of genetic differentiation between populations of *Nereis diversicolor*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **72**: 365-381
- [23]-Herpin L. 1925 - Recherches biologiques sur la reproduction et le développement de quelques annélides polychètes. *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest. Fr.*, **4**: 1-250
- [24]-Hutchings P. 1998 - Biodiversity and functioning of polychaetes in benthic sediments. *Biodiversity and conservation.*, **7**: 1133-1145
- [25]-Kupriyanova E.K. & Dadayev A.V. 1998 - Ecological correlates of arctic *serpulidae* (Annelida, Polychaeta) distributions. *Ophelia.*, **49**: 181-193
- [26]-Maltagliati F., Peru A.P., Casu M., Rossi F., Lardicci C., Curini-Galletti M. & Castelli 2000 - Is *Syllis gracilis* (Polychaeta: Syllidae) a species complex? An allozyme perspective. *Mar. Biol.*, **136**: 871-879
- [27]-Manchenko G.P. & Radashevsky V.I. 1994 - Genetic differences between two allopatric sibling species of the genus *Polydora* (Polychaeta, Spionidae) from the West Pacific. *Biochem. Syst. Ecol.*, **22**: 767-773
- [28]-Marcel R. 1962 - Cycle annuel de *Perinereis cultrifera* Grübe (Annélide Polychète) à Alger. *Mém. Soc. Sci. Nat. Math. Cherbourg.*, **19**: 39-54
- [29]-Mustaquim J. 1988 - Isoenzyme variation in three *Nereis* species from five localities in the UK. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **68**: 549-553
- [30]-Nicklas N.L. & Hoffmann R.J. 1979 - Genetic similarity between two morphologically similar species of polychaetes. *Mar. Biol.*, **52**: 53-59
- [31]-O'Farrell P. 1975 - High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.*, **250**: 4007-4021
- [32]-Ohnishi S., Kawanishi M. & Watanabe T.K. 1983 - Biochemical phylogenies of *Drosophila*: protein differences detected by two-dimensional electrophoresis. *Genetica* **61**: 55-63.
- [33]-Olive P.J.W. 1994 - Polychaeta as world resource: a review of patterns of exploitation as sea angling baits and the potential for aquaculture based production. *Mém. Mus. Nat.Hist. Nat.*, **162**: 603-610
- [34]-Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme F., Catalan J. & Britton-Davidian, J. 1987 - Manuel de génétique par électrophorèse des protéines. Collection techniques et documentation. Lavoisier, Paris.
- [35]-Pérès J.M., & Rancurel P. 1948 - Observation sur la ponte de *Perinereis cultrifera* Grübe dans le golf de Marseille. *Bull. Soc. Zool.*, **73**: 97-100
- [36]-Pesch G.C., Pesch C.E. & Mueller C. 1988 - Chromosome complement from two populations of the marine worm *Neanthes arenaceodentata* (Annelida: Polychaeta). *Ophelia.*, **28**: 163-167
- [37]-Pilato G. 1974 - *Perinereis rullieri*, nuova specie di nereidi (Annelida, Polychaeta) delle coste siciliane, *Animalia.*, **1**: 25-37
- [38]-Predevelli D. & Zunarelli Vandini R. 1991 - Ciclo biologico di *Perinereis rullieri* Pilato (Polychaeta: Nereididae) nella laguna di Venezia. *Oebalia.*, **17**: 309-313
- [39]-Röhner M., Bastrop R. & Jürss K. 1997 - Genetic differentiation in *Hediste diversicolor* (Polychaeta: Nereididae) from the North Sea and Baltic Sea. *Mar. Biol.*, **130**: 171-180
- [40]-Rouabah A. & Scaps P. 2003 - Two-dimensional electrophoresis analysis of proteins from epitokous forms of the polychaete *Perinereis cultrifera* from the English Channel and Mediterranean Sea. *Cah; Biol. Mar.* **44**: 227-236
- [41]-Rouabah A. & Scaps P. 2003 - Life Cycle and Population Dynamics of the Polychaete *Perinereis cultrifera* from the Algerian Mediterranean Coast. *P.S.Z.N.: Marine Ecology*, **24(2)**: 85-99
- [42]-Sato M. & Masuda Y. 1997 - Genetic differentiation in two sibling species of the brackish-water polychaete *Hediste japonica* complex (Nereididae). *Mar. Biol.*, **130**: 163-170
- [43]-Scaps P., Brenot S., Retière C. & Desrosiers G. 1998 - Space occupation by the polychaetous annelid *Perinereis cultrifera*: influence of substratum heterogeneity and intraspecific interactions on burrow structure. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **78**: 435-449
- [44]-Scaps P., Retière C., Desrosiers G. & Miron G. 1992 - Dynamique d'une population de *Perinereis cultrifera* de la côte nord Bretagne. *Cah. Biol. Mar.*, **33**: 477-494
- [45]-Scaps P., Rouabah A. & Leprêtre A. 2000 - Morphological and Biochemical evidence that *Perinereis cultrifera* (Polychaeta: Nereididae) is complex of species. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **80**: 735-736
- [46]-Scaps P., Rouabah A. 2001 - Le complexe d'espèce *Perinereis cultrifera*: un exemple de spéciation entre l'Atlantique et la Méditerranée. *Bull. Soc. Zool.*, **126 (1-2)**: 35-48
- [47]-Schmidt H. & Westheide W. 1994 - Isozymes and general protein patterns as taxonomic markers in the taxon Nephthyidae (Annelida, Polychaeta). *Mar. Biol.*, **119**: 31-38

- [48]-Selander R.K., Smith M.H., Yang S.Y. Johnson W.E. &Gentry J.B. 1971 - Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old field mouse (*Peromyscus polionotus*). In : Wheeler, M.R. (ed) Studied in genetics, Vol 6. University of Texas Publication 7103, University of Texas, Austin, Texas 49-90
- [49]-Weinberg J.R., Starczak V.R., Mueller C., Pesch G.C. & Lindsay S.M. 1990 - Divergence between populations of a monogamous polychaete with male parental care: premating isolation and chromosome variation. *Mar. Biol.*, **107**: 205-213
- [50]-Zghal F. & Ben Amor Z. 1989 - Sur la présence en Méditerranée de la race épitoque de *Perinereis cultrifera* (Polychète). *Arch. Inst. Pasteur Tunis.*, **66**: 293-301