

Isolement, caractérisation et mise au point de marqueurs microsatellites

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

I.2.2.2 Echantillonnage et caractéristiques des populations

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

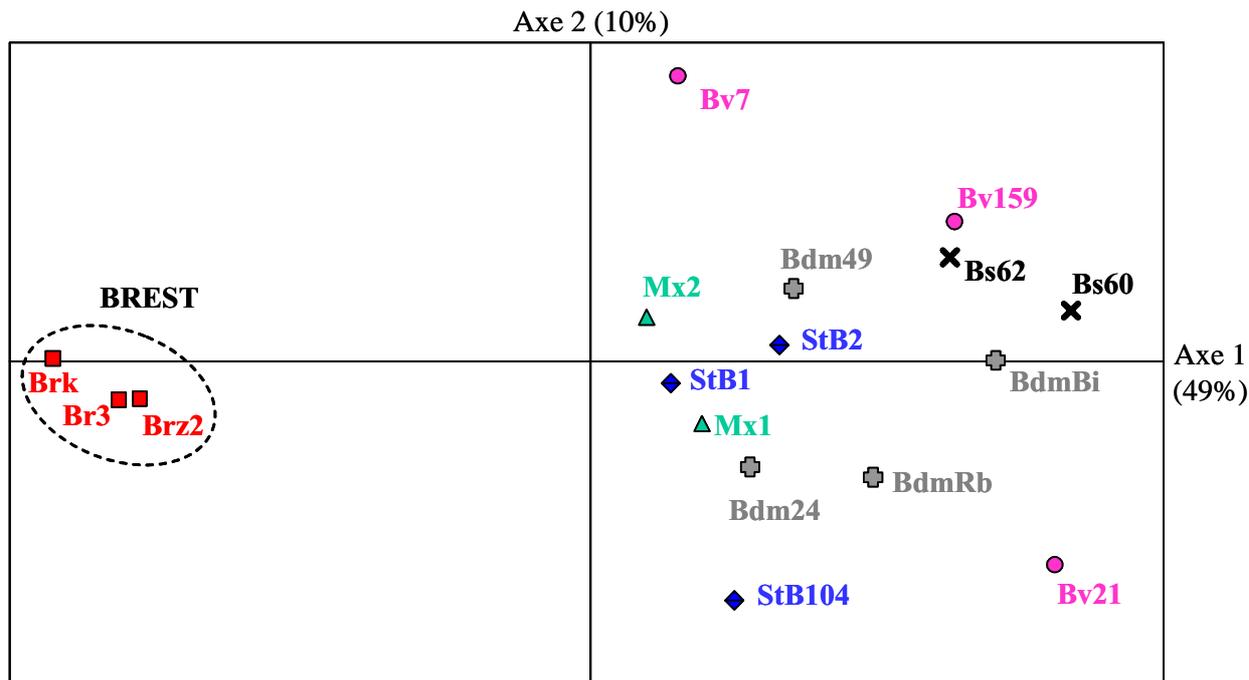
Tableau I.9- Variabilité génétique au sein des populations des différentes baies

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

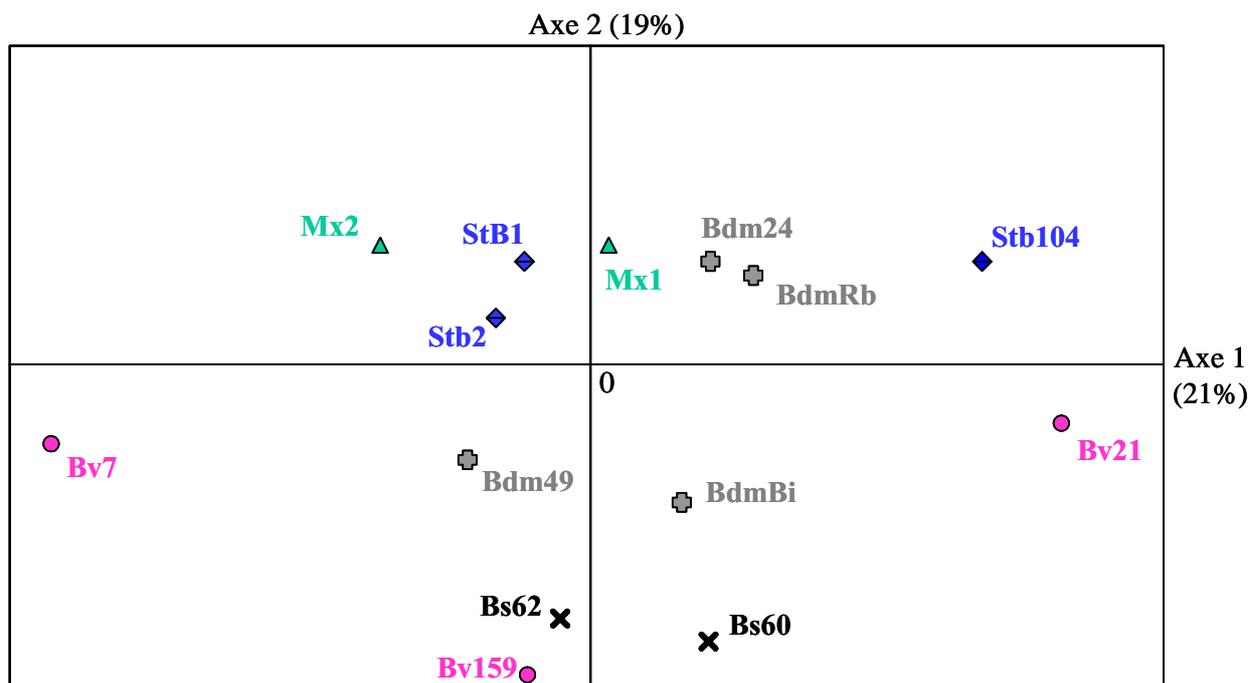
Baie	Populations	N_{ind}	N_{all}	A_r	H_o (écart type)	H_e (écart type)	\hat{f}
Baie de Seine	Bs60	40	14,2	12,5	0,744 (0,114)	0,796 (0,204)	0,066***
	Bs62	38	14,7	12,9	0,729 (0,190)	0,802 (0,180)	0,092
	Total	78	17,0	16,9	0,736 (0,148)	0,798 (0,191)	0,078
Baie des Veys	Bv159	26	11,7	11,6	0,627 (0,143)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

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

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



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



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

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

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

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

I.2.2.3 Analyse du polymorphisme de marqueurs microsatellites

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

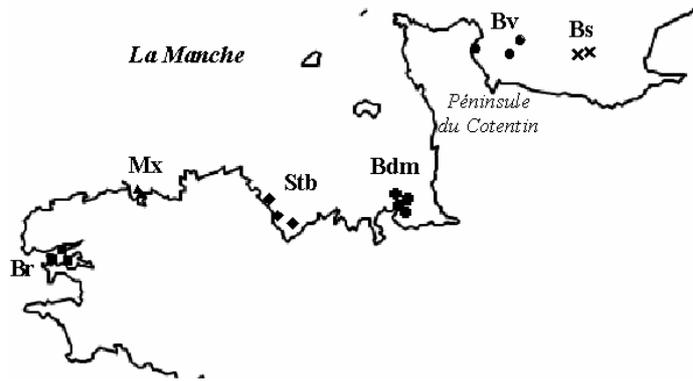
Un déficit en hétérozygotes par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg a été mis en évidence dans quasiment toutes les populations sauf BS62. Les valeurs de \hat{f} sont comprises entre 0,041 et 0,223 selon les populations. Ce déficit en hétérozygote multi-locus est un résultat fréquemment rencontré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

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

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

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

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



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

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

1.2.2.4.b Analyse en composantes principales des fréquences alléliques

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

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

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

1.2.2.4.c Analyse hiérarchique de la différenciation génétique des populations

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

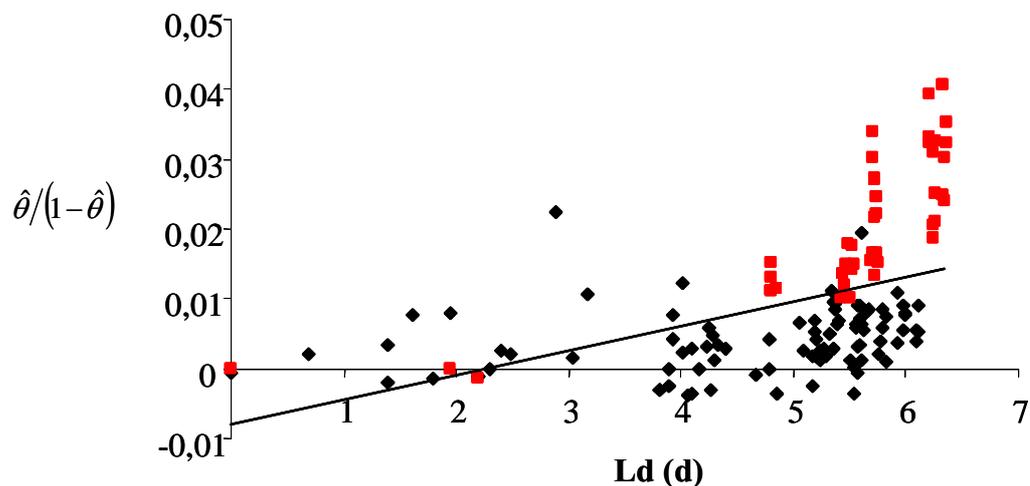


Figure I.14- Distance génétique entre paires de populations de *C. fornicata* des différentes baies de la Manche et de la Rade de Brest en fonction de la distance géographique. Les valeurs de différenciation par paire de populations incluant une des trois populations de la rade de Brest sont indiquées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

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

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

Le modèle de courant instantané

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

Le modèle de courant résiduel

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

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

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

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

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

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

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

I.2.2.5.a L'isolement par la distance

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

1.2.2.5.b Modélisation de la dispersion larvaire

▪ *Présentation du modèle hydrodynamique lagrangien 2D*

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

▪ *Les paramètres du modèle*

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

➤ *Les points d'injection*

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

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

➤ *Les quantités de larves émises*

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

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

Ω = le nombre d'œufs émis par mètre carré

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

N = nombre total d'individus

N_F = nombre de femelles

F = la fécondité moyenne des femelles

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

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

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

➤ *Les conditions de marée*

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

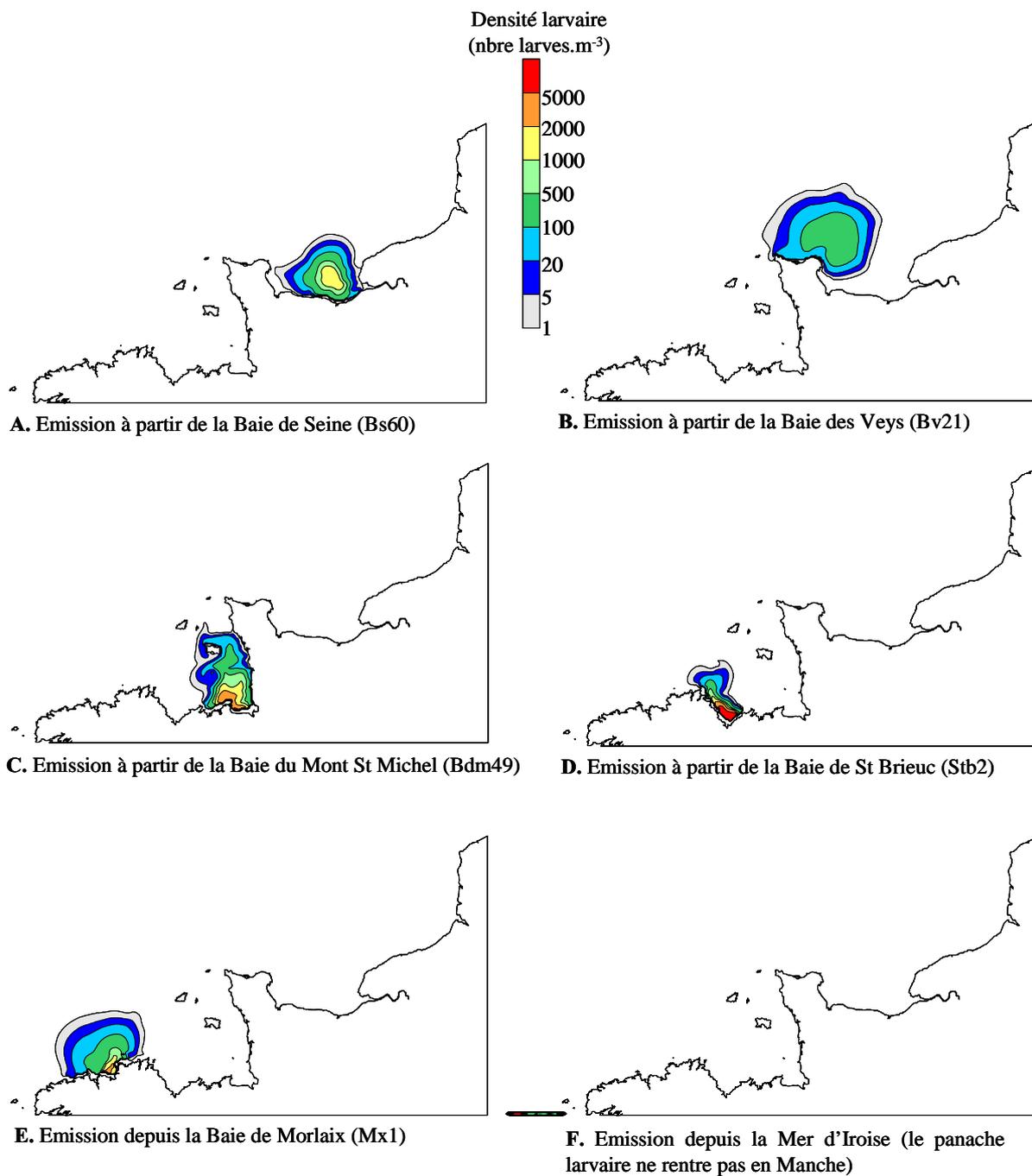


Figure I.15- Répartition simulée des larves de *Crepidula fornicata* après 21 jours de dispersion en condition de marée moyenne sans vent pour une émission à partir des différentes baies de la Manche et une émission en Mer d'Iroise.

➤ *Le vent*

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

▪ Traitement et visualisation des données

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

▪ Résultats

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

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

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

➤ *Les échanges larvaires entre baies*

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

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

➤ *Les échanges larvaires au sein des baies ?*

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

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

I.2.2.6 Discussion

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

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

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

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

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

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

I.2.2.7 Conclusion

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

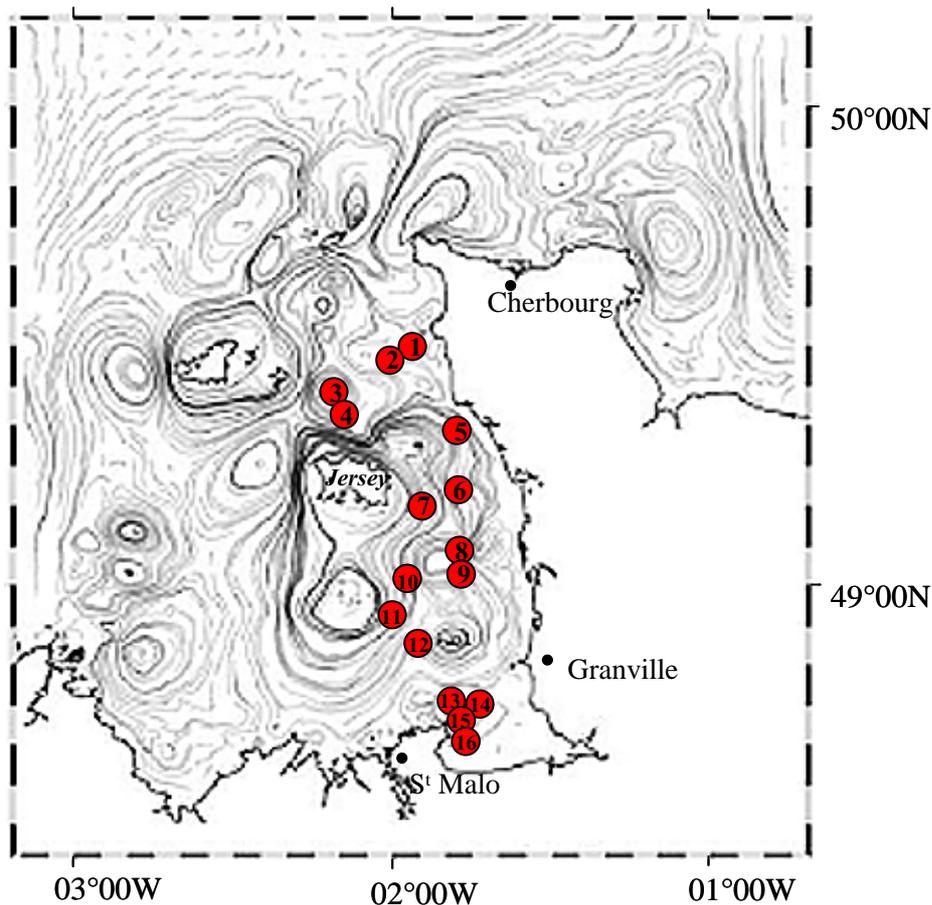


Figure I.16- Répartition géographique des différentes stations étudiées dans le Golfe Normano-Breton (Voir tableau I.14 pour la description des populations). Sur la carte sont représentées les lignes de courant résiduel pour un coefficient 45 sans vent.

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

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