

Étude d'un cas de spéciation en cours chez les Bryozoaires : la population de la superspecies *Alcyonidium polyoum* (Hassall, 1841) d'Angle (Pays de Galles).

Jean-Loup d'Hondt* et Max Goyffon**

* Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie,
Museum National d'Histoire Naturelle, 57, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05

** L.E.R.A.I., Museum National d'Histoire Naturelle,
57, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05

Résumé : L'étude électrophorétique d'une population galloise, rattachée à *Alcyonidium polyoum* (Bryozoaires, Cténostomes), mais à statut taxinomique discuté, a conduit à la considérer comme une prospécies, et à élever *A. polyoum* au rang de superspecies.

Abstract : The electrophoretic study of a Welsh population, bound to *Alcyonidium polyoum* (Bryozoa, Ctenostomida), the taxonomic status of which is debated, has conducted to consider it as prospécies, and to put up *A. polyoum* to a superspecies rank.

INTRODUCTION

Les recherches préliminaires, entreprises par Thorpe (1977) et Thorpe *et al.* (1978 a et b, 1979) sur le polymorphisme enzymatique du Bryozoaire Cténostome *Alcyonidium polyoum* (Hassall, 1841) sur les côtes britanniques, avaient permis la mise en évidence d'une population, implantée en faciès rocheux et en zone intercotidale sur des *Fucus serratus* à Angle (Pays de Galles), se différenciant des autres populations galloises présumées conspécifiques par l'absence d'allèles communs pour l'un des systèmes enzymatiques étudiés, la Leucine aminopeptidase, et interprétée comme espèce cryptique. Reprenant l'étude des *Alcyonidium polyoum* du Pays de Galles, d'Hondt et Goyffon (1989), au moyen de protéinogrammes et de zymogrammes totaux obtenus sur des gels de polyacrylamide à gradient (qui permettent la révélation d'un nombre élevé de bandes, offrant ainsi beaucoup plus d'éléments de comparaison d'une population à une autre, mais ne permettant pas toujours une interprétation génétique) ont confirmé et approfondi les observations de Thorpe. En effet, pour six systèmes enzymatiques (dont la Leucine aminopeptidase), d'Hondt et Goyffon n'ont relevé aucune bande commune, donc l'existence d'aucun allèle commun, entre cette population d'Angle et les trois autres populations d'*A. polyoum* des côtes galloises étudiées pour comparaison. Aussi apparaissait-il intéressant d'approfondir l'étude entreprise ; d'une part, en appliquant ces populations une nouvelle méthode d'investigation, l'isoélectrofocalisation (d'Hondt, Goyffon & Billiald, en préparation) ; d'autre part, en testant sur ce matériel des révélations d'autres systèmes enzymatiques, afin d'obtenir des éléments de comparaison portant sur d'autres locus que ceux précédemment étudiés. Cette note porte sur la seconde

de ces deux nouvelles approches et sur le statut que l'on peut maintenant accorder à la population d'Angle. Cette nouvelle phase de notre programme de recherche est fondée sur l'étude des colonies d'*Alcyonidium polyoum* récoltées en septembre 1990 au Pays de Galles.

POSITION DU PROBLÈME

Nos premières recherches sur les *Alcyonidium polyoum* du Pays de Galles, outre l'isolement génétique de la population d'Angle par rapport aux autres populations galloises étudiées, nous avaient permis d'effectuer les observations ci-après fondées sur l'étude de quatre populations d'*A. polyoum*, toutes intercotidales et encroûtantes sur *Fucus serratus* en milieu rocheux :

- Mumbles, à l'ouverture ouest de la Baie de Swansea : population relictive, en milieu battu et pollué.

- Oxwich, sur la presqu'île du Gower : population colonisant des *Fucus* abrités derrière les strates rocheuses obliques qui délimitent la plage, en milieu battu. Localité située à une distance linéaire de 12,5 km à l'ouest des Mumbles, dévastée en février 1990 par les tempêtes.

- Angle, dans l'Angle Bay, à 45 km de distance linéaire à l'ouest des Mumbles : pointe rocheuse isolée par une large étendue vaseuse, située dans une zone à salinité normale de 32-33 ‰ (Nelson-Smith, 1965) qui apparaît comme un diverticule de l'estuaire commun (Milford Haven) de la Cleddau et de la rivière de Penbrocke, ce qui n'exclut pas qu'avant un recul de l'estuaire un courant d'eau douce ait pu auparavant créer une barrière temporaire d'isolement géographique le long de la côte.

- Dale, sur la rive opposée de l'estuaire du Milford Haven, à 8 km au nord-ouest d'Angle, en milieu marin ouvert mais abrité des vents dominants.

1) Aux Mumbles, la population vestigielle d'*A. polyoum* n'occupe qu'une superficie réduite. Les colonies sont très peu nombreuses et de très petite taille (quelques millimètres de diamètre). L'étude de son zymogramme total montre qu'elle est génétiquement isolée pour un système enzymatique (Glucose-6-Phosphate isomérase) des trois autres populations galloises, et pour un autre (Phosphatase alcaline) de la population géographiquement la plus proche d'elle (Oxwich) mais qu'elle ne présente pas de barrière génétique pour ce dernier avec les deux autres populations. En dépit de leur proximité géographique, cette étude révélait donc l'existence d'une barrière génétique importante entre les populations des Mumbles et d'Oxwich, même si pour d'autres systèmes enzymatiques il y avait entre elles une identité génétique parfaite ou quasi parfaite (Phosphatase acide, Leucine aminopeptidase, Phosphoglucomutase, Malate deshydrogénase).

2) Les populations de Dale et d'Oxwich sont génétiquement très affines, leurs zymogrammes étant même identiques pour la plupart des systèmes enzymatiques testés. Toutefois, pour la Phosphatase alcaline, il n'existe aucune bande commune entre elles, donc aucun allèle commun pour les locus correspondants.

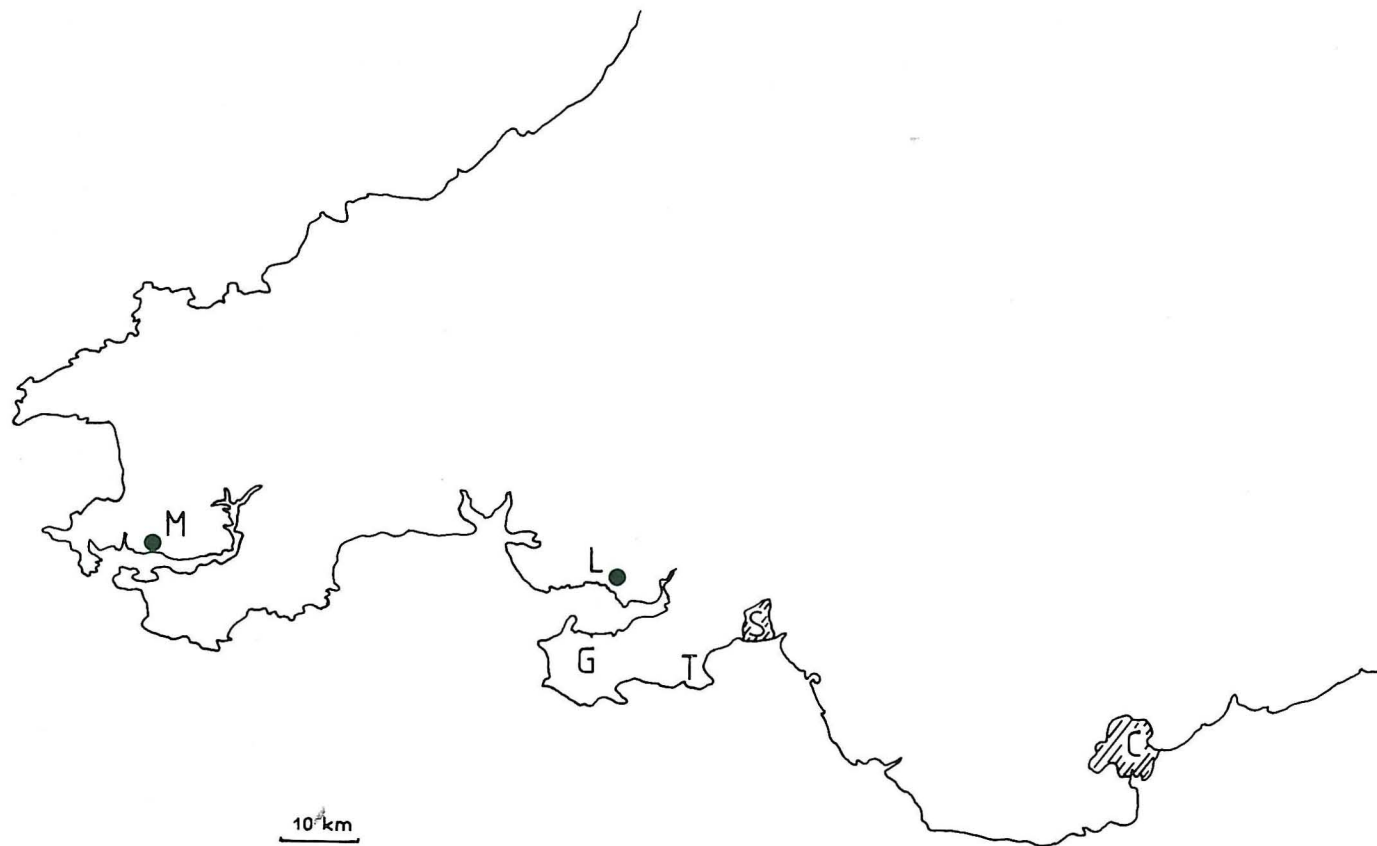


Fig. 1. : Carte de la région méridionale du Pays de Galles. C : Cardiff ; G : péninsule du Gower ; L : Llanelli ; M : Milford Haven ; S : Swansea ; T : The Mumbles.



Fig. 2. : Localités prospectées dans la région de Swansea → F : Fforestfach ; G : péninsule du Gower ; O : Oxwich ; R : Rhossili ; S : Swansea ; T : The Mumbles.

Cet ensemble de résultats montre que les trois populations de Dale, d'Oxwich et des Mumbles sont génétiquement proches mais que, si on les compare deux par deux, elles sont génétiquement incompatibles pour un système enzymatique :

1° - Phosphatase alcaline entre Oxwich et Mumbles-Dale ;

2° - Glucose-6-phosphate isomérase entre Mumbles et Oxwich-Dale. Cette constatation entraîne deux conclusions :

- sur une faible distance kilométrique, les trois populations ont évolué indépendamment, et leur isolement génétique peut être déjà ancien.

- les populations des Mumbles et de Dale pourraient constituer les termes géographiques extrêmes d'une variation clinale affectant quelques dizaines de kilomètres de côte, avec incompatibilité génétique entre ces deux extrêmes. Les populations des Mumbles et de Dale constitueraient alors des vice-species selon l'acception de Bernardi (1980).

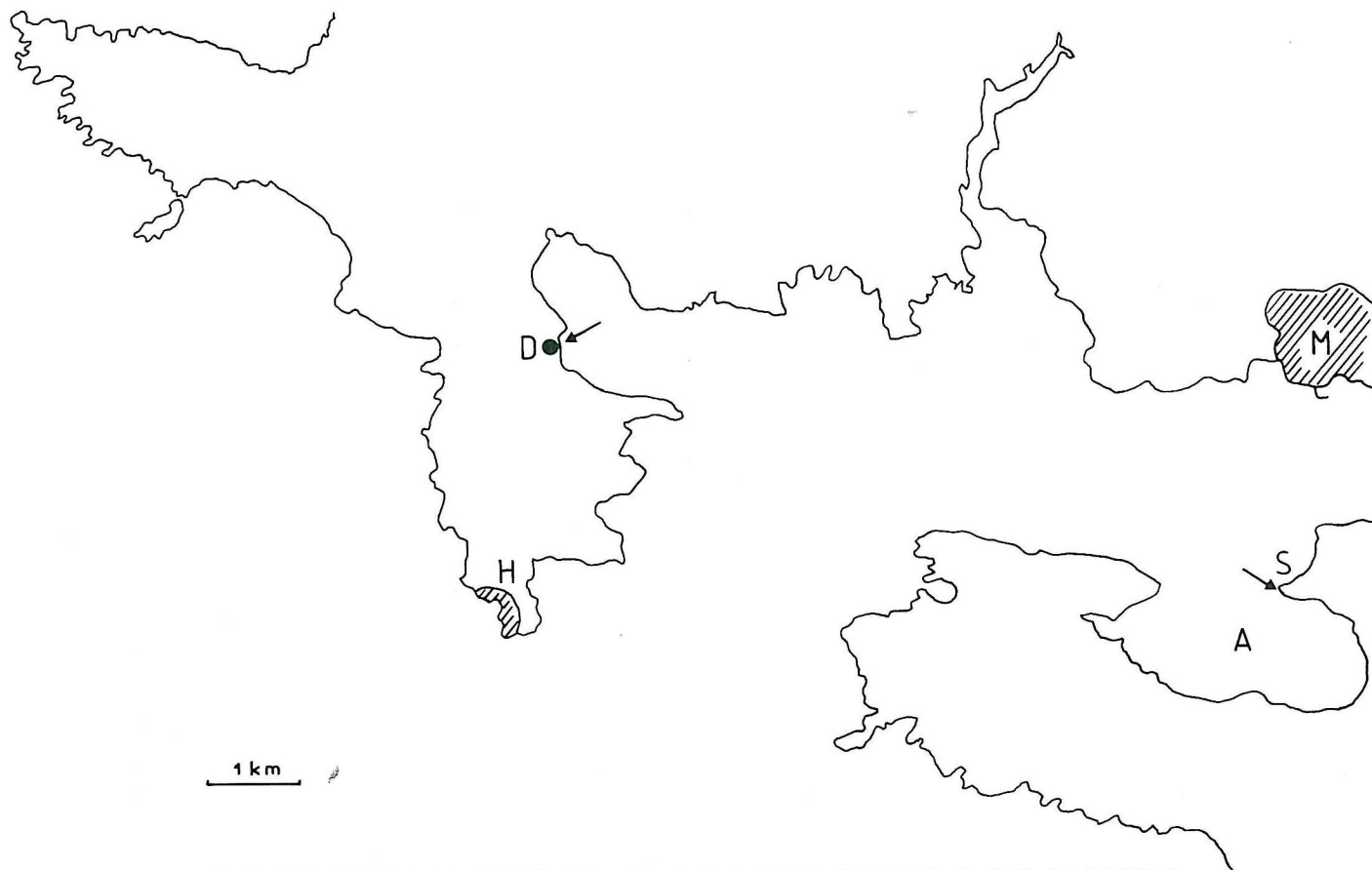


Fig. 3. : Carte de l'embouchure du Milford Haven. A → : Angle Bay ; D : Dale ; H : St. Ann's Head ; M : Milford Haven (city) ; S : Sawdern Point.

En revanche, l'étude isoenzymatique révèle que la population d'Angle, bien que géographiquement située entre Oxwich et Dale, est complètement indépendante du cline précédent ; elle n'a presque pas d'affinités avec celle de Dale, située seulement à quelques kilomètres de distance. L'étude des protéinogrammes totaux sur gels de polyacrylamide à gradient ne permet pas de discriminer la population d'Angle du "pool" des autres populations galloises, pas plus que des autres populations européennes d'*A. polyoum* auparavant étudiées (d'Hondt & Goyffon, 1989) : Espagne, France, Irlande, Danemark, Suède. Aussi, vu la complexité du problème posé par la position systématique de la population d'Angle par rapport aux autres populations galloises, par rapport aux *Alcyonidium polyoum* du continent, et par le niveau taxinomique qu'il convient de lui accorder, cette population constitue, à bien des égards, un modèle dont l'étude mérite d'être abordée par des voies d'approche diversifiées et complémentaires.

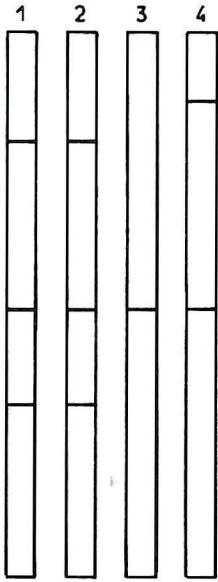
MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude complémentaire a porté sur les *Alcyonidium polyoum* colonisant les *Fucus serratus* d'Angle et de Dale. En effet, depuis nos précédentes récoltes (septembre 1988), la population d'Oxwich a été détruite à la suite du décapage des rochers lors des tempêtes, en février 1990, et de la disparition de la plupart des *Fucus* du niveau bathymétrique correspondant ; quant à celle des Mumbles, elle n'a fait l'objet que de prélèvements limités et destinés à l'étude en isoélectrofocalisation entreprise par ailleurs, vu la raréfaction des *Alcyonidium polyoum* en cette localité depuis l'automne 1987.

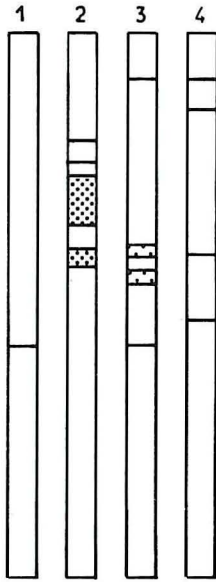
Par comparaison, nous avons étudié des *Alcyonidium polyoum* de Saint-Malo et de l'île Bailleron (Golfe du Morbihan), récoltés sur les côtes françaises à la même époque que nos récoltes au Pays de Galles (septembre 1990), ces quatre populations vivant en milieu peu battu, afin de disposer de nouveaux critères diagnostiques permettant de différencier les populations galloises de celles du continent.

Les migrations des extraits protéiques ont été réalisées sur gels de polyacrylamide à gradient "Pharmacia" 4/30, durant 24 h, dans les conditions opératoires décrites par d'Hondt, Goyffon et Le Gall (1983). Les techniques de révélation enzymatiques utilisées ici en complément de celles employées dans notre précédente étude (1989) ont été les suivantes :

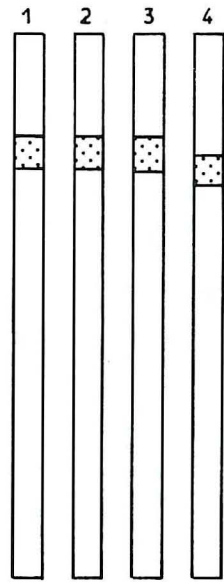
- Adénylate kinase : méthode de Fildes et Harris (1966) selon Shaw et Prasad (1970).
- Alcool déshydrogénase : méthode de Shaw et Koehn (1965) selon Shaw et Prasad (1970). Modification : 0,245 g de NaCN.
- Catalase et peroxydase : méthode de Robinson (1966) selon Shaw et Prasad (1970).
- Glucose-6-phosphate déshydrogénase : formule de Shaw et Prasad (1970).
- Glutamate déshydrogénase : formule de Shaw et Prasad (1970). Modifications : phosphate monopotassique : 1,8 g/25 cc H₂O ; H₂O distillée : 80 cc ; glutamate de Na : 0,84 g.



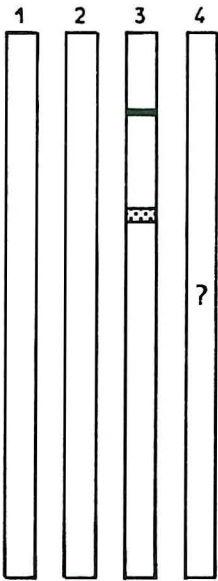
A



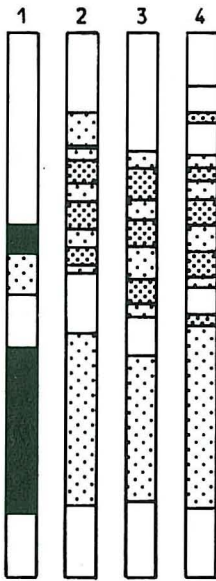
B



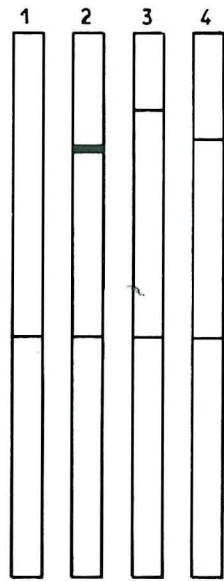
C



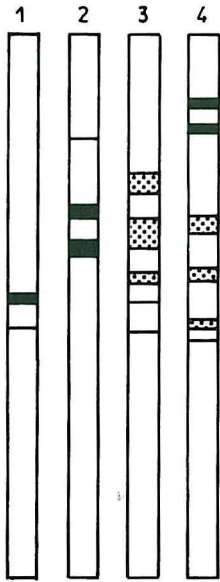
D



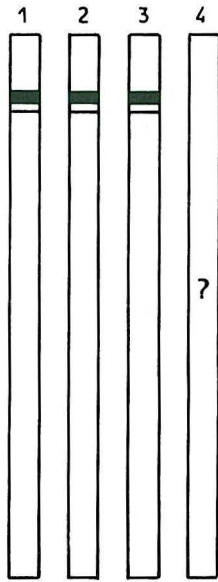
E



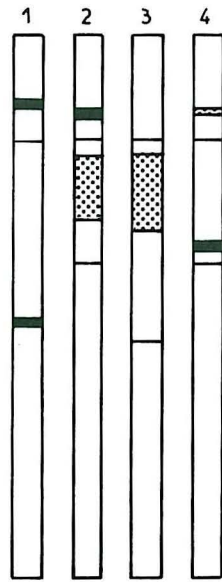
F



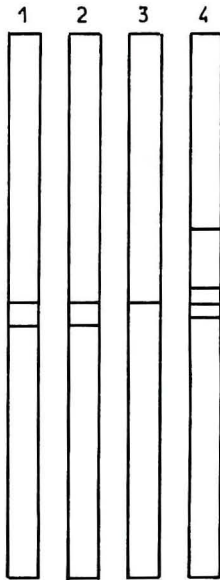
G



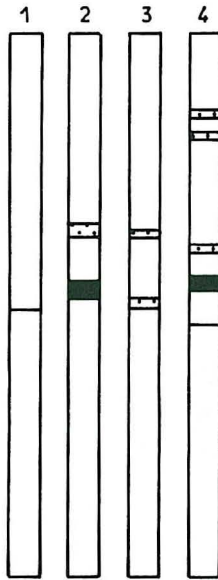
H



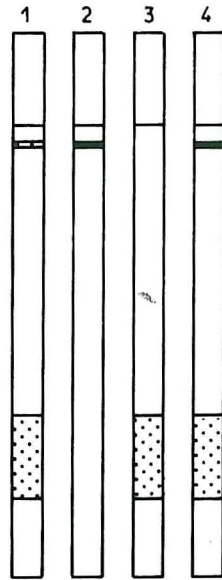
I



J



K



L

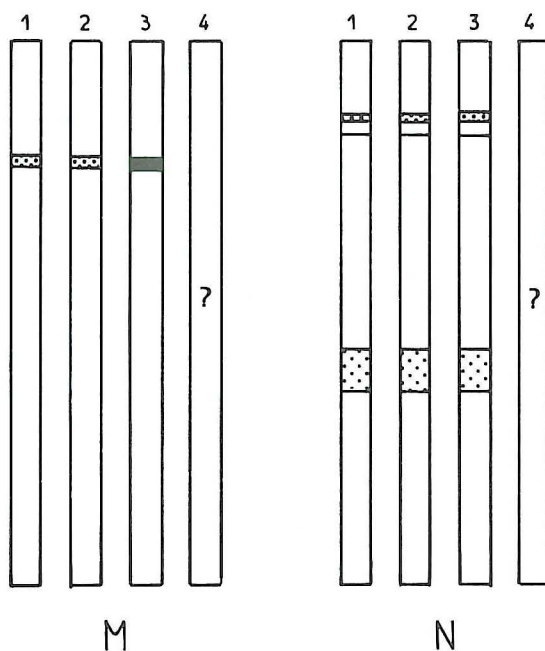


Fig. 4. : Profils électrophorétiques obtenus (1 : Angle ; 2 : Dale ; 3 : St-Malo ; 4 : Bailleron) : A : Adénylate kinase ; B : Alcool déshydrogénase ; C : Catalase ; D : Péroxydase ; E : Fructose 1-6 diphosphate ; F : Glucose-6-phosphate déshydrogénase ; G : Glutamate déshydrogénase ; H : Glutamate oxalate transaminase ; I : β -Glycérophosphate déshydrogénase ; J : Hexokinase ; K : Hexose-6-Déshydrogénase ; L : Isocitrate déshydrogénase ; M : Peptidases ; N : Ribonucléase.

- Glutamate oxalate transaminase : formule de Schwartz *et al.* (1963) selon Shaw et Prasad (1970). Modifications : 0,36 g phosphate monopotassique/25 cc H₂O distillée ; acide kéroglutarique : 19 mg.
- β -glycérophosphate déshydrogénase : formule de Shaw et Prasad (1970) ; emploi du β -glycérophosphate de Na.
- Hexokinase : formule de Eaton *et al.* (1966) selon Shaw et Prasad (1970).
- Hexose 6-déshydrogénase : méthode de Shaw et Koen (1968) modifiée par Shaw et Prasad (1970), puis d'Hondt (inédit : Glucose phosphate : 0,005 g).
- Fructose 1-6 diphosphate : méthode de Stout (1969) selon Shaw et Prasad (1970).
- Isocitrate déshydrogénase : méthode de Henderson (1965), modifié par Shaw et Prasad (1970) puis d'Hondt (inédit : pH : 7 ; Isocitrate NH₃H₂O : 0,147 g).
- Peptidases : formule de Lewis et Harris (1967) modifiée par Shaw et Prasad (1970).
- Ribonucléase : formule de Ressler *et al.* (1966) modifiée par Shaw et Prasad (1970).

Dans ces différents cas, la durée de révélation enzymatique a été de 3 h 30 à 38 °C. Les calculs des coefficients de similarité, en considérant les populations deux à deux pour chacun des systèmes enzymatiques, ont été effectués selon Ungar et Boucaud (1974). Chacun des extraits traités correspondait au broyage collectif d'une cinquantaine de colonies d'une même population.

OBSERVATIONS

- Adenylate kinase : identité génétique entre les populations galloises ; toutes les populations présentent en commun des bandes stabilisées aux mêmes niveaux.
- Alcool déshydrogénase : isolement génétique de la population d'Angle par rapport à celles de Dale et Bailleron. Des allèles communs entre les populations de Dale, Bailleron et St-Malo. Faible identité entre les deux populations françaises.
- Catalase et peroxydase : pour la Catalase, 100 % d'identité génétique entre les populations galloises et de St-Malo, 50 % entre elles et celle de Bailleron. Pour la peroxydase, résultats négatifs pour les deux populations galloises, deux bandes présentes chez la population de St-Malo.
- Fructose 1-6 diphosphate : des allèles communs entre les quatre populations.
- Glucose 6-phosphate déshydrogénase : coefficients de similarité égaux à 0,66 entre toutes les populations.
- Glutamate déshydrogénase : la population d'Angle présente des affinités plus marquées avec les populations françaises qu'avec celle de Dale.
- Glutamate oxalate transaminase : 100 % de similarité entre les deux populations galloises et celle de St-Malo.
- β -Glycérophosphate déshydrogénase : isolement génétique de la population d'Angle par rapport à celles de Dale et Bailleron.
- Hexokinase : identité génétique entre les populations galloises, qui présentent un allèle commun avec les populations françaises.
- Hexose 6-déshydrogénase : isolement génétique de la population d'Angle par rapport à celles de Dale et de Bailleron, et entre celles de Bailleron et St-Malo.
- Isocitrate déshydrogénase : coefficients de similarité identiques entre les quatre populations.
- Peptidases : 100 % d'identité génétique entre les trois populations étudiées (Dale, Angle, St-Malo).
- Ribonucléase (100 % d'identité génétique entre les trois populations de Dale, Angle et St-Malo).

Cette nouvelle étude a donc porté sur 14 systèmes enzymatiques, s'ajoutant aux neuf auparavant étudiés. Certains d'entre eux permettent la discrimination entre les populations galloises d'une part, et les populations françaises d'autre part ; d'autres confirment l'isolement génétique des populations galloises de Dale et d'Angle.

CONCLUSIONS ET DISCUSSIONS

Cette étude isoenzymologique complète et confirme les résultats acquis lors des recherches antérieures. Quatre autres systèmes enzymatiques (Alcool déshydrogénase, Glutamate déshydrogénase, β -glycérophosphate déshydrogénase, Hexose 6-déshydrogéné-

I

	1	2	3	4
1	1			
2	1	1		
3	0,50	0,50	1	
4	0,40	0,40	0,66	1

II

	1	2	3	4
1	1			
2	0	1		
3	0,50	0,25	1	
4	0	0,22	0,22	1

III

	1	2	3	4
1	1			
2	1	1		
3	1	1	1	
4	0,50	0,50	0,50	1

IV

	1	2	3	4
1	1			
2	1	1		
3	0	0	1	
4	?	?	?	?

V

	1	2	3	4
1	1			
2	0,66	1		
3	0,66	0,66	1	
4	0,66	0,66	0,66	1

VI

	1	2	3	4
1	1			
2	0	1		
3	0,29	0,22	1	
4	0,25	0,20	0,55	1

VII

	1	2	3	4
1	1			
2	1	1		
3	1	1	1	
4	?	?	?	?

VIII

	1	2	3	4
1	1			
2	0	1		
3	0,40	0,25	1	
4	0	0,25	0,50	1

IX

	1	2	3	4
1	1			
2	1	1		
3	0,66	0,66	1	
4	0,33	0,33	0,20	1

X

	1	2	3	4
1	1			
2	0	1		
3	0,66	0,50	1	
4	0	0,29	0	1

XI

	1	2	3	4
1	1			
2	0,40	1		
3	0,33	0,57	1	
4	0,21	0,37	0,67	1

XII

	1	2	3	4
1	1			
2	0,80	1		
3	0,80	0,50	1	
4	1	0,80	0,80	1

XIII

	1	2	3	4
1	1			
2	1	1		
3	1	1	1	
4	?	?	?	?

XIV

	1	2	3	4
1	1			
2	1	1		
3	1	1	1	
4	?	?	?	?

TABLEAUX I-XIV

Résultats des calculs des coefficients de similarité (1 : Angle ; D : Dale ; 3 : St-Malo ; 4 : Bailleron) : I : Adénylate kinase ; II : Alcool déshydrogénase ; III : Catalase ; IV : Péroxydase ; V : Glucose-6-Phosphate déshydrogénase ; VI : Glutamate déshydrogénase ; VII : Glutamate oxalate transaminase ; VIII : β -glycérophosphate déshydrogénase ; IX : Hexokinase ; X : Hexose-6-déshydrogénase ; XI : Fructose 1-6 diphosphate ; XII : Isocitrate déshydrogénase ; XIII : Peptidases ; XIV : Ribonucléase.

se) ont révélé l'existence d'une barrière génétique entre les populations de Dale et d'Angle. Plusieurs autres systèmes, en revanche, confirment qu'il existe davantage d'affinités génétiques entre les populations de Dale et d'Angle, qu'entre elles et les populations françaises ; ceci est un argument en faveur de notre hypothèse de départ, celle de l'origine phylogéné-

tique de la population d'Angle, apomorphe, à partir de la "forme" normale galloise plésiomorphe (Adénylate kinase, Hexokinase). L'existence d'un nombre élevé de bandes, et donc d'allèles co-partagés par les deux populations galloises et les deux populations françaises pour les systèmes de la Glucose 6-phosphate déshydrogénase, de la Catalase, de la Péroxydase, de la Glutamate oxalate transaminase, des peptidases, de la Ribonucléase, de l'Isocitrate déshydrogénase, témoignerait de leur appartenance à une même espèce.

L'objet initial de cette étude était de clarifier le problème de la position systématique de la population d'Angle par rapport à *A. polyoum* (*sensu lato*). Si l'on fait strictement référence au critère qui implique que l'absence d'allèles en commun crée une barrière génétique et délimite deux espèces distinctes (ce qui est indiscutable quand les populations considérées sont sympatriques), la population d'Angle incluse dans l'aire de distribution d'*A. polyoum* devrait en constituer une espèce différente, cryptique. Nos précédentes recherches (d'Hondt & Goyffon, 1986, 1987 a et b, 1989 a et b) nous avaient conduits à inclure dans une même espèce des populations scandinaves, britanniques, françaises et espagnoles qui n'avaient aucune bande (donc aucun allèle) en commun pour certains systèmes enzymatiques, mais qui partageaient le même protéinogramme total et qui pouvaient être considérées comme formant un cline ; en effet, elles étaient, dans différents cas, reliées par des formes intermédiaires en une chaîne dont certains des maillons, géographiquement éloignés, sont effectivement devenus génétiquement incompatibles ("Overlapping ring"). Ce qui distingue cette population d'Angle des autres cas de divergence génétique, c'est qu'elle est isolée, à la fois géographiquement et génétiquement au sein de l'aire continue de variation clinale de l'espèce nominative et, sans doute, depuis une longue période vu l'ampleur des modifications génétiques qui la caractérisent. C'est ce qui justifie l'intérêt porté à l'étude de cette population.

Le cas de la population d'Angle est complexe, d'une part, parce que son isolement génétique pour certains systèmes enzymatiques (10 sur 23) incite à la considérer comme espèce distincte, mais aussi parce qu'elle est indiscutablement plus affine des autres populations galloises que de celles du continent ; on peut ainsi supposer qu'elle procède de mutations ponctuelles suivies de "dérive". Leur protéinogramme total amène à toutes les considérer comme conspécifiques ; le protéinogramme total de la population d'Angle est lui-même caractéristique de "l'espèce" *A. polyoum*. La complexité du problème nous avait conduits à considérer la population d'Angle comme entrant, au sein d'*A. polyoum*, dans l'une des "catégories taxinomiques de la systématique évolutive" (d'Hondt et Goyffon, 1989 a), sans faire plus précisément le choix de l'une d'entre elles. Il pouvait s'agir, selon les définitions de Bernardi (1980), de superspecies, dualspecies, prospecies, ultraspecies ou vicespecies, et on ne pouvait pas affirmer faute d'expérimentation qu'il ne s'agissait pas d'une coenospecies ; il paraissait beaucoup moins probable qu'il s'agisse d'exerges ou de quaspecies. L'irréversibilité de l'isolement génétique de la population d'Angle demeure à confirmer ; en revanche, elle est vicariante d'*A. polyoum* (*sensu stricto*) et aucun hybride n'est connu ; vu le nombre de systèmes enzymatiques incompatibles, l'interfécondabilité entre elles semble à exclure.

La superspecies de Mayr (1931) réunit des espèces vicariantes ("semi-species" terme équivoque selon Bernardi, 1980, et qu'il convient de proscrire en faveur de celui de "prospecies" selon Birula, 1910), qui peuvent être allopatriques, parapatriques ou modérément sympatriques, réellement ou susceptibles d'être interstériles dans la nature. Cette définition est celle qui paraît le mieux s'appliquer au complexe "*polyoum*", incluant la population d'Angle. Le fait que cette population d'Angle soit, du fait de son isolement géographique, périphérique de l'*A. polyoum* typique, permet de la considérer comme une juxtaspecies de Schilder (1962) ; l'exemple étudié ici entre dans la définition des grèges, composants d'un complexe spécifique, discutée par Bernardi, et qui peut également inclure des superspecies. Nous avons rejeté l'hypothèse d'une dualspecies, puisque la forme d'Angle est vicariante d'*A. polyoum* (*sensu stricto*) ; il s'agit toutefois d'animaux parapatriques, puisque Thorpe *et al.* (1978) auraient trouvé dans la baie d'Angle, outre la forme particulière qui fait l'objet de ce travail, des *A. polyoum* "normaux". La population d'Angle, située macrogéographiquement entre Oxwich et Dale, constitue en fait un cas non classique d'allopatrie, qui n'aurait pas été évident d'un strict point de vue géographique.

Bernardi (1980) a proposé l'insertion dans le Code International de Nomenclature Zoologique d'une clause permettant la reconnaissance ou la désignation d'une superspecies. Cette suggestion a été admise avec de minimes modifications dans la plus récente édition du Code (1985). Selon les normes qui ont été adoptées (recommandation 6 B), le nom générique doit précéder celui de la superspecies ; celui-ci doit être précédé de l'abréviation *supsp.*, ces deux mots étant écrits entre parenthèses ; à l'extérieur de la parenthèse, il convient ensuite d'écrire le nom spécifique de celle des *prospecies* concernée. Nous proposons donc de désigner dorénavant *Alcyonidium polyoum* (*sensu stricto*) sous le nom d'*Alcyonidium* (*supspecies polyoum*) *polyoum* (Hassall, 1841) ; ce taxon sera ensuite lui-même à démembrer en plusieurs *prospecies*.

Quant à la population d'Angle, nous proposons de la considérer comme étant une *prospecies* appartenant à la superspecies *A. polyoum*. Nous la définissons sous le nom d'*Alcyonidium* (*supsp. polyoum*) *anglei* *prosp. nov.* Sa diagnose en est essentiellement fondée sur des critères électrophorétiques ; une *prospecies* se discriminant notamment de sa superspecies d'appartenance par des critères d'isolement biogéographique et d'allopatrie, il convient de les prendre en considération dans la définition de ce taxon. Aussi une *prospecies* peut-elle être à notre avis définissable à la fois en valeur absolue, et sur des critères de valeur relative en référence à sa superspecies d'appartenance.

Diagnose d'*A.* (*supsp. polyoum*) *anglei* *prosp. nov.* : *prospecies* d'*Alcyonidium* (*supspecies polyoum*) caractérisable électrophorétiquement sur gels de polyacrylamide à gradient par ses zymogrammes. Les bandes alléliques, pour la Leucine aminopeptidase, sont regroupées en deux zones de la piste de migration, l'une située entre les 2/3 et 1/2 du champ, l'autre dans le deuxième tiers ; pour la Glucose 6-phosphate isomérase : une bande unique située en position presque uniquement distale ; pour la Malate déshydrogénase, de très nombreuses bandes uniquement regroupées sur le troisième tiers de la piste de migration ; pour la Phosphatase acide, bandes regroupées sur les 2/5 de la longueur de la piste, dans la moitié distale. En valeur relative, et contrairement aux autres populations galloises, et comme chez les populations ouest-irlandaises : nombre élevé de bandes pour la

Phosphatase acide et la Leucine aminopeptidase ; absence d'allèles communs pour dix systèmes enzymatiques avec les autres populations galloises géographiquement voisines, et pour trois avec les populations ouest-irlandaises (Phosphatase alcaline, Glucose 6-phosphate isomérase, Phosphoglucomutase). Holotype conservé au Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie du Museum National d'Histoire Naturelle de Paris sous le numéro : LBIMM-BRY-19567.

Remarque : La définition de nouveaux taxons nominatifs périspécifiques à partir de critères diagnostiques strictement fondés sur la mobilité électrophorétique et l'allopatricité, nécessite le développement de nouvelles approches en taxinomie, dès lors qu'elles font appel à des vitesses de migration de bandes protéiques et de stabilisation des fractions dans un gel. Les règles seront progressivement à en établir, au fur et à mesure du développement de la systématique sur bases électrophorétiques. La reconnaissance de tels taxons impliquera nécessairement le recours à des banques de données et à des banques génétiques de référence, et la comparaison du spectre de la population étudiée à un "électrophorégramme type" qui devra être publié ou accessible.

Les facteurs d'obtention de ce type devront être très précisément définis et standardisés, de façon à ce que les profils électrophorétiques à comparer soient obtenus - afin d'éviter les artefacts - dans les mêmes conditions expérimentales. C'est dans ce contexte que se révèle l'intérêt d'emploi des gels de polyacrylamide à gradient de porosité calibrée (comme ceux actuellement existant dans le commerce), avec emploi du même tampon, et d'une même durée de migration à intensité électrique constante et suffisante pour obtenir la stabilisation définitive des bandes dans le gel au bout d'un "créneau" de temps déterminé, et utilisation des mêmes formules de coloration à pH précis. Cette voie d'approche de la systématique évolutive, fondée sur la prise en considération d'électromorphes stabilisés dans un gel à gradient de porosité, est encore dans sa période de tâtonnement. Toutefois, la technique utilisée ici est standardisée et reproductible, même si elle demande à être améliorée. Nous la recommandons aux chercheurs confrontés à des problèmes comparables à ceux que nous avons nous-mêmes abordés. Cette voie d'approche récente et très peu utilisée encore, ce qui explique qu'elle n'a pas été développée dans la synthèse de Ferguson (1988) ; néanmoins, elle s'est déjà révélée comme un outil précieux pour la résolution de problèmes de systématique évolutive (Sin & Jones, 1983).

Si, à notre connaissance, l'emploi des électrophorèses sur gels de polyacrylamide à gradient n'avait pas encore donné lieu à la description de nouveaux taxons nominatifs, le caractère prometteur de ce nouveau mode d'apport d'informations en systématique devrait rapidement le faire devenir une technique de routine.

REMERCIEMENTS

Nous témoignons notre plus sincère et profonde gratitude au Dr Peter J. Hayward (Department of Zoology, University College, Swansea) qui a bien voulu nous accompagner sur le terrain (JLdH) durant les mois de septembre 1987, 1988 et 1990 lors des récoltes du matériel étudié dans ce travail, nous a fait profiter de sa connaissance théorique et pratique

du littoral gallois, et nous a aidé à résoudre sur place différents problèmes avec une particulière gentillesse. Nous avons été très sensible à l'aide obligeante, à l'Université de Swansea, du Professeur John S. Ryland et du Dr Nathalie Yonow. Mlle Marceline Richard (CRSSA, Grenoble) et M. Max Mercier-Balaz (Lerai, MNHN, Paris) nous ont respectivement apporté leur aide dans la réalisation des illustrations et la surveillance des migrations, et nous les en remercions bien vivement. Notre reconnaissance ira aussi aux Drs Georges Bernardi (Paris) et Peter J. Hayward (Swansea) qui ont bien voulu accepter de nous faire la critique de ce manuscrit avant son dépôt pour publication.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BERNARDI, G., 1980. Les catégories taxonomiques de la systématique évolutive. *In* : Les Problèmes de l'Espèce dans le Règne Animal. C. Bocquet, J. Générmonet et M. Lamotte (eds.) III, Société Zoologique de France, Paris : 375-425.
- BIRULA, A., 1919. Sur la valeur taxonomique des formes de *Scorpio maurus* L. *Hor. Soc. ent. Ross*, 49 : 115-192.
- Code International de Nomenclature Zoologique, 1985. International Trust for Zoological Nomenclature, London, British Museum, 339 p.
- FERGUSON, A., 1988. Isozyme studies and their interpretation. *In* : Prospects in Systematics, D.L. Hawksworth (ed.), Systematic Association, Clarendon Press, Oxford : 184-201.
- HONDT, J.-L. d' & M. GOYFFON, 1986. Étude de la variabilité intraspécifique d'*Alcyonidium polyoum* (Hassall, 1841) (Bryozoaires Ctenostomes) sur gels de polyacrylamide à gradient. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 111 (2) : 183-191.
- HONDT, J.-L. d' & M. GOYFFON, 1987 a. Comparative electrophoretic study of some *Alcyonidium gelatinosum* (Linné, 1761) (Bryozoa Ctenostomida) populations from West Europe. *In* : Bryozoa : Present to Past, J.R.P. Ross (ed.), University of Washington, Bellingham : 121-128.
- HONDT, J.-L. d' & M. GOYFFON, 1987 b. Variation clinale d'*Alcyonidium polyoum* (Bryozoaires, Ctenostomes) le long des côtes de l'Europe Occidentale. *Bull. Inst. Pasteur Lyon*, 20 : 121-125.
- HONDT, J.-L. d' & M. GOYFFON, 1989 a. New data on the intraspecific variability of *Alcyonidium polyoum* (Hassall, 1841), Bryozoa : Ctenostomida, studied with gradient polyacrylamide gels. *In* : Reproduction, Genetics and Distributions of Marine Organisms, J. S. Ryland, P.A. Tyler (eds.), Olsen & Olsen, Fredensborg : 273-282.
- HONDT, J.-L. d' & M. GOYFFON, 1989 b. Emploi des clés tabulaires de détermination dans l'interprétation des gels de polyacrylamide à gradient en électrophorèse qualitative. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 113 (4) : 355-364.
- HONDT, J.-L. d', M. GOYFFON, & Ph. BILLJALD (en rédaction). Studies on some European populations of *Alcyonidium polyoum* (Bryozoa, Ctenostomida) by isoelectrofocalisation.
- HONDT, J.-L. d', M. GOYFFON & Ph. LE GALL, 1983. Étude électrophorétique comparée d'*Alcyonidium polyoum* (Hassall, 1841) et *Alcyonidium mytili* Dalyell, 1847 (Bryozoaires Ctenostomes) sur gels de polyacrylamide à gradients. *Ann. Sc. Nat., Zool.*, 13^e sér., 5 (1) : 3-7.
- MAYR, E., 1931. Notes on *Halcyon chloris* and some of its subspecies. *Amer. mus. Novit.*, 469 : 1-10.
- NELSON-SMITH, A., 1965. Marine Biology of Milford Haven : the physical environment. *Field Stud.*, 2 : 155-188.
- SCHILDER, F.A., 1962. Das geographische Prinzip in der Taxonomie. *XI Intern. Kongress für Entomologie*, 3 : 329-333.
- SHAW, C.R. & R. PRASAD, 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. genetics*, 4 : 297-320.
- SIN, F.-Y.-T. & M.-B. JONES, 1983. Enzyme variation in marine and estuarine populations of a mud crab, *Macrophthalmus hirtipes* (Ocypodidae). *N.Z. mar. Fresh. Res.*, 17 : 367-372.
- THORPE, J.P., 1977. Ecological genetics and some problems in Bryozoa. Unpublished Thesis, University of Wales, 247 p.
- THORPE, J.P., J.A. BEARDMORE, J.S. RYLAND, 1978. Taxonomy, intraspecific variation and genetic distance in the Phylum Bryozoa. *In* : Marine Organisms, B. Battaglia & J.A. Beardmore (eds.), Plenum Press, London, 425-445.
- THORPE, J.P. & J.S. RYLAND, 1979. Cryptic speciation detected by biochemical genetics in three ecologically important intertidal Bryozoans. *Estuar. coast. mar. Sci.*, 8 : 395-398.
- THORPE, J.P., J.S. RYLAND & J.A. BEARDMORE, 1978. Genetic variation and biochemical systematics in the marine Bryozoan *Alcyonidium mytili*. *Mar. Biol.*, 49 : 343-350.
- UNGAR, I.A. & J. BOUCAUD, 1974. Comparison of seed proteins in the genus *Suaeda* (Chenopodiaceae) by means of disc gel electrophoresis. *Am. J. Bot.*, 61 : 325-330.