



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار- عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER

THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT

Spécialité: Sciences de la mer
Option : Sciences de la mer

Intitulé

Diversité et structure génétique de la gorgone jaune
Eunicella cavolini en Méditerranée

Par

MASMOUDI Moutassem Billah

Directeurs de thèse :

M^{me} CHAOUI Lamya

Professeur, UBMA, Laboratoire Bioressources Marines.

M. AURELLE Didier

Maître de conférences, HDR, Université Aix Marseille.

Président :

M. KARA M. Hichem

Professeur, UBMA, Laboratoire Bioressources Marines.

Examineurs :

Mme ARNAUD – HAOND Sophie

Chargée de Recherches, HDR, IFREMER, France.

M. BONHOMME François

Directeur de Recherches, CNRS, France.

M. DERBAL Farid

Professeur, UBMA, Laboratoire Bioressources Marines.

Année universitaire: 2018/2019

Remerciements

Ce travail a été effectué entre deux laboratoires de recherche. D'abord, celui de Bioressources Marines de l'Université Badji Mokhtar-Annaba en Algérie, ainsi que l'institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale en France.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance à mes deux directeurs de thèse, sans qui ce travail n'existerait tout simplement pas !

Mes remerciements vont à madame CHAOUI Lamy, Professeur à l'université Badji-Mokhtar, qui m'a accueilli au sein de son laboratoire et m'a fait surtout profiter de ses conseils particuliers, associés souvent à une confiance en ma personne. Qu'elle trouve ici l'expression de ma sincère gratitude pour ses encouragements et son soutien. Merci d'avoir toujours cru en moi.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur AURELLE Didier, Maître de conférences, (HDR) à l'Université Aix Marseille, pour m'avoir accueilli à l'IMBE, pour ses directives aussi bien sur l'initiation au travail de biologie moléculaire que pour les analyses génétiques et les conseils de rédaction. Je lui exprime tout mon respect et mes remerciements pour son amabilité, et surtout sa patience.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur KARA Mohamed Hichem, Professeur à l'Université Badji-Mokhtar et directeur du Laboratoire Bioressources Marines, pour l'intérêt porté à la réalisation de ce projet de collaboration. Je le remercie pour le temps passé à assurer le moindre détail nécessaire à l'avancement de ce travail. Il a constamment répondu présent, même aux coulisses, et malgré de nombreuses occupations. Qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance de m'avoir honoré en acceptant de présider ce jury.

De même, je souhaite exprimer ma reconnaissance envers les examinateurs de ce travail et les membres du jury.

Je remercie Madame ARNAUD HAOND Sophie, chargée de recherche, HDR à l'Ifremer, pour avoir aimablement accepté d'évaluer cette thèse. Ses remarques pertinentes me seront certainement bénéfiques. Je lui adresse mes remerciements les plus sincères.

Je remercie également Monsieur BONHOMME François, Directeur de recherches au CNRS, France, pour avoir accepté d'être examinateur de cette thèse. Ses remarques et commentaires seront d'une grande importance pour améliorer le document de ce travail ainsi que la discussion de son contenu.

Je remercie Monsieur DERBAL Farid, Professeur à l'Université Badji-Mokhtar et chef de Département des Sciences de la Mer, qui a bien voulu faire partie de ce Jury, malgré ses occupations administratives. Pour ce qui reste, il m'est très difficile d'exprimer ma profonde gratitude pour ses efforts sur le terrain et sa disponibilité. Je ne saurais décrire en quelques mots toutes ses qualités, tant professionnelles qu'humaines. Simplement, un grand merci pour tout !

Mes remerciements vont également au directeur et à l'ensemble des chercheurs et personnels de L'IMBE, essentiellement ceux de la station marine d'Endoume, pour leur aide, leur sympathie et leur bonne humeur lors des petits moments partagés, que ce soit en pause déjeuner, en soirée ou en sortie!. Alexandra, Laura, Quentin, Marjorie, Laure et Caro, merci pour l'accueil durant mes passages, pour votre serviabilité et votre gentillesse.

Je fais une bise à ma meilleure amie en France ! Avec qui j'ai partagé tant de joies dans une ambiance familiale, je ne pourrai jamais la remercier suffisamment pour sa gentillesse et son écoute. Isabelle, tu te reconnaitras facilement en lisant ces lignes. Merci à toi, à Anthony et bisous au petit Dorian.

Aussi j'exprime ma profonde gratitude à tous les membres du laboratoire Bioressources marines et du département des sciences de la mer pour leur disponibilité et leur soutien ainsi que pour les nombreuses discussions que nous avons eues, et qui m'ont permis de surmonter bon nombre de choses au cours de mes travaux de thèse, particulièrement madame Amarouayache mounia, Nadjette, Wahiba, Zahia, Mr Azzouz, Mr Djebbar, Mr Bensouilah, Mme Nouacer.

Je tiens également à remercier chaleureusement mes collègues et amis thésards ou docteurs à présent! Sofiane, Kader, Digo, Hamdi, Brahim, Imed, Fatma, Nihed, Imen, Souad, Ali, Neila, Halima et Khadidja pour l'agréable ambiance de travail et les joyeux moments qu'on a passé ensemble. Merci du fond du cœur pour un groupe très spécial, qui m'est très cher, et dont nos

souvenirs ensemble resteront gravés en mémoire (ou sur CD pour certains☺). Raouf, Soumia et Radia, restez surtout comme vous êtes !

Je ne peux évidemment pas citer toutes les personnes, disséminées sur cette planète, qui m'ont rendu des services divers, ont tous participé à l'aboutissement de cette étape personnelle. Je tiens donc à les remercier toutes d'un même élan enthousiaste.

Enfin merci à toutes les personnes de part en part que je n'ai pas citées ici et qui se reconnaîtront dans ces quelques lignes.

SOMMAIRE

Chapitre 1. Introduction et synthèse	1
1. De la dispersion larvaire à la connectivité entre sous-populations.	2
1.1. La dispersion larvaire : un facteur majeur de connexion entre populations marines....	2
1.2. De la population à la métapopulation	2
1.3. Connectivité et divergence entre populations.	3
1.4. La Connectivité en milieu marin : contraintes de mesure et approches génétiques	4
2. Les octocoralliaires de Méditerranée : état actuel des connaissances.	7
2.1. La Méditerranée : enjeux et menaces sur la biodiversité	7
2.2. Réponses des organismes face aux perturbations : acclimatation, adaptation et évolution	10
2.3. Les octocoralliaires	11
2.4. Barrières communes au flux de gènes chez les octocoralliaires de Méditerranée? Différences thermohalines et isolement par la distance	12
2.5. Les octocoralliaires en Méditerranée : état actuel des connaissances sur la génétique des populations.....	14
3. Contexte, concept et objectifs de la thèse.....	26
Chapitre 2. Diversité et structure génétique	28
1. Introduction.	29
2. Matériel et méthodes.	32
2.1. Modèle biologique : La gorgone jaune de Méditerranée <i>Eunicella cavolini</i>	32
2.2. Outils moléculaire.....	34
2.3. Méthodes statistiques et analyse moléculaire	38
2.5. Prélèvements	41
2.6. Les marqueurs moléculaires	42
2.7. Analyse de l'ADN génomique	47
2.8. Calcul et analyses statistiques	48
3. Résultats.	52
3.1. Diversité génétique intra-population.....	52
3.2. Diversité génétique inter-populations	58
4. Discussion	74
4.1. Déficits en hétérozygotes	74

4.2. Structure génétique d' <i>E. cavolini</i> et comparaison avec d'autres octocoralliaires méditerranéens	74
4.3. Structure génétique à des échelles régionales et locales	77
Chapitre 3. Histoire de démographie.....	78
1. Avant-propos : évolution des microsatellites, modèles et taux de mutation.....	79
2. Introduction.	80
3. Matériel et Méthodes.....	83
4. Résultats.	86
5. Discussion.	94
5.1. Résultats contrastés entre approches BOTTLENECK et MSVAR.....	94
5.2. La diversité génétique et les inférences sur l'histoire évolutive.....	95
Conclusion	97
Bibliographie	100
Résumés	118
ANNEXES.....	121

LISTE DES FIGURES

Titre	Page
Figure 1. Quelques espèces impactées par des mortalités massives (a: <i>Eunicella cavolini</i> , b: <i>Eunicella singularis</i> , c et d: <i>Paramuricea clavata</i>). Les cercles jaunes indiquent les parties de tissu nécrosé (Source: Frédéric Zuberer (OSU Pytheas, Marseille))	8
Figure 2. Illustration d'un polype à huit tentacules, caractéristique des octocoralliaires. (Source: http://www.mer-littoral.org)	11
Figure 3. Carte de la mer Méditerranée avec les noms des bassins, les courants principaux (lignes blanches) et les principaux fronts océanographiques analysés (lignes rouges) (Pascual <i>et al.</i> 2017, modifiée)	13
Figure 4. a, b: <i>Eunicella cavolini</i> (Koch 1887). c: <i>Eunicella singularis</i> (Esper 1791). d: <i>Eunicella verrucosa</i> (Pallas 1766). e: <i>Corallium rubrum</i> (Linné 1758), (Source : www.mer-littoral.org). f: <i>Paramuricea clavata</i> (Risso 1826), (Source : www.ffessm.fr) dans leur milieu naturel.	14
Figure 5. Carte démontrant l'étendue d'échantillonnage des octocoralliaires. Les étoiles indiquent plusieurs sites dans la région.	22
Figure 6. A: individu d' <i>Eunicella cavolini</i> des cotes Algériennes (Kiane-Annaba). B: Polypes protubérants (http://doris.ffessm.fr).	33
Figure 7. a: <i>Eunicella cavolini</i> de zone abritée (polypes protubérants), b: <i>E. cavolini</i> de zone exposée (polypes rétractés) (Weinbauer & Velimirov 1996, modifiée)	33
Figure 8. Cycles de PCR et duplication exponentielle du fragment d'ADN (https://fr.wikipedia.org)	37
Figure 9. Carte des 19 sites d' <i>Eunicella cavolini</i> (site à l'échelle de la Méditerranée). (A) les individus échantillonnés sur deux profondeurs d'un même site dans la région Française sont séparés par un slash. (B) échantillons de la région Algérienne (points noirs).	41
Figure 10. Migration sur gel d'agarose : PCR C30 C40 (test 56°) 16.04.13	47
Figure 11. Nombre d'allèle par locus (estimé sous GENETIX)	52
Figure 12. Corrélation entre les distances génétiques ($F_{ST}/(1-F_{ST})$) et le logarithme des distances géographiques (Toutes populations confondues).	62
Figure 13. Corrélation entre les distances génétiques ($F_{ST}/(1-F_{ST})$) et le logarithme des distances géographiques (populations françaises).	62
Figure 14. Projection des échantillons sur les deux premiers axes de l'analyse de coordonnées principale basée sur la matrice de distance génétique non biaisée de Nei.	63
Figure 15. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur la totalité des données. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.	66
Figure 16. Evolution du critère Delta(K) pour la première analyse sous STRUCTURE (totalité de données).	67
Figure 17. Évolution du critère Delta(K) pour la première analyse sous STRUCTURE (populations française uniquement).	67
Figure 18. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur les échantillons de France. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.	68

Figure 19. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur les échantillons de Turquie. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.	68
Figure 20. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur les échantillons de Minorque et de Corse. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.	69
Figure 21. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur les échantillons de l'Algérie. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.	69
Figure 22. Graphe des valeurs du critère bayésien d'information (BIC) pour des valeurs croissantes de K (jeu de donnée complet).	70
Figure 23. Résultat de l'analyse DAPC avec la totalité des données. L'analyse est basée sur une solution de K=15. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.	72
Figure 24. Graphe des valeurs du critère bayésien d'information (BIC) pour des valeurs croissantes de K (populations de France seulement).	73
Figure 25. Résultat de l'analyse DAPC avec seulement les populations de France. L'analyse est basée sur une solution de K=4. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.	73
Figure 26. Densités marginales à posteriori des tailles efficaces actuelles (en rouge) et ancestrales (en vert) dans huit populations séparées. Les densités sont exprimées en \log_{10}	88
Figure 27. Densités marginales à posteriori des tailles efficaces actuelles (en noir) et ancestrales (en blanc) dans quatre régions de la Méditerranée. Les densités sont exprimées en \log_{10}	90
Figure 28. Densités marginales à posteriori des paramètres calibrés de tailles efficaces actuelles (en vert) et ancestrales (en rouge) dans quatre régions de la Méditerranée. Les densités sont exprimées en \log_{10}	91
Figure 29. Densités marginales à posteriori des tailles efficaces actuelles (en rouge) et ancestrales (en vert) sur les côtes continentales françaises avec 24 individus, deux pour chaque site. Les densités sont exprimées en \log_{10}	92
Figure 30. Densités marginales à posteriori des tailles efficaces actuelles (en rouge) et ancestrales (en vert) sur sept locus analysés séparément dans la région Algérienne. Les densités sont exprimées en \log_{10}	93

LISTE DES TABLEAUX

Titre	Page
Tableau 1. Récapitulatif des principales études sur la structure génétique des octocoralliaires en Méditerranée. Alls: Allozymes, Msat: Microsatellites. F_{ST} : estimateur pour évaluer le niveau de structuration entre populations. H_{obs} : Hétérozygotie observée. H_{att} : Hétérozygotie attendue.	19
Tableau 2. Caractéristique des microsatellites: séquences des amorces (F: forward, R: reverse), motif de répétions (inter: interruptif), fluorochrome utilisé, rang de taille des allèles observés. Températures d'hybridation pour la PCR.	43
Tableau 3. Données de polymorphisme par locus et par population	53
Tableau 4. Paramètres de diversité génétique dans 19 échantillons d' <i>E. cavolini</i>	55
Tableau 5. Richesse allélique (A_r) et richesse allélique privée (A_p) par population.	56
Tableau 6. Les différences de diversité génétique et de richesse allélique entre groupes de populations, à l'aide d'un test de probabilité unilatéral (G1 indique la diversité de la première région et G2 de la deuxième région)	57
Tableau 7. Valeurs de F_{ST} (Weir et Cockerham) par paire de populations d' <i>Eunicella cavolini</i> en Méditerranée (valeurs significatives en gras).	59
Tableau 8. Valeurs de F_{ST} par paire de populations d' <i>Eunicella cavolini</i> en Méditerranée en utilisant la correction ENA décrite dans Chapuis and Estoup (2007).	60
Tableau 9. Résultats de l'AMOVA. Les groupes de populations sont définis sur la base des situations géographiques ainsi que les analyses de clustering et sont: Turquie, Algérie, France, et les îles Corse et Minorque, groupées (4 groupes) ou séparées (5 groupes). La significativité des différents paramètres est testée avec des permutations ($n=1000$ pour chaque analyse).	61
Tableau 10. Matrice de distances génétiques non biaisée de Nei (1972).	64
Tableau 11. Résultats d'affectation des populations dans 15 clusters en utilisant l'analyse DAPC. N : nombre d'individus.	71
Tableau 12. Paramètres MSVAR : Les chaînes en consensus pour MSVAR ont été exécutées en modélisant un déclin exponentiel, un temps de génération de cinq ans et des valeurs a priori suivant ces paramètres:	85
Tableau 13. Paramètres Hyperprior dans les chaînes en consensus (notation suivant Storz <i>et al.</i> 2002, modifiés). Paramètres Hyperprior: μ = moyenne de moyenne; σ = écart type de la moyenne; τ = moyenne de l'écart type; ω = écart type de l'écart type.	85
Tableau 14. Tests d'équilibre mutation-dérive chez <i>E. cavolini</i> sous BOTTLENECK. Probabilités pour le test de Wilcoxon unilatéral pour l'excès (H_{exc}) et le déficit (H_{def}) d'hétérozygotie. Valeurs significative en gras	86
Tableau 15. Médiane, moyenne, variance et écart type des tailles ancestrales et actuelles pour les échantillons analysés séparément. Ratio: N_{anc}/N_{curr} . Les valeurs sont exprimées en \log_{10} .	87
Tableau 16. Médiane, moyenne, variance et écart type des tailles ancestrales et actuelles pour les quatre régions de la Méditerranée. Ratio: N_{anc}/N_{curr} . μ : taux de mutation, T : temps depuis le changement de taille de population. Les valeurs sont exprimées en \log_{10} .	89
Tableau 17. Estimations des paramètres calibrés ($\theta_{curr} = 4N_{curr}\mu$, $\theta_{anc} = 4N_{anc}\mu$, $t = T(2N_{curr})$) dans quatre régions de la Méditerranée.	91
Tableau 18. médiane, moyenne, variance et écart type des tailles ancestrales et actuelles dans la région Française avec 24 individus échantillonnés, deux pour chaque site. Les valeurs sont exprimées en \log_{10} .	92
Tableau 19. Médiane, moyenne, variance et écart type des tailles ancestrales et actuelles pour chaque locus séparément dans la région Algérienne. Les valeurs sont exprimées en \log_{10} .	93

Chapitre 1.
Introduction et synthèse

1. De la dispersion larvaire à la connectivité entre sous-populations.

1.1. La dispersion larvaire : un facteur majeur de connexion entre populations marines

Étudier la dispersion est une question centrale en écologie car elle détermine l'échelle à laquelle les espèces évoluent tout en interagissant avec leur environnement, en échappant à des conditions qui leur sont défavorables, et/ou migrent vers les milieux favorables au recrutement. La dispersion agit sur la vie des espèces en influençant la distribution spatiale des individus à l'échelle de la population ou de la communauté. On parle d'une dispersion simple dans le cas où seule la phase de déplacement est prise en considération, et de dispersion efficace quand le déplacement est suivi par une reproduction qui assure la distribution spatiale des allèles d'un point de vue génétique. Dans le milieu marin, la phase larvaire est considérée comme la principale phase de dispersion au cours du cycle de vie de la plupart des métazoaires sessiles. La dispersion larvaire correspond aux processus par lesquels les larves sont disséminées de leur site de production vers leur site d'établissement (Pineda *et al.* 2007). Occasionnellement, les adultes sessiles sont aussi sujets à la dispersion par détachement de leur substrat ou bien les adultes, habituellement sédentaires, peuvent se déplacer par nage, contribuant ainsi également à la dispersion de l'espèce. Le processus de dispersion comprend trois phases principales : une phase de départ (ou émission), une phase d'errance dans le milieu et une phase d'établissement (ou immigration) (Ronce 2007). Chacune de ces phases est critique pour l'accomplissement de la dispersion, qui est dite efficace lorsque les jeunes survivent et s'établissent tout en arrivant à se reproduire pour contribuer à la génération suivante, et par conséquent, au flux de gènes entre populations sources et réceptrices.

1.2. De la population à la métapopulation

La population est définie d'un point de vue écologique comme étant l'ensemble d'individus qui appartiennent à la même espèce, occupant un espace donné à un temps « t » et qui interagissent entre eux (Waples & Gaggiotti 2006). Cette définition s'élargit plus du point de vue évolutif en rajoutant le potentiel de se reproduire entre les individus (l'exemple du modèle neutre où les individus doivent tous avoir les mêmes chances de survie et de reproduction) (Waples & Gaggiotti 2006).

Il existe également de nombreux modèles de métapopulations (Kritzer & Sale 2004; Smedbol *et al.* 2002). Parmi ces modèles, celui de Kritzer & Sale (2004) semble être le mieux adapté au milieu marin : il définit la métapopulation comme un système de populations locales et discrètes, dont chacune est caractérisée par sa propre dynamique interne mais avec un certain degré d'influence démographique identifiable et non triviale provenant des autres populations

locales, par le biais de la dispersion d'individus (Kritzer & Sale 2004). Dans cette définition l'accent est mis sur l'organisation spatiale des populations et sur les échanges entre elles sans critère d'événements d'extinction / recolonisation.

1.3. Connectivité et divergence entre populations

Les populations évoluent sous l'effet des forces évolutives qui affectent les fréquences alléliques: (1) la mutation qui crée de nouveaux allèles, (2) la dérive génétique qui correspond à des fluctuations aléatoires des fréquences alléliques dues à la taille finie des populations, (3) la sélection qui favorise certains allèles au détriment d'autres et (4) la migration qui correspond au flux de gènes entre les populations et qui y apporte de nouveaux allèles. Les deux premières forces favorisent la divergence entre les populations alors que la migration tend à homogénéiser les populations d'un point de vue génétique et à maintenir la cohésion génétique de l'espèce (Mayr 1963). Les effets de la sélection naturelle sur la divergence et la diversité génétique dépendent du type de sélection.

Afin d'évaluer la divergence d'une population et d'en déduire comment la diversité est influencée par l'importation et/ou l'exportation des individus au sein de la métapopulation, divers mécanismes et phénomènes devront être étudiés, dont la connectivité. Cette dernière peut être définie comme la mesure dans laquelle les populations d'une même espèce, mais issues de différentes parties de son aire de distribution sont liées afin de maintenir une connexion fonctionnelle dans une aire de distribution fragmentée. Elle peut être définie comme étant démographique ou génétique (Lowe & Allendorf 2010). La connectivité démographique renvoie à la façon dont la croissance démographique est influencée par l'immigration, l'émigration et le recrutement (Thomas & Bell 2013). D'un point de vue génétique, la définition de la connectivité correspond à l'impact des flux de gènes sur l'atténuation de divergence causée par la dérive génétique au sein des sous-populations (Lowe & Allendorf 2010). La connectivité génétique peut être atteinte par très peu d'individus par rapport à la connectivité démographique (où une grande proportion d'individus est nécessaire). En effet, un flux de gènes provenant d'un seul immigrant par génération peut propager des allèles intéressants, atténuer les effets de consanguinité locale ou agir pour maintenir des fréquences alléliques similaires (Lowe & Allendorf 2010). Dans le milieu marin, l'estimation de la connectivité est souvent représentée en fonction des distances de dispersion de l'espèce étudiée, ces distances ne sont en général pas connues suite à l'impossibilité de mesurer directement la dispersion d'une larve. Chez les espèces benthiques, la dispersion larvaire est le principal mode de flux de gènes entre populations (Hedgecock 1986). De nombreuses espèces ont des propagules pélagiques ayant

une plus ou moins longue durée de vie, et qui peuvent être entraînées par les courants de masses d'eau et disperser sur de plus ou moins grandes distances. Il est donc impératif d'obtenir des données concernant la durée de la phase larvaire planctonique afin de connaître les différents modes de transport larvaire. L'estimation de la connectivité et l'étude des facteurs qui l'influencent doivent prendre en compte l'interaction de multiples facteurs endogènes et exogènes tels que (1) la physiologie comportementale et le caractère trophique des larves (qui déterminent la manière dont une larve interagit avec son environnement), (2) l'impact des courants sur le déroulement de la reproduction (qui détermine la temporalité de la présence de larves dans la colonne d'eau et par ailleurs le taux de fixation et/ou le succès de recrutement), et (3) le moment du retour à la vie benthique, incluant toutes les étapes conduisant à la sédentarisation, la métamorphose et au recrutement dans la population adulte. Les populations marines sont décrites comme fermées ou le plus souvent ouvertes; ces dénominations peuvent être liées à la connectivité qui décrit les taux relatifs de recrutement (issus de sources lointaines ou proches). Une population ouverte implique une étendue de dispersion larvaire assez importante étant donné le potentiel des propagules à voyager face aux courants océaniques, créant ainsi une homogénéité génétique sur de grandes échelles spatiales (Cowen *et al.* 2000). La population fermée quant à elle peut présenter une forte différenciation à de grandes comme à de petites échelles spatiales. De nombreux mécanismes ont été proposés pour expliquer la structure observée de ces populations, y compris les barrières océanographiques (Cowen *et al.* 2000), le comportement des larves ainsi que leur mortalité qui résultent en une rétention locale (Burton & Feldman 1982), l'adaptation locale ou un couplage des barrières écologiques avec l'existence d'incompatibilités génétiques renforçant ainsi la différenciation observée (Bierne *et al.* 2011).

1.4. La Connectivité en milieu marin : contraintes de mesure et approches génétiques

Dans le milieu marin, la mobilité des adultes chez les organismes benthique est souvent limitée (restreinte), ce qui fait de la dispersion et du recrutement ultérieur de larves les principaux mécanismes par lesquels la connectivité génétique se produit (Cowen *et al.* 2006). La connectivité entre les populations marines est supposée relativement élevée par rapport au milieu terrestre. Ceci est partiellement lié à l'apparence de continuité des milieux marins contrairement aux fragmentations terrestres, mais aussi aux durées importantes de phases larvaires chez une grande majorité d'espèces benthiques de la faune marine. Ceci a conduit à l'hypothèse que les populations marines étaient très connectées et que les larves pourraient facilement disperser entre elles (Becker *et al.* 2007). Cependant, ce postulat bien que

généralement vérifié, présente diverses exceptions avec des cas d'espèces fortement structurées (*Paramuricea clavata*, Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011; *Corallium rubrum*, Ledoux *et al.* 2010b; *Cystoseira amentacea*, Thibaut *et al.* 2016; *Macridiscus multifarius*, Ye *et al.* 2015), même si les courants et les durées larvaires sont théoriquement suffisants pour transporter les propagules sur des distances assez importantes (Hellberg 2009).

La notion de connectivité marine implique la migration des larves entre les populations sources (populations d'origine locales ou distantes) et celles réceptrices. Mesurer la connectivité directement dans le milieu marin est une tâche assez difficile sur le plan technique et logistique. Cependant, le résultat d'importation de larves détermine dans quelle mesure un nouveau matériel génétique est introduit dans une population. C'est ainsi que l'étude de la différenciation génétique entre les populations sources et réceptrices s'avère un moyen pour déduire indirectement la connectivité entre elles. Selon le degré de divergence génétique résultant des différentes forces évolutives, le flux génétique peut être estimé et comparé à l'aide des méthodes moléculaires (Hedgecock *et al.* 2007). Dans le milieu marin, les ruptures génétiques ont été enregistrées entre les populations d'espèces avec un important potentiel de dispersion sur de longues distances, ce qui suggère que les océans ne sont pas toujours des systèmes ouverts. La simple corrélation entre un potentiel de dispersion et la connectivité ne justifie pas la structuration observée à l'échelle de la métapopulation d'une espèce marine. En effet, plusieurs facteurs biotiques et abiotiques doivent être pris en considération afin de bien décrire les mécanismes qui interviennent dans la divergence, à savoir l'histoire de vie de l'organisme, sa biologie, les barrières géographiques auxquelles il fait face, ainsi que son histoire démographique (événements qui pourraient avoir une influence sur la taille efficace de la population étudiée). Typiquement, la dérive génétique se produit dans de petites populations. Dans le milieu marin, l'effet de cette dérive est faible du fait de grandes tailles de population. Une compréhension combinée des indicateurs appropriés est essentielle pour expliquer la structure génétique de l'espèce dans son aire de répartition (par exemple, Sherman *et al.* 2008; Waters 2008).

Dans le milieu marin, on note la présence d'espèces vagiles (motiles, pouvant se déplacer) et d'autres sessiles (sans moyens de locomotion). Pour ces dernières, la dispersion des propagules est généralement le seul moyen de maintenir la connectivité entre les communautés (Shanks *et al.* 2003), et qui favorise la continuité génétique et le maintien d'approvisionnement de nouvelles recrues. Par conséquent, des efforts considérables sont fournis afin de mieux comprendre la biologie, l'histoire de vie, et les stratégies de reproduction des organismes marins, pour ensuite déterminer la durée des phases larvaires qui affectent la dispersion et par conséquent, la structure des populations (Levin 2006). Cette mesure est intrinsèquement difficile à cause des contraintes logistiques d'isolement et de suivi des propagules (larves ou gamètes). Dans la colonne d'eau, la durée de dispersion est généralement corrélée avec la distance de dispersion (Bohonak 1999). Pour les larves, cette dispersion correspond aux processus par lesquels elles sont disséminées de leur site de production vers leur site d'établissement (Pineda *et al.* 2007). La dispersion efficace, assimilée au flux de gènes, peut être estimée de façon indirecte par le lien qui existe entre la connectivité et la génétique des populations (voir Nathan *et al.* 2003 pour une revue). Ce lien repose sur l'effet de la migration et sur les différences de fréquences alléliques entre les populations (Hedgcock *et al.* 2007). Ainsi, les méthodes indirectes reposent sur l'estimation de flux de gènes en mesurant l'ampleur des divergences génétiques entre les populations, ou plus directement en attribuant les individus à une sous-population (voir Lowe & Allendorf 2010 pour une revue).

2. Les octocoralliaires de Méditerranée : état actuel des connaissances.

2.1. La Méditerranée : enjeux et menaces sur la biodiversité

Considérée comme un hotspot de biodiversité, la mer Méditerranée compte environ 17000 espèces eucaryotes (Coll *et al.* 2010), pour une surface qui correspond à 0,82% des surfaces couvertes par l'océan mondial (Bianchi *et al.* 2012). La forte biodiversité recensée est le résultat combiné de différentes histoires géologiques complexes ainsi que des différentes conditions climatiques et hydrologiques présentes dans les différents bassins (Bianchi *et al.* 2012). Parmi les espèces clés de cette biodiversité, les assemblages de coralligènes et les prairies de posidonie *Posidonia oceanica* sont les plus remarquables à cause de leur importance écologique (Boudouresque 2004). Une telle richesse est sujette à d'importantes pressions anthropiques et naturelles telles que la pollution, les introductions d'espèces, la surexploitation et le changement climatique (Coll *et al.* 2010; Lejeusne *et al.* 2010). En effet, le bassin méditerranéen devient le lieu de phénomènes hydrométéorologiques extrêmes (vents violents, pluies intenses, sécheresse, canicules, etc) et dont la fréquence d'apparition pourrait augmenter dans les décennies à venir (Galli *et al.* 2017; Pachauri & Reisinger 2007). Les assemblages de coralligènes en général et les octocoralliaires en particulier ont souffert au cours des deux dernières décennies et continuent de connaître d'importants changements dans la composition des communautés comme conséquence d'une succession d'anomalies thermiques dans les eaux de mers, ainsi que les dégâts de source anthropique (Blanfuné *et al.* 2016; Garrabou *et al.* 2009). De plus, certaines données suggèrent que l'augmentation de l'acidification des océans est en effet un phénomène qui peut aggraver les effets négatifs d'élévation de température (Harvey *et al.* 2013; Kroeker *et al.* 2013). L'acidification du milieu marin a des répercussions sur l'ensemble des espèces présentant des coquilles et squelettes calcaires. Une réduction de calcification est observée en enquête expérimentale chez les coccolithes (Beaufort *et al.* 2011) et les gastéropodes (Bednaršek *et al.* 2014), tandis que chez les coraux, c'est la quantité de calcaire qui diminue significativement dans les squelettes des espèces (scléactiniaires, Maier *et al.* 2012; corail rouge, Bramanti *et al.* 2013).

Au cours des deux dernières décennies, des anomalies thermiques ont été signalées dans la Méditerranée nord occidentale, causant des mortalités massives (notamment au cours des étés 1999 et 2003) et affectant près d'une trentaine d'espèces de macro-invertébrés benthiques (Cerrano *et al.* 2000; Garrabou *et al.* 2009; Perez *et al.* 2000). Les conséquences de ces événements étaient différentes entre régions, espèces ou même entre individus. Les principales

régions qui ont été affectées, à des degrés variables, sont les côtes de Ligurie, de Provence et de Catalogne, la Corse, la Sardaigne et les îles Baléares (Garrabou *et al.* 2009; Perez *et al.* 2000). Des nécroses partielles ou totales des tissus ont touché les espèces sessiles, en particulier les gorgones et les spongiaires (Fig. 1). Ces mortalités massives ont été concomitantes avec des températures anormalement élevées ou stables de la colonne d'eau (Bensoussan *et al.* 2010; Garrabou *et al.* 2009; Romano *et al.* 2000).

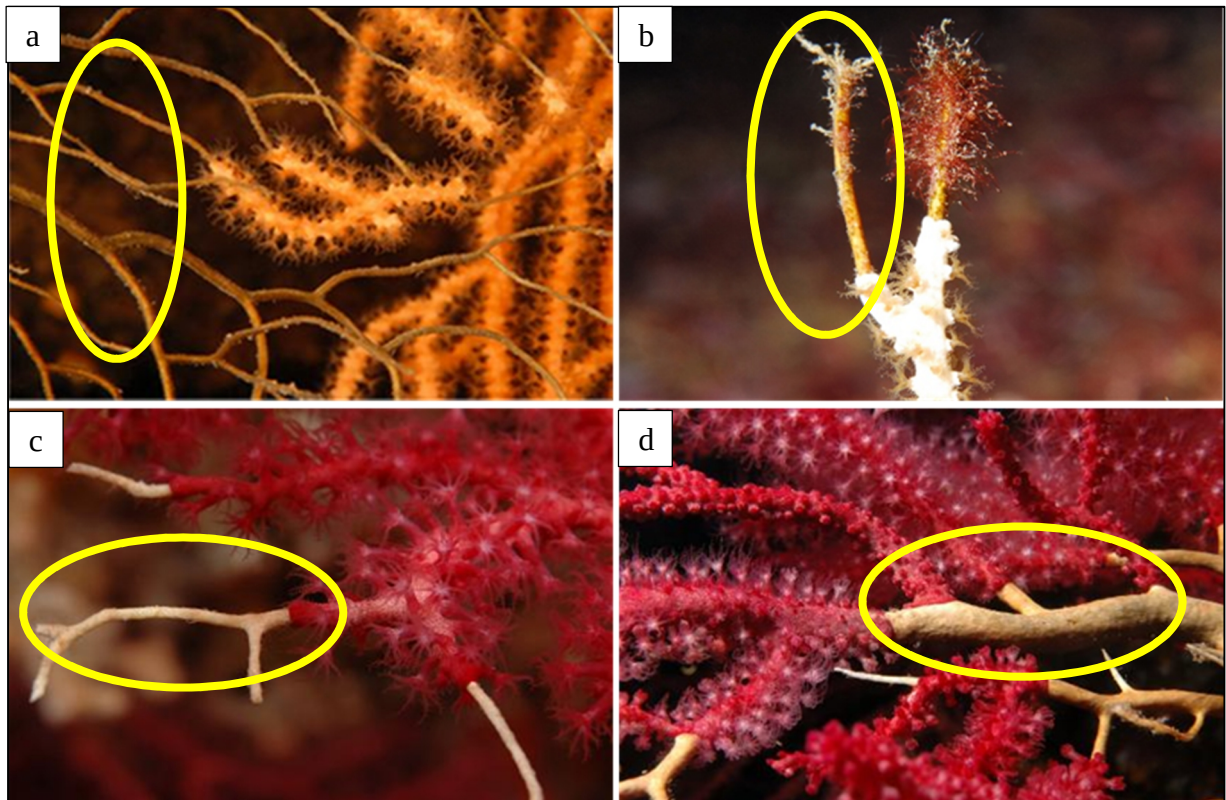


Figure 1. Quelques espèces impactées par des mortalités massives (a: *Eunicella cavolini*, b: *Eunicella singularis*, c et d: *Paramuricea clavata*). Les cercles jaunes indiquent les parties de tissu nécrosé (Source: Frédéric Zuberer (OSU Pytheas, Marseille))

Ces mortalités ont soulevé pour de nombreuses espèces des inquiétudes quant à la résilience des communautés impactées et leur capacité à maintenir l'important rôle écologique qu'elles jouent dans l'écosystème marin (comme dans le cas du corail rouge, Santangelo *et al.* 2007). Les données disponibles à ce jour et qui étudient l'avenir des assemblages de coraux estiment en général qu'ils ne sont pas en mesure de s'adapter à temps face aux changements récurrents. Les capacités de repeuplement en cas d'extinction locale ainsi que l'impact des changements environnementaux sur ces espèces restent à questionner, en particulier les espèces sessiles à faibles capacités de dispersion.

Les coraux en général, et les octocoralliaires en particuliers subissent divers phénomènes de dépérissement, de nécrose, et de blanchissement. Certaines études estiment une forte capacité de résilience (Santangelo *et al.* 2007), ainsi qu'un important potentiel d'acclimatation et d'adaptation face au changement climatique actuel (Palumbi *et al.* 2014). Cependant, une détérioration inévitable et répétée est prédite pour diverses espèces de coraux qui n'ont pas le même degré de stabilité (Galli *et al.* 2017 ; Hughes *et al.* 2017 pour les récifs en Australie).

2.2. Réponses des organismes face aux perturbations : acclimatation, adaptation et évolution

La réponse des organismes face aux changements environnementaux peut se produire, de manière non exclusive, par l'adaptation génétique, l'acclimatation individuelle, le changement d'aire de répartition ou l'extinction locale ou globale. L'impact d'une perturbation dépend notamment de la variabilité de réponse d'une espèce sur son aire de répartition. Ainsi, la sélection peut tendre vers une adaptation aux conditions environnementales locales et donc induire une variabilité de réponse aux fluctuations environnementales. L'adaptation génétique est définie par un changement de phénotype d'une génération à l'autre sous l'effet de la sélection naturelle, qui correspond à un changement génétique issu des changements de fréquences des allèles entre générations. L'adaptation peut dans certaines conditions permettre un sauvetage évolutif qui dépendra de plusieurs facteurs, à savoir la taille des populations et l'intensité du changement environnemental, sa durée et son ampleur (Bell & Gonzalez 2009). Le niveau de diversité génétique est aussi un facteur important qui conditionne la possibilité de l'adaptation (Bell 2013). L'adaptation à l'environnement local est parfois suggérée comme cause de structure génétique (exemple de *Seriatopora hystrix*, Bongaerts *et al.* 2010). Il est à noter que l'adaptation locale est parfois entravée par la dérive génétique qui, chez certaines espèces est l'essentiel locomotive de réponses différées face au changement climatique (Crisci *et al.* 2017). L'acclimatation quant à elle est une réponse phénotypique dans l'environnement qui permet un maintien dans les nouvelles conditions par des modifications plastiques à différents niveaux (physiologie, phénologie...), mais ne comporte pas de changement génétique. Cependant, il est à noter que ces changements liés à l'acclimatation peuvent être héréditaires dans certains cas (Mirouze & Paszkowski 2011). On parle ici d'acclimatation transgénérationnelle qui se produit entre autres par des processus épigénétiques (Danchin *et al.* 2011). Certains auteurs étendent la définition d'épigénétique pour inclure les communautés des symbiotes associées à un organisme (Heard & Martienssen 2014) (Par exemple, des bactéries ou des *Symbiodinium*), du fait que les symbiotes jouent un rôle clé dans la tolérance au stress et aux pathogènes chez de nombreux organismes (McFall-Ngai *et al.* 2013), notamment les coraux (Gates & Ainsworth 2011; Krediet *et al.* 2013).

2.3. Les octocoralliaires

Les octocoralliaires appartiennent à l'embranchement des Cnidaires qui comporte plus de 9000 espèces majoritairement marines (Technau & Steele 2011; Pratlong *et al.* 2017b). Ce sont des Eumétazoaires à symétrie radiaire d'ordre huit. Le mode de vie chez les Cnidaires est connu par l'alternance de phases (fixée via un polype et libre via une méduse), à l'exception de la classe des Anthozoa (qui regroupe les hexacoralliaires et les octocoralliaires) où la phase libre méduse est absente ; dans ce cas le cycle de vie comporte une phase sessile de polypes reproducteurs et une phase larvaire. Dans la Méditerranée, les octocoralliaires sont représentés par 20 espèces (Carpine & Grasshoff 1975). Ces communautés jouent un rôle important dans le développement des écosystèmes benthiques (Jones & Lawfon 1994), en fournissant des habitats à de nombreuses espèces marines comme les gastéropodes, les nudibranches, les poissons et les épibiontes (Harmelin & Bassemayousse 2008). La reproduction est assurée par les polypes (Fig. 2) qui contiennent des gonades dans la mésoglée des mésentères, ou de manière asexuée par bourgeonnement. La dispersion est assurée par les larves, dont la durée de vie décrite varie entre certaines espèces, ainsi qu'au sein d'une même espèce (16 à 42 jours maximum en aquarium pour le corail rouge avec des taux de survie contrastés; Martínez-Quintana *et al.* 2015). Certaines espèces sont utilisées en joaillerie comme le corail rouge *Corallium rubrum*, d'autres ont un intérêt touristique ou sont même utilisées dans le domaine de la pharmacologie pour leurs propriétés antivirales et anti-tumorales (Cimino *et al.* 1984; Ioannou *et al.* 2008).

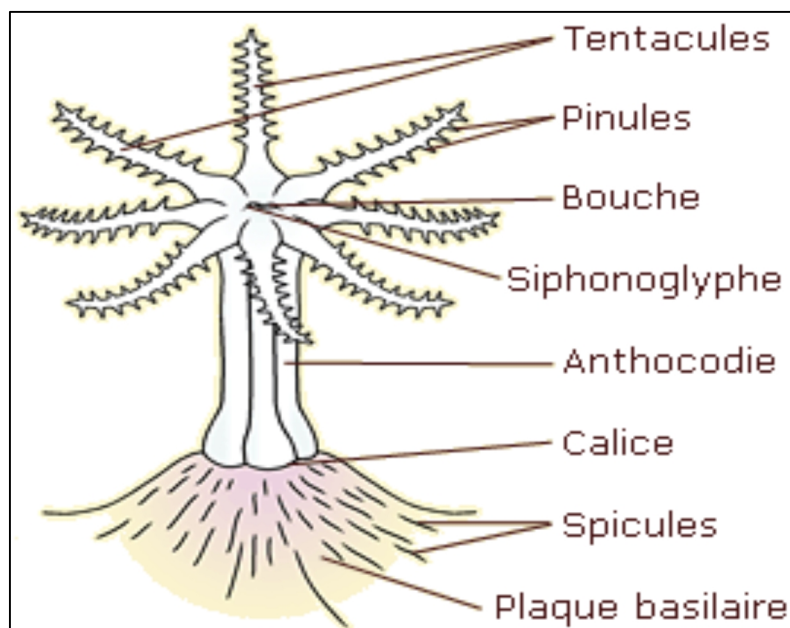


Figure 2. Illustration d'un polype à huit tentacules, caractéristique des octocoralliaires.
(Source: <http://www.mer-littoral.org>)

2.4. Barrières communes au flux de gènes chez les octocoralliaires de Méditerranée?

Différences thermohalines et isolement par la distance

Dans la Méditerranée, les courants marins et les discontinuités océanographiques figurent parmi les facteurs qui influencent la connectivité génétique des espèces (Galarza *et al.* 2009; Pascual *et al.* 2017; Schunter *et al.* 2011a). La mer Méditerranée est une zone idéale pour les études qui intègrent les caractéristiques océanographiques et le flux génétique. Plusieurs discontinuités océanographiques sont décrites dans la Méditerranée (Fig. 3, voir Pascual *et al.* 2017 pour une revue). Plusieurs fronts sont considérés comme de fortes barrières au flux de gènes chez nombreuses espèces. Parmi ces barrières, le front des Baléares connaît des différences thermohalines entre trois masses d'eau de surface de Mer des Baléares, et est caractérisé par sa variabilité à méso-échelle (García *et al.* 1994). Pour plusieurs espèces de poissons, ce front est considéré comme une barrière au flux génétique entre les îles Baléares et la côte espagnole en face (Galarza *et al.* 2009). En effet, plusieurs études ont mis en évidence le statut particulier de cette zone ; pour le corail rouge *Corallium rubrum* (Costantini *et al.* 2007b; Ledoux *et al.* 2010a), la gorgone rouge *Paramuricea clavata* (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011), la posidonie *Posidonia oceanica* (Rozenfeld *et al.* 2008) et le serran *Serranus cabrilla* (Schunter *et al.* 2011b). Ces études suggèrent l'apparition d'un mélange de pools génétiques de différentes origines de la Méditerranée occidentale, assuré en grande partie par les courants océanographiques.

Le front Almeria-Oran est aussi considéré comme une importante barrière au flux de gènes chez plusieurs espèces. Il présente une densité thermohaline qui résulte de la convergence entre les eaux de Méditerranée et celles de l'Atlantique entrant à travers le détroit de Gibraltar. L'ampleur d'isolement varie entre les espèces où il affecte fortement certaines (Borsa *et al.* 1997; Galarza *et al.* 2009; Patarnello *et al.* 2007; sala-Bozano *et al.* 2009) et agit faiblement sur d'autres (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011; Aurelle *et al.* 2011). Quant au détroit siculo-tunisien, il est considéré comme une rupture majeure séparant les populations occidentales et orientales pour diverses espèces marines (par exemple: Borsa *et al.* 1997; Arnaud-Haond *et al.* 2007). D'autres processus océanographiques se produisent dans la mer Méditerranée, à travers le détroit d'Otrante ou la marge sud de la mer Egée, qui peuvent également agir comme des barrières au flux génétique. Cependant, leur importance n'est pas bien étudiée. En effet, L'analyse comparative entre différents fronts révèle des degrés contrastés concernant la réduction du flux de gènes (Le plus faible étant le canal de la Sicile et le plus important dans le détroit de Gibraltar) (revue dans Pascual *et al.* 2017).

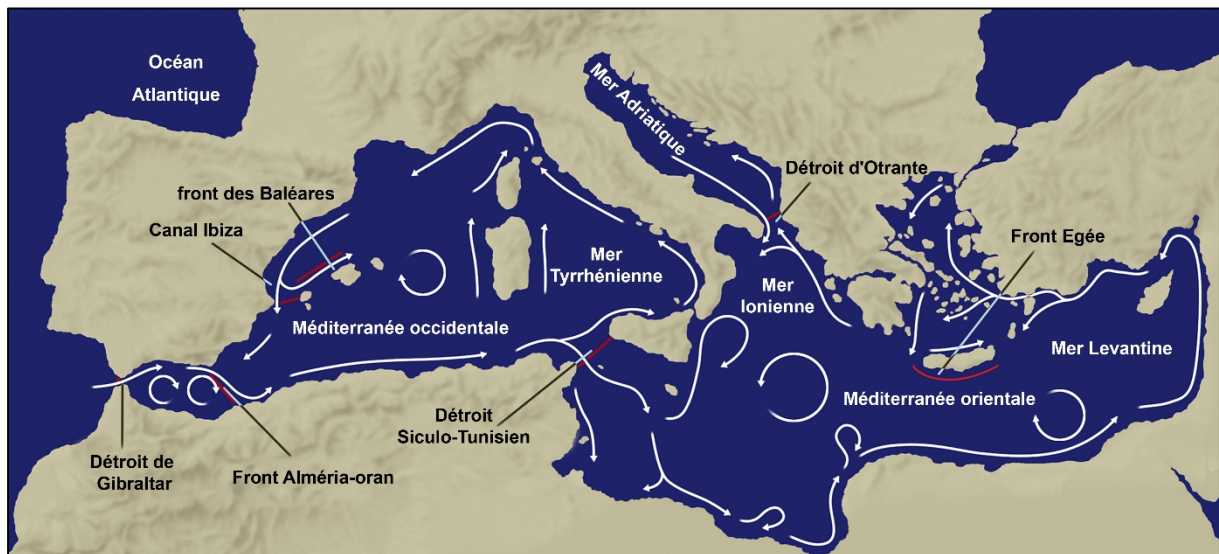


Figure 3. Carte de la mer Méditerranée avec les noms des bassins, les courants principaux (lignes blanches) et les principaux fronts océanographiques analysés (lignes rouges) (Pascual *et al.* 2017, modifiée)

L'isolement par la distance (IPD) est souvent proposé comme un modèle de base pour comprendre le flux de gènes entre populations qui présentent un faible potentiel de dispersion larvaire, comme c'est le cas pour certains invertébrés sessiles (Blanquer & Uriz 2010; Costantini *et al.* 2007b; Duran *et al.* 2004; Ledoux *et al.* 2010a; Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011; et les résultats de notre étude). L'IPD peut agir à de petites échelles spatiales et régionale mais pas de la même ampleur entre espèces ou selon les régions (voir Ledoux *et al.* 2010a pour le corail rouge en Corse où l'IPD est non significatif contrairement à la zone liguro-provençale).

2.5. Les octocoralliaires en Méditerranée : état actuel des connaissances sur la génétique des populations

Les problématiques pour les octocoralliaires découlent du fait que ce sont des espèces sessiles qui ne peuvent disperser que par la phase larvaire. Théoriquement, une durée de vie larvaire étendue est à l'origine de grandes distances de dispersion (Selkoe & Toonen 2011). Cependant, plusieurs études ont montré que les populations d'espèces marines ne fonctionnent pas toujours de façon ouverte en étant bien connectées. En effet, un certain nombre d'espèces présentent une différenciation génétique spatiale qui est plus élevée que prévu si l'on considère seulement leurs capacités dispersives. Parmi toutes les espèces d'octocoralliaires connues en Méditerranée (Carpine & Grasshoff 1975), nous avons choisi de concentrer cette synthèse sur cinq espèces dont trois du genre *Eunicella* (Fig. 4).

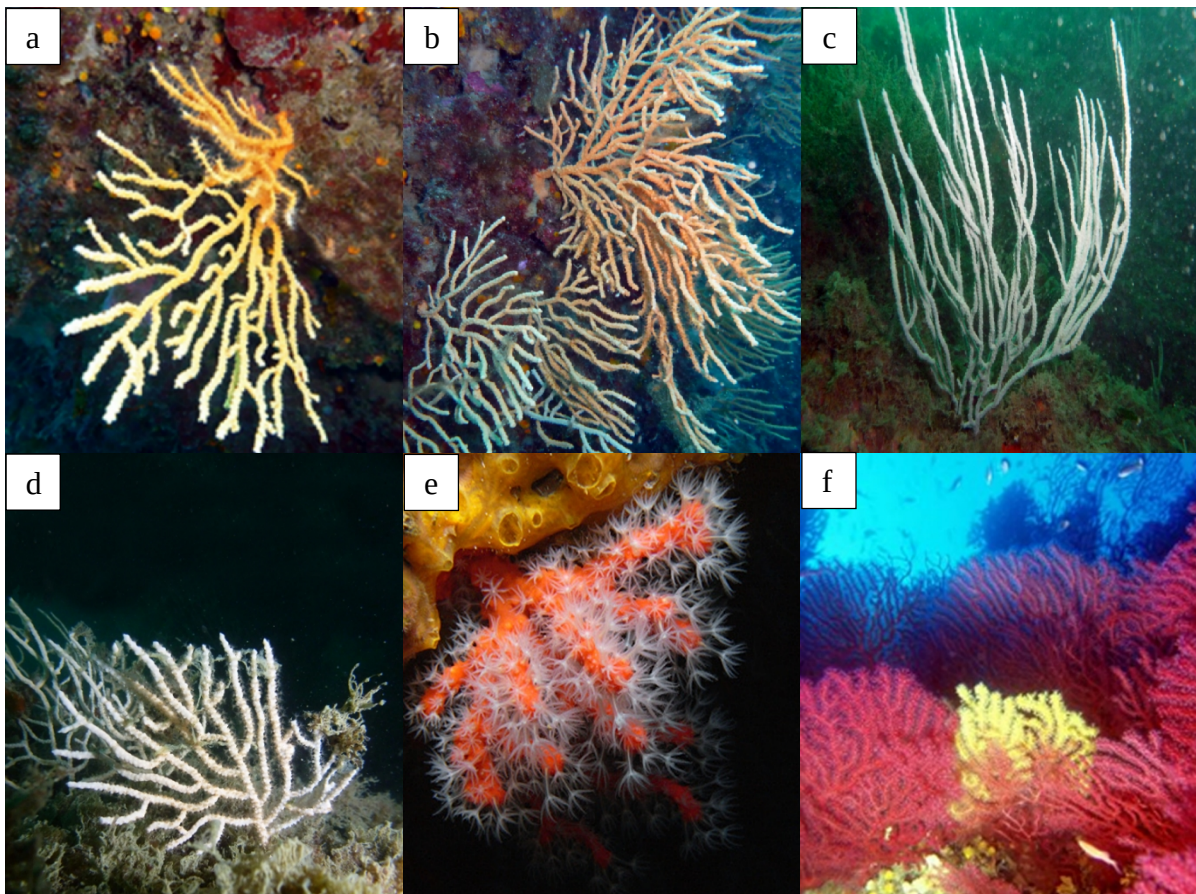


Figure 4. a, b: *Eunicella cavolini* (Koch 1887). c: *Eunicella singularis* (Esper 1791). d: *Eunicella verrucosa* (Pallas 1766). e: *Corallium rubrum* (Linné 1758), (Source : www.mer-littoral.org). f: *Paramuricea clavata* (Risso 1826), (Source : www.ffessm.fr) dans leur milieu naturel.

Les connaissances sur la variabilité de la structure et du fonctionnement des habitats clés sur une vaste gamme d'échelles spatiales sont importantes pour une gestion et une conservation efficace. Les effets de perturbations sur les espèces clé des habitats octocoralliaires ont été évalués au niveau de la population pour le corail rouge *C. rubrum* (Garrabou *et al.* 2001; Montero-Serra *et al.* 2015), ainsi qu'au niveau de la communauté (Casas-Güell *et al.* 2016), où la diversité et la structure sont abordées sur une échelle de 400 km dans la Méditerranée nord occidentale. Les investigations sont étendues sur la distribution du corail dans l'Atlantique par Boavida *et al.* (2016), qui ont redécouvert des populations à 60 - 100 m de profondeur dans le sud du Portugal. Quant aux connaissances sur la génétique de cette espèce, les premiers travaux remontent à 1993. Abbiati *et al.* (1993) ont pu démontrer l'existence d'une structure significative chez le corail rouge en Méditerranée en utilisant des marqueurs allozymiques pour comparer entre sites séparés d'une douzaine de kilomètres (Tab. 1). L'échelle spatiale est ensuite réduite par Costantini *et al.* (2007a) et Ledoux *et al.* (2010b), qui ont pu révéler des différences plus marquées à de fines échelle chez la même espèce en utilisant des marqueurs microsatellites (une douzaine de mètre à moins de 10m sur un gradient de profondeur, respectivement). De même, une structuration génétique est observée chez d'autres octocoralliaires de la Méditerranée. Mokhtar-Jamaï *et al.* (2011) ont mis en évidence une différenciation génétique entre populations de *Paramuricea clavata* séparées par des distances allant de 20 mètres à des milliers de kilomètres. À l'échelle locale, une différenciation entre profondeurs du même site est mise en évidence (notamment 20 m et 40 m). Le comportement larvaire chez cette espèce est proposé comme facteur agissant sur la différenciation significative observée entre les échantillons du sud, du nord-ouest et de l'est de la Méditerranée. Le flux génétique restreint chez cette espèce, et par conséquent, la faible connectivité entre clusters génétique géographiquement éloignés ont été discutés par Arizmendi-Mejía *et al.* (2015), qui ont mis en évidence une association négative entre les différences significatives intra-populations et les taux de migration chez la gorgone rouge. Ceci, souligne que la connectivité contemporaine est un processus pertinent dans la structuration génétique de *P. clavata*. Une distance de dispersion maximale est déduite entre 20 et 60 km (Pilczynska *et al.* 2016). Toutefois, il est à noter que d'après ces différents résultats, que la dispersion larvaire reste suffisante pour le réapprovisionnement et la persistance des populations, permettant une migration entre les populations locales, ainsi que celles de refuges qui sont plus profondes (-50 à -70 m), (mais voir Pérez-Portela *et al.* (2016) où une divergence est observée entre profondeurs).

Concernant les gorgones du genre *Eunicella* que nous présentons dans ce travail, *Eunicella verrucosa* est la seule espèce du genre qui n'est pas endémique à la Méditerranée, mais se trouve aussi dans le nord de l'Atlantique, notamment au sud-ouest d'Angleterre, où elle est plus abondante (Fig. 5). Les données disponibles traitent la structure génétique de l'espèce dans l'Atlantique et partiellement la Méditerranée. Holland *et al.* (2013) a décrit de nouveaux marqueurs moléculaires avec lesquels sont révélés des niveaux élevés de connectivité génétique entre populations d'*E. verrucosa*, provenant d'une variété de sites entre le Royaume-Uni, l'Irlande, la France et le Portugal (Holland *et al.* 2017). À travers l'étendue d'échantillonnage, *E. verrucosa* montre une évidence de flux de gènes élevé à l'échelle locale ce qui assure une homogénéité locale mais toutefois révèle quelques différenciations significatives entre régions (Tab. 1). Les structures génétiques observées sont réparties entre les populations du sud du Portugal, du nord-ouest de l'Irlande et de la Grande-Bretagne / France. Une réduction du flux génétique entre le sud-ouest de la Grande-Bretagne et le nord-ouest de la France est aussi démontrée (Holland *et al.* 2017). Dans certaines parties du nord de la Méditerranée, cette espèce est observée en sympatrie avec *E. cavolini* et *E. singularis*. Ces espèces peuvent être distinguées sur la base de l'architecture des colonies et des sclérites calcaires (Carpine & Grasshoff 1975). *Eunicella singularis* est généralement observée à des sites moins profonds que les deux autres espèces et présente la particularité, contrairement aux deux autres espèces, d'abriter un endosymbiote photosynthétique (*Symbiodinium*). Des différences génétiques ont été mises en évidence entre les populations de gorgone blanche *E. singularis*, et sont particulièrement importantes entre populations éloignées (Catanéo 2011). Aucune structure génétique n'a été trouvée parmi les populations d'eau peu profonde à une échelle spatiale d'environ quinze kilomètres (Tab. 1) (Costantini *et al.* 2016). Une restriction au flux de gènes est observée entre des populations de 30 et 40 m, avec la présence de deux morphotypes d'*E. singularis*. La connectivité verticale limitée suggère que l'hypothèse de refuge ne s'applique pas, et que les populations d'eau peu profonde, souvent affectées par des mortalités massives, sont principalement alimentées par les larves d'autres populations peu profondes.

Le modèle d'isolement par la distance (IPD) est discuté pour les espèces précédemment mentionnées en projetant une représentation des distances génétiques en fonction des distances géographiques. Chez le corail rouge, ce modèle a été mis en évidence à fine échelle dans cette espèce gonochorique, ce qui a pu renforcer les connaissances sur le potentiel réduit de dispersion larvaire (Costantini *et al.* 2007b; Ledoux *et al.* 2010a). Cet isolement est aussi observé à l'échelle globale ainsi que régionale chez la gorgone rouge *P. clavata* (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011), mais n'a pas été considéré comme principale cause de divergence génétique entre

les populations profondes de cette espèce (Pérez-Portela *et al.* 2016). Ces résultats suggèrent que d'autres facteurs que la simple distance géographique peuvent façonner la structure génétique de *P. clavata*. La divergence entre les populations profondes est expliquée en partie par l'effet de conditions environnementales particulières qui peuvent favoriser l'isolement suite à une dispersion efficace limitée. À travers l'étendue d'échantillonnage, l'IPD est observé faiblement chez *E. verrucosa* à échelle globale et disparaît à des échelles plus petites, ce qui pourrait impliquer une importante connectivité chez *Eunicella verrucosa* à des échelles de plusieurs centaines de kilomètres (Holland 2013). Un faible isolement par la distance mais qui reste significatif est aussi observé chez la gorgone blanche *E. singularis*, reflété par de faibles distances génétiques entre les populations en dépit de distances physiques élevées (Catanéo 2011). Cependant, il est à noter que l'interprétation d'un tel résultat repose sur les distances marines linéaires qui peuvent être des estimations conservatrices des distances parcourues réellement par les larves.

Une diversité génétique hétérogène a été mise en évidence dans certains cas chez les espèces précédemment citées, et est plus importante dans certaines régions de la Méditerranée que dans d'autres. Chez le corail rouge, la région des Baléares présente une plus grande diversité génétique par rapport au reste de la Méditerranée nord occidentale, ce qui pourrait correspondre à une zone de refuge glaciaire. Par ailleurs, une diversité génétique assez importante est observée en Sardaigne (Cannas *et al.* 2014), et est associée à une stabilité démographique dans les populations profondes (87 à 107 m). Cette richesse reflète un état d'exploitation durable, gouverné par un recrutement local. L'hétérogénéité de distribution de diversité génétique est aussi démontrée pour la gorgone rouge *P. clavata* et blanche *E. singularis* dans la Méditerranée nord occidentale. Le mode de reproduction de ces espèces est proposé comme un important facteur conduisant à la consanguinité. Les capacités réduites de nage des larves pourraient être à l'origine d'une rétention près des colonies mères, favorisant ainsi un effet Wahlund sur de courtes distances. L'isolement génétique de populations aux contenus alléliques différents va donc renforcer une distribution hétérogène de diversité génétique. Toutefois, *E. verrucosa* semble avoir des taux élevés de consanguinité qui restent surprenants étant donné la faible structure des populations observée (ce qui implique normalement une forte connectivité). Une des hypothèses proposées par Holland (2013) pour expliquer ses observations est l'impact des activités anthropiques. En effet, les déficits en hétérozygotes sont généralement observés dans les populations sujettes aux dommages causés par la pêche. Par ailleurs, Le manque d'échantillonnage dans certaines régions a rendu difficile de déduire

l'origine de certaines populations analysées dans l'étude, à savoir les populations irlandaises (voir Holland 2013).

Tableau 1. Récapitulatif des principales études sur la structure génétique des octocoralliaires en Méditerranée. Alls: Allozymes, Msat: Microsatellites.

F_{ST} : estimateur pour évaluer le niveau de structuration entre populations. H_{obs} : Hétérozygotie observée. H_{att} : Hétérozygotie attendue.

Espèces	Auteurs	Marqueurs	N (marq)	N (Sites)	Profondeur	Région	Distances	F_{st}	Hétérozygoties (moyennes)
<i>Corallium rubrum</i>	Abbiati <i>et al.</i> (1993)	Alls	13	2	25 - 45 m	Mer Tyrrhénienne	80 km	0,105	
	Costantini <i>et al.</i> (2007a)	Msat	4	8	25 m	Mer Ligure	200 km (dizaines à centaines de mètres entre sites)	Global: 0,18 Entre sites ($F_{ST} = 0,209 \pm 0,02$)	$H_{obs} = 0,20$ à $0,43$ $H_{att} = 0,56$ à $0,77$
	Costantini <i>et al.</i> (2007b)	Msat	5 + ITS	11	25 - 30 m	Nord-ouest de la Méditerranée	30 km to 2650 km	Global: 0,14 (0,053 à 0,305)	$H_{obs} = 0,26$ à $0,45$ $H_{att} = 0,66$ à $0,93$
	Costantini <i>et al.</i> (2010)	Msat	6 + mutS + ITS	5	600 m	Malte et Ile de Linosa		Pas fait	$H_{obs} = 0,20$ à 1 $H_{att} = 0,66$ à $0,85$
	Ledoux <i>et al.</i> (2010b)	Msat	10	40	14 – 60 m	Nord-ouest de la Méditerranée	dizaines à centaines de mètres entre sites	Global 0,097	$H_{obs} = 0,09$ à $0,89$ (0,50 ± 0,28) $H_{att} = 0,47$ à $0,93$ (0,77 ± 0,15)

Tableau 1 (Suite)

	Costantini <i>et al.</i> (2011)	Msat	10	8	20 - 70 m gradient	Nord-ouest de la Méditerranée		Global: 0,11 (0,09 à Cap de Creus et 0,11 à Portofino)	H_{obs} = 0,63 ± 0,22 à H_{obs} = 0,36 ± 0,24
	Aurelle <i>et al.</i> (2011)	Msat	7	39	14 – 60 m	Nord-ouest de la Méditerranée et Adriatique	dizaines à centaines de mètres entre sites	0,02 à 0,44	H_{obs} = 0,39 à 0,70 (0,56) H_{att} = 0,57 à 0,84 (0,71)
	Cannas <i>et al.</i> (2014)	Msat	12	3	87 - 107 m gradient	Nord-ouest de la Méditerranée		Global 0,115 (0,01 à 0,22)	H_{obs} = 0,43 H_{att} = 0,66
	Boavida <i>et al.</i> (2016)	mtC		(1) 16 ind	60 – 100 m (8 - 118 m total)	Atlantique (Sud Portugal) + 20 sites en Méditerranée			
<i>Paramuricea clavata</i>	Mokhtar-jamai <i>et al.</i> (2011)	Msat	6	39	07 – 40 m	Nord-ouest de la Méditerranée et Turquie	10m to 3000 km	Global: 0,116 (0,004 à 0,330)	H_{obs} = 0,58 à 0,83 (0,69) H_{att} = 0,56 à 0,81 (0,74)
	Arizmendi-Mejia <i>et al.</i> (2015)	Msat	7	9	30 - 55 m	Nord-ouest de la Méditerranée (les Baléares)		Global: 0,035 (-0,002 à 0,077)	H_{obs} = 0,694 à 0,818 (0,754) H_{att} = 0,713 à 0,773 (0,746)

Tableau 1 (Suite)

	Pilczynska <i>et al.</i> (2016)	Msat	10	6	18 – 31 m	Mer Ligure	20 km to 60 km	Global: 0,118	H_{obs} = 0,42 à 0,59 (0,51 ± 0,07) H_{att} = 0,57 à 0,66 (0,62 ± 0,03)
	Pérez-Portela <i>et al.</i> (2016)	Msat	9	6	12 - 63 m	Nord-ouest de la Méditerranée		Global: 0,097 (0,02 à 0,177)	H_{obs} = 0,548 à 0,699 H_{att} = 0,669 à 0,752
	Pilczynska <i>et al.</i> (2017)	Msat	9+ CO1	5	08 – 31 m	Mer ligurienne et Atlantique		Global: 0,193 (-0,003 à 0,388) 0,147 entre Med et Atlan	H_{obs} = 0,3 à 0,59 H_{att} = 0,39 à 0,66
<i>Eunicella singularis</i>	Catanéo 2011	Msat		22				Global: 0,108 (-0,006 à 0,318) (<i>E. singularis</i>) Global: 0,33 (la symbionte)	H_{obs} = 0,25 à 0,66 H_{att} = 0,26 à 0,61
	Pey <i>et al.</i> (2013)	Msat	10	4	10 - 40 m	France		0,07 à 0,123 (valeurs D jost)	
	Costantini <i>et al.</i> (2016)	Msat	6+ ITS 1	8	10 - 60 m	Nord-ouest de la Méditerranée + Atlantique		(-0,002 à 0,482 pour les Msat) (0 à 0,548 pour ITS1)	H_{obs} = 0,28 à 0,57 H_{att} = 0,25 à 0,58
<i>E. verrucosa</i>	Holland <i>et al.</i> (2017)	Msat	13	27	17 – 35 m	Est Atlantique et Sud d'Angleterre		Global: 0,012 (0,0087 à 0,0169)	H_{att} = 0,367 à 0,459

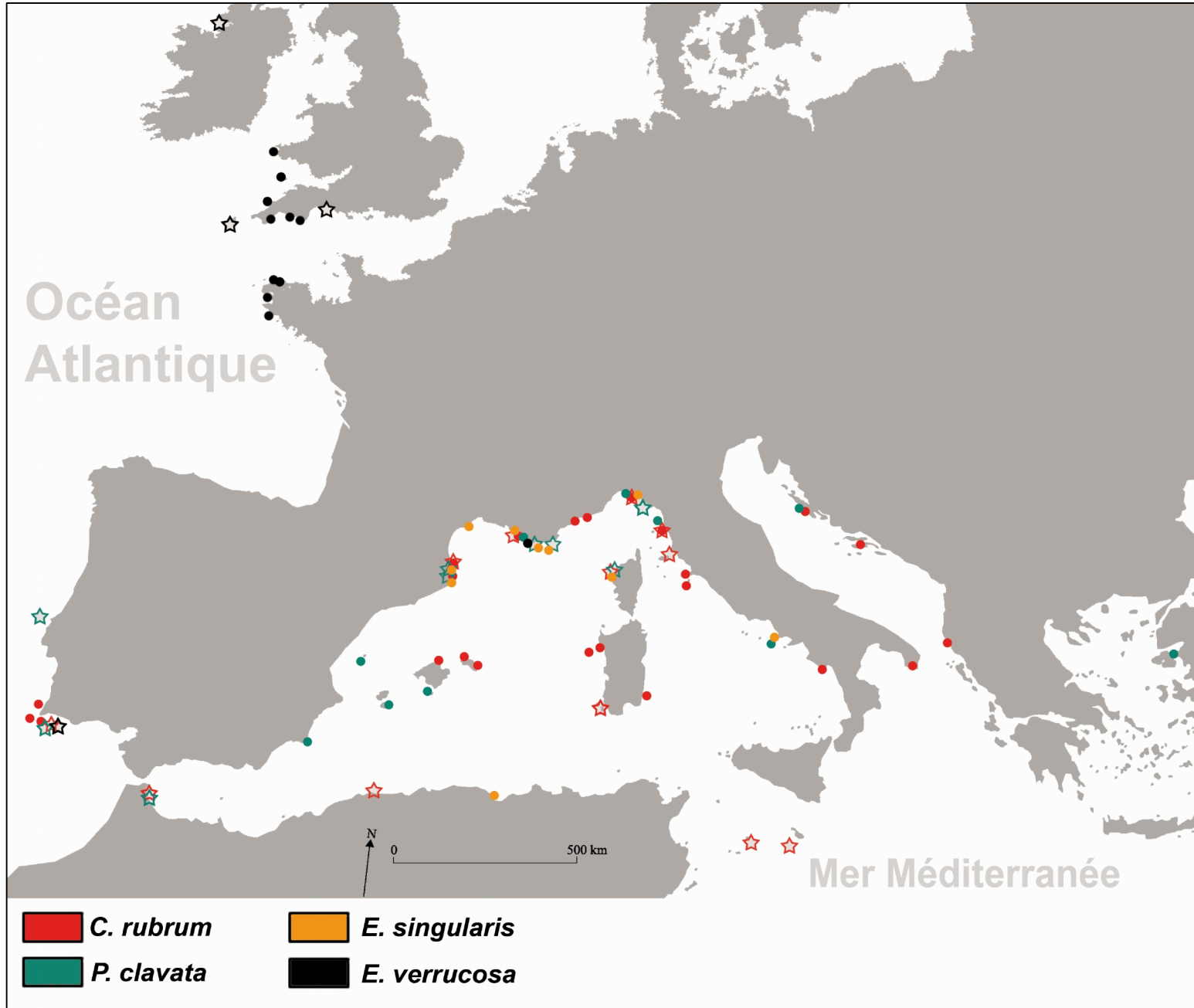


Figure 5. Carte démontrant l'étendue d'échantillonnage des octocoralliaires. Les étoiles indiquent plusieurs sites dans la région.

Afin d'étudier l'impact de l'histoire de vie des octocoralliaires sur la diversité génétique actuelle et sa distribution, certaines espèces ont été testées pour détecter les événements démographiques passés à l'échelle des populations. Chez le corail rouge, des signaux d'expansion sont observés pour quelques populations (16 sur 40) à la suite d'un goulot d'étranglement passé en utilisant le test BOTTLENECK (Ledoux *et al.* 2010a). Toutefois, l'absence d'un signal significatif de réduction chez cette espèce longévive pourrait être liée à l'inertie dans la perte de diversité. Ceci, pourrait induire une inférence biaisée de l'effet des derniers événements démographiques (Aurelle *et al.* 2011; Ledoux *et al.* 2010a). En outre, le déclin démographique potentiel de six populations est observé sur les côtes Catalanes pour la gorgone rouge *P. clavata* (Pérez-Portela *et al.* 2016). Les auteurs décrivent une réduction de taille efficace potentiellement liée aux mortalités massives récentes. De telles observations en profondeur (-50 à -70 m) restent contradictoires à celles de Linares *et al.* (2006), qui décrivent un effet décroissant de mortalité avec la profondeur dans les populations du nord-ouest de la Méditerranée (Pérez-Portela *et al.* 2016).

Quant à la résilience des communautés face au changement climatique, des expériences ont montré que les individus de corail rouge issus de 10 m et de 40 m ne résistaient pas aux températures de la même façon (Torrents *et al.* 2008). De plus, une différence d'expression des gènes de protéines de choc thermique (HSP70) a été observée entre individus issus de profondeurs différentes en situation de stress expérimental (5, 20 et 40 m) (Haguénauer *et al.* 2013). Le séquençage d'une douzaine d'individus (six issus de 5 m et six issus de 40 m de profondeur) placés dans une même situation de stress thermique a permis de fournir une nouvelle ressource transcriptomique, ainsi que des marqueurs candidats pour l'étude de l'adaptation locale, qui sont également impliqués dans la réponse au stress thermique chez d'autres coraux (Pratlong *et al.* 2015). En effet, Une variation d'expression de gènes a été observée entre populations de différentes profondeurs, même en dehors de situation de stress. Cette variation suggère l'existence de déterminisme génétique chez cette espèce mais pourrait aussi être neutre (Pratlong *et al.* 2017a). Chez la gorgone rouge *P. clavata*, une population de Méditerranée (îles de Tinetto, Mer Ligure) a montré une résilience inattendue après avoir été touchée par deux événements de mortalités massives. Les mécanismes de rétablissement ont été examinés à travers la structure reproductive chez une population qui réside entre 17 et 25 m. Les classes de jeunes recrues ont dominé le recensement avec un taux qui dépasse celui des populations non endommagées (Cupido *et al.* 2012). Le stress thermique expérimental a été

étudié chez cette espèce, et contrairement à ce que l'on suppose chez le corail rouge, Crisci *et al.* (2017) ont pu démontrer une corrélation significative entre les nécroses et l'étendue de la dérive génétique qui semble être le principal moteur des réponses différentielles entravant l'adaptation locale. Quant à la gorgone blanche, Costantini *et al.* (2016) ont mis en évidence un degré élevé de différenciation génétique entre les populations d'*E. singularis* au-dessus et en dessous de 40 m de profondeur, suggérant la présence d'une barrière au flux génétique entre profondeur, face à une faible différenciation horizontale entre populations peu profondes. L'étude souligne que le potentiel de survie et de dispersion des larves pourrait être affecté par les fluctuations de température, ce qui se traduit par une réduction des échanges larvaires entre les populations peu profondes et profondes. Les données génétiques soutiennent une différenciation d'*E. singularis* en deux morphotypes (peu profonds et profonds) déjà décrite par Gori *et al.* (2012). La différence concerne la couleur, la forme de colonie et les sclérites. Une analyse des capacités adaptatives de cette espèce, ainsi que l'espèce congénère *Eunicella cavolini* a estimé la variabilité de réponse au stress thermique en fonction de la profondeur (Pivotto *et al.* 2015). Les expérimentations de stress thermique long suggèrent que les populations peu profondes sont plus thermotolérantes que les populations plus profondes (comparaison 20 m - 40 m). Le risque de nécrose apparaît en effet plus marqué chez les individus issus de 40 m que ceux de 20 m, face à l'absence de différenciation génétique entre ces deux populations (le flux de gènes suggère que c'était la même populations. révélé par notre étude). La comparaison des résultats d'expériences de thermotolérance avec des études antérieures a permis de discuter les différences d'adaptation au régime thermique local et à la profondeur pour les espèces du genre *Eunicella* en Méditerranée. Le seuil de nécrose observé pour *E. cavolini* est semblable à celui observé chez *E. singularis*, dans la même région et la même profondeur (Pey *et al.* 2013), mais avec des niveaux de tolérance répartis différemment entre colonies de surface et colonie profondes. En effet, les colonies de surface semblent plus tolérantes chez *E. cavolini*, tandis que chez la gorgone blanche, ce sont les colonies de profondeur qui résistent le mieux au stress thermique. A noter que le protocole d'expérimentation est proposé pour expliquer cette différence où les colonies de gorgone jaune ne sont pas nourries, contrairement à celles de gorgone blanche (Ferrier-Pagès *et al.* 2009; Pey *et al.* 2013). La présence des *Symbiodinium* dans *E. singularis*, contrairement à *E. cavolini* est aussi proposée comme facteur majeur expliquant ces différents résultats. Comme l'a suggéré Ferrier-Pagès *et al.* (2009), les populations peu profondes d'*E. singularis* pourraient être plus exposées à l'activité photosynthétique qui pourrait exacerber l'impact du stress thermique et ne serait que partiellement compensé par l'acclimatation individuelle (Pivotto *et al.* 2015). Les

symbiotes photosynthétiques pourraient être avantageux en permettant de surmonter la saison estivale (Ezzat *et al.* 2013), mais ils pourraient parfois avoir des effets nuisibles. En effet, l'interaction avec *Symbiodinium* n'est pas toujours mutualiste (Forcioli *et al.* 2011). Cette symbiose n'existe pas chez *E. cavolini* et *E. verrucosa* et peut donc être relativement récente, ce qui soulève la question de sa stabilité et de ses conséquences adaptatives. Des réponses contrastées de thermotolérance sont observées entre les colonies d'*E. cavolini* issues de différentes profondeurs tout en exposant une différenciation génétique non significative (révélée dans notre étude). Ces résultats pourraient être expliqués par l'acclimatation : ces différences pourraient être induites par l'environnement au cours de la vie individuelle et maintenues par exemple par des processus épigénétiques comme il est mentionné ci-dessus. Pour *E. cavolini*, l'acclimatation pourrait être la principale réponse adaptative aux différents régimes thermiques et pourrait amortir en partie les changements climatiques attendus.

L'hybridation et le flux de gènes entre les espèces du genre *Eunicella* précédemment citées ont été étudiés. Aurelle *et al.* (2017) ont utilisé un marqueur mitochondrial ainsi que deux marqueurs nucléaires pour étudier les relations phylogénétiques et les niveaux de divergence qui sont restés mal connus entre ces espèces en raison d'un manque de marqueurs appropriés. Les résultats ont révélé des relations phylogénétiques complexes parmi les trois espèces d'*Eunicella* étudiées, et le marqueur mitochondrial (COI-igr1), supposé plus variable que ceux déjà testés (mtMuts et COI) n'a pas révélé de différences entre ces espèces. Cependant, les marqueurs nucléaires ont indiqué une différenciation significative avec séparation phylogénétique incomplète des trois espèces d'*Eunicella* (Aurelle *et al.* 2017). Une divergence observée entre *E. singularis* et *E. cavolini* pourrait être liée à des refuges glaciaires différents, dont les emplacements restent à étudier. Un scénario de flux génétique par un contact secondaire était le meilleur modèle pour expliquer les divergences observées par les auteurs. De plus, au niveau intraspécifique, l'isolement géographique et écologique chez *E. cavolini* ne correspondaient pas à des lignées génétiques distinctes. L'hypothèse d'hybridation entre *E. cavolini* et son espèce congénère *E. singularis* n'a pas pu être confirmée en raison d'un manque de données suffisantes (et de marqueurs) pour tirer des conclusions.

3. Contexte, concept et objectifs de la thèse.

Le changement climatique actuel et l'augmentation de la température globale modifient les propriétés de la mer Méditerranée. Les octocoralliaires sont parmi les espèces fortement impactées par les anomalies de températures. Diverses observations montrent que ces espèces répondent déjà à ces changements environnementaux. La réponse à ces changements pourra être différente selon les espèces : certaines pourraient s'adapter, d'autres pourraient changer d'aires de répartition. Lors du dernier maximum glaciaire il y a 20 000 ans le niveau de la mer était situé 120 m plus bas qu'actuellement, ce qui implique que toutes les populations actuelles situées au-dessus de cette profondeur sont nécessairement issues de recolonisation post-glaciaire. Il semble donc important de s'intéresser aux capacités de recolonisation de ces espèces. Certaines études ont déjà fourni des données remarquables sur la connectivité des communautés d'octocoralliaires à des échelles plus ou moins étendues de la mer Méditerranée en se basant sur l'estimation des échanges et le flux de gènes. Toutefois, les connaissances restent limitées à l'égard des relations entre les populations du nord, du sud, de l'est et de l'ouest de la Méditerranée. Ainsi, l'étude de la structure génétique de plusieurs espèces permettra d'identifier, la présence ou non de barrières communes au flux de gènes. Etant donné que la connectivité des populations est généralement régie par l'interaction entre les barrières physiques et des processus biologiques tels que la biologie larvaire et la démographie, il serait intéressant de (1) comprendre si les populations d'espèces sessiles à dispersion réduite sont restées séparées à long terme, (2) de souligner l'importance des facteurs abiotiques dans la structuration observée, et (3) de rechercher d'éventuels refuges glaciaires en étudiant les niveaux de diversité génétique entre différents bassins de la Méditerranée. Ce travail s'articule sur deux parties. Nous essayerons d'étudier la structure d'une espèce sessile qui a subi des mortalités massives liées aux élévations de températures de l'eau dans la Méditerranée. Nous fournissons par la suite, un aperçu sur l'histoire démographique de cette espèce qui aurait pu avoir un impact sur la distribution de la diversité génétique observée dans les populations analysées.

Le but de ce travail est de fournir les premières données sur la structure génétique de la gorgone jaune *E. cavolini* à une échelle étendue de la Méditerranée, tout en passant par le développement d'outils moléculaires afin de pouvoir émettre un aperçu sur la connectivité ainsi que le potentiel de recolonisation en cas d'extinction locale. L'échantillonnage s'étend sur une vaste zone de l'aire de distribution de cette espèce avec des prélèvements de différents bassins occidentaux et orientaux. La comparaison de diversité génétique entre des sites distants de 20

mètres (différentes profondeurs du même site) à plus de 2000 km, pourra nous fournir un aperçu sur la connectivité à l'échelle de la métapopulation. Nos résultats sur la génétique de l'espèce seront couplés à une investigation de l'histoire démographique qui pourrait avoir un impact sur la distribution de diversité génétique entre les différents bassins analysés. Un important échantillon traité dans cette étude est celui du bassin Sud-Ouest de la Méditerranée (Algérie), et qui pourra fournir des données importantes à titre comparatif par rapport aux études précédentes sur les espèces de la même famille que la gorgone jaune. Ainsi, notre travail comportera:

1- Développement d'outils moléculaires dans le but d'étudier la structure génétique d'une espèce sessile : amplification croisée (entre espèces) et développement de marqueurs microsatellites chez *Eunicella cavolini*. L'objectif de cette partie est d'employer les méthodes moléculaires depuis l'extraction d'ADN jusqu'à l'obtention d'une matrice de génotypes dédiée aux marqueurs utilisés. Ces marqueurs sont de type microsatellites. Certains ont été isolés de la même espèce mais pour étudier l'espèce congénère *Eunicella singularis* (Catanéo 2011). D'autres sont isolés de l'espèce *E. verrucosa* mais qui ont été testés avec succès sur un nombre réduit de gorgone jaune (Holland *et al.* 2013). D'autres microsatellites ont été développés ici à partir du transcriptome d'*E. cavolini* (Romiguiet *et al.* 2014; Annexe 1). Ces nouveaux marqueurs ne seront pas testés sur la totalité de nos échantillons, mais uniquement sur un nombre limité d'individus afin de pouvoir identifier ceux qui sont polymorphes et qui pourront être utilisés par la suite dans d'autres études.

2- Afin de tester si les populations analysées ont subi récemment des changements démographiques, nous allons tester deux approches différentes. Premièrement, l'hypothèse nulle d'équilibre de mutation dérive sous BOTTLENECK 1.2.02 (Piry *et al.* 1999), ainsi que la méthode MSVAR (Storz & Beaumont 2002; Storz *et al.* 2002) qui permet d'évaluer différents modèles démographiques et est conçue pour analyser les données microsatellites en fonction de différents modèles de mutation, afin de fournir des informations sur les changements de taille efficace dans le passé et qui auraient pu avoir un impact sur la diversité génétique actuelle et sa distribution entre les populations analysées.

Chapitre 2.
Diversité et structure génétique

1. Introduction.

Dans le contexte du changement global, la dynamique des espèces est couplée aux conséquences majeures de la dispersion et des capacités de recolonisation et d'adaptation (Almany *et al.* 2009; Mumby *et al.* 2011; Palumbi 2004; Shanks *et al.* 2003). La biodiversité marine souffre de diverses menaces telles que la pollution, la pêche, les activités de plongée sous marine et le changement climatique. Des populations de corail sont déjà fortement menacées par les événements de blanchissement (Glynn 1991; Goreau & Hayes 1994; Hoegh-Guldberg 1999; Kushmaro *et al.* 1997). Plusieurs espèces ont également été touchées par des anomalies thermiques qui ont conduit à des événements de mortalités massives en Méditerranée (Cerrano *et al.* 2000; Garrabou *et al.* 2009; Perez *et al.* 2000). Par conséquent, il est devenu essentiel d'étendre les stratégies de conservation appropriées pour les organismes marins. Cela nécessite de prendre en compte les capacités de dispersion et la structuration génétique des espèces concernées. La plupart des espèces marines possèdent des larves pélagiques qui peuvent disperser parfois sur de grandes distances, faisant face à des barrières au flux de gènes qui sont moins palpables dans l'environnement marin que dans le terrestre (Palumbi 1992, 1994). Les marqueurs génétiques apparaissent alors comme une méthode de choix pour étudier la connectivité des espèces marines (Selkoe & Toonen 2011). La connectivité génétique observée dans le milieu marin est influencée par l'interaction entre les facteurs physiques et biologiques. En effet, les modèles de distribution, les courants et les barrières physiques façonnent la structure génétique de l'espèce (Galarza *et al.* 2009; Patarnello *et al.* 2007). Mais la dispersion étudiée dépend aussi des capacités de dispersion intrinsèques telles que la durée larvaire pélagique, le différentiel de survie des larves ou extrinsèques comme les propriétés de l'habitat (Cowen & Sponaugle 2009; Dawson *et al.* 2014; Selkoe & Toonen 2011). L'étude de la structure génétique ainsi que de la répartition de la diversité génétique au sein ou entre les populations, donnent des éléments importants à des fins de conservation (Petit *et al.* 1998). Les niveaux de diversité génétique peuvent être différents entre les régions comme une conséquence des différences de tailles efficaces, de différence des niveaux de flux de gènes ou de l'histoire de la population tels que les conséquences des derniers événements glaciaires (Hewitt 2000). En effet, il y a 20 000 ans, le niveau de la mer se situait 120 mètres plus bas que le niveau actuel. Ceci implique que certaines grottes étaient émergées à l'époque et que toutes les populations étudiées au dessus de 120 mètres de profondeur sont issues de recolonisation post glaciaire. De manière analogue à ce qui a bien été étudié en milieu continental, ces processus de recolonisation ont pu affecter la diversité génétique actuelle des espèces marines, et ceci de manière différente entre bassins selon les possibilités régionales de persistance. Les différences

dans les niveaux de diversité génétique entre les bassins de la Méditerranée sont peu documentées, ceci est souvent lié au manque des échantillons comparés sur une longue étendue couvrant une variété de bassins de cette mer. Certaines études ont cependant démontré des niveaux variables de diversité selon les bassins considérés. Par exemple chez le sprat *Sprattus sprattus* de plus faibles niveaux de diversité génétique étaient observés en Adriatique et en mer Noire (Limborg *et al.* 2012) par rapport au reste de la Méditerranée. Un plus faible niveau de diversité génétique est aussi suspecté pour la gorgone rouge *P. clavata* en Méditerranée orientale par rapport à la Méditerranée occidentale, mais avec une seule population étudiée en Méditerranée orientale (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011).

Les octocoralliaires sont de bons modèles pour étudier la connectivité entre populations ainsi que les variations locales et régionales de diversité génétique. Ils peuvent présenter une différenciation génétique significative à courte distance (*C. rubrum*, Abbiati *et al.* 1993; Costantini *et al.* 2007a, b, 2010; Ledoux *et al.* 2010a, b; *P. clavata*, Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011; *Gorgonia ventalina*, Andras *et al.* 2013). Diverses ruptures génétiques ont été identifiées chez les octocoralliaires méditerranéens (Aurelle *et al.* 2011; Catanéo 2011; Costantini *et al.* 2007b; Ledoux *et al.* 2010b; Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). L'analyse comparative de ces structures serait utile pour mieux comprendre l'évolution de ces communautés (par exemple Wares 2002). Ces espèces présentent une lente dynamique des populations (Gotelli 1988; Lasker 1990; Linares *et al.* 2007; Santangelo *et al.* 2007) et elles sont considérées comme des espèces clés dans les assemblages benthiques dans la mer Méditerranée. En effet, après les prairies à *Posidonia oceanica*, les assemblages de coralligènes sont considérés comme le deuxième Hotspot de la biodiversité en Méditerranée (Boudouresque 2004). L'analyse de la structure génétique de ces espèces est alors utile pour mieux comprendre l'évolution de ces communautés (Wares 2002). Dans cette partie, nous allons étudier la structure génétique des populations de la gorgone jaune *Eunicella cavolini* (Koch 1887), l'une des espèces les plus fréquentes de gorgones dans la mer Méditerranée (Weinberg 1978). *Eunicella cavolini* a été fortement impactée par des événements de mortalités massives au cours des deux dernières décennies, avec des niveaux variables de nécrose des tissus en fonction de l'emplacement, la profondeur et les individus (Garrabou *et al.* 2009). Son aire de répartition est large, bien que fragmentée en termes d'abondance (Sini *et al.* 2014). Elle est présente sur les côtes ouest de la méditerranée (Algérie) jusqu'aux côtes est de la mer Egée, ainsi que la mer de Marmara (Topçu & Öztürk 2015). Néanmoins, sa répartition et ses caractéristiques écologiques dans différentes parties de la Méditerranée restent mal connues. En effet, l'étude démographique la plus étendue géographiquement sur son aire de

répartition (Sini *et al.* 2014) s'est focalisée uniquement sur les populations vivant de 0 à 40 m de profondeur, et a pu révéler des variabilités concernant les densités, les tailles des individus ainsi que les limites de profondeur entre la mer Egée et le nord-ouest de la Méditerranée ainsi que l'Adriatique. La limite supérieure de distribution est à ≤ 15 m ou moins profond dans la Méditerranée (avec des populations qui apparaissent à 5 m de profondeur en France et sur la côte est de l'Adriatique), et s'étend à plus de 30 m de profondeur dans le nord de la mer Egée (Sini *et al.* 2015). Son écologie est abordée dans un nombre limité d'études (Bavestrello & Boero 1986; Russo 1985; Velimirov 1973, 1975, 1976; Weinbauer & Velimirov 1995a,b; Weinbauer & Velimirov 1996a,b; Weinberg 1980). Les investigations actuelles traitent principalement les effets des événements de mortalité de masse et soulèvent généralement les limites posées par l'absence de données génétiques et démographiques suffisantes comme bases critiques pour l'évaluation rigoureuse des populations menacées. Jusqu'à présent, il n'y avait pas de données génétiques étendues sur cette espèce en raison d'un manque de marqueurs moléculaires adéquats. (Calderón *et al.* 2006). L'absence de polymorphisme dans le gène mitochondrial Cytochrome Oxydase I (mtCOI) ainsi que la variabilité intragénomique observée dans le cas des ITS de l'ADN ribosomique nucléaire n'ont pas permis d'étudier la structure génétique de cette espèce à l'échelle du nord-ouest de la Méditerranée (Calderón *et al.* 2006). Ainsi, l'utilisation de marqueurs assez variables tels que les microsatellites s'imposent pour étudier la structure génétique de cette espèce longévive dans la perspective de développer des stratégies de conservations.

L'objectif principal de cette partie est d'analyser le lien entre la distance géographique, les barrières océanographiques potentielles et la structure génétique de la gorgone jaune. Nous étudierons également la répartition de la diversité génétique et de la connectivité entre populations. Par comparaison avec des études antérieures sur les octocoralliaires méditerranéens, nous visons à mieux comprendre la structuration génétique de ces communautés et notamment tester si des patrons communs de structure génétique peuvent être observés qui révéleraient des limites extrinsèques aux flux de gènes. Nous utilisons sept locus microsatellites et un échantillonnage de 19 populations peu profondes séparées par un intervalle de vingt mètres à environ 2700 kilomètres afin de répondre à deux objectifs principaux (1) l'estimation de la connectivité entre les différentes populations issues de différentes régions de la mer Méditerranée afin d'évaluer les capacités de dispersion, (2) d'étudier la distribution de la diversité génétique et la structure de la population de cette espèce à l'échelle de la Méditerranée.

2. Matériel et méthodes.

2.1. Modèle biologique : La gorgone jaune de Méditerranée *Eunicella cavolini*

La gorgone jaune *E. cavolini* (Koch 1887), est un cnidaire octocoralliaire de la famille des Gorgoniidae. C'est une espèce sciaphile de la biocénose coralligène. Ses colonies se ramifient généralement dans un seul plan (Fig. 6), qui fait face au courant dominant pour que les polypes puissent piéger les particules alimentaires vivantes ou inertes. Le taux de croissance varie entre les colonies, et est observable par une croissance différentielle entre les populations qui vivent sur des substrats abrités, intermédiaires ou très exposés aux courants marins. D'après Weinbauer & Velimirov (1996), les colonies d'habitats extrêmement abrités et celles des habitats très exposés présentent un réseau d'arborescence étroit et poreux avec de longues branches et peu de ramifications, contrairement aux colonies d'habitats intermédiaires fortement ramifiées à faible valeurs de porosité (Fig. 7). L'intensité des courants d'eau, vecteurs de matières en suspension, est discutée comme une force potentielle influençant la croissance et la grandeur d'arborescence. Comme les autres gorgones, cette espèce fournit une grande diversité d'habitats pour d'autres organismes. *E. cavolini* est une espèce coloniale et gonochorique avec une fécondation interne. Des observations en aquarium sur l'espèce congénère *Eunicella singularis* suggèrent que la phase larvaire libre durerait de quelques heures à quelques jours (Weinberg & Weinberg 1979). D'après Sini *et al* (2014), les populations du nord-ouest de la Méditerranée sont denses, dominées par de petites colonies (<20 cm), et ont un recrutement périodique avec une faible proportion de grandes gorgones (>30 cm). Dans l'Adriatique, *E. cavolini* présente des densités intermédiaires, avec des populations bien structurées, et un recrutement continu. Par ailleurs, la plupart des populations présentent de faibles densités dans la mer Egée avec une forte proportion de grandes colonies contre un faible nombre de petites colonies, suggérant un recrutement limité.

Classification

Règne : *Animalia*

Embranchement : *Cnidaria*

Classe : *Anthozoa*

Famille : *Gorgoniidae*

Genre : *Eunicella*

Espèce : *Eunicella cavolini*

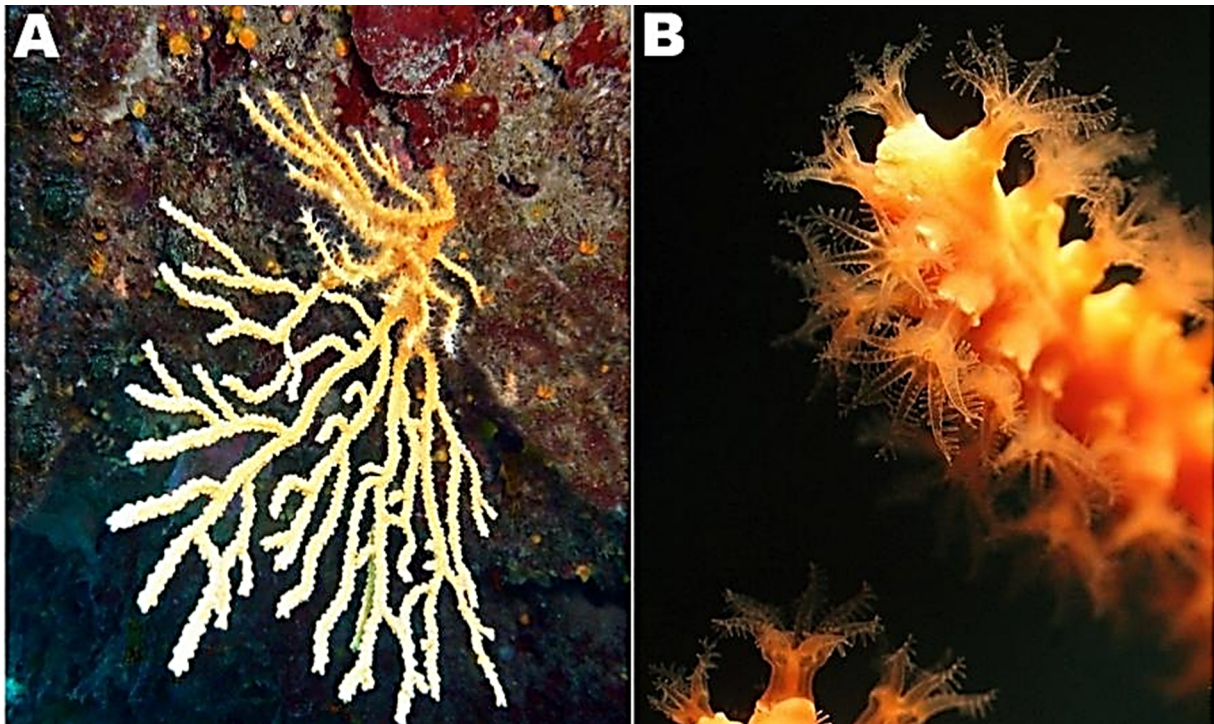


Figure 6. A: individu d'*Eunicella cavolini* des cotes Algériennes (Kiane-Annaba). B: Polypes protubérants (<http://doris.ffessm.fr>).

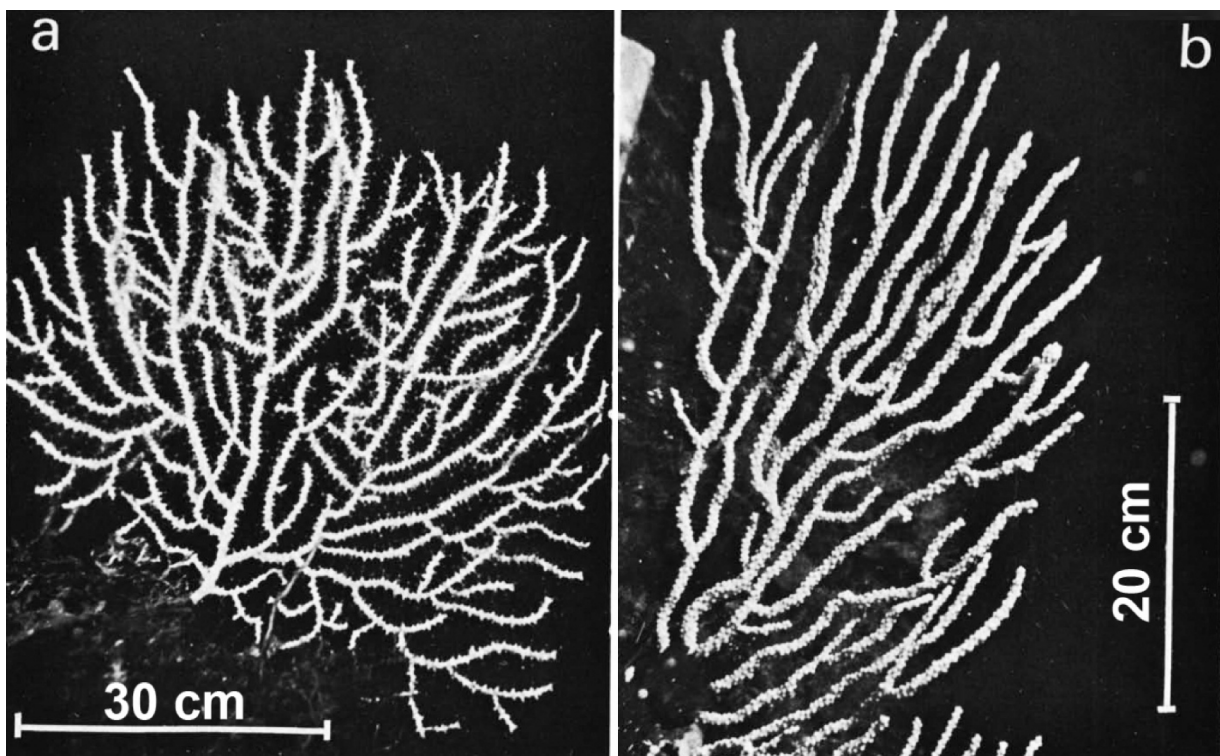


Figure 7. a: *Eunicella cavolini* de zone abritée (polypes protubérants), b: *E. cavolini* de zone exposée (polypes rétractés) (Weinbauer & Velimirov 1996, modifiée).

2.2. Outils moléculaire

2.2.1. Les microsatellites

Les microsatellites ou (STR: "short tandem repeats") sont des séquences d'ADN constitués de séquences de di-, tri- ou tétra-nucléotides répétés en tandem. Les microsatellites sont nommés selon le nombre de bases dans une répétition. On parle de dinucléotides quand on a une répétition d'un motif de deux bases (ex : GC), de trinucleotides quand le motif est fait de trois bases (ex : TTC), et ainsi de suite.

Les microsatellites peuvent être présents en différents endroits du génome d'une espèce et ils présentent un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme de longueur est lié à la présence d'insertions – délétions (indels) de plus ou moins grande taille et de répétitions d'un seul nucléotide. Les mutations sont notamment liées à des erreurs lors de la réplication de l'ADN ou à des "crossing-overs" inégaux. Le polymorphisme peut être observé chez un individu, qu'on nomme hétérozygote. Dans un taxon diploïde, un allèle différent est hérité de chaque parent et donc deux allèles de différentes longueurs peuvent être détectés. Quand le même allèle est hérité de chaque parent, on parle d'individu homozygote, et donc les deux gènes portent un microsatellite de longueur identique.

Les avantages des microsatellites, justifiant leur utilisation grandissante, sont multiples:

- leur présence dans de nombreux génomes animaux et végétaux.
- la neutralité potentielle (mais certains locus microsatellites sont dans des zones codantes, et certains sont liés à des maladies génétiques chez l'homme).
- la codominance (l'héritage des deux parents peut être inféré. Distinction des homozygotes et des hétérozygotes).
- le fort taux de polymorphisme.
- besoin de peu d'ADN pour l'analyse moléculaire après PCR.

Mais quelques problèmes, surtout d'ordre pratique, limitent tout de même l'utilisation de ces marqueurs :

- caractérisation longue des microsatellites (par clonage et séquençage), mais les NGS permettent d'avancer plus rapidement sur ce point,
- présence potentielle d'allèles nuls interférant dans l'analyse des données,

La variation entre les allèles d'un même gène peut être déduite entre les individus, la mesure de variation allélique de microsatellites ainsi que l'évaluation de leur fréquence à l'intérieur et entre les populations d'une même espèce peut donner une mesure statistiquement inférée de la divergence.

L'usage des approches génétiques, et par conséquent des microsatellites est devenu essentiel dans le domaine de recherche scientifique. Le fait que cet outil moléculaire ait la capacité de fournir des informations inaccessibles au terrain, permet aux investigateurs de faire appel à des méthodes indirectes d'estimation de connectivité, et ce, dans le but de bien aménager des stratégies de conservation pour les espèces menacées. Au cours des dernières années, les approches de génétique de la conservation sont de plus en plus appliquées aux espèces marines menacées à l'échelle globale ou locale. Les organismes se font de plus en plus touchés par différents impacts qui résultent en une énorme baisse des stocks, que ce soit pour les poissons, ou même les invertébrés. L'étude de la structure génétique permet d'examiner les voies de migration, et par conséquent, fournit un aperçu sur les capacités de dispersion et éventuellement sur le potentiel de recolonisation en cas d'extinction locale. De nombreuses études ont employé les microsatellites dans ce contexte, à savoir les poissons (le thon rouge de l'Atlantique *Thunnus thynnus*, Carlsson *et al.* 2004; le saumon d'Atlantique *Salmo salar*, Griffiths *et al.* 2011), la morue (*Gadus morhua*, Glover *et al.* 2010), les invertébrés (la seiche *Sepia officinalis*, Wolfram *et al.* 2006 ; l'ormeau *Haliotis rubra*, Miller *et al.* 2009; et les crabes araignée *Maja brachydactyl*, Sotelo *et al.* 2008), et les octocoralliaires (*E. singularis*, Catanéo 2011; *C. rubrum*, Ledoux *et al.* 2010a,b; *P. clavata*, Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011; *E. verrucosa* et *Alcyonium digitatum*, Holland 2013).

2.2.2. La PCR

La PCR (réaction de polymérisation en chaîne) consiste en l'amplification exponentielle d'un fragment d'ADN spécifique. La création de copies multiples se fait à l'aide de deux amorces spécifiques (petites séquences oligonucléotidiques entre 20 et 30 nucléotides de long) et d'une enzyme qui est la Taq ADN polymérase. Cette technique permet de repérer un fragment d'ADN précis (ici les microsatellites), même présent en quantité infime dans un mélange, puis de le multiplier rapidement et de manière exponentielle. Il s'agit d'une répllication in vitro de séquence spécifique d'ADN dite d'intérêt ou ADN cible à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel).

La PCR utilise de manière répétitive la propriété des ADN polymérases de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir de l'extrémité 3'OH d'une amorce. La PCR repose sur trois étapes qui sont indispensables pour toute synthèse d'ADN et qui sont répétées plusieurs fois : dénaturation de l'ADN matrice, hybridation des amorces à l'ADN cible dénaturé et élongation des amorces par l'ADN polymérase. Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un mélange réactionnel qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. Les variations de températures sont assurées par un thermo-Cycler. La quantité d'ADN étant multipliée par deux à chaque cycle, au fil des cycles la quantité d'ADN va augmenter de façon exponentielle. On obtient, théoriquement 2^n copies de la séquence cible pour n cycles (Fig. 8). Cette réaction nécessite des oligonucléotides (amorces) qui vont s'hybrider avec les extrémités 3' de la portion de la séquence à amplifier, des nucléotides ou dNTP (désoxyribonucléotidetriphosphates: dATP, dGTP, dTTP, dCTP), un milieu réactionnel contenant une concentration précise en magnésium sous forme de $MgCl_2$ qui est un cofacteur enzymatique, ainsi que le tampon de réaction. L'enzyme assurant l'amplification est une ADN polymérase (la Taq DNA polymérase) issue de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus*.

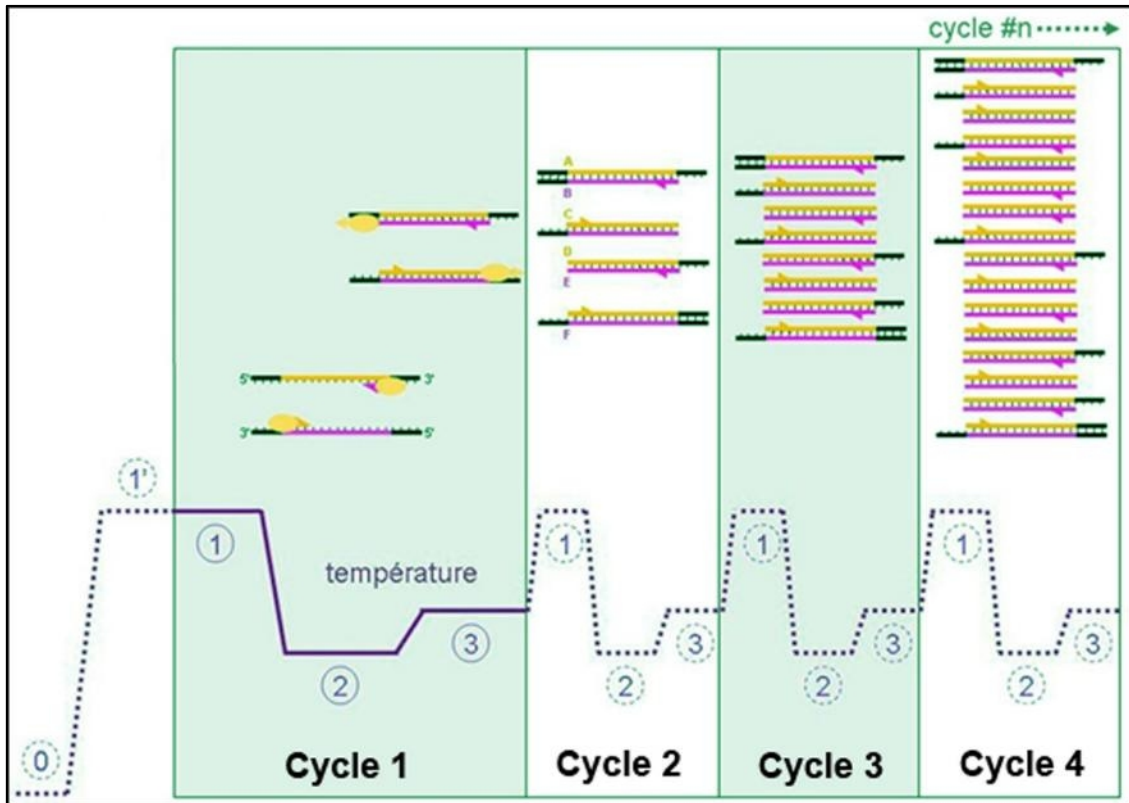


Figure 8. Cycles de PCR et duplication exponentielle du fragment d'ADN (<https://fr.wikipedia.org>)

2.3. Méthodes statistiques et analyse moléculaire

La diversité génétique au sein des populations a été analysée à deux niveaux : la variabilité intra-population et la variabilité inter-population. Le but de cette approche était de caractériser, à l'aide d'un ensemble de paramètres, la variabilité et la proximité génétique des populations. Dans ce travail, on a utilisé la loi de Hardy-Weinberg pour tester si une population est en panmixie. Cette méthode est basée sur la comparaison des effectifs de génotypes observés avec les effectifs de génotypes théoriques en panmixie.

2.3.1. Diversité génétique intra-population

Pour décrire la diversité génétique intra-population, différents paramètres sont estimés pour chaque locus et une moyenne est prise sur tous les locus.

2.3.1.1. Taux de polymorphisme (P)

C'est le pourcentage de locus polymorphes dans un échantillon analysé. La probabilité d'observer au moins deux allèles à un même locus dépend des fréquences respectives des allèles et aussi de la taille de l'échantillon. Une population sera dite polymorphe au seuil 0,95 pour un locus donné, si la fréquence allélique de l'allèle le plus fréquent est inférieure à 0.95, hypothèse considérée dans le présent travail.

2.3.1.2. Nombre moyen d'allèles par locus

Le nombre moyen d'allèles par locus (A), appelé également taux d'allélisme ou richesse allélique, est défini pour n_i allèles au locus i et pour L locus comme :

$$A = \frac{1}{L} \sum_{i=1}^L n_i$$

Exemple : pour 7 locus utilisés dans cette étude, ayant respectivement (12, 15, 14, 28, 40, 8, et 14 allèles), nous avons :

$$A = (12+15+14+28+40+8+14) / 7 = 18,71$$

2.3.1.3. Taux d'hétérozygotie (H_{obs} et H_{exp})

L'hétérozygotie peut être calculée à partir de la fréquence mesurée des hétérozygotes (nombre des individus hétérozygotes divisé par le nombre total des individus de l'échantillon). De même, dans une population en équilibre panmictique, la fréquence théorique

des hétérozygotes H_{exp} (expected heterozygosity) à un locus donné peut être calculée à partir des fréquences alléliques selon la formule :

$$1 - \sum p_i^2$$

Où p_i est la fréquence du $i^{\text{ème}}$ allèle à ce locus.

Le taux moyen d'hétérozygotie est un indice de diversité génétique dont la valeur numérique dépend du nombre de locus polymorphes et de la structure génotypique de chacun d'eux. Nei (1978) propose d'utiliser un estimateur ou la diversité génique non biaisé (H_{nb}) lorsque le nombre d'individus testés est faible. Cet estimateur se définit comme étant la probabilité de tirer, au hasard, deux allèles différents à un même locus. L'hétérozygotie non biaisée est calculée selon la formule :

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

Où n est le nombre d'individus analysés.

2.4.1.4. Indice de fixation (Fis)

Le paramètre Fis de Wright, dénommé aussi indice de fixation est appelé auparavant coefficient de consanguinité (Wright 1969). Ce paramètre mesure l'écart entre la proportion observée d'individus à l'état hétérozygote (H_{obs}) et le taux d'hétérozygotie attendu (H_{exp}), il est calculé selon la formule :

$$F_{is} = (H_{exp} - H_{obs}) / H_{exp} = 1 - (H_{obs}/H_{exp})$$

L'indice de fixation est l'écart à la structure de Hardy-Weinberg, il varie de -1 à +1 et permet de connaître le déficit en hétérozygotes par population, par locus et pour l'ensemble des locus. F est positif quand la population présente un déficit en hétérozygotes par rapport à l'équilibre panmictique et négatif dans le cas contraire.

2.4.2. Diversité génétique inter-populations

2.4.2.1. Distance génétique (D)

La distance génétique entre deux échantillons est définie en se basant sur les fréquences alléliques. Les degrés de ressemblance et de dissemblance entre eux peuvent être évalués.

Nei (1972) a proposé un calcul de distance qui repose sur la notion d'identité génétique I :

$$l = P_x / (P_x P_y)$$

Où :

P_x : La probabilité d'identité de 2 allèles pris au hasard au sein de la population X.

P_y : La probabilité d'identité de 2 allèles pris au hasard au sein de la population Y.

P_{xy} : La probabilité d'identité de 2 allèles pris au hasard, l'un dans X et l'autre dans Y.

Pour plusieurs locus on calcule la moyenne des probabilités sur l'ensemble des locus étudiés.

La distance génétique est :

$$D = -\log l$$

2.4.2.2. Différenciation génétique (F-statistiques)

Il existe trois niveaux de complexité dans une population subdivisée : les individus, les sous-populations et la population totale. La structuration génétique au sein d'un ensemble de populations a d'abord été décrite par les statistiques F de Wright (1965) au niveau allélique. Elle a été généralisée au niveau d'un locus puis d'un ensemble de locus par Nei (1972, 1978). Le coefficient de différenciation génétique entre populations G_{ST} est défini de la manière suivante au niveau d'un locus :

$$G_{ST} = 1 - HS/HT$$

Où HS est la moyenne (sur toutes les populations) des hétérozygoties attendues intra-populations; HT est l'hétérozygotie attendue en panmixie sur l'ensemble des populations considérées comme une population unique (diversité totale). Quand plusieurs locus sont pris en compte, HS et HT sont les moyennes (sur l'ensemble des locus) des diversités intra-populations et totale.

2.5. Prélèvements

Dans la présente étude, cinq cent quatre-vingt-quatre individus de la gorgone jaune *Eunicella cavolini* ont été recueillis dans 19 sites de la mer Méditerranée. Plusieurs régions et sites par région ont été pris en considération afin de couvrir la majeure partie de l'aire de répartition de l'espèce et de permettre l'étude de la structure génétique à des distances qui varient de 20 m à ~ 2704 km dans la mer Méditerranée. Les principales régions considérées ici sont l'Algérie, la Corse, les Iles Baléares, la France et la Turquie (Fig. 9). Des échantillons provenant de France comprenaient des spécimens issus de différentes profondeurs, 20 m et 40 m, sur les mêmes sites (VED / VES, MEJ / MJS, RIS / RID) (Fig. 9). De petits fragments (3 à 5 cm) ont été prélevés au hasard (environ 30 colonies échantillonnées par site), puis conservés dans de l'éthanol 95 % à -20 ° C pour une utilisation ultérieure.

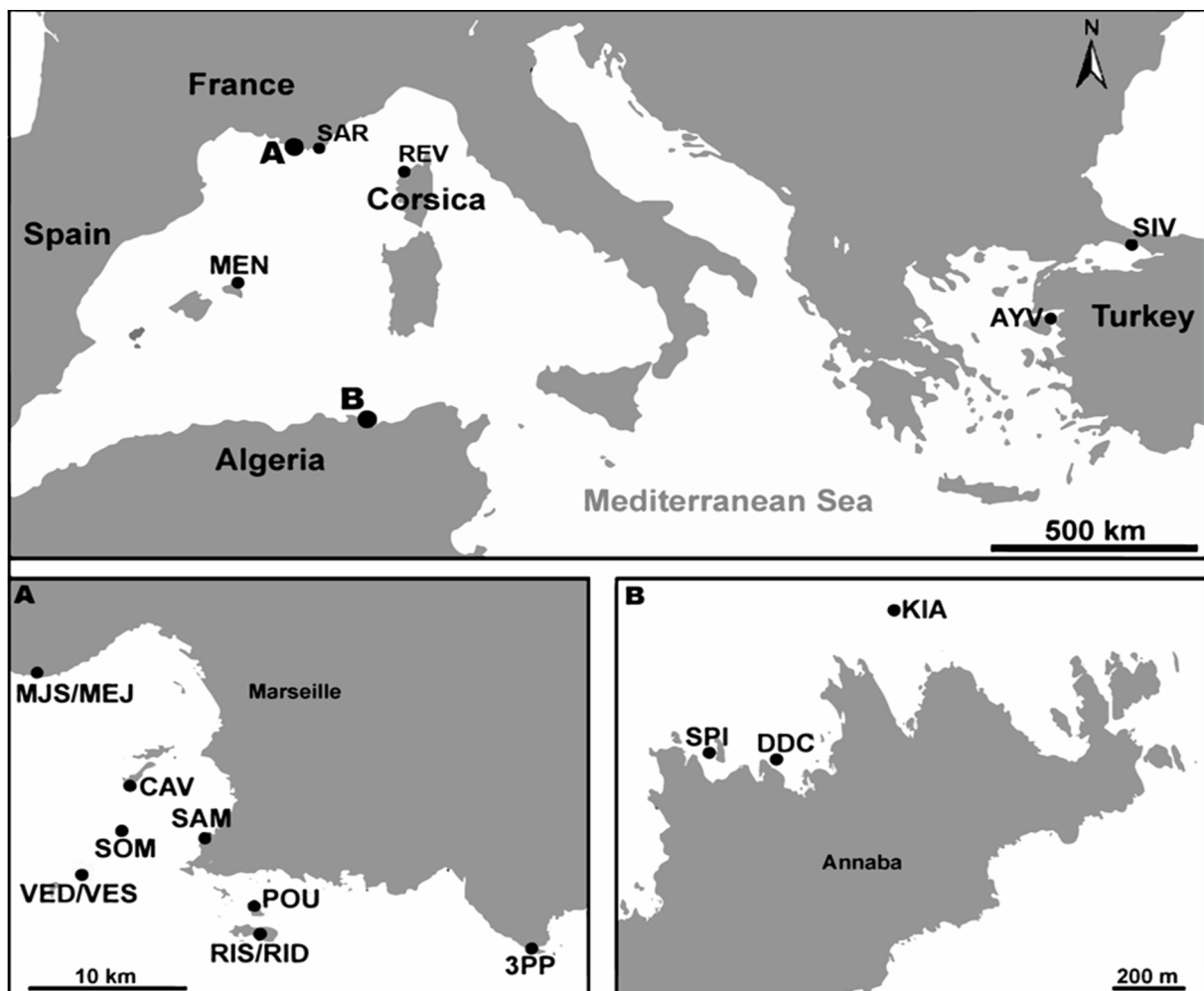


Figure 9. Carte des 19 sites d'*Eunicella cavolini* (site à l'échelle de la Méditerranée). (A) les individus échantillonnés sur deux profondeurs d'un même site dans la région Française sont séparés par un slash. (B) échantillons de la région Algérienne (points noirs).

2.6. Les marqueurs moléculaires

L'ADN génomique total a été extrait à l'aide de deux méthodes: soit le kit QIAamp® DNA Mini (Qiagen) en suivant les instructions du fabricant, et une procédure de SEL "salting out" (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). Tous les individus ont été génotypés à sept locus microsatellites: C21, C30, C40, S14, Mic56, Ever007, Ever009 (Holland *et al.* 2013; Molecular Ecology Resources Development Primer Consortium *et al.* 2010).

2.6.1. Amplifications croisées à partir d'autres espèces d'*Eunicella*

Nous avons testé des locus développés pour l'étude d'*E. singularis* et *E. verrucosa*. Les locus C21, C30, C40, S14 ont été développés pour l'étude d'*E. singularis* (Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium *et al.* 2010). Le locus S14 a été développé à partir du génome d'*E. singularis*, alors que les locus C21, C30 et C40 ont été développés à partir d'*E. cavolini* mais n'ont pas été testés chez cette espèce. Nous avons également testé les quatre derniers locus sur *E. verrucosa* sur un échantillon de 30 individus dans la région Algérienne (Hauffman, 36 ° 57'N 7 ° 47'E) (Annexe 1).

Les locus Ever007 et Ever009 ont été développés à partir de séquences génomiques d'*E. verrucosa* par Holland *et al.* (2013). Les auteurs ont testé ces locus sur 10 et 12 individus d'*E. cavolini* pour Ever007 et Ever009 respectivement.

Le Locus Mic56 a été identifié par le séquençage d'un intron du gène Glutamyl-prolyl-ARNt-synthétase. Cet intron (comprenant le microsatellite) a été séquencé avec les amorces i56 développées par Chenuil *et al.* (2010). Les températures d'hybridation ainsi que les caractéristiques des locus sont décrits dans le (Tab. 2).

Tableau 2. Caractéristique des microsatellites: séquences des amorces (F: forward, R: reverse), motif de répétitions (inter: interruptif), fluorochrome utilisé, rang de taille des allèles observés. Températures d'hybridation pour la PCR. Référence: origines des locus (MER 2010 réfères à Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium *et al.* 2010).

Locus	Séquence des amorces (5'-3')	motif de répétitions	Fluo-Label	T° Hybridation	Rang de taille des allèles obs (bp)	Référence	Isolés de	GenBank code d'accès
C21	F:TGGGATGTCAAGTGGTTTTCAAG R:CCGGTTTCAGGTTTCATGCC	(AAT) ₁₀	6FAM	55°	181-199	MER 2010	<i>E. cavolini</i>	-
C30	F:TCAGCCCGAGTTGTTGAGGC R:ACGTAGCACCATAGTACCG	(ATGT) ₅	NED	62°	170-202	MER 2010	<i>E. cavolini</i>	-
C40	F:AGATGAGAAAGGACGGTCGG R:CACCAGCAACAACAACACTGC	(GTT/GCT) ₂₄ inter	NED	60°	265-296	MER 2010	<i>E. cavolini</i>	-
S14	F:TTGAAGGTGTGAACAACACTACGG R:CTGGCTGGCTGTTGCTG	(AAC) ₁₇ inter	PET	64°	146-256	Catanéo <i>et al.</i> 2011	<i>E. singularis</i>	-
MIC56	F:TCTCATCAGATATTYTGATATRCA R:AACAAGGTAAAAACACGGCATGCC	(CTT) ₁₄₈	VIC	56°	220-532	cette étude	<i>E. cavolini</i>	KP780074
EVER007	F:GGTAACAACTTAGCACAGC R:GCTAATAATGAGCCAATCACCC	(GA) ₁₀	6FAM	Multiplex 57°	225-240	Holland <i>et al.</i> 2013	<i>E. verrucosa</i>	-
EVER009	F:ATACAAGTTCTGGTGGCATGG R:CCCTCCTGTAAATCAGCATATTG	(AATC) ₈	6FAM	Multiplex 57°	93-120	Holland <i>et al.</i> 2013	<i>E. verrucosa</i>	-

2.6.2. Protocole d'extraction de l'ADN génomique en utilisant le Kit Qiagen

Les individus ont été traités de la manière suivante:

1) Un fragment de 1 à 2 cm est coupé et placé dans un microtube 2 mL « safe-lock ». On y rajoute une bille de broyage et 180 μ L de tampon ATL (tampon de lyse). Le broyage des fragments permettra d'assurer une lyse plus efficace des tissus. Des essais ultérieurs ont montré que l'on peut également réaliser directement la lyse sur un petit fragment de gorgone sans broyage préalable.

2) 20 μ L de Protéinase K sont ajoutés, le tout est mélangé à l'aide d'un Vortex et incubé à 56°C dans le Thermomixeur pour une durée de 2h, jusqu'à la lyse complète du tissu. Au cours de l'incubation, il est nécessaire de mélanger au vortex de temps à autre pour homogénéiser l'échantillon. Une fois les fragments sont lysés, le liquide est transvasé dans un nouveau tube (retirer la bille).

3) Le mélange est de nouveau agité à l'aide d'un vortex pendant 15s, puis 200 μ L de tampon AL sont ajoutés à l'échantillon qui est mélangé rigoureusement en vortexant afin d'obtenir une solution homogène qui sera incubée 10 min à 70°C.

4) 200 μ L d'éthanol absolu sont ajoutés pour précipiter l'ADN, le mélange éthanol et tampon AL est vortexé rigoureusement. Un précipité blanc peut se former après l'ajout de l'éthanol.

5) Le mélange obtenu est versé dans la colonne DNeasy placée dans un tube collecteur de 2 mL. Cette colonne est centrifugée pendant 1 minute à $6000 \times g$ (8000 rpm) afin de fixer l'ADN sur le filtre. Après centrifugation, l'éluat et le tube collecteur sont jetés.

6) La colonne DNeasy est alors placée dans un nouveau tube collecteur de 2 mL. L'ADN est lavé en ajoutant 500 μ L du tampon AW1 dans la colonne. La colonne est centrifugée 1 minute à $6000 \times g$ (8000 rpm), encore une fois l'éluat et le tube collecteur sont jetés.

7) La colonne est placée dans un nouveau tube collecteur de 2 mL et 500 μ L de tampon AW2 sont ajoutés pour un second lavage. La colonne est centrifugée pendant 3 minutes à $20.000 \times g$ (14000 rpm) afin de sécher la membrane DNeasy des deux tampons AW1 et AW2 utilisés pour le lavage de l'éluât. Après centrifugation, l'éluat et le tube collecteur sont jetés et la colonne DNeasy doit être retirée avec précaution afin d'éviter une contamination par l'éthanol.

8) La colonne DNeasy est placée dans un nouveau tube propre de 2 mL et 200 μ L de tampon AE est ajouté directement sur la membrane DNeasy. Après une incubation d'une minute à température ambiante, l'ADN est élué par centrifugation 1 minute à $6000 \times g$ (8000 rpm).

9) la dernière étape d'éluion est répétée afin d'obtenir un volume final de 400 μ l d'ADN.

2.6.3. Extraction ADN précipitation par les sels

Prélever un fragment de 1 à 2 cm de colonie d'*E. cavolini*.

Laisser évaporer l'alcool en incubant quelques minutes à 56°C.

Ajouter 600 μ L de tampon TNES.

Ajouter 20 μ L de protéinase K (20mg/mL).

Laisser incuber à 56°C 2h à toute la nuit.

Ajouter 166.7 μ L de NaCl (6M).

Centrifuger 15 min à 10 000 g (étape de précipitation des protéines).

Récupérer le surnageant et le transférer dans de nouveaux tubes.

Ajouter 780 μ L d'alcool absolu à froid (Ethanol 100%).

Ajouter 78 μ L d'Acétate de Sodium (3M pH 7).

Centrifuger 15 min à 13 000 g (étape de précipitation de l'ADN).

Éliminer l'alcool en prélevant avec la pipette.

Ajouter 780 μ L d'Ethanol 70% (étape de lavage).

Centrifuger 15 min à 13 000 g.

Éliminer l'alcool en prélevant avec la pipette.

Laisser sécher à l'air libre en recouvrant de papier aluminium.

Si besoin incuber quelques minutes à 56°C.

Ajouter 200 μ L d'H₂O milliQ.

Vortexer.

Centrifuger rapidement.

Incuber quelques instants à 56°C.

2.6.4. Préparation du mélange réactionnel de PCR

- Tampon 5X : 2 μ L
- dNTP (5mM) : 1 μ L
- MgCl₂ (25mM) : 1 μ L
- Amorce « sens » (10 μ M) : 0,5 μ L
- Amorce « anti-sens » (10 μ M) : 0,5 μ L
- Eau : 3,95 μ L*
- TaqPolymerase (5U/ μ L) : 0,05 μ L

*Quantités multipliées par le nombre de puits + 10 %

Dans chaque puits

→ 1 μ L d'ADN

→ 9 μ L de Mix

2.7. Analyse de l'ADN génomique

2.7.1. Migration de l'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose

La technique d'électrophorèse sur le gel d'agarose permet de visualiser l'ADN extrait sous la forme de bandes ayant migré dans un champ électrique, en fonction de leur taille. Les acides nucléiques chargés négativement migrent vers l'anode.

- Préparation des gels

0,7 g d'agarose sont fondus à ébullition dans 50 mL de tampon d'électrophorèse TAE 10x. Le bromure d'éthidium (BET) est rajouté pour permettre la visualisation des bandes d'ADN grâce à la fluorescence rouge-orangé du complexe acides nucléiques-BET excité par la lumière ultraviolette (312nm). Après refroidissement, le gel est coulé dans la cuve à électrophorèse. Une fois pris en masse dans la cuve, il est recouvert de tampon d'électrophorèse (TAE 1X).

Les échantillons sont lestés par du bleu de charge (4 μ L d'ADN + 2 μ L de bleu de charge) et déposés dans les puits du gel (Fig. 10) dont l'un contient de l'ADN utilisé comme marqueur de taille (1kb DNA ladder). Le bleu de bromophénol contenu dans le tampon de charge, migre comme un fragment de 200 pb et permet de suivre la progression de l'électrophorèse. Le gel est par la suite photographié sur une table UV.

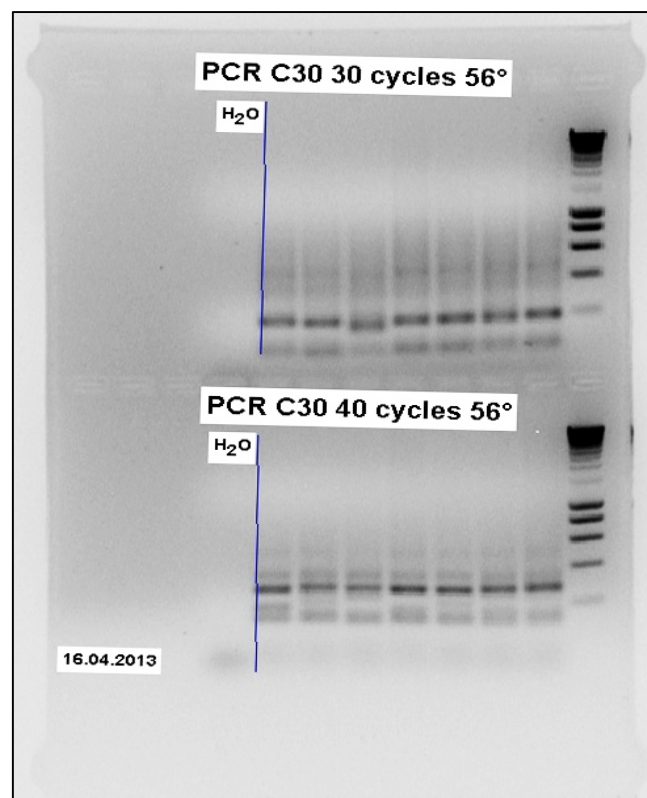


Figure 10. Migration sur gel d'agarose : PCR C30 C40 (test 56°) 16.04.13

2.7.2. Genotypage (séquençage)

Dans une analyse typique de microsatellite, les locus microsatellites sont amplifiés par PCR en utilisant une amorce fluorescente (Forward ou Reverse). Les amplicons PCR sont séparés par taille à l'aide d'une électrophorèse; puis les produits marqués par la fluorescence sont identifiés sous le séquenceur ABI 3130 en utilisant le marqueur de taille GeneScan 600 LIZ (Applied Biosystems), qui permet de reprendre la migration sur un moniteur. Ainsi, les tailles en pb des différents allèles de microsatellites sont estimées à l'aide du logiciel GeneMapper v.4.0 (Applied Biosystems). Les techniques essentielles à la lecture de nos génotypes sont décrites dans l'annexe 2.

2.8. Calcul et analyses statistiques

Les données de génotypage sont compilées dans une matrice de 584x7 cases, correspondant aux allèles de chaque locus pour chaque individu. Certaines données sont manquantes de la matrice finale suite à la difficulté et/ou l'impossibilité de réussir toutes les étapes nécessaires à l'acquisition (mauvaise extraction ou mauvaise amplification). Afin d'éviter le biais de la croissance clonale et son influence sur le patron de distribution spatiale de la variabilité génétique, les génotypes en double ont été identifiés sous GENCLONE 2.0 (Arnaud-Haond & Belkhir 2007). Ceci permet de calculer le nombre de génotypes multilocus distincts (MLG) par échantillon (G) et la richesse génotypique $R = [(G-1) / (N-1)]$ (Dorken & Eckert 2001). Les doublons qui se produisent dans la même population sont éliminés, résultant en un effectif total de 575 individus de 19 sites. Le tableau S1 (Annexe 3) montre les individus exclus des calculs.

2.8.1. Fréquences alléliques

Avant d'entamer les analyses statistiques, les fréquences alléliques sont représentées sur les graphes (Annexe 3) pour chaque locus afin de pouvoir illustrer la distribution des différents allèles par populations et par région. Ceci permet d'avoir un aperçu sur les allèles partagés entre les populations, ainsi que les allèles rares (présents en fréquence élevée dans une région et complètement absents dans une autre).

La présence d'allèles nuls ainsi que les erreurs de lecture, qui pourraient biaiser les résultats de différenciation entre populations ont été vérifiés en utilisant MICRO-CHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004). L'analyse est lancée sous le mode (population par population), avec 1000 itérations et un seuil de confiance de 95%.

2.8.2. La richesse allélique

Le nombre d'allèles dans un échantillon (la richesse allélique) est une mesure fondamentale de la diversité génétique. Cependant, cette mesure est difficile à utiliser vu que les grands échantillons devraient contenir plus d'allèles que les petits échantillons. La technique statistique de raréfaction sous le logiciel HP-Rare (Kalinowski 2005) compense cette disparité et a été utilisée pour estimer la richesse allélique [$A_r(g)$] et la richesse allélique privée [$A_p(g)$] avec une analyse expansive et une taille minimale de l'échantillon égale à 18.

Afin de tester les différences de diversité génétique et de richesse allélique entre les différentes régions analysées, le test de probabilité unilatérale a été utilisé sous FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 2001). Les régions ainsi comparées sont définies de l'analyse de regroupements génétiques.

2.8.3. Le déséquilibre de liaison

Le déséquilibre de liaison mesure l'association statistique entre allèles observés à deux sites polymorphes du génome. L'association dépend de la distance physique qui sépare ces deux sites, mais aussi des propriétés génomiques de la région considérée (taux de recombinaison local, taux de mutation) et de l'histoire évolutive de l'espèce ou de la population étudiée (goulots d'étranglement, expansion démographique, mode de reproduction). Le déséquilibre de liaison a été testé entre toutes les paires de locus dans toutes les populations en utilisant GENETIX v.4.05 (Belkhir *et al.* 1996) avec un test de permutation ($n = 1000$). Les valeurs de P pour chaque comparaison sont vérifiées au seuil de 5%.

2.8.4. Analyse moléculaire de variance

L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) est l'un des outils utilisés pour l'étude de la structure des populations. C'est une analyse qui permet d'étudier la variabilité intra et inter populations. Ainsi, trois indices de fixation ont été utilisés pour analyser nos échantillons sous le logiciel Arlequin v3.5 (Excoffier & Lisher 2010), et sont :

F_{CT} : pour évaluer le niveau de structuration entre les groupes choisis;

F_{SC} : pour évaluer le niveau de structuration entre populations à l'intérieur du groupe;

F_{ST} : pour évaluer le niveau de structuration entre populations.

2.8.5. Comparaison par paire de populations et isolement par la distance

Lorsque les populations sont significativement différenciées, les estimations de F_{ST} peuvent être biaisées en présence d'allèles nuls. La méthode excluant les allèles nuls (ENA)

intégrée dans FreeNA (Chapuis & Estoup 2007) a été utilisée pour calculer les valeurs F_{ST} par paire de population pour éviter les biais potentiels dans les estimations de la différenciation génétique. Dans tous les cas, et pour les tests multiples effectués, les niveaux de significativité ont été corrigés à l'aide du test (FDR) avec un seuil de confiance 5% (Benjamini & Hochberg 1995).

Le modèle d'isolement par la distance (IBD) a été analysé à l'échelle de la Méditerranée et au sein de la région de France (suite au nombre important d'échantillons dans cette région). On a estimé la corrélation entre $F_{ST} / (1-F_{ST})$ et le logarithme de la distance géographique (distance la plus courte par voie maritime) entre les populations (Rousset 1997). Les distances géographiques ont été mesurées sur GOOGLE EARTH comme la plus courte distance entre sites en passant par la mer (V 7.3.1.4507). La corrélation a été testée avec un test de Mantel ($n = 10\ 000$ permutations) dans IBDWS 3.16 (Jensen *et al.* 2005).

2.8.6. Analyse de Clustering (regroupements génétiques)

- STRUCTURE

STRUCTURE est un logiciel qui utilise des données de génotype multi-locus afin d'étudier la structure de la population. Il permet d'inférer la présence de populations distinctes, d'affecter des individus aux populations, d'étudier les zones hybrides, ainsi que l'identification des migrants, et l'estimation de la fréquence des allèles de la population dans des situations où de nombreuses individus sont mélangés ou sont des migrants.

Une analyse dite de « Clustering » a été réalisée en utilisant la méthode bayésienne sous le logiciel STRUCTURE v.2.2 (Falush *et al.* 2003, 2007; Pritchard *et al.* 2000) lancée avec le modèle de mélange (Admixture model), 500 000 itérations, et un « burnin » de 50 000, et 12 réplicats pour chaque configuration.

Dans un premier temps, STRUCTURE a été lancé avec l'ensemble de données pour évaluer la structure à l'échelle méditerranéenne avec un nombre de cluster K variant de 1 à 16 (le paramétrage étant le même mentionné précédemment). Le second tour sous STRUCTURE a été réalisé sur un ensemble de données plus petit, ne comprenant que des échantillons provenant de France avec le même jeu de paramètres et K variant de 1 à 12.

Afin de pouvoir identifier la présence de populations distinctes au sein de chaque région, nous avons lancé STRUCTURE sur les populations Algériennes à part (KIA, DDC et SPI) avec le même paramétrage et un nombre de clusters K entre 1 et 5. Cette analyse est lancée de la même

façon sur la région qui contient les îles (REV et MEN), ainsi que sur la région Turque (AYV et SIV) séparément.

Les fichiers de sortie ont été analysés sur le site STRUCTURE HARVESTER (Earl 2012) qui traite les résultats générés par STRUCTURE. Le programme offre un moyen rapide pour évaluer et visualiser les valeurs de vraisemblance sur plusieurs valeurs de K et des centaines d'itérations afin de détecter facilement le nombre de groupes génétiques qui correspondent le mieux aux données. Ceci se fait sur la base du critère Delta (K) (Evanno *et al.* 2005). Cependant ce critère ne constitue pas réellement un test statistique de comparaison de différents modèles. Par ailleurs il est souvent plus informatif de présenter les résultats obtenus pour différentes valeurs de K afin d'étudier la structuration génétique de manière hiérarchique.

CLUMPP v.1.1 (Jakobsson & Rosenberg 2007) a été utilisé pour fusionner les résultats pour chaque valeur de K. DISTRUCT v.1.1 (Rosenberg 2004) a été utilisé pour visualiser ces résultats.

- DAPC

Afin d'analyser la structure génétique sans prendre en compte le modèle adopté sous STRUCTURE, nous avons effectué une analyse discriminante des composantes principales (DAPC; Jombart *et al.* 2010) intégrée dans le package adegenet R (Jombart 2008). L'Analyse est basée sur une méthode multivariée conçue pour identifier et décrire les clusters d'individus génétiquement apparentés. Le nombre de clusters a été déterminé sur la base du critère bayésien d'information (BIC). Nos données sont analysées sur deux niveaux, d'abord l'ensemble des populations afin d'identifier les clusters à l'échelle de la Méditerranée, puis l'ensemble des populations provenant de France (suite au nombre important d'échantillons par rapport au reste des régions).

- PCoA

Les relations entre les populations ont été examinées davantage en utilisant l'analyse des coordonnées principales (PCoA) sous Genalex 6.5 (Peakall & Smouse 2006, 2012). C'est une méthode pour explorer et visualiser les similitudes ou les différences de données. L'analyse utilise une matrice de distance génétique, ici la distance non biaisée de Nei (Nei 1972).

3. Résultats.

Dans le but d'extraire l'ADN génomique total de notre espèce, le kit DNeasy Qiagen semble assurer une meilleure extraction que la méthode utilisant les sels. Certaines extractions n'ont pas donné de bons résultats, faute de temps d'incubation ou de fausse manipulation.

3.1. Diversité génétique intra-population

- Taux de polymorphisme et hétérozygoties

Tous les locus utilisés se sont révélés polymorphes sur l'ensemble des populations. Ce résultat indique l'efficacité de ces microsatellites pour l'analyse de la diversité génétique des populations étudiées. Le niveau de variation varie entre une valeur maximale de 61 allèles pour la population DDC en Algérie et une valeur minimale de 22 allèles observée pour la population SIV de Turquie. Le nombre total d'allèles par locus variait de huit pour Ever007 à 40 pour Mic56 avec une valeur moyenne de 18 allèles (Fig. 11). Les données de polymorphisme pour chaque locus sont détaillées dans le tableau 3. Après évaluation à l'aide du logiciel MICROCHECKER, aucune preuve de présence d'allèles nuls ou d'erreur de lecture n'a été démontrée. Aucun déséquilibre de liaison n'a été signalé sur l'ensemble des locus et parmi toutes les populations ($p > 0.05$ après la correction FDR).

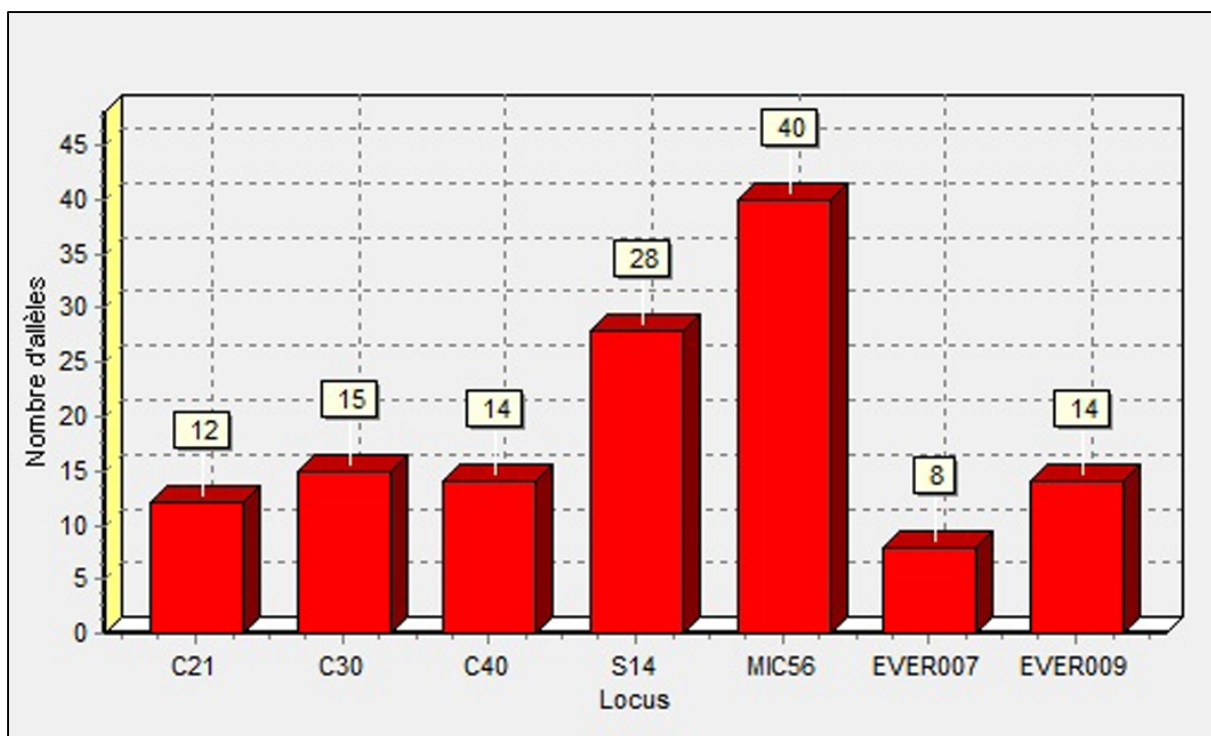


Figure 11. Nombre d'allèle par locus (estimé sous GENETIX)

Tableau 3. Données de polymorphisme par locus et par population

Locus	Populations																			
	KIA	SPI	DDC	MEN	3PP	CAV	MEJ	MJS	POU	REV	RID	RIS	SAM	SAR	SOM	VED	VES	AYV	SIV	
C21	N	3	4	3	3	6	6	7	6	5	5	6	5	5	5	5	6	5	3	1
	H _{exp}	0,53	0,55	0,53	0,35	0,73	0,63	0,68	0,67	0,70	0,54	0,66	0,62	0,53	0,67	0,57	0,66	0,64	0,44	0,00
	H _{obs}	0,43	0,43	0,52	0,42	0,70	0,48	0,65	0,82	0,71	0,46	0,65	0,69	0,56	0,70	0,52	0,63	0,67	0,32	0,00
	F _{is}	0,19	0,22	0,03	-0,20	0,04	0,24	0,05	-0,23	-0,01	0,16	0,03	-0,10	-0,07	-0,04	0,09	0,03	-0,05	0,28	-----
C30	N	7	7	12	4	2	3	2	2	2	4	2	2	2	3	2	2	2	1	2
	H _{exp}	0,70	0,77	0,73	0,55	0,13	0,19	0,06	0,06	0,04	0,54	0,18	0,15	0,17	0,12	0,28	0,31	0,19	0,00	0,33
	H _{obs}	0,60	0,46	0,66	0,52	0,13	0,21	0,06	0,06	0,04	0,46	0,19	0,16	0,13	0,13	0,33	0,17	0,14	0,00	0,28
	F _{is}	0,14	0,41	0,11	0,05	-0,06	-0,08	-0,02	-0,02	0,00	0,16	-0,09	-0,07	0,28	-0,04	-0,18	0,45	0,27	-----	0,18
C40	N	8	3	8	4	4	4	4	6	4	4	5	3	3	4	3	3	3	3	3
	H _{exp}	0,74	0,49	0,70	0,29	0,66	0,53	0,60	0,57	0,66	0,50	0,69	0,65	0,64	0,41	0,50	0,57	0,52	0,58	0,53
	H _{obs}	0,74	0,31	0,72	0,32	0,50	0,66	0,55	0,58	0,44	0,54	0,81	0,56	0,53	0,33	0,67	0,66	0,62	0,75	0,57
	F _{is}	0,00	0,37	-0,03	-0,10	0,24	-0,24	0,09	-0,01	0,34	-0,08	-0,18	0,14	0,17	0,19	-0,34	-0,15	-0,20	-0,30	-0,09
S14	N	14	10	13	6	7	9	9	9	7	8	9	9	6	9	8	10	8	5	5
	H _{exp}	0,83	0,74	0,87	0,80	0,72	0,83	0,86	0,85	0,86	0,86	0,80	0,87	0,63	0,82	0,77	0,87	0,85	0,60	0,66
	H _{obs}	0,72	0,56	0,28	0,58	0,16	0,54	0,72	0,69	0,38	0,54	0,76	0,59	0,53	0,56	0,50	0,70	0,69	0,65	0,41
	F _{is}	0,14	0,25	0,69	0,29	0,78	0,36	0,16	0,19	0,57	0,38	0,06	0,32	0,16	0,32	0,36	0,20	0,19	-0,10	0,38

Tableau 3 (Suite).

Locus	Populations																			
	KIA	SPI	DDC	MEN	3PP	CAV	MEJ	MJS	POU	REV	RID	RIS	SAM	SAR	SOM	VED	VES	AYV	SIV	
MIC56	N	14	14	13	7	4	9	9	11	6	12	13	15	4	9	7	8	12	6	6
	H _{exp}	0,85	0,80	0,83	0,75	0,73	0,82	0,74	0,79	0,82	0,86	0,89	0,83	0,70	0,84	0,74	0,83	0,84	0,78	0,69
	H _{obs}	0,80	0,77	0,62	0,69	0,13	0,46	0,47	0,56	0,11	0,68	0,29	0,59	0,48	0,79	0,52	0,48	0,62	0,60	0,81
	F _{is}	0,07	0,04	0,26	0,08	0,82	0,44	0,37	0,30	0,87	0,22	0,68	0,29	0,32	0,06	0,30	0,42	0,26	0,24	-0,18
EVER07	N	5	6	5	3	2	4	3	3	2	4	3	4	2	4	3	3	3	2	1
	H _{exp}	0,65	0,53	0,65	0,13	0,10	0,29	0,11	0,12	0,13	0,29	0,09	0,15	0,09	0,32	0,16	0,42	0,07	0,04	0,00
	H _{obs}	0,58	0,60	0,69	0,13	0,10	0,32	0,11	0,12	0,13	0,32	0,10	0,16	0,09	0,34	0,17	0,34	0,07	0,04	0,00
	F _{is}	0,11	-0,14	-0,06	-0,03	-0,04	-0,11	-0,03	-0,03	-0,06	-0,11	-0,02	-0,05	-0,03	-0,06	-0,06	0,18	-0,01	0,00	-----
EVER09	N	6	4	7	5	7	8	8	8	6	6	5	6	9	7	7	8	7	3	4
	H _{exp}	0,64	0,38	0,64	0,56	0,72	0,66	0,72	0,74	0,78	0,77	0,74	0,81	0,77	0,51	0,72	0,72	0,79	0,61	0,20
	H _{obs}	0,48	0,34	0,55	0,58	0,63	0,67	0,76	0,79	0,80	0,75	0,77	0,81	0,74	0,44	0,60	0,60	0,71	0,68	0,17
	F _{is}	0,25	0,10	0,14	-0,04	0,12	-0,02	-0,06	-0,06	-0,03	0,03	-0,04	-0,01	0,03	0,14	0,17	0,17	0,09	-0,12	0,16

L'hétérozygotie observée et attendue non biaisée variaient de 0,31 pour SIV à 0,62 pour KIA, et de 0,34 pour SIV à 0,71 pour DDC respectivement (Valeurs moyennes: 0,48 et 0,56, respectivement), (Tab. 4). Les déficits significatifs en hétérozygotes ont été trouvés dans 15 échantillons parmi 19 (après correction FDR) avec des valeurs de F_{IS} comprises entre 0 pour AYV et 0,38 pour 3PP (moyenne: 0,14; Tab. 4).

Tableau 4. Paramètres de diversité génétique dans 19 échantillons d'*E. cavolini*

Nom du site	Code	N	H _{obs}	H _{exp}	Na	F _{IS}
Annaba - Kiane	KIA	30	0,62	0,70	8,14	0,12
Annaba - Espion	SPI	30	0,50	0,61	6,86	0,19
Annaba - Dent de chien	DDC	29	0,58	0,71	8,71	0,19
Menorca	MEN	26	0,46	0,49	4,57	0,06
Revellatta	REV	35	0,54	0,63	6,14	0,14
Plane Island (Gulf of Lion)	POU	30	0,37	0,57	4,57	0,36
Riou shallow	RIS	32	0,51	0,58	6,29	0,13
Riou deep	RID	31	0,51	0,58	6,14	0,12
Cap Caveau	CAV	29	0,48	0,56	6,14	0,16
Veyron shallow	VES	30	0,50	0,56	5,71	0,1
Veyron deep	VED	30	0,51	0,63	5,71	0,18
Méjean shallow	MJS	33	0,52	0,54	6,43	0,05
Méjean deep	MEJ	31	0,47	0,54	6,00	0,12
Somlit	SOM	30	0,47	0,54	5,00	0,12
Saména	SAM	33	0,44	0,50	4,43	0,13
La Ciotat - 3PP Cave	3PP	30	0,34	0,54	4,57	0,38
Porquerolles – Sec de Sarraniers	SAR	32	0,47	0,53	5,86	0,11
Ayvalık	AYV	25	0,43	0,44	3,43	0
Sivriada	SYV	29	0,32	0,34	3,00	0,07

H_{obs}: hétérozygotie observée; H_{exp}: hétérozygotie attendue; Na: nombre d'allèles; indice de fixation F_{IS} avec des valeurs significatives en gras (seuil de 0,05 après correction FDR).

- La richesse allélique

La richesse allélique Ar (18) variait de 2,45 pour SIV (Turquie) à 5,64 pour DDC (Algérie, Tab. 5) et la richesse privée Ap (18) variait de 0,03 pour RIS (Marseille) à 1,13 pour KIA (Algérie). Les populations turques présentent des hétérozygoties attendues et des richesses alléliques nettement inférieures par rapport à d'autres groupes d'échantillons, avec $H_{exp} = 0,44$ pour AYV et 0,34 pour SIV, et $Ar = 2,6$ pour le groupe Turc, contre 4,2 pour Marseille et le groupe des îles (Minorque et Corse), et 5.2 pour l'Algérie (Tab. 5, 6). Les deux groupes de Marseille et des îles de Minorque et de Corse montrent une diversité génétique significativement plus faible que L'Algérie, qui apparaît comme la région la plus diversifiée pour tous les critères.

Tableau 5. Richesse allélique (Ar) et richesse allélique privée (Ap) par population.

Nom du site	Code	N	[Ar(18)]	[Ap(18)]	Région	
Annaba - Kiane	KIA	30	5,44	1,13	Algérie	
Annaba - Espion	SPI	30	4,65	1,05		
Annaba - Dent de chien	DDC	29	5,64	0,91		
Menorca	MEN	26	3,59	0,09	Minorque	
Revellatta	REV	35	4,8	0,34	Corse	
Plane Island (Gulf of Lion)	POU	30	4,13	0,11	France Provence	
Riushallow	RIS	32	4,61	0,03		
Rioudeep	RID	31	4,53	0,09		
Cap Caveau	CAV	29	4,54	0,12		
Veyronshallow	VES	30	4,3	0,1		
Veyrondeep	VED	30	4,46	0,09		
Méjean shallow	MJS	33	4,41	0,14		
Méjean deep	MEJ	31	4,53	0,15		
Somlit	SOM	30	3,89	0,04		
Saména	SAM	33	3,66	0,06		
La Ciotat - 3PP Cave	3PP	30	3,66	0,09		
Porquerolles – Sec de Sarraniers	SAR	32	4,42	0,06		
Ayvalık	AYV	25	2,84	0,64		Turquie Mer Egée
Sivriada	SYV	29	2,45	0,39		Turquie Mer de Marmara

Tableau 6. Les différences de diversité génétique et de richesse allélique entre groupes de populations, à l'aide d'un test de probabilité unilatéral (G1 indique la diversité de la première région et G2 de la deuxième région)

Comparaison	Valeurs observées			valeurs p unilatérales (G1>G2)		
	Richesse allélique	H _{obs}	H _{exp}	Richesse allélique	H _{obs}	H _{exp}
Algérie	5,2	0,57	0,68	0,014	0,01	0,008
France	4,3	0,47	0,56			
Algérie	5,2	0,57	0,68	0,001	0,001	0,001
Turquie	2,6	0,38	0,39			
Algérie	5,2	0,57	0,68	0,085	0,199	0,094
Iles	4,2	0,51	0,57			
France	4,3	0,47	0,56	0,004	0,043	0,004
Turquie	2,6	0,38	0,39			
France	4,3	0,47	0,56	0,455	0,775	0,584
Iles	4,2	0,51	0,57			
Iles	4,2	0,51	0,57	0,02	0,027	0,015
Turquie	2,6	0,38	0,39			

3.2. Diversité génétique inter-populations

- Différenciation génétique inter-populations (F-statistiques)

Les valeurs de F_{ST} par paire de populations vont de 0 (KIA vs DDC; RID vs RIS; POU vs RID; POU vs RIS) à 0,36 (SAR en France vs SIV en Turquie; Tab. 7) avec un F_{ST} global de 0,13. Toutes les populations étaient significativement différenciées sauf KIA et DDC (Algérie) qui sont séparées par une distance de 721 m, et à Marseille pour les échantillons provenant d'un même site, mais de profondeurs différentes (MEJ vs MJS, VES vs VED, et RID vs RIS). Un échantillon de Marseille (POU) avec 25% de données manquantes a également montré cinq tests de différenciations non significatives (POU vs VES / VED, POU vs RID / RIS et POU vs 3PP) après correction FDR.

Les valeurs de comparaison corrigées pour les allèles nuls montrent des niveaux similaires de différenciation entre les échantillons (Tab. 8). La distance géographique la plus petite pour laquelle une différenciation génétique est significative était de 763 m, avec $F_{ST} = 0,02$ pour KIA vs SPI.

Tableau 7. Valeurs de F_{ST} (Weir et Cockerham) par paire de populations d'*Eunicella cavolini* en Méditerranée (valeurs significatives en gras).

	SPI	DDC	MEN	REV	3PP	CAV	MEJ	MJS	POU	RID	RIS	SAM	SAR	SOM	VED	VES	AYV	SIV
KIA	0,02	0,00	0,14	0,10	0,18	0,17	0,18	0,16	0,17	0,16	0,15	0,22	0,17	0,16	0,12	0,14	0,20	0,27
SPI		0,02	0,21	0,17	0,26	0,24	0,26	0,23	0,25	0,24	0,23	0,30	0,24	0,24	0,20	0,22	0,29	0,34
DDC			0,15	0,10	0,17	0,16	0,16	0,14	0,16	0,16	0,15	0,21	0,15	0,16	0,11	0,13	0,21	0,28
MEN				0,04	0,21	0,14	0,16	0,14	0,17	0,14	0,13	0,18	0,17	0,12	0,14	0,10	0,28	0,31
REV					0,10	0,06	0,06	0,05	0,07	0,06	0,05	0,09	0,07	0,05	0,05	0,03	0,19	0,25
3PP						0,08	0,06	0,07	0,01	0,07	0,05	0,12	0,10	0,07	0,05	0,05	0,21	0,33
CAV							0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,05	0,01	0,02	0,02	0,03	0,24	0,32
MEJ								0,00	0,02	0,03	0,02	0,05	0,04	0,02	0,03	0,03	0,23	0,32
MJS									0,02	0,04	0,02	0,07	0,04	0,04	0,03	0,02	0,21	0,29
POU										0,00	0,00	0,06	0,07	0,03	0,01	0,01	0,16	0,29
RID											0,00	0,03	0,05	0,03	0,03	0,02	0,18	0,28
RIS												0,05	0,06	0,03	0,02	0,02	0,17	0,26
SAM													0,06	0,07	0,06	0,07	0,26	0,33
SAR														0,04	0,03	0,03	0,27	0,36
SOM															0,02	0,02	0,21	0,31
VED																0,01	0,19	0,28
VES																	0,18	0,27
AYV																		0,24

Tableau 8. Valeurs de F_{ST} par paire de populations d'*Eunicella cavolini* en Méditerranée en utilisant la correction ENA décrite dans Chapuis and Estoup (2007).

pop	KIA	SPI	DDC	MEN	3PP	CAV	MEJ	MJS	POU	REV	RID	RIS	SAM	SAR	SOM	VED	VES	AYV
SPI	0,02																	
DDC	0,00	0,02																
MEN	0,14	0,21	0,16															
3PP	0,17	0,27	0,18	0,21														
CAV	0,17	0,24	0,16	0,14	0,07													
MEJ	0,18	0,26	0,17	0,16	0,05	0,01												
MJS	0,15	0,23	0,14	0,14	0,05	0,02	0,00											
POU	0,18	0,28	0,18	0,19	0,01	0,03	0,02	0,02										
REV	0,10	0,17	0,10	0,05	0,09	0,05	0,06	0,05	0,08									
RID	0,16	0,25	0,16	0,15	0,06	0,03	0,03	0,04	0,01	0,06								
RIS	0,15	0,24	0,16	0,14	0,04	0,03	0,02	0,02	0,01	0,05	0,01							
SAM	0,21	0,29	0,21	0,17	0,10	0,05	0,04	0,07	0,06	0,09	0,03	0,05						
SAR	0,17	0,25	0,16	0,17	0,10	0,01	0,03	0,04	0,07	0,07	0,05	0,06	0,06					
SOM	0,16	0,24	0,16	0,11	0,06	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,06	0,03				
VED	0,11	0,19	0,11	0,13	0,04	0,02	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,06	0,04	0,02			
VES	0,13	0,22	0,13	0,10	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,06	0,03	0,01	0,01		
AYV	0,21	0,30	0,23	0,29	0,19	0,25	0,23	0,21	0,16	0,20	0,19	0,18	0,26	0,27	0,21	0,19	0,19	
SIV	0,27	0,35	0,29	0,31	0,31	0,32	0,30	0,28	0,29	0,25	0,28	0,26	0,32	0,35	0,30	0,27	0,27	0,24

- Analyse moléculaire de variance

L'AMOVA indique des différences significatives entre les groupes géographiques d'échantillons, aussi bien en séparant les deux îles et en les regroupant (Tab. 9). Pour l'analyse de séparation des deux îles, les différences entre les groupes étaient significatives ($F_{CT} = 0,19$ et $F_{CT} = 0,04$ avec les analyses F_{ST} -like et R_{ST} -like, respectivement; Tab. 9). Les différences entre les populations au sein des groupes sont apparues significatives avec F_{ST} mais non significative avec la R_{ST} ($F_{SC} = 0,03$ et $-0,01$, respectivement).

Tableau 9. Résultats de l'AMOVA. Les groupes de populations sont définis sur la base des situations géographiques ainsi que les analyses de clustering et sont: Turquie, Algérie, France, et les îles Corse et Minorque, groupées (4 groupes) ou séparées (5 groupes). La significativité des différents paramètres est testée avec des permutations ($n=1000$ pour chaque analyse).

	Source de variation	Analyse R_{ST} like		Analyse F_{ST} like	
		Pourcentage de variation	Indice de fixation	Pourcentage de variation	Indice de fixation
4 groupes (grouper les îles)	Entre groupes	6,06 %	$F_{CT} = 0,04$ ($p = 0,03$)	16,22 %	$F_{CT} = 0,19$ ($p = 0$)
	Entre populations à l'intérieur des groupes	0%	$F_{SC} = -0,01$ ($p = 0,99$)	2,96 %	$F_{SC} = 0,03$ ($p = 0$)
	A l'intérieur des populations	95,47 %	$F_{ST} = 0,06$ ($p = 0$)	80,82 %	$F_{ST} = 0,16$ ($p = 0$)
5 populations (séparation des îles)	Entre groupes	6,08 %	$F_{CT} = 0,04$ ($p = 0,03$)	16,16 %	$F_{CT} = 0,19$ ($p = 0$)
	Entre populations à l'intérieur des groupes	0%	$F_{SC} = -0,01$ ($p = 0,99$)	2,92 %	$F_{SC} = 0,03$ ($p = 0$)
	A l'intérieur des populations	95,5 %	$F_{ST} = 0,06$ ($p = 0$)	80,93 %	$F_{ST} = 0,16$ ($p = 0$)

- Isolement par distance

Une corrélation significative et positive est trouvée entre les distances génétiques et le logarithme des distances géographiques, indiquant un modèle d'isolement par la distance à l'échelle de la Méditerranée ($R^2 = 0,567$, $p < 0,0001$; Fig. 12) et dans la région française ($R^2 = 0,169$, $p = 0,009$; Fig. 13). À l'échelle globale, le modèle d'IPD semblait être séparé en deux parties avec une pente inférieure à courte distance par rapport à une pente beaucoup plus élevée à des distances plus importantes.

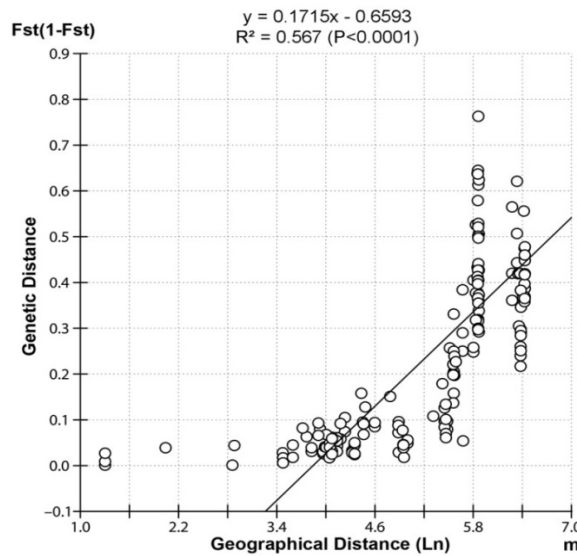


Figure 12. Corrélation entre les distances génétiques ($F_{ST}/(1-F_{ST})$) et le logarithme des distances géographiques (Toutes populations confondues).

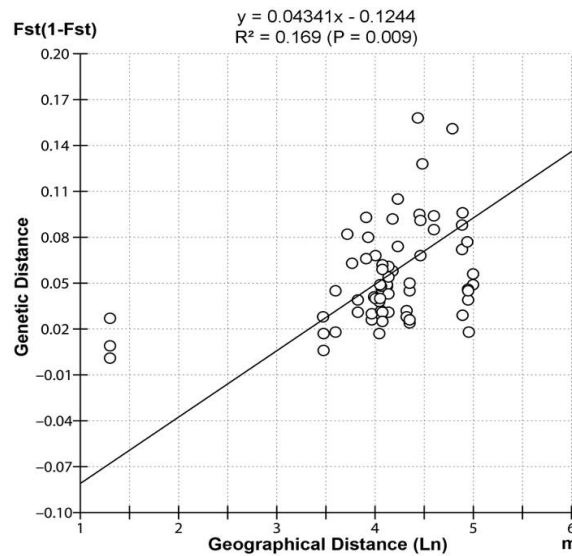


Figure 13. Corrélation entre les distances génétiques ($F_{ST}/(1-F_{ST})$) et le logarithme des distances géographiques (populations françaises).

- Distance génétique et analyse de coordonnées principales

Les niveaux de divergence génétique entre populations peuvent être également estimés par le calcul de la distance génétique (D) par paires de populations. La distance génétique de Nei (D) entre les populations étudiées (Tab. 10) varie entre 0 et 0,76 avec une moyenne de 0,22. Les populations SAM et SPI, qui sont issues de deux régions (France et Algérie, respectivement) présentent la plus forte distance génétique (0,76). Des observations du même ordre de grandeur sont notées entre populations issues de régions éloignées géographiquement (est vs ouest et nord vs sud de la Méditerranée) (Tab. 10).

L'analyse de coordonnées principales (PCoA) a confirmé les différences entre zones géographiques: l'axe 1 sépare l'Algérie des autres échantillons, tandis que l'axe 2 sépare la Turquie du reste (Fig. 14). Des échantillons des îles (Baléares et Corse) sont apparus plus près des échantillons français que les autres régions, mais bien séparés de ces derniers.

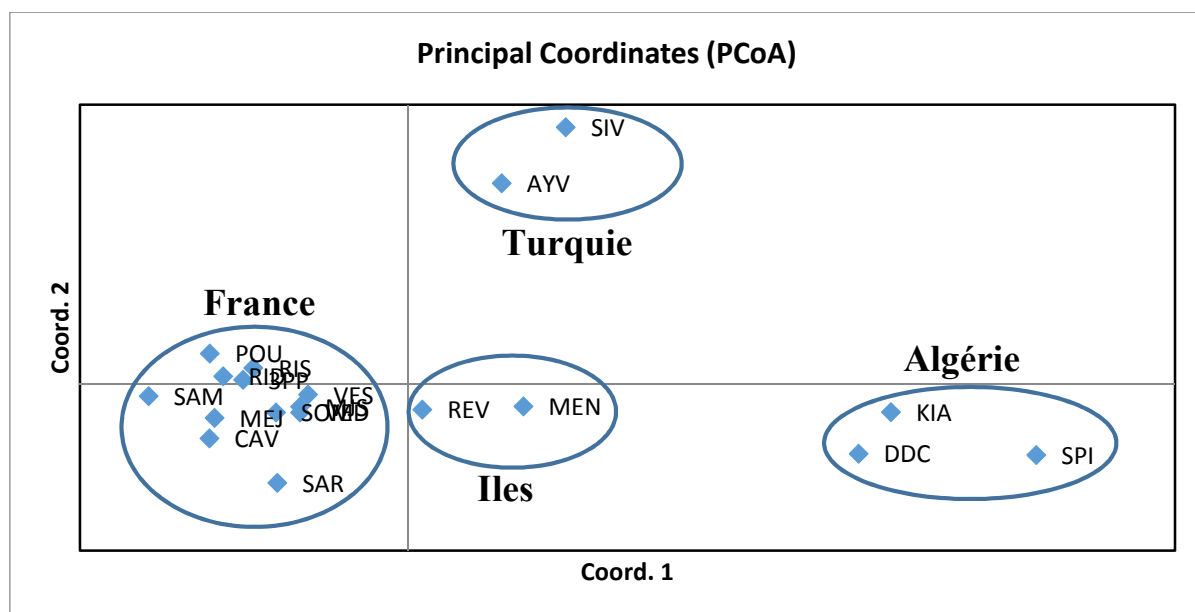


Figure 14. Projection des échantillons sur les deux premiers axes de l'analyse de coordonnées principale basée sur la matrice de distance génétique non biaisée de Nei.

Tableau 10. Matrice de distances génétiques non biaisée de Nei (1972).

	KIA	SPI	DDC	MEN	REV	3PP	CAV	MEJ	MJS	POU	RID	RIS	SAM	SAR	SOM	VED	VES	AYV
SPI	0,04																	
DDC	0,00	0,04																
MEN	0,25	0,38	0,29															
REV	0,43	0,64	0,41	0,33														
3PP	0,44	0,61	0,41	0,21	0,13													
CAV	0,43	0,62	0,37	0,22	0,09	0,03												
MEJ	0,34	0,51	0,29	0,20	0,09	0,03	0,00											
MJS	0,43	0,65	0,40	0,26	0,03	0,05	0,03	0,03										
POU	0,25	0,41	0,26	0,05	0,18	0,10	0,10	0,08	0,13									
RID	0,40	0,64	0,40	0,20	0,11	0,05	0,05	0,05	0,02	0,10								
RIS	0,38	0,58	0,37	0,20	0,07	0,05	0,02	0,03	0,01	0,08	0,01							
SAM	0,52	0,76	0,50	0,25	0,16	0,06	0,06	0,09	0,08	0,13	0,04	0,07						
SAR	0,38	0,53	0,32	0,24	0,15	0,02	0,05	0,06	0,10	0,11	0,07	0,09	0,08					
SOM	0,36	0,53	0,36	0,16	0,10	0,03	0,03	0,05	0,04	0,07	0,05	0,04	0,08	0,05				
VED	0,32	0,52	0,30	0,22	0,09	0,03	0,06	0,05	0,04	0,10	0,06	0,06	0,07	0,04	0,05			
VES	0,32	0,50	0,30	0,14	0,07	0,04	0,04	0,03	0,02	0,06	0,03	0,03	0,09	0,05	0,02	0,03		
AYV	0,36	0,57	0,42	0,42	0,30	0,38	0,35	0,29	0,22	0,31	0,26	0,24	0,38	0,42	0,30	0,28	0,25	
SIV	0,44	0,62	0,51	0,38	0,48	0,48	0,45	0,39	0,37	0,37	0,40	0,36	0,46	0,56	0,42	0,42	0,37	0,23

- Analyse de Clusters :

La première analyse sous STRUCTURE avec $K = 2$ échantillons a séparé L'Algérie et la Turquie dans le groupe 1 et des échantillons de France, de Minorque et de la Corse dans le groupe 2 (Fig. 15). Pour $K = 3$, des échantillons provenant de France, Minorque, et de Corse ont été affectés au groupe 1, alors que les échantillons de L'Algérie et la Turquie ont été séparés en deux groupes différents (2 et 3, respectivement). A $K = 3$, quatre répétitions des douze effectuées ont regroupé les populations Algériennes et Turques ensembles, et n'ont pas été retenues ici. Pour $K = 4$, des échantillons des îles de Minorque et la Corse ont été affectés à un nouveau groupe, tandis que les autres échantillons ont été regroupés comme ci-dessus, mais avec la France en partie mélangée avec le groupe des îles (Fig. 15). Le critère Delta (K) a indiqué $K = 5$ comme la meilleure solution de clustering (Fig. 16). Avec $K = 5$, les échantillons Algériens étaient dans le groupe 1, Minorque et la Corse, dans le groupe 2, la Turquie dans le groupe 3 et tous les échantillons français subdivisés entre les clusters 4 et 5.

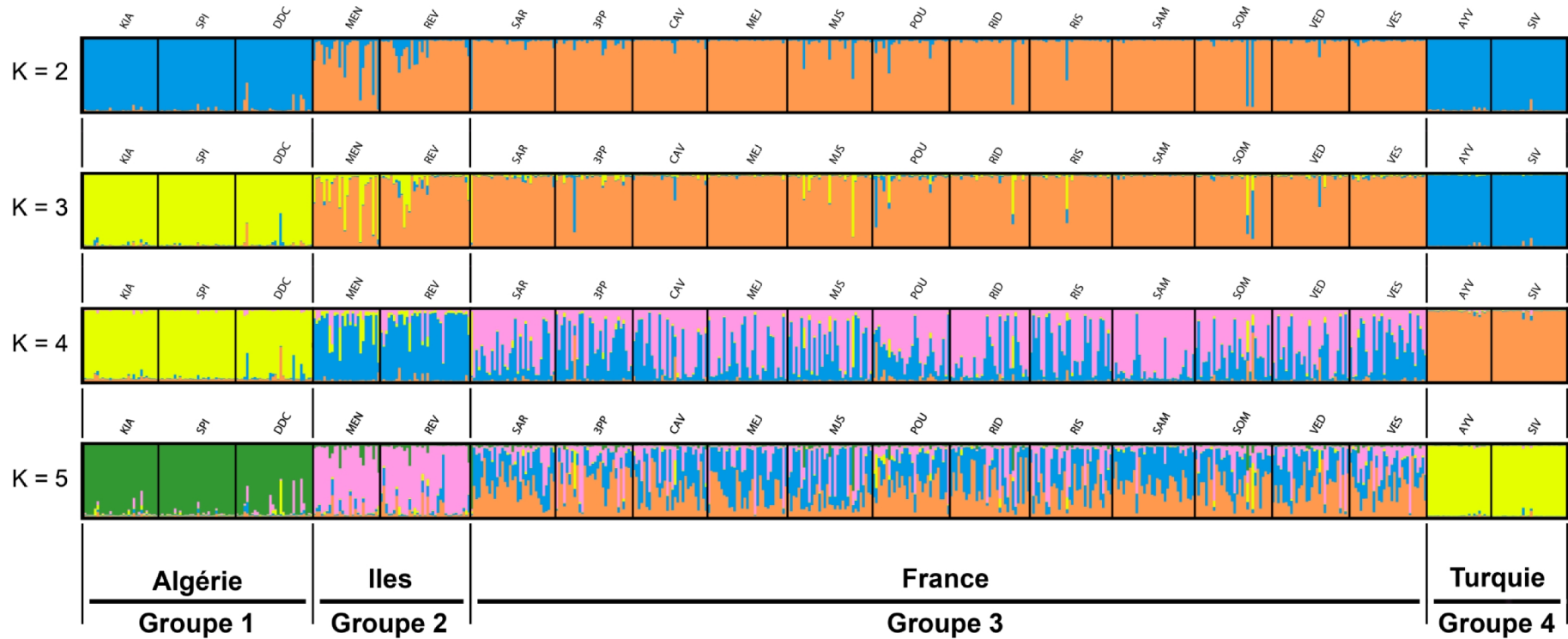


Figure 15. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur la totalité des données. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.

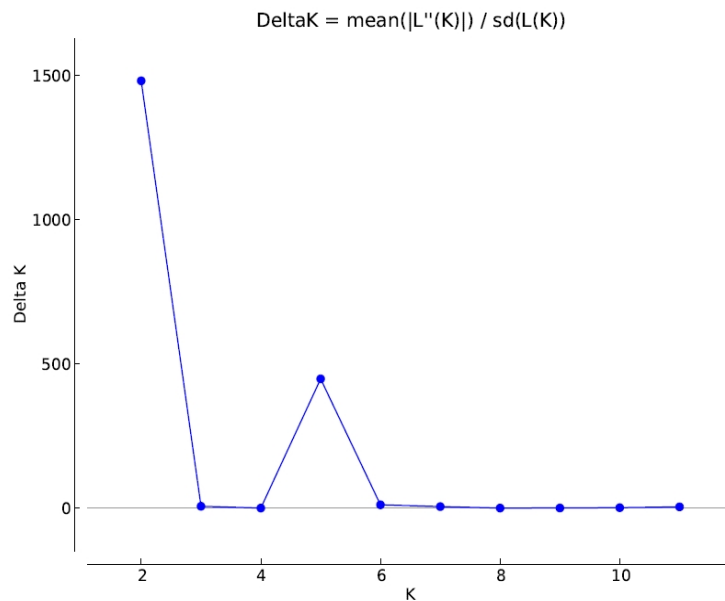


Figure 16. Evolution du critère Delta(K) pour la première analyse sous STRUCTURE (totalité de données).

Pour la deuxième analyse sous STRUCTURE des échantillons de France, $K = 3$ était la meilleure solution suivie par $K = 6$ (Fig. 17), mais il n'y avait pas de structuration génétique claire (Fig. 18). Une analyse de la structure sur des échantillons turcs seuls a indiqué une claire séparation des deux populations à $K = 2$ (Fig. 19). L'analyse sur les échantillons de Minorque et de Corse a indiqué une distinction entre ces deux îles, mais avec des niveaux très élevés de mélange (Fig. 20). L'analyse des échantillons algériens seuls n'indique pas une structuration génétique claire (Fig. 21).

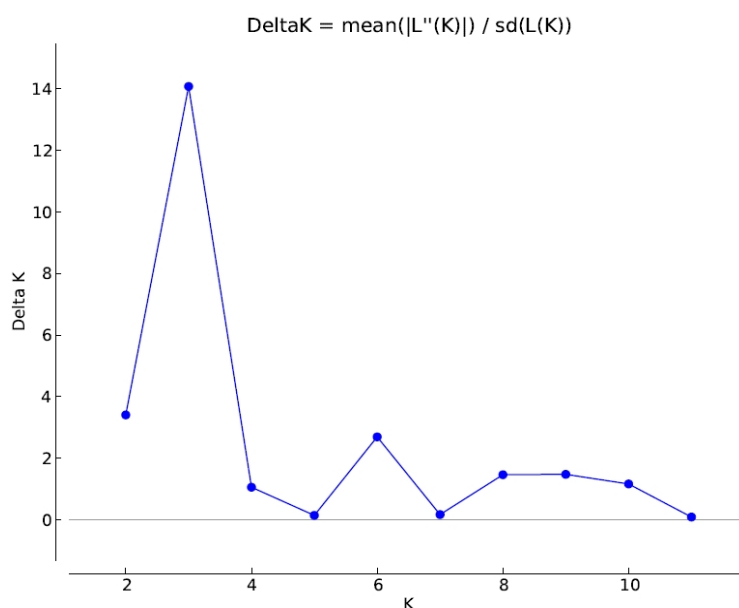


Figure 17. Évolution du critère Delta(K) pour la première analyse sous STRUCTURE (populations françaises uniquement).

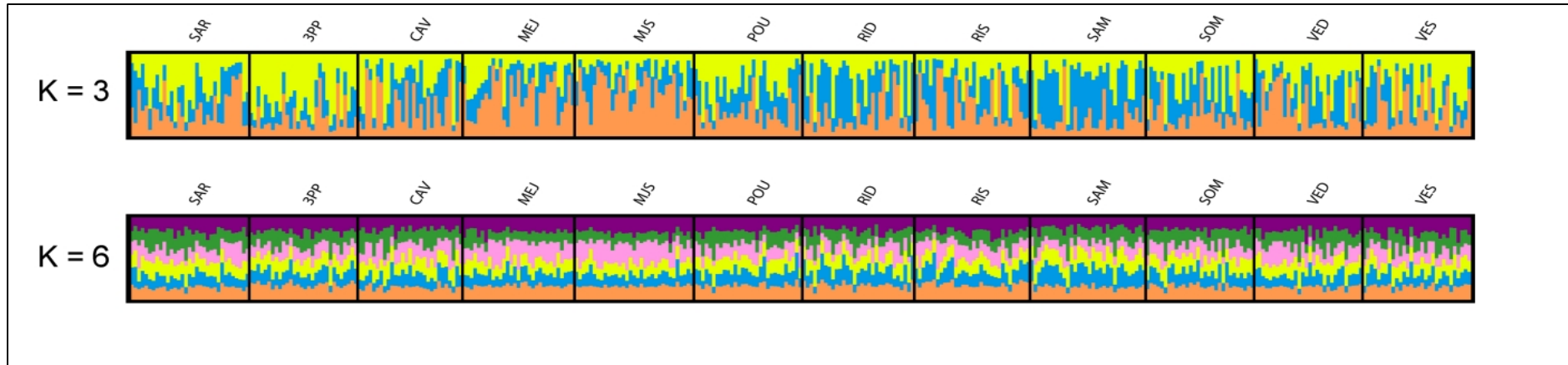


Figure 18. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur les échantillons de France. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.

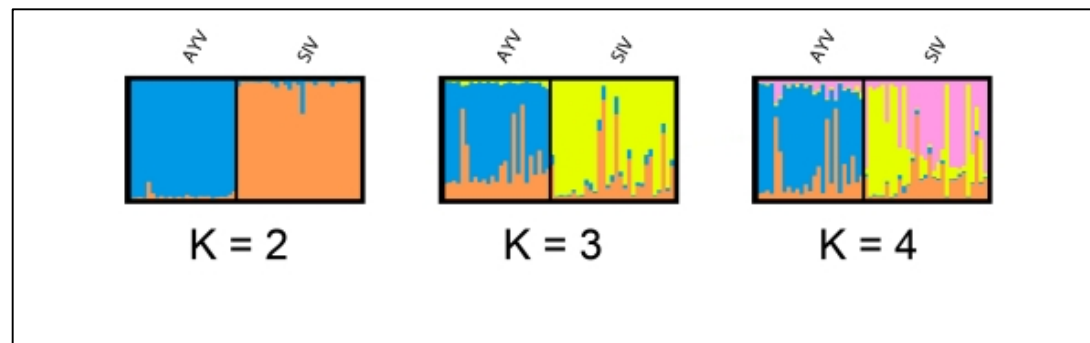


Figure 19. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur les échantillons de Turquie. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.

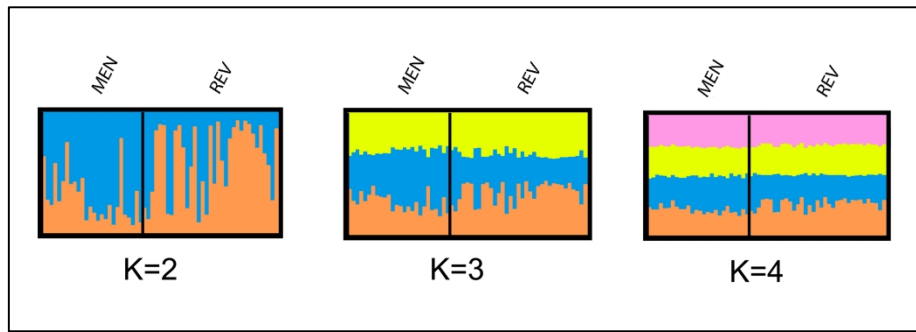


Figure 20. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur les échantillons de Minorque et de Corse. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.

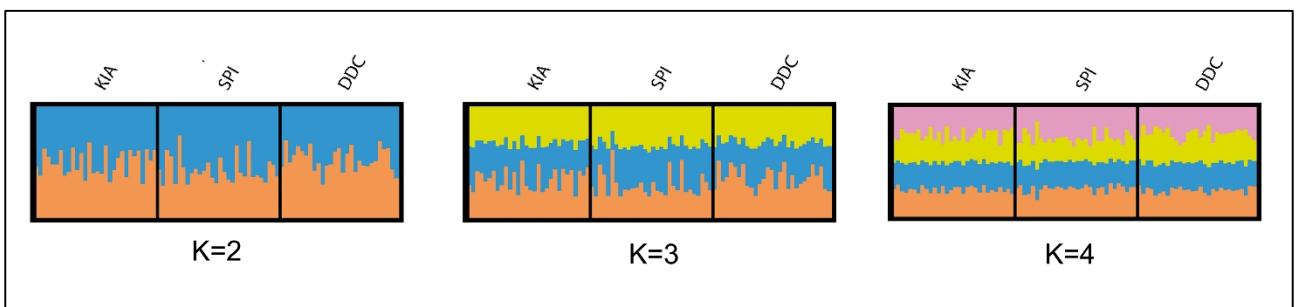


Figure 21. Résultats de l'analyse de regroupements génétiques réalisée avec STRUCTURE sur les échantillons de l'Algérie. Chaque individu est représenté par une barre verticale indiquant sa proportion d'appartenance estimée à chaque groupe. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.

Pour l'analyse DAPC, le critère bayésien d'information (BIC) était minime entre $K = 15$ et 21 , mais sans pic clair (Fig. 22). Nous présentons ici les résultats obtenus avec $K = 15$ groupes. D'autres analyses autour de cette valeur ont donné des résultats similaires. Des valeurs plus élevées de K n'ont pas apporté plus d'informations sur la structure générale à l'échelle méditerranéenne. L'analyse a confirmé les principaux groupes définis sous STRUCTURE mais avec la séparation supplémentaire entre les deux échantillons turcs de Marmara et de la Mer Égée en groupes 11 et 14, respectivement (Tab. 11, Fig. 23).

Les échantillons en provenance d'Algérie ont été affectés aux groupes 2 et 7. Les deux échantillons de Minorque et de Corse ont été principalement regroupés en groupes 5 et 15 respectivement, tandis que les échantillons de France ont été principalement affectés aux groupes restants (Tab. 11). Des pourcentages élevés ($> 0,70$) de réaffectation des groupes d'origine ont été observées en dehors des groupes 1, 4 et 10 correspondant à des échantillons de France continentale (Tab. 11).

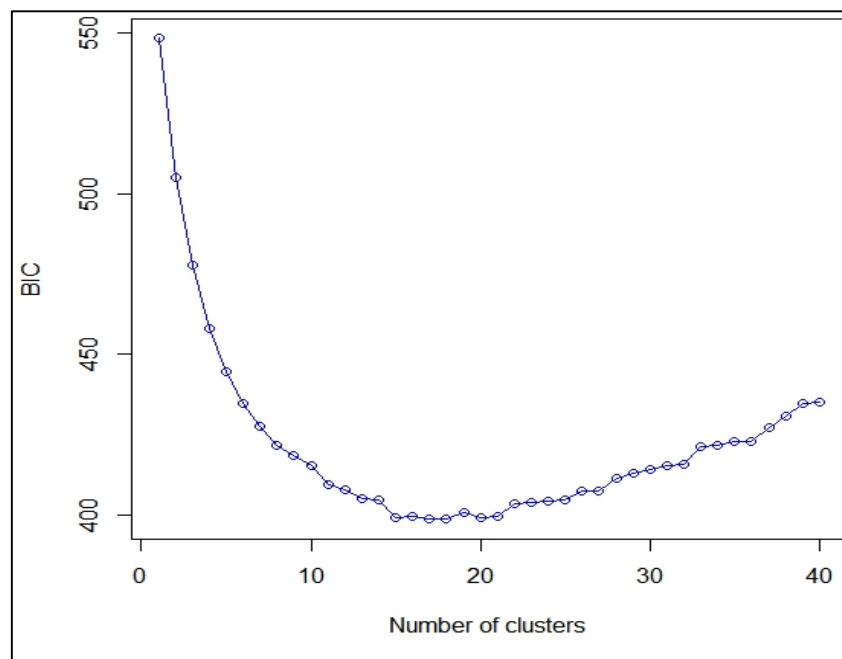


Figure 22. Graphe des valeurs du critère bayésien d'information (BIC) pour des valeurs croissantes de K (jeu de donnée complet).

Tableau 11. Résultats d'affectation des populations dans 15 clusters en utilisant l'analyse DAPC. N : nombre d'individus.

		Clusters															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	N
Algérie	KIA	1	10	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	1	3	30
	SPI	0	13	0	0	1	0	15	0	0	0	0	0	0	0	1	30
	DDC	0	9	0	0	1	0	16	0	0	0	0	0	0	2	1	29
Iles	MEN	1	1	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	2	0	16	26
	REV	4	0	0	2	8	4	2	2	0	1	0	0	1	0	11	35
France	CAV	4	0	6	4	4	5	0	0	0	0	0	5	1	0	0	29
	MEJ	7	0	0	4	2	2	0	3	2	2	0	6	2	0	1	31
	MJS	6	1	0	4	4	3	0	1	0	4	0	4	6	0	0	33
	POU	7	0	2	4	7	0	0	3	1	4	0	0	2	0	0	30
	RID	3	0	5	5	0	2	0	1	7	1	0	0	5	0	2	31
	RIS	2	0	1	5	6	1	0	1	6	3	0	3	1	1	2	32
	SAM	0	0	2	0	2	8	0	3	11	1	0	2	2	0	1	32
	SOM	7	0	5	1	4	4	0	4	0	0	0	0	0	3	2	30
	VED	7	0	3	6	2	0	0	2	0	5	0	0	1	1	3	30
	VES	5	0	4	4	4	1	0	2	0	2	0	0	3	1	4	30
	3PP	2	0	1	3	2	2	0	9	1	9	0	0	0	0	1	30
Turquie	SAR	9	1	2	5	2	6	0	0	1	2	0	4	0	0	1	33
	AYV	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	23	0	25
	SIV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	4	0	29

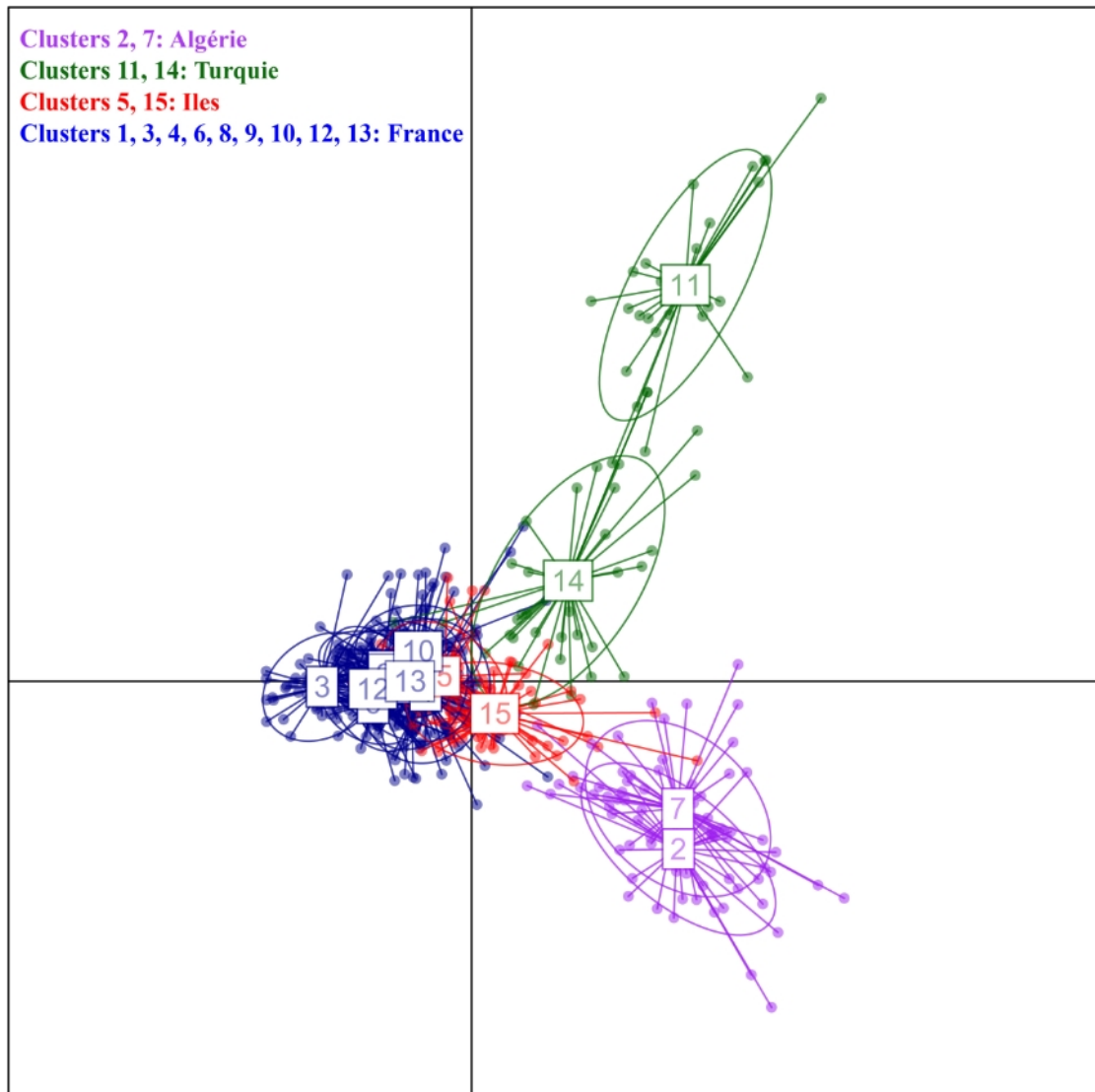


Figure 23. Résultat de l'analyse DAPC avec la totalité des données. L'analyse est basée sur une solution de K=15. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.

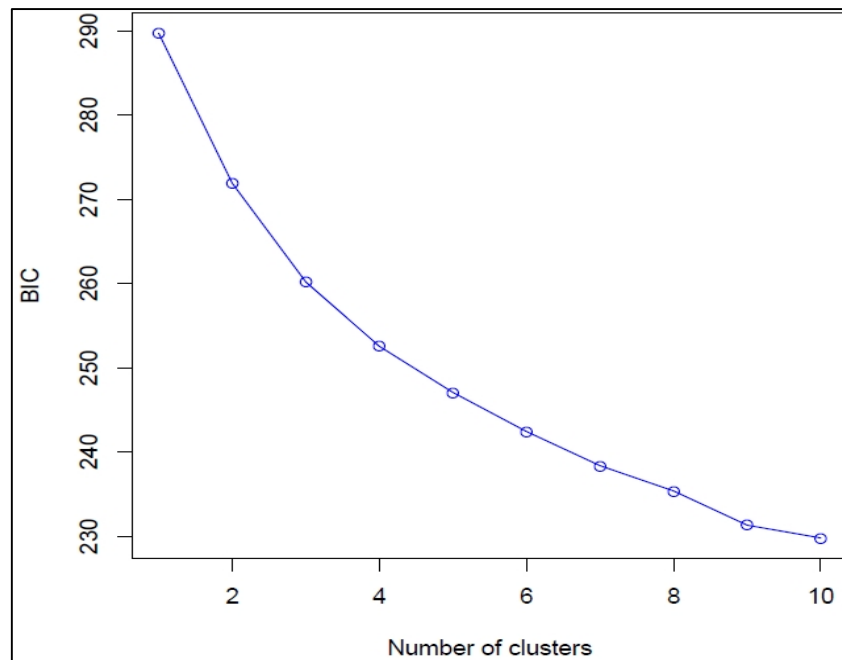


Figure 24. Graphe des valeurs du critère bayésien d'information (BIC) pour des valeurs croissantes de K (populations de France seulement).

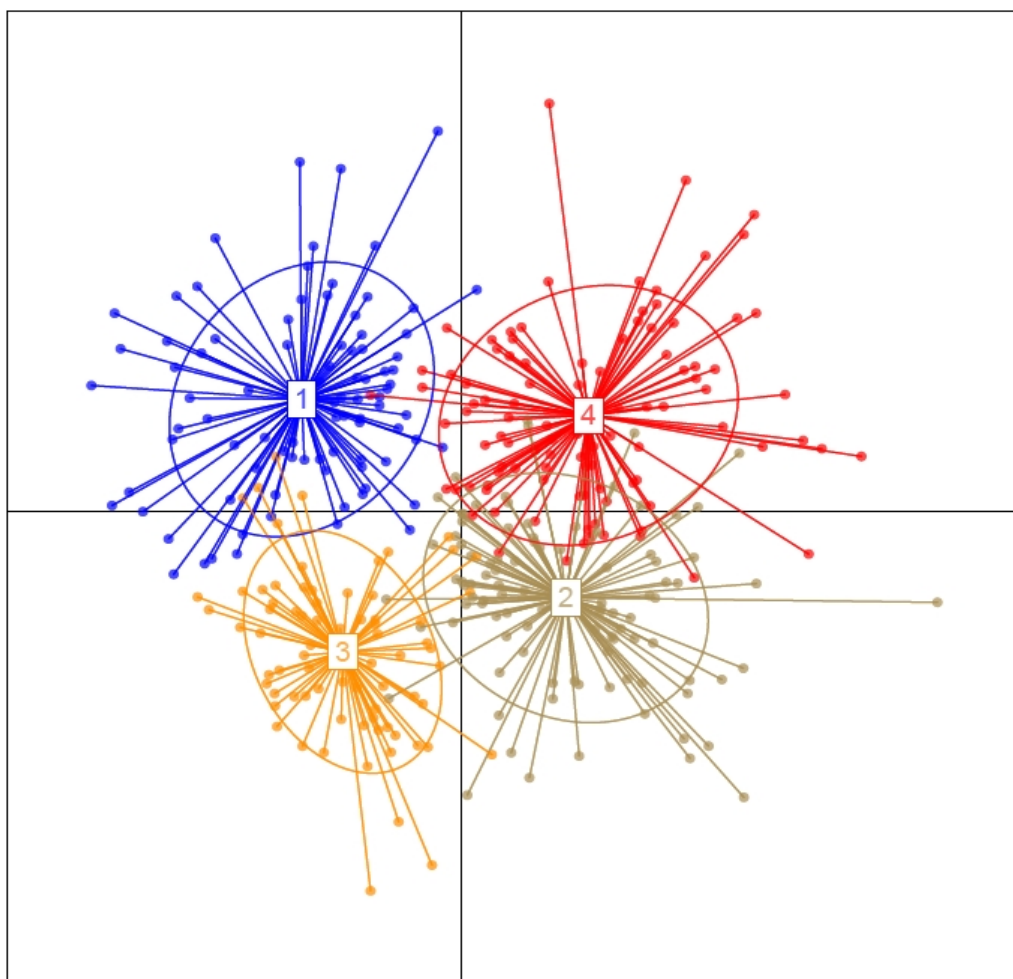


Figure 25. Résultat de l'analyse DAPC avec seulement les populations de France. L'analyse est basée sur une solution de K=4. Les groupes sont représentés par différentes couleurs.

4. Discussion

4.1. Déficients en hétérozygotes

L'écart à l'équilibre de Hardy Weinberg a été observé dans la plupart des échantillons avec des déficits en hétérozygotes importants. Les déficits en hétérozygotes ont été signalés dans divers métazoaires sessiles marins, y compris les espèces présentant des dispersions larvaire restreintes, comme les octocoralliaires (Abbiati *et al.* 1993; Costantini *et al.* 2007a, b; Gutiérrez-Rodríguez & Lasker 2004; Ledoux *et al.* 2010a, b; Mokhtar -Jamaï *et al.* 2011), les éponges (Duran *et al.* 2004), les hexacoralliaires (Adjeroud *et al.* 2014; Polato *et al.* 2010), et ascidies (Dupont *et al.* 2009; Pérez-Portela & Turon 2008). Les allèles nuls peuvent conduire à des déficits en hétérozygotes, mais les résultats obtenus avec MICRO-CHECKER n'indiquent pas la présence de ces derniers et suggèrent ainsi que les allèles nuls ne sont pas le principal facteur expliquant nos résultats. D'autres phénomènes pourraient induire des déficits en hétérozygotes chez ces espèces telles que la consanguinité ou l'effet Wahlund. *E. cavolini* est une espèce gonochorique avec une fertilisation interne. Dans ce cas, la consanguinité pourrait avoir lieu en raison de la présence et de la reproduction des individus apparentés dans la même population comme il est proposé pour le corail rouge *Corallium rubrum* (Ledoux *et al.* 2010b). Cela a été proposé comme une explication partielle pour l'observation des déficits en hétérozygotes lorsque l'échantillonnage comprend un nombre limité de ces familles. Une étude de la structure génétique à fine échelle d'*E. cavolini* sera nécessaire pour évaluer ces mécanismes pour cette espèce. Un effet Wahlund pourrait être créé par l'échantillonnage des populations différenciées dans le même site, mais nos analyses de structure génétique n'ont pas suggéré cela.

4.2. Structure génétique d'*E. cavolini* et comparaison avec d'autres octocoralliaires méditerranéens

Nous avons identifié quatre groupes principaux correspondant aux subdivisions géographiques: nord-ouest de la Méditerranée, îles des Baléares et Corse, Algérie et Turquie. Ces différences entre les régions étaient statistiquement significatives. Ces résultats peuvent être discutés dans le contexte plus général de la biogéographie de la mer Méditerranée. Les valeurs de F_{ST} ont indiqué que la plus haute distinction a été observée entre les populations orientales (Turcs) et celles de l'ouest. La différenciation était plus élevée lorsque l'on compare les échantillons de l'ouest avec la mer de Marmara (Moyenne $F_{ST} = 0,3$) ainsi qu'avec la mer Égée (moyenne $F_{ST} = 0,22$). Cette profonde rupture génétique entre les populations de la Méditerranée orientale et occidentale a été rapportée chez diverses espèces telles que les poissons, les mollusques, ou la

posidonie *Posidonia oceanica* (Arnaud-Haond *et al.* 2007; Bahari-Sfar *et al.* 2000; Nikula & Väinölä 2003). Une divergence est-ouest a été observée pour l'octocoralliaire *P. clavata* mais avec un seul échantillon dans le bassin oriental (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). Le détroit siculo-tunisien est en effet considéré comme une importante barrière au flux de gènes pour diverses espèces marines (Borsa *et al.* 1997). Concernant *E. cavolini*, la forte différenciation entre l'est et les échantillons de la Méditerranée occidentale pourraient être expliquée par plusieurs barrières océanographiques potentielles, y compris le détroit siculo-tunisien, mais leur emplacement exact reste à étudier (Berline *et al.* 2014). De plus, les lacunes dans la gamme de distribution d'*E. cavolini* entre la Turquie et l'Algérie pourrait contribuer à cette différenciation (Sini *et al.* 2014). L'isolement par la distance pourrait conduire à l'identification de populations bien-séparées, si les populations lointaines sont analysées sans intermédiaires géographiques (Aurelle & Ledoux 2013).

La différenciation Nord / Sud qu'on témoigne ici n'a pas souvent été observée dans les études phylogéographiques méditerranéennes mais a été testée dans trois autres octocoralliaires méditerranéens. Pour *P. clavata*, les échantillons du Sud semblaient bien différenciés du nord, mais ces échantillons du sud ont également été situés sur le côté ouest du front Almeria-Oran qui pourrait contribuer à cette différenciation (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). Pour *C. rubrum*, des échantillons du nord semblaient bien séparés de ceux du Sud (Algérie et au Maroc, y compris des échantillons provenant de la côte atlantique du front Almeria-Oran; Aurelle *et al.* 2011). À l'inverse, les populations algériennes d'*E. singularis* ont été en partie liés à des échantillons du nord des côtes françaises (Près de l'Espagne; Catanéo 2011). L'écart entre *E. singularis* et *E. cavolini* pourrait être lié à un nombre inférieur de locus dans l'ancienne étude par rapport à la notre (cinq par rapport à sept), ou aux différences intrinsèques des schémas de la structure génétique. Ici encore, l'aire de répartition d'*E. cavolini* pourrait expliquer en partie ces différences entre *E. singularis* et *E. cavolini*: Il y a une absence notable d'*E. cavolini* le long des côtes espagnoles de la Méditerranée. Cela pourrait avoir favorisé une connectivité entre côtes nord et sud pour *E. singularis* qui est plus fréquente dans cette zone (Sini *et al.* 2014). La structure génétique d'*E. cavolini* devrait être étudiée le long des côtes italiennes pour tester la possibilité de connectivité par ce moyen. Cette différenciation Nord-Sud pourrait également correspondre à un isolement particulier des populations algériennes en raison de systèmes de circulation méso-échelle tourbillons comme proposé pour le mérrou brun *Epinephelus marginatus* (Schunter *et al.* 2011b). Néanmoins, cette hypothèse ne serait pas suffisante pour expliquer les résultats contrastés obtenus pour les différentes espèces d'*Eunicella*. Dans tous les cas, les résultats de la plupart des études antérieures indiquent la spécificité génétique des

communautés octocoralliaires du sud. Les échantillons provenant des Baléares (Minorque) et Corse étaient identifiés comme un groupe distinct. La valeur F_{ST} entre ces échantillons était importante, mais inférieure que celles observées pour certaines comparaisons dans la région de Marseille par exemple. Le regroupement des échantillons de Minorque avec la Corse n'était pas conforme avec les groupes actuels de courants méditerranéens définis par Berline *et al.* (2014). La distance géographique et le manque d'habitats benthiques peu profonds entre elles sont des facteurs supplémentaires qui pourraient favoriser la divergence. En conséquence, l'analyse de regroupements génétiques sur d'autres octocoralliaires (*C. rubrum* et *P. clavata*) affiche une distinction génétique entre les îles Baléares et la Corse (Ledoux *et al.* 2010b; Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). Les résultats obtenus pour *E. cavolini* pourraient pointer vers une divergence récente entre populations insulaires d'une population ancestrale commune. Les échantillons turcs de la mer de Marmara et la mer Égée sont apparus fortement différenciés selon la valeur F_{ST} (0,24) et DAPC. Ceci n'a pas été visible à l'analyse de la structure globale probablement à cause du nombre réduit d'échantillons turcs analysés. En effet, l'échantillonnage asymétrique affecte cette méthode de classification (Aurelle & Ledoux 2013). Cependant, l'analyse de la structure sur des échantillons turcs seuls a clairement identifié une rupture génétique ici. Une différenciation génétique entre la mer Noire et la mer Méditerranée a été démontrée par exemple pour les moules *Mytilus galloprovincialis* (Ladoukakis *et al.* 2002), ou l'anchois *Engraulis encrasicolus* (Magoulas *et al.* 2006). Néanmoins, dans la plupart des cas, la localisation précise de rupture génétique n'a pas pu être déterminée, en particulier sa position son rapport à la mer de Marmara qui relie la mer Noire et la mer Égée. Ici, nous démontrons une différenciation génétique importante entre la mer de Marmara et la mer Égée pour *E. cavolini*. La mer de Marmara présente un modèle particulier de circulation avec des eaux peu profondes à faible salinité provenant de la mer Noire et des eaux salées plus profondes en provenance de la Méditerranée (Beşiktepe *et al.* 1994). Ceci, ainsi que les systèmes de détroit qui délimitent la mer de Marmara, fournit un facteur d'isolement solide pour les octocoralliaires, qui sont retenus à des endroits plus profonds. Dans tous les cas, compte tenu de la différenciation importante observée entre certains de ces groupes, en particulier la différenciation est-ouest, les incompatibilités génétiques peuvent contribuer à observer la différenciation (Bierne *et al.* 2011). Les approches d'analyse du génome seraient utiles ici pour aller plus loin dans l'investigation.

4.3. Structure génétique à des échelles régionales et locales

Dans la région de Marseille, la valeur max F_{ST} atteint 0,07 pour les populations séparées par 15 km. Une telle structure génétique locale a été démontrée pour d'autres octocoralliaires dans cette région, avec un maximum F_{ST} atteignant 0,2 pour *C. rubrum* (Ledoux *et al.* 2010) et 0,1 pour *P. clavata* (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). Cela a été lié à la capacité réduite de dispersion au stade larvaire des octocoralliaires méditerranéens (Martínez-Quintana *et al.* 2015). Dans *E. verrucosa*, les larves lécithotrophe sont censées avoir une durée de vie courte, mais inconnue (Sartoretto & Francour 2011). Dans *E. singularis*, les résultats expérimentaux indiquent qu'en présence de substrats favorables, la sédentarisation pourrait avoir lieu en moins de 30 h (Weinberg & Weinberg 1979). Si des caractères similaires sont trouvés chez les larves d'*E. cavolini*, ceci pourrait expliquer, avec l'importante dérive génétique notre observation d'une forte structure génétique locale.

Pour ce qui est des comparaisons entre profondeurs, nous n'avons pas pu démontrer de différences significatives dans les trois sites étudiés à Marseille. La différenciation entre les profondeurs semble assez faible pour cette espèce mais presque significative dans certains cas (Cánovas Molina *et al.* 2018, soumis). Deux autres espèces méditerranéennes, *P. clavata* (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011) et *C. rubrum* (Constantini *et al.* 2011; Ledoux *et al.* 2010) ont montré une différenciation génétique généralisée entre les profondeurs dans la région de Marseille. Les différences biologiques intrinsèques interagissant avec l'hydrodynamique pourraient expliquer les différences observées entre ces deux espèces et *E. cavolini*.

Chapitre 3.
Histoire démographique

1. Avant-propos : évolution des microsatellites, modèles et taux de mutation.

Les microsatellites sont connus par une variabilité élevée de longueur, et une abondance qui les rendent utiles pour l'inférence génétique et évolutive des populations. Au cours de la dernière décennie, les microsatellites ont été utilisés avec succès pour les études de structure génétique, de traçabilité et de paternité. Comprendre l'évolution des microsatellites est devenu important en génétique des populations, malgré une récente préférence aux SNPs qui sont de plus en plus utilisés à ces fins. L'évolution des microsatellites est statistiquement déduite sur la base des modèles théoriques de mutation et est utilisée pour expliquer les différences observées dans les fréquences des allèles. Bien que l'évolution des microsatellites soit encore partiellement méconnue et dépende de nombreux facteurs (Sainudiin *et al.* 2004), leur évolution a été modélisée selon diverses approches dont le modèle SMM ("stepwise mutation model", Kimura & Ohta 1978), dans lequel, une unité de répétition est soit acquise, entraînant une expansion, ou perdue, entraînant une contraction. Cependant, il a été observé que des mutations peuvent modifier la longueur des répétitions par plus d'une seule unité de répétition (Huang *et al.* 2002; Xu *et al.* 2000). Un modèle a été développé qui intègre cette possibilité de mutations (Di Rienzo *et al.* 1994). Ce modèle, appelé TPM (Two Phase Model) prédit la variance attendue du nombre de répétitions sous différents processus mutationnels. Il intègre le processus mutationnel du SMM, mais permet des mutations d'une plus grande ampleur à se produire : il y a une probabilité (p) pour qu'une mutation corresponde à une seule répétition ("one step mutation"), et une probabilité ($1-p$) d'être une mutation plus longue ("multi step mutation").

Sous les modèles SMM et TPM, un microsatellite est supposé muter à une vitesse constante, quelle que soit sa longueur de répétition. En outre, dans ces modèles, il n'y a pas de biais vers une expansion ou une contraction, et donc les microsatellites devraient se contracter ou croître sans contraintes au fil du temps (Sainudiin *et al.* 2004).

2. Introduction.

La compréhension des facteurs qui expliquent la diversité génétique des espèces et des populations est une question cruciale et de longue date en génétique des populations (Ellegren & Galtier 2016; Romiguier *et al.* 2014). Dans le contexte du changement global actuel, l'étude de la diversité génétique des espèces clés d'un point de vue écologique est importante pour la gestion et la conservation de l'écosystème. En effet, la diversité génétique est le carburant d'une réponse adaptative au changement et la génétique des populations vise à estimer sa répartition au sein et entre les populations. Romiguier *et al.* (2014) ont démontré que les traits d'histoire de vie, tels que l'investissement parental et la fécondité, expliquent les principales différences dans les niveaux de diversité chez les métazoaires. A l'intérieur des espèces, les différences dans la diversité génétique entre les populations peuvent refléter des niveaux variables de taille efficace locale ainsi que les flux de gènes, ou particulièrement l'histoire démographique de l'espèce en question. Par exemple, les niveaux de diversité génétique des espèces terrestres en Europe sont souvent déterminés par les dernières fluctuations glaciaires (Hewitt 2000). Dans le milieu marin, les conséquences génétiques des fluctuations climatiques du quaternaire ont été étudiées par Maggs *et al.* (2008) qui a proposé un cadre théorique pour étudier des zones de refuge glaciaires et la recolonisation des espèces benthiques dans le Nord-Atlantique. Les prédictions sont basées sur des niveaux inférieurs de la diversité génétique après la recolonisation (un modèle potentiellement affecté par les contacts secondaires; Petit *et al.* 2003). La reconstruction de l'histoire démographique, basée sur le polymorphisme des séquences, a également suggéré l'expansion démographique pour trois espèces benthiques (Le bénitier crocus *Tridacna crocea*, la crevette mante *Haptosquilla pulchella*, et l'étoile de mer *Protoreaster nodosus*) à l'issue d'une élévation du niveau de la mer et donc d'une expansion des habitats disponibles dans le détroit de la Sonde (Crandall *et al.* 2011). Néanmoins, l'impact des fluctuations climatiques passées sur la diversité génétique actuelle reste à étudier pour de nombreuses espèces marines et des bassins océaniques.

La mer Méditerranée peut être considérée comme un contexte géographique et environnemental intéressant pour l'étude de l'histoire démographique des espèces. Elle comprend une variété de bassins avec différentes conditions environnementales actuelles et passées (Hayes *et al.* 2005). Les variations passées du niveau de la mer ont rajouté des contraintes supplémentaires pour les espèces marines, avec un niveau de 120 m plus bas que le présent au DMG (Le dernier maximum glaciaire, période de refroidissement global ou glaciation atteinte il y a environ 20 000 ans) autour des côtes françaises (Hayes *et al.* 2005; Lambeck & Bard 2000). Pour de nombreuses espèces, les différents bassins correspondent à

des unités génétiques différentes (Borsa *et al.* 1997), qui pourraient avoir évolué d'une manière plus ou moins indépendante en fonction de ces variations climatiques.

Des différences dans les niveaux de diversité génétique entre les bassins ont été démontrées dans plusieurs cas. Des réductions des niveaux de diversité génétique ont été observés dans l'Adriatique et la mer Noire pour le sprat *Sprattus sprattus* (Limborg *et al.* 2012), en Méditerranée orientale pour la gorgone rouge, *Paramuricea clavata* (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011) ou pour les populations profondes du corail rouge, *Corallium rubrum* (Costantini *et al.* 2011, mais voir aussi Cannas *et al.* 2014). Chez la posidonie *Posidonia oceanica*, une diversité génétique plus élevée a été observée dans les populations centrales de la Méditerranée, ce qui est potentiellement expliqué par la conséquence d'un contact secondaire entre les populations occidentales et orientales (Arnaud-Haond *et al.* 2007). Les octocoralliaires sont de bons modèles pour étudier les différences de diversité génétique potentiellement liées à l'histoire démographique en Méditerranée. Des études antérieures ont identifié des populations bien différenciées pour certaines espèces sessiles (ex : Costantini *et al.* 2007b; Ledoux *et al.* 2010b; Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). Ces espèces présentent de faibles capacités de dispersion (Costantini *et al.* 2007a; Garrabou *et al.* 2009; Ledoux *et al.* 2010b; mais voir Martínez-Quintana *et al.* 2015.), et peuvent être ainsi plus affectées par le niveau de la mer et les fluctuations climatiques que les espèces avec une dispersion plus importante. Chez le corail rouge *C. rubrum*, l'étude basée sur les tests de l'équilibre mutation-dérive n'a pas démontrée des fluctuations démographiques claires dans la mer Méditerranée (Ledoux *et al.* 2010a; Aurelle *et al.* 2011). Différentes méthodes sont disponibles pour tester les fluctuations démographiques passées et estimer la taille effective correspondante (Girod *et al.* 2011), et qui pourraient être appliquées aux octocoralliaires méditerranéens.

Certaines méthodes indirectes reposent sur des statistiques calculées à partir de données génétiques et des tests d'écart de leur distribution théorique selon un modèle démographique et mutationnel donné (Cornuet & Luikart 1996; Garza & Williamson 2001; Schneider & Excoffier 1999). Parmi ces méthodes, nous allons utiliser l'approche de Cornuet & Luikart (1996) qui suppose que les allèles rares, qui contribuent marginalement à l'hétérozygotie, sont plus susceptibles d'être perdus à la suite d'un goulot d'étranglement. Ainsi, l'excès d'hétérozygotie, comparé à celui attendu à l'équilibre déduit du nombre observé d'allèles dans l'échantillon, peut donc être utilisé comme indicateur indirect pour détecter un goulot d'étranglement (Luikart & Cornuet 1998). Inversement, le déficit en hétérozygotie peut indiquer une expansion de la population (Cornuet & Luikart, 1996; Leblois *et al.* 2006). Toutefois, cette méthode souffre d'un pouvoir statistique limité et ne fournit aucune estimation de la gravité et de la durée du

goulot d'étranglement. Des méthodes alternatives à cette dernière sont de plus en plus utilisées, et sont basées sur le calcul de la vraisemblance, c'est-à-dire, la probabilité d'observer le nombre d'allèles ou les sites polymorphes d'ADN dans l'échantillon analysé, compte tenu d'un modèle démographique et mutationnel. Parmi ces méthodes, celle développée par Beaumont (1999), implémentée dans le logiciel MSVAR et améliorée par Storz & Beaumont (2002) et Storz *et al.* (2002), est de plus en plus utilisée pour déduire les changements démographiques passés (Girod *et al.* 2011). MSVAR suppose un modèle démographique constitué d'une seule population isolée, qui a subi un changement linéaire ou exponentiel de la taille efficace de la population à un moment donné dans le passé. Cette méthode est conçue pour analyser les données de microsatellites qui évoluent selon le modèle (SMM) précédemment cité (Ellegren 2004). MSVAR utilise une méthode de Monte-Carlo par chaînes de Markov (MCMC) pour échantillonner à partir d'une distribution à posteriori des paramètres modèles (taille efficace actuelle de la population, taille efficace ancestrale de la population avant le changement démographique, moment où le changement s'est produit et taux de mutation des locus microsatellites).

En génétique des populations, on suppose que le polymorphisme génétique neutre augmente avec la taille efficace, qui dans une population panmictique est égal au nombre d'individus contribuant à la reproduction. On s'attend donc à une liaison entre la diversité génétique d'une espèce et ses traits biologiques. Ceci est généralement expliqué en invoquant les nombreux facteurs susceptibles d'affecter le polymorphisme génétique, tels que le taux de mutation, le niveau de connectivité, les goulets d'étranglement de la population, et plus généralement les perturbations écologiques (Banks *et al.* 2013; Hewitt 2000). La présence d'*E. cavolini* de la Méditerranée occidentale à la mer de Marmara, permet de comparer l'histoire des différents bassins, et par ailleurs, tester l'hypothèse de refuges en Méditerranée. Ainsi, notre objectif est d'utiliser nos données précédemment acquises à l'issue de l'étude de diversité génétique d'*E. cavolini* dans différentes parties de la mer Méditerranée pour étudier l'histoire démographique entre ses différents bassins. Communément, la structure génétique peut biaiser les résultats d'une telle étude, et doit être prise en compte pour les approches d'étude de fluctuations démographiques (Chikhi *et al.* 2010). Ceci est réalisable en analysant plusieurs dèmes locaux séparément, ce qui offre la possibilité de contraster les propriétés des échantillons à échelle locale avec ceux de l'échantillon regroupé (Chikhi *et al.* 2010). Nous allons vérifier si les populations des différentes zones géographiques présentent des histoires démographiques similaires, et si les différents bassins pourraient correspondre/ou pas à des unités génétiques différentes qui pourraient avoir évolué d'une manière plus ou moins indépendante.

3. Matériel et Méthodes.

Afin de tester si les populations analysées ont subi récemment des changements démographiques, nous avons utilisé deux approches différentes. Premièrement, l'hypothèse nulle d'équilibre de mutation dérive a été testée en utilisant le logiciel BOTTLENECK 1.2.02 (Piry *et al.* 1999). Les essais ont été basés sur 1000 répliquats sous le modèle de mutation (TPM) avec 95% du modèle de mutation (SMM), et une variance égale à 12 (Cornuet & Luikart 1996). Deuxièmement, nous avons utilisé le logiciel MSVAR 1.3 pour évaluer l'histoire démographique la plus probable sur la base de « Markov Chain Monte Carlo » (MCMC) simulations (Beaumont 1999). Tout d'abord, nous avons testé la sensibilité du logiciel à différents points de départ concernant les tailles efficaces ancestrales et actuelles (respectivement N_{anc} et N_{curr}) sur une population: Nous avons utilisé soit les mêmes distributions pour N_{anc} et N_{curr} , ou des distributions indiquant soit une réduction ($N_{anc} > N_{curr}$) ou une expansion des populations ($N_{anc} < N_{curr}$). Ceci a conduit à des résultats similaires dans toutes les configurations indiquant le déclin de taille de la population, nous concentrons la principale analyse sur une approche sans a priori, avec les mêmes distributions pour N_{anc} et N_{curr} . Compte tenu du temps de calcul, nous avons d'abord effectué deux analyses avec deux jeux de données différents. La première en analysant séparément un sous-ensemble de deux échantillons par zone: KIA / DDC (groupées) et SPI pour l'Algérie; MJS et RIS pour la France; SIV et AYV pour la Turquie; et MEN et REV pour le groupe des îles. Les deux populations algériennes KIA et DDC ont été regroupées suite à une différenciation non significative (voir les résultats du deuxième chapitre). Pour la France continentale, les deux échantillons retenus correspondaient à deux profondeurs de deux sites, et ont donné des résultats différents avec BOTTLENECK. Pour la seconde prise, nous avons analysé chaque région séparément en regroupant les échantillons correspondants du premier jeu de donnée.

Afin d'évaluer l'impact du modèle de mutation sur les résultats obtenus, nous avons analysé les résultats pour les sept locus séparément dans la région algérienne. La structure génétique peut influencer sur les résultats d'analyses sous MSVAR (Faurby & Pertoldi 2012). Afin de limiter cet effet, une analyse au niveau du dème dans la région française a été lancée en utilisant deux individus de chaque population dans cette région. Nous avons également pris deux individus provenant des 12 sites (total : 24 individus) de la région de Marseille, comme une approximation de la méthode proposée par Chikhi *et al.* (2010). Cela n'a pas été appliqué dans les autres régions en raison d'un nombre réduit d'échantillons indépendants. Les paramètres utilisés pour les analyses de MSVAR sont fournis dans les tableaux 12 et 13. Nous avons lancé quatre chaînes indépendantes avec des valeurs a priori identiques et des valeurs de

départ pour chaque région. Chaque chaîne produit 20 000 lignes de sortie. Nous avons testé la convergence de la MCMC avec le critère de Brooks, Gelman et Rubin (Brooks & Gelman 1998; Gelman & Rubin 1992) (Annexe 4). Les valeurs entre 1,0 et 1,1 indiquent une convergence raisonnable, tandis que les valeurs supérieures à 1,1 indiquent une mauvaise convergence. Les 10 000 dernières lignes de sortie de chaque chaîne ont été retenues pour créer une chaîne combinée de 40 000 points de données pour chaque région. Les résultats de MSVAR ont été analysés en se concentrant sur la détection et de la direction des changements démographiques (expansion ou contraction). Nous avons également comparé l'ampleur des changements entre les régions en utilisant les paramètres calibrés de ($\theta_{curr} = 4N_{curr}\mu$, $\theta_{anc} = 4N_{anc}\mu$) sur les quatre ensembles de données répliquées. Toutes les sorties ont été analysées avec le package R CODA (Plummer *et al.* 2006).

Tableau 12. Paramètres MSVAR : Les chaînes en consensus pour MSVAR ont été exécutées en modélisant un déclin exponentiel, un temps de génération de cinq ans et des valeurs a priori suivant ces paramètres:

Nombre de ploïdie	2
Temps de génération	5
Valeurs de départ de taille actuelle de population pour tous les locus	10^3 (pour tous les locus)
Valeurs de départ de taille ancestrale de population pour tous les locus	10^3 (pour tous les locus)
Valeurs de départ pour le temps de déclin/expansion (tous les locus)	4×10^3 (pour tous les locus)
Indicateurs (0,1) s'il faut mettre à jour les valeurs de ces paramètres	0
Valeurs de départ pour les moyennes a priori / variance pour la taille actuelle	3 / 1
Valeurs de départ pour les moyennes a priori / variance pour la taille ancestrale	3 / 1
Valeurs de départ pour les moyennes a priori / variance pour le taux de mutation	-3,3 / 1
Nombre de lignes de sortie	20000
Nombre d'itérations entre lignes de sortie	100000

Tableau 13. Paramètres Hyperprior dans les chaînes en consensus (notation suivant Storz *et al.* 2002, modifiés). Paramètres Hyperprior: α = moyenne de moyenne; σ = écart type de la moyenne; β = moyenne de l'écart type; τ = écart type de l'écart type.

	α	σ	β	τ
$\log N_{\text{curr}}$	3	1,5	0	0,5
$\log N_{\text{anc}}$	3	1,5	0	0,5
$\log \mu$	-3,3	0,5	0	1
$\log T$	3,6	2	0	0,5

4. Résultats.

L'analyse de l'écart à l'équilibre mutation-dérive en utilisant BOTTLENECK n'a indiqué aucun excès en hétérozygotie significatif, qui est attendu après un goulot d'étranglement. D'autre part, un déficit en hétérozygotie significatif est détecté dans 10 échantillons parmi 19. Ceci est attendu après une expansion de population et a été observé dans cinq sites de France, en Algérie dans les trois sites, ainsi que dans le site des Baléares (Minorque) (Tab. 14).

Tableau 14. Tests d'équilibre mutation-dérive chez *E. cavolini* sous BOTTLENECK. Probabilités pour le test de Wilcoxon unilatéral pour l'excès (H_{exc}) et le déficit (H_{def}) d'hétérozygotie. Valeurs significative en gras

Pop	Probabilité		Région
	H (déficit)	H (excès)	
KIA	0,00	1,00	Algérie
SPI	0,02	0,98	
DDC	0,01	0,99	
MEN	0,02	0,99	Minorque
REV	0,23	0,81	Corse
CAV	0,00	1,00	France - Provence
MEJ	0,02	0,99	
MJS	0,01	1,00	
POU	0,05	0,96	
RID	0,19	0,85	
RIS	0,41	0,66	
SAM	0,05	0,96	
SOM	0,02	0,99	
VED	0,05	0,96	
VES	0,04	0,97	
3PP	0,05	0,96	
SAR	0,01	1,00	
AYV	0,36	0,72	
SIV	0,50	0,59	

Les résultats de MSVAR indiquent un fort déclin dans tous les échantillons analysés, que ce soit séparément ou regroupés par région. Les valeurs moyennes de tailles ancestrales et actuelles sont listées dans le (Tab. 15) et représentées sur la (Fig. 26).

Tableau 15. Médiane, moyenne, variance et écart type des tailles ancestrales et actuelles pour les échantillons analysés séparément. Ratio: N_{anc}/N_{curr} . Les valeurs sont exprimées en \log_{10} .

Région	Algérie					France				
Population	KIA/DDC		SPI		Ratio	MJS		RIS		Ratio
Taille	N _{curr}	N _{anc}	N _{curr}	N _{anc}		N _{curr}	N _{anc}	N _{curr}	N _{anc}	
Moyenne	2,03	5,18	1,21	5,32	4,11	1,97	5,09	1,48	5,17	3,69
Médiane	2,02	5,19	1,23	5,33		1,95	5,09	1,45	5,17	
SD	0,51	0,46	0,69	0,49		0,53	0,5	0,54	0,51	
Var	0,26	0,21	0,47	0,24		0,28	0,25	0,3	0,26	

Région	Iles				Turquie					
Population	MEN		REV		Ratio	AYV		SIV		Ratio
Taille	N _{curr}	N _{anc}	N _{curr}	N _{anc}		N _{curr}	N _{anc}	N _{curr}	N _{anc}	
Moyenne	1,19	5,27	1,15	5,3	4,15	0,78	4,89	0,67	5,06	4,39
Médiane	1,2	5,28	1,16	5,3		0,8	4,9	0,72	5,07	
SD	0,56	0,49	0,69	0,48		0,79	0,59	0,73	0,6	
Var	0,32	0,24	0,48	0,23		0,62	0,35	0,54	0,36	

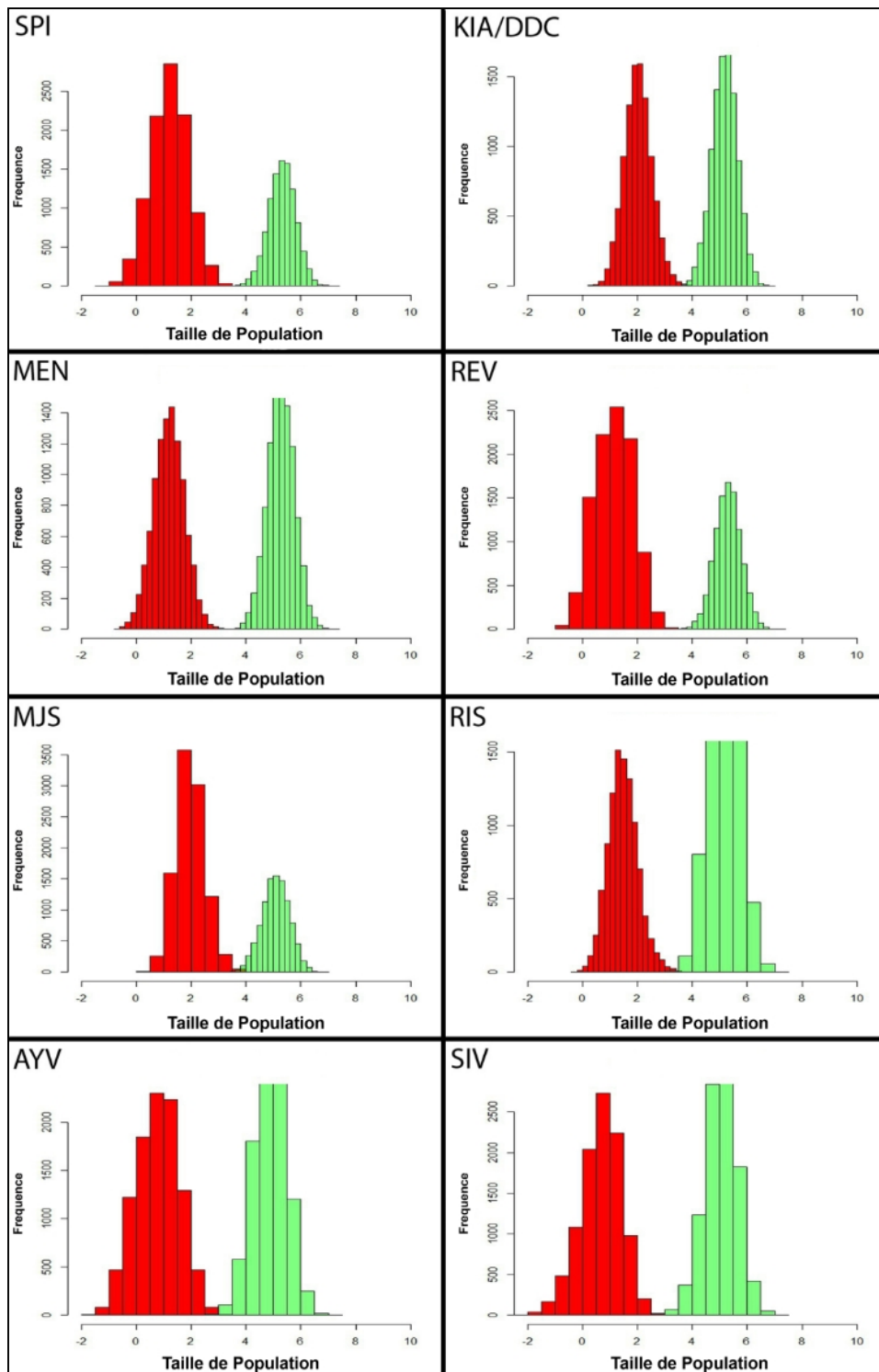


Figure 26. Densités marginales à posteriori des tailles efficaces actuelles (en rouge) et ancestrales (en vert) dans huit populations séparées. Les densités sont exprimées en \log_{10}

Les valeurs moyennes de tailles ancestrales et actuelles indiquent un déclin pour toutes les régions analysées séparément. Le ratio N_{anc}/N_{curr} atteint 10^4 en Turquie et 2×10^3 en Algérie (Tab. 16, Fig. 27).

Tableau 16. Médiane, moyenne, variance et écart type des tailles ancestrales et actuelles pour les quatre régions de la Méditerranée. Ratio: N_{anc} / N_{curr} . μ : taux de mutation, T : temps depuis le changement de taille de population. Les valeurs sont exprimées en \log_{10} .

	Algérie					France				
	N_{curr}	N_{anc}	Ratio	μ	T	N_{curr}	N_{anc}	Ratio	μ	T
Moyenne	1,94	5,21	3,27	-3,21	2,98	1,32	5,27	3,95	-3,29	2,70
Médiane	1,93	5,21		-3,21	2,98	1,33	5,28		-3,30	2,71
SD	0,54	0,46		0,44	0,52	0,58	0,48		0,45	0,56
Var	0,29	0,21		0,20	0,27	0,33	0,23		0,20	0,31

	Iles					Turquie				
	N_{curr}	N_{anc}	Ratio	μ	T	N_{curr}	N_{anc}	Ratio	μ	T
Moyenne	1,27	5,28	4,01	-3,30	2,68	1,10	4,92	3,81	-3,35	2,72
Médiane	1,28	5,29		-3,30	2,69	1,13	4,93		-3,35	2,74
SD	0,56	0,47		0,45	0,54	0,65	0,53		0,45	0,61
Var	0,32	0,22		0,20	0,29	0,43	0,28		0,20	0,37

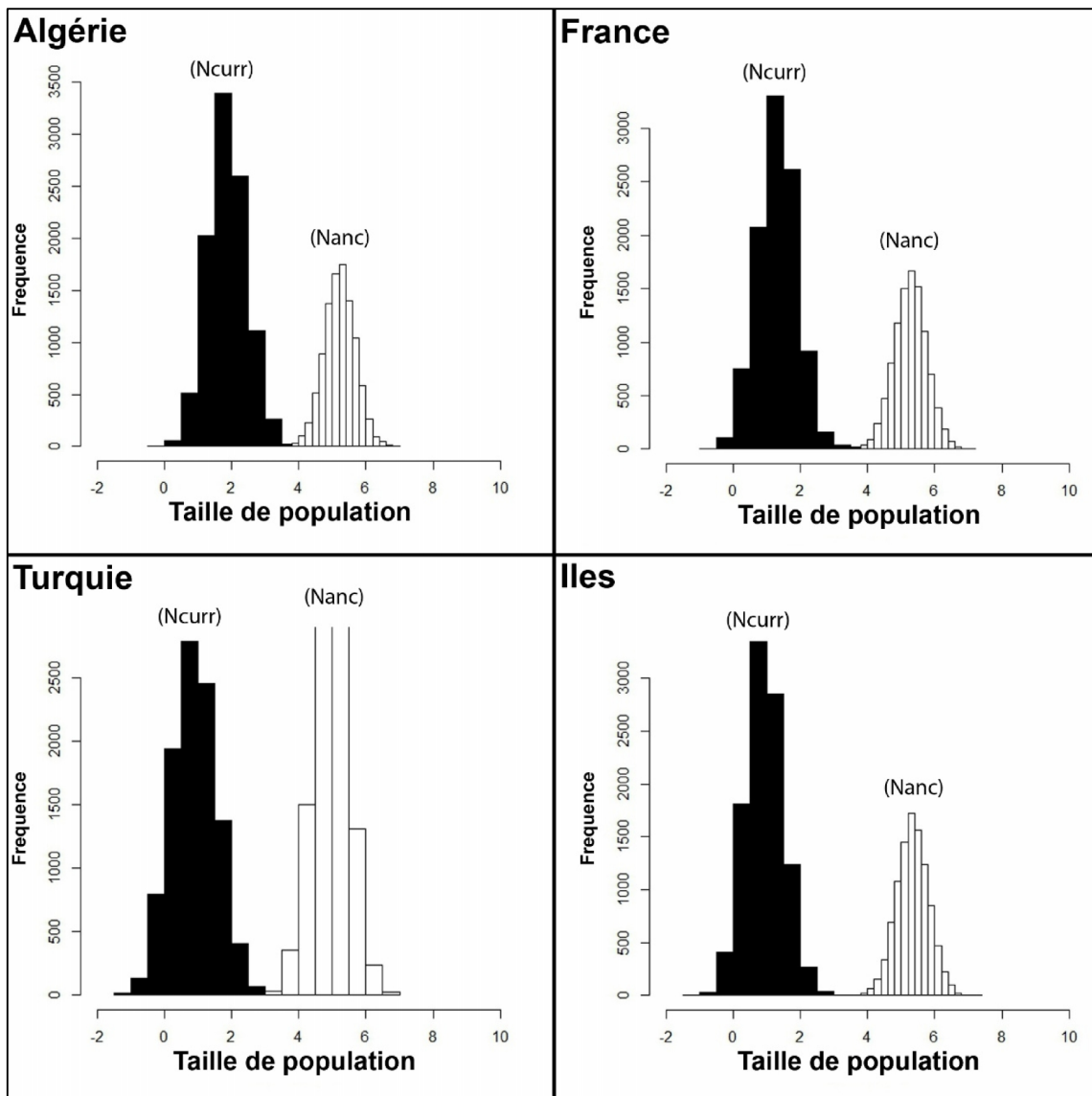


Figure 27. Densités marginales à posteriori des tailles efficaces actuelles (en noir) et ancestrales (en blanc) dans quatre régions de la Méditerranée. Les densités sont exprimées en \log_{10}

En prenant en considération les paramètres calibrés, la valeur de taille actuelle $\theta = 4N_e\mu$ était à nouveau plus élevée en Algérie, intermédiaire en France et dans les îles, et la plus basse en Turquie. Cette estimation est 10 fois plus importante en Algérie qu'en Turquie (0,21 vs 0,02; respectivement) (Tab.17, Fig. 28).

Tableau 17. Estimations des paramètres calibrés ($\theta_{curr} = 4N_{curr}\mu$, $\theta_{anc} = 4N_{anc}\mu$, $t = T(2N_{curr})$) dans quatre régions de la Méditerranée.

	Algérie			France			Iles			Turquie		
	θ_{curr}	θ_{anc}	t	θ_{curr}	θ_{anc}	t	θ_{curr}	θ_{anc}	t	θ_{curr}	θ_{anc}	t
Moyenne	0,21	398,11	5,25	0,04	380,19	10,96	0,04	389,05	12,59	0,02	147,91	20,89
Médiane	0,22	407,38	5,25	0,04	398,11	11,22	0,04	407,38	12,88	0,03	154,88	20,89
SD	2,24	1,35	1,41	2,69	1,58	1,62	2,51	1,48	1,35	3,63	2,14	1,58
Var	1,35	1,05	1,05	1,51	1,1	1,1	1,45	1,07	1,05	2,04	1,29	1,1

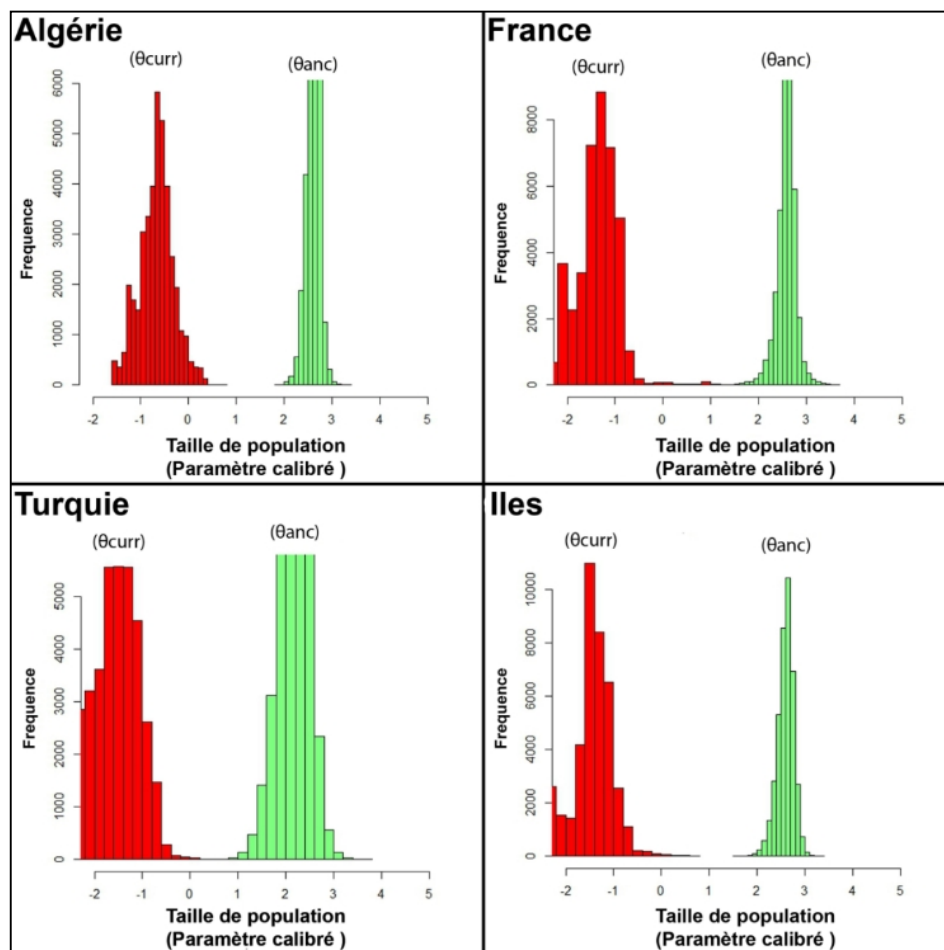


Figure 28. Densités marginales à posteriori des paramètres calibrés de tailles efficaces actuelles (en vert) et ancestrales (en rouge) dans quatre régions de la Méditerranée. Les densités sont exprimées en \log_{10}

Sur les côtes continentales françaises, avec seulement 24 individus analysés (deux pour chaque site), les résultats indiquent également un déclin de population, mais à une intensité inférieure à celle de l'analyse régionale avec deux sites (N_{anc} / N_{curr} autour de 300 et 9×10^3 pour le pool et l'analyse régionale, respectivement, Tab. 18, Fig. 29).

Tableau 18. médiane, moyenne, variance et écart type des tailles ancestrales et actuelles dans la région Française avec 24 individus échantillonnés, deux pour chaque site. Les valeurs sont exprimées en \log_{10} .

	N_{curr}	N_{anc}	Ratio
Moyenne	1,61	4,04	2,43
Médiane	1,64	4,04	
SD	0,80	0,59	
Var	0,65	0,35	

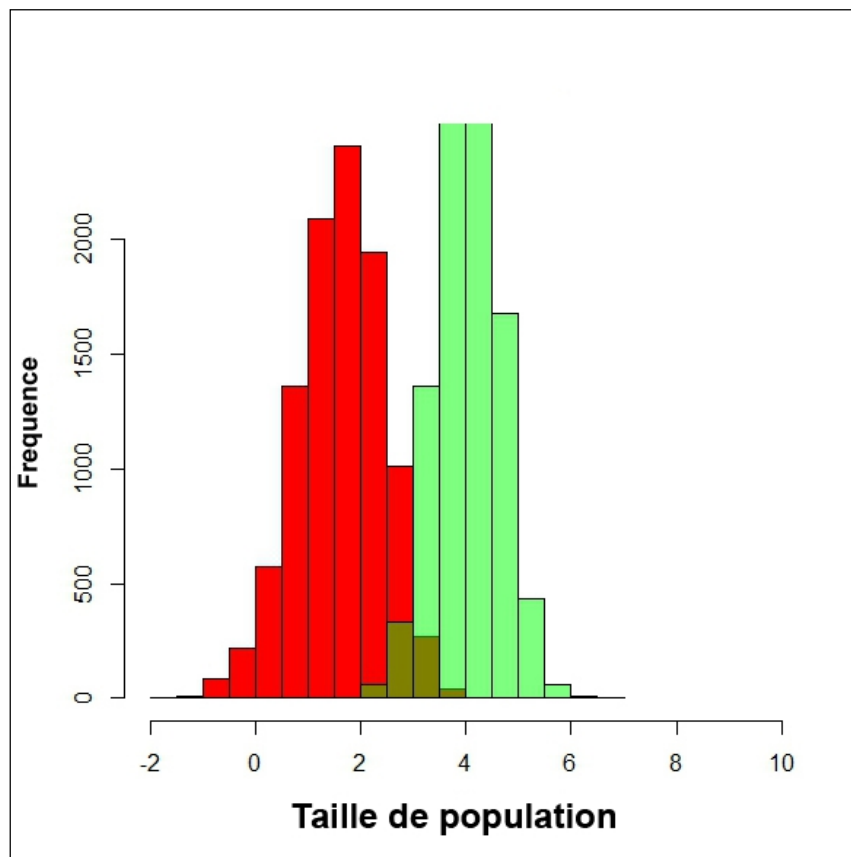


Figure 29. Densités marginales à posteriori des tailles efficaces actuelles (en rouge) et ancestrales (en vert) sur les côtes continentales françaises avec 24 individus, deux pour chaque site. Les densités sont exprimées en \log_{10}

L'inférence du déclin démographique est cohérente le long de tous les locus analysés séparément dans la région algérienne. Le déclin de population est observés dans tous les cas (Tab. 19, Fig. 30)

Tableau 19. Médiane, moyenne, variance et écart type des tailles ancestrales et actuelles pour chaque locus séparément dans la région Algérienne. Les valeurs sont exprimées en log₁₀.

Locus	C21		C30		C40		S14		Mic56		Ever007		Ever009	
Taille	Ncurr	Nanc	Ncurr	Nanc	Ncurr	Nanc	Ncurr	Nanc	Ncurr	Nanc	Ncurr	Nanc	Ncurr	Nanc
Moyenne	1,55	5,19	1,91	5,26	1,9	5,21	2,02	5,26	2,03	5,26	1,72	5,18	1,73	5,22
Médiane	1,53	5,19	1,9	5,27	1,89	5,21	2,02	5,25	2,04	5,26	1,71	5,18	1,72	5,22
SD	0,58	0,48	0,58	0,47	0,59	0,47	0,59	0,46	0,59	0,46	0,58	0,48	0,57	0,47
Var	0,34	0,23	0,34	0,22	0,35	0,22	0,35	0,21	0,35	0,21	0,34	0,23	0,33	0,22

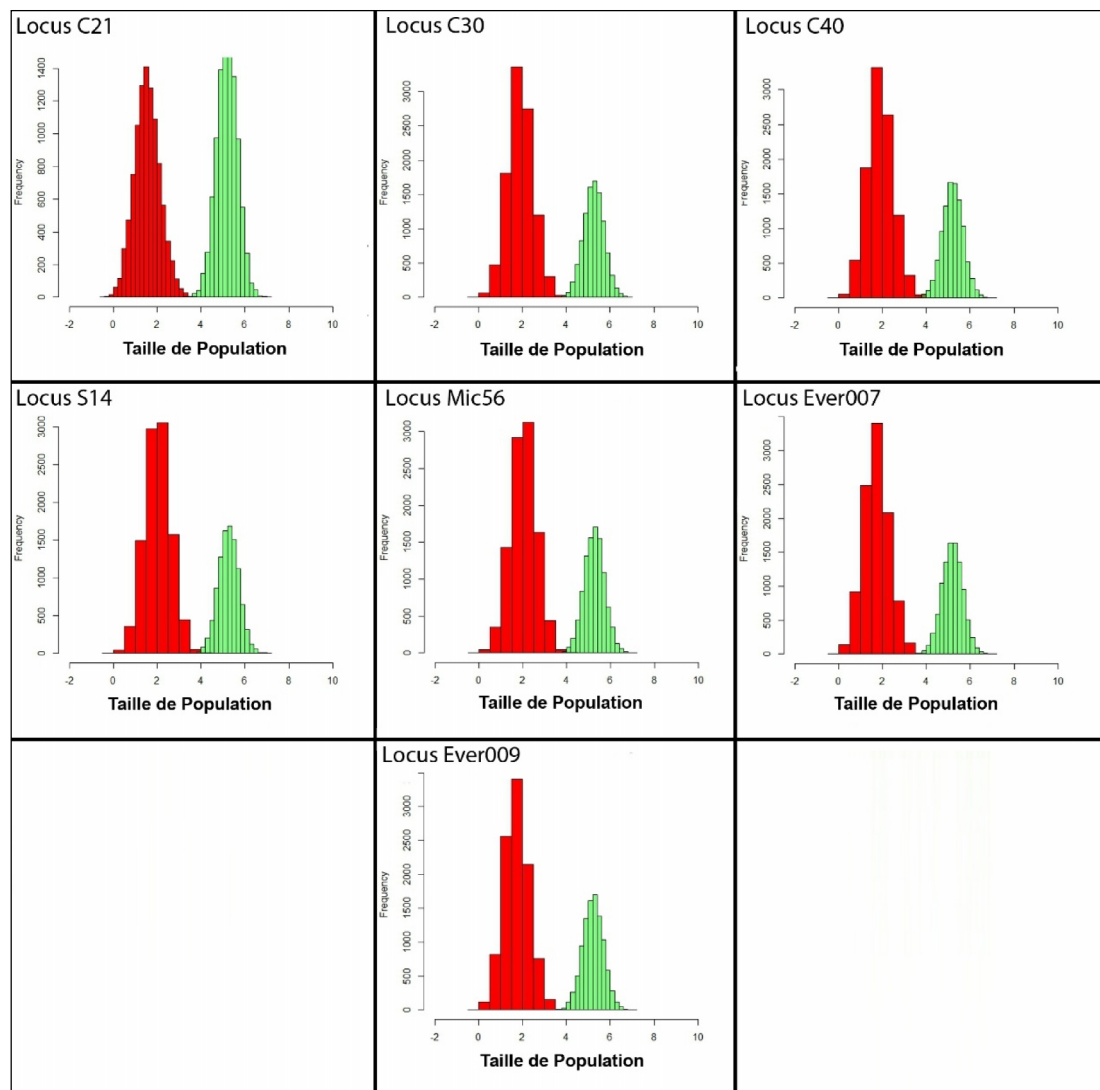


Figure 30. Densités marginales à posteriori des tailles efficaces actuelles (en rouge) et ancestrales (en vert) sur sept locus analysés séparément dans la région Algérienne. Les densités sont exprimées en log₁₀

5. Discussion.

5.1. Résultats contrastés entre approches BOTTLENECK et MSVAR

En étudiant l'histoire démographique de l'espèce, nous avons trouvé des résultats contrastés entre les tests de BOTTLENECK et les estimations des tailles efficaces passées par rapport aux tailles actuelles avec MSVAR. En effet, BOTTLENECK soit ne détecte pas de fluctuations démographiques, soit détecte un signal d'expansion de population. Inversement, l'approche MSVAR suggère un déclin de taille de populations généralisé dans toute la méditerranée avec des amplitudes différentes. De telles différences entre ces deux méthodes ont été démontrées par Girod *et al.* (2011). Dans une simulation de déclin de population, ces auteurs ont observé que MSVAR pouvait en effet détecter le changement démographique correct, mais dans certains cas de simulation avec les changements les plus anciens, BOTTLENECK suggère une expansion de taille de population. Nous fournissons ici une évidence empirique sur le rendement contrasté des deux méthodes souvent employées dans les études sur l'histoire démographique des espèces. L'analyse de MSVAR peut conduire à de fausses inférences de déclin de taille de population en cas d'un fort écart du modèle de mutation (SMM; Girod *et al.* 2011; Faurby & Pertoldi 2012) ou dans le cas d'une structure génétique sous-jacente (Chikhi *et al.* 2010). En ce qui concerne l'écart au modèle de mutation SMM, la détection d'un déclin démographique est cohérente le long de tous les locus analysés dans cette étude et qui présentent différents niveaux de variabilité et de distributions de tailles des allèles. En ce qui concerne la structure génétique, l'analyse à l'intérieur des régions au niveau des individus a donné des résultats similaires que l'analyse avec des échantillons groupés. Néanmoins, l'analyse d'un seul dème peut conduire à de fausses détections de déclin démographique (Chikhi *et al.* 2010). Une baisse, bien que moins forte, a également été détectée pour un prélèvement d'individus répartis sur plusieurs dèmes différents comme suggéré par Chikhi *et al.* (2010). Ces observations suggèrent que les populations d'*E. cavolini* ont en effet été touchées par un déclin démographique, mais les estimations de l'ampleur de cette baisse peuvent être biaisées par la structure de la population. Comme l'ont suggéré Faurby & Pertoldi (2012), nous concentrons notre interprétation sur les résultats des niveaux relatifs de taille efficace actuelle. Au niveau du dème, les tailles efficaces actuelles détectées étaient beaucoup plus basses dans les échantillons de Turquie que dans les autres régions méditerranéennes.

5.2. La diversité génétique et les inférences sur l'histoire évolutive

E. cavolini est une espèce à grande diversité parmi les métazoaires (Romiguier *et al.* 2014). Nous avons montré ici que cette diversité est très hétérogène entre les régions en raison des différences de tailles efficaces, un résultat qui est soutenu par les estimations calibrées de taille efficace. Les échantillons de Turquie affichent les niveaux les plus bas de diversité génétique, alors que les échantillons algériens affichent le plus haut niveau de diversité (une différence de richesse allélique du simple au double et une réduction de 42% en hétérozygotie attendue en Turquie par rapport à l'Algérie). La faible réduction d'hétérozygotie par rapport à la diminution de richesse allélique est un effet attendu : en effet en cas de réduction de taille de populations, la perte d'allèles rares aura un impact plus important sur la richesse allélique que sur l'hétérozygotie. Les différences dans les niveaux de diversité génétique entre les populations peuvent être la conséquence des différentes histoires évolutives (par exemple, goulot d'étranglement) et aussi de différences de taille efficace ou de connectivité pour une même histoire.

Les niveaux les plus bas de diversité génétique observé en Turquie peuvent être discutés en fonction de l'histoire de la mer de Marmara. Plusieurs scénarios de connexion entre la Mer Noire et la mer Méditerranée après le dernier maximum glaciaire ont été proposés. Ryan *et al.* (1997) ont suggéré que, pendant le dernier maximum glaciaire, la mer Noire est devenue un lac géant d'eau douce et que la mer Méditerranée l'a réapprovisionné. Une deuxième hypothèse suggère que c'était la mer Noire qui a pénétré en premier dans le Bosphore et a débordé par la suite dans la mer de Marmara (Aksu *et al.* 2002). Dans les deux cas, ces scénarios impliquent des événements de colonisation récente pour la mer de Marmara et, éventuellement, pour la partie voisine de la mer Égée. La densité des populations d'*E. cavolini* dans le nord de la mer Égée voisine est également inférieure à celle de la Méditerranée occidentale, et la fréquence de recrutement semble réduite dans les populations orientales (Sini *et al.* 2015). Une diversité réduite a été observée pour les populations turques par rapport aux populations de la Méditerranée occidentale chez la gorgone rouge *P. clavata*, mais avec seulement une population étudiée dans le bassin oriental (Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). Ceci concorde bien avec nos inférences de taille efficace actuelle inférieure et la plus faible diversité génétique dans cette région par rapport à la Méditerranée orientale. Le niveau élevé de richesse allélique privée (deuxième après l'Algérie) dans cette zone souligne également un isolement historique de ces populations (Waples 2010) qui aurait pu renforcer la perte régionale de diversité.

La plus grande diversité génétique pour *E. cavolini* a été observée en Algérie. Jusqu'à présent, aucune étude démographique n'a été menée sur les populations du sud-ouest de la Méditerranée

pour qu'on puisse comparer les tailles de populations avec la rive nord. La richesse privée élevée qu'on observe ici souligne également l'isolement de ce pôle sud. Cela pourrait indiquer que cette zone correspond à une zone de refuge (Maggs *et al.* 2008), ou au moins, que cette zone présente des conditions environnementales qui aurait permis une meilleure stabilité démographique de ces populations que dans d'autres régions de la Méditerranée. Les fluctuations climatiques du Quaternaire ont conduit à des variations de température et de niveau de la mer. Les températures de surface ont été estimées à près de 7 ° C en hiver dans le golfe du Lion (contre 13° C à ce jour) et le niveau de la mer était 120 m plus bas que l'actuel autour des côtes françaises (Hayes *et al.* 2005; Lambeck & Bard 2000). Ces variations pourraient avoir eu différents impacts démographiques selon l'emplacement, du fait d'un refroidissement plus faible le long des côtes algériennes pendant les périodes glaciaires (Hayes *et al.* 2005). Si les régions du sud étaient des refuges pour *E. cavolini*, la recolonisation du nord de la Méditerranée aurait pu conduire à une richesse au sud face à une carence au nord comme observé pour diverses espèces en milieu continental (Hewitt 2000). Chez *E. cavolini*, la différenciation marquée entre les populations du nord et du sud pourrait pointer vers un autre scénario: Il pourrait y avoir une zone de refuge nord plus affectée par les fluctuations climatiques que celle du sud. Une plus grande diversité dans le sud par rapport aux populations du nord n'a pas été observée pour d'autres populations des octocoralliaires, à part pour *E. singularis* (Aurelle *et al.* 2011; Catanéo 2011; Mokhtar-Jamaï *et al.* 2011). Ceci pourrait suggérer des réponses différentes d'octocoralliaires aux fluctuations climatiques avec une plus grande sensibilité d'*E. cavolini* aux variations climatiques passées

Conclusion

Conclusion

La gorgone jaune *E. cavolini* présente des unités génétiques distinctes avec des niveaux contrastés de diversité en fonction des régions. Par conséquent, la protection des populations génétiquement riches (l'exemple des populations Algériennes) ou avec une importante diversité privée (par exemple en Turquie) est une priorité. Ceci est particulièrement important lorsque l'espèce est menacée. En Turquie, certaines populations d'*E. cavolini* qui sont relativement denses et se limitent à quelques régions de la mer de Marmara, sont sujettes à différentes menaces telle que l'impact indirect de la pêche (Topçu & Öztürk 2015). La faible diversité génétique des gorgones de cette région pourrait rendre ces populations encore plus vulnérables face à ces menaces qui tendent à diminuer les effectifs de leurs populations. Ceci, plaide pour l'importance de la gestion locale de cette espèce, ainsi que d'autres espèces de l'écosystème coralligène à dispersion spatiale restreinte. L'impact des conditions environnementales sur ces espèces devraient être considéré pour leur protection. La diversité observée des niveaux de thermo-tolérance chez *E. cavolini* n'est pas corrélée avec la structure génétique estimée avec les microsatellites (Pivotto *et al.* 2015; nos résultats). Néanmoins, il est important de prendre en compte cette diversité adaptative à des fins de gestion. Les réponses face au changement thermique chez les espèces présentées dans ce travail varient de sévères à absentes sur de petites comme de grandes échelles. Cette réponse différentielle pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes et notamment par les interactions entre acclimatation, adaptation génétique et dérive génétique. Ainsi, des études génomiques de notre espèce modèle pourraient ouvrir la voie vers une meilleure compréhension de son évolution et de son adaptation dans un environnement fluctuant, et par ailleurs, mettre en évidence l'impact potentiel de la dérive génétique dans la réponse différentielle à la contrainte thermique. En effet, l'influence de la dérive génétique sur l'adaptation locale devrait être plus forte chez les espèces avec une connectivité restreinte et une taille de population efficace réduite (Crisci *et al.* 2017).

La quantification des caractéristiques démographiques et des niveaux de perturbation des populations d'*E. cavolini* ont permis d'évaluer leur état de conservation (Sini *et al.* 2015). Ces données permettent de comprendre comment les facteurs biotiques, abiotiques et anthropiques peuvent influencer sur la structure et la dynamique des populations à différentes échelles spatiales. L'importance de la connectivité démographique est déduite des informations sur les taux démographiques locaux et comment ces taux varient au fil du temps. Les méthodes génétiques peuvent donner un aperçu de la connectivité génétique lorsqu'elles sont combinées avec ces

taux démographiques locaux, qui sont à étudier pour notre espèce, en particulier dans les bassins sud de la Méditerranée (Algérie), où l'information sur les structures de tailles, la dynamique des populations et leur état de santé restent méconnue. Étant donné la distribution généralisée d'*E. cavolini*, des recherches plus approfondies permettront d'avoir une vue plus complète des tendances démographiques présentées et de mieux comprendre et atténuer l'impact d'une perturbation future.

Bibliographie

Références bibliographiques

- Abbiati M, Santangelo G, Novelli S (1993) Genetic variation within and between two Tyrrhenian populations of the Mediterranean alcyonarian *Corallium rubrum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser* **95**, 245-250.
- Adjeroud M, Guérécheau A, Vidal-Dupiol J, *et al.* (2014) Genetic diversity, clonality and connectivity in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*: a multi-scale analysis in an insular, fragmented reef system. *Marine Biology* **161**, 531-541.
- Aksu AE, Hiscott RN, Mudie PJ, *et al.* (2002) Persistent Holocene outflow from the Black Sea to the Eastern Mediterranean contradicts Noah's Flood hypothesis. *GSA Today* **12**, 4-10.
- Almany G, Connolly S, Heath D, *et al.* (2009) Connectivity, biodiversity conservation and the design of marine reserve networks for coral reefs. *Coral Reefs* **28**, 339-351.
- Andras JP, Rypien KL, Harvell CD (2013) Range-wide population genetic structure of the Caribbean sea fan coral, *Gorgonia ventalina*. *Molecular Ecology* **22**, 56-73.
- Arizmendi-Mejía R, Linares C, Garrabou J, *et al.* (2015) Combining genetic and demographic data for the conservation of a Mediterranean marine habitat-forming species. *PloS one* **10**, e0119585.
- Arnaud-Haond S, Belkhir K (2007) GENCLONE: a computer program to analyse genotypic data, test for clonality and describe spatial clonal organization. *Molecular Ecology Notes* **7**, 15-17.
- Arnaud-Haond S, Migliaccio M, Diaz-Almela E, *et al.* (2007) Vicariance patterns in the Mediterranean Sea: east–west cleavage and low dispersal in the endemic seagrass *Posidonia oceanica*. *Journal of Biogeography* **34**, 963-976.
- Aurelle D, Ledoux J-B (2013) Interplay between isolation by distance and genetic clusters in the red coral *Corallium rubrum*: insights from simulated and empirical data. *Conservation Genetics* **14**, 705-716.
- Aurelle D, Ledoux J-B, Rocher C, *et al.* (2011) Phylogeography of the red coral (*Corallium rubrum*): inferences on the evolutionary history of a temperate gorgonian. *Genetica* **139**, 855-869.
- Aurelle D, Pivotto ID, Malfant M, *et al.* (2017) Fuzzy species limits in Mediterranean gorgonians (Cnidaria, Octocorallia): Inferences on speciation processes. *Zoologica Scripta* **46**, 767-778.
- Bahri-Sfar L, Lemaire C, Hassine OKB, Bonhomme F (2000) Fragmentation of sea bass populations in the western and eastern Mediterranean as revealed by microsatellite polymorphism. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological*

Résumés

Résumé

Ce travail est consacré à l'étude d'un octocoralliaire méditerranéen, la gorgone jaune *Eunicella cavolini* (Koch, 1887). Il comporte trois chapitres.

Le premier chapitre est une revue bibliographique des principales études qui traitent la diversité et la structure génétique des espèces d'octocoralliaire, autrefois touchées par des mortalités massives liées aux élévations de températures de l'eau dans la Méditerranée.

Le deuxième chapitre de notre étude fournit les premières données sur la structure génétique de notre espèce modèle, la gorgone jaune *E. cavolini*. Nous avons échantillonné des populations dans quatre zones de la mer Méditerranée: la France continentale, l'Algérie, la Turquie et les îles Baléares et Corse. Des échantillons ont été pris à deux profondeurs (20 et 40 m) le long des côtes françaises. A l'aide d'outils moléculaires, nous avons pu révéler une structure génétique élevée chez cette espèce (F_{ST} global = 0,13), et la plupart des tests de différenciation par paires de populations étaient significatifs. Nous n'avons pas détecté de différence entre les profondeurs à un même site. Quatre groupes génétiques différenciés sont identifiés, correspondant aux principales zones géographiques. Les niveaux de richesse allélique et d'hétérozygotie étaient significativement différents entre les régions, avec la plus grande diversité observée en Algérie et la plus faible en Turquie. Les niveaux les plus élevés de richesse allélique privée ont été observés en Algérie, suivis par ceux de la Turquie.

Le troisième chapitre est dédié à l'étude de l'histoire de démographie de notre espèce modèle. Nous avons testé si les populations des différentes zones géographiques présentent des histoires démographiques similaires, et si les différents bassins pourraient correspondre/ou pas à des unités génétiques différentes qui pourraient avoir évolué d'une manière plus ou moins indépendante. Nous fournissons également de nouvelles preuves empiriques de résultats contrastés entre deux approches différentes pour l'étude de l'histoire démographique. Les différences de diversité génétique entre les bassins considérés dans cette étude pourraient être le résultat de différentes histoires évolutives. Nos résultats ont des conséquences importantes pour la gestion de cette espèce.

Mots clés : *Eunicella cavolini*, génétique de la conservation, histoire démographique, Méditerranée, microsatellites.

Abstract

This work is dedicated to the study of a Mediterranean octocoral, the yellow gorgonian *Eunicella cavolini* (Koch, 1887). It includes three chapters.

The first chapter is a bibliographic review of the main studies dealing with the diversity and the genetic structure of octocoral species, once affected by massive mortalities associated with elevated sea temperatures in the Mediterranean.

The second chapter of our study provides the first data on the genetic structure of our model species, the yellow gorgonian *E. cavolini*. We sampled populations in four main areas of the Mediterranean Sea: continental France, Algeria, Turkey and the Balearic and Corsica Islands. Along French coasts, three sites were sampled at two depths (20 and 40 m). We demonstrated a high genetic structure in this species (overall $F_{ST} = 0.13$) and most pairwise differentiation tests were significant. We did not detect any difference between depths at the same site. Clustering analyses revealed four differentiated groups corresponding to the main geographical areas. The levels of allelic richness and heterozygosity were much different between regions, with highest diversity in Algeria and lowest levels in Turkey. The highest levels of private allelic richness were observed in Algeria, followed by those in Turkey.

The third chapter is dedicated to the study of the demographic history of our model species. We have tested whether populations from different geographical areas have similar histories, and whether the different basins had a more or less independent evolution. We also provide new empirical evidence of contrasting results between two different approaches to study the demographic history. Differences in genetic diversity between basins in this study may be the result of different evolutionary histories. Our results have important consequences for the management of this species.

Key words: *Eunicella cavolini*, conservation genetics, demographic history, Mediterranean, microsatellites.