

Etudes sur les *Acanthodactyles* de Tunisie

V.-Différenciation Génétique et Divergence

Françoise Blanc¹, Marie-Louise Cariou² et Charles Blanc¹

¹ Laboratoire de Zoogéographie, Université Paul Valéry, B. P. 5043, 34032 Montpellier Cedex

² Laboratoire de Biologie et Génétique évolutives, C.N.R.S., 91190 Gif Sur Yvette

Abstract. Electrophoretic analysis of allozymes encoded by 22 loci supports the specific status of four lizard taxa in the genus *Acanthodactylus*. LDH-2 appears as a diagnostic locus for the four species.

Measures of genetic distance suggest two groups: *A. inornatus* – *A. savignyi* and *A. pardalis* – *A. boskianus*. *A. boskianus* relationships might yet be modified when intraspecific variability is more extensively known.

Résumé. Le statut spécifique de quatre taxons de lézards du genre *Acanthodactylus* est confirmé par l'analyse des produits de 22 locus. Le locus LDH-2 est diagnostique pour les quatre espèces.

Les mesures de distance génétique permettent de grouper *A. inornatus* et *A. savignyi* d'une part, *A. pardalis* et *A. boskianus* d'autre part. Toutefois, la position d'*A. boskianus* pourrait être modifiée par le jeu de la variabilité intraspécifique.

Introduction

Le genre *Acanthodactylus* WIEGMANN, 1834 (Reptiles, Lacertidés), largement répandu dans la partie nord de l'Afrique et les zones avoisinantes autour de la Méditerranée (BONS, 1967) a suscité de nombreux travaux de systématique (BLANC, 1979a). La variabilité élevée des caractères morphologiques au niveau tant intra-qu'interpopulation, avait conduit à la multiplication du nombre de sous-espèces, de variétés et de sous-variétés. BLANC (1979b) reconnaît les quatre espèces suivantes en Tunisie: *A. inornatus* (GRAY, 1845), *A. pardalis* (LICHTENSTEIN, 1823), *A. savignyi* (AUDOUIN, 1829) et *A. boskianus* (AUDOUIN 1829). L'analyse des correspondances des caractères d'écaillage et de coloration fait apparaître quatre ensembles correspondant à ces quatre taxons et permet de dégager certaines de leurs affinités. Une étude biochimique par les techniques électrophorétiques a montré l'existence d'une variabilité génétique remarquablement élevée chez ces espèces (BLANC et CARIOU, 1980). Dans cet article, les caractéristiques biochimiques spécifiques sont dégagées; les distances génétiques sont estimées à partir des fréquences des allozymes dans le but d'évaluer la divergence entre ces quatre taxons et de compléter l'étude de leurs relations évolutives.

Matériel et Méthodes

La localisation et la composition des populations récoltées sont données dans la figure 1.

Les techniques de préparation des échantillons et d'électrophorèse ont déjà été décrites (BLANC et CARIOU, 1980).

Parmi les méthodes proposées pour quantifier la divergence génétique entre les populations et les espèces, le coefficient d'identité et la distance génétique de NEI (1972) sont les plus utilisés. Moyennant certaines hypothèses, la distance génétique entre 2 populations estime le nombre moyen de codons différents par locus directement à partir des fréquences des allozymes. Elle est donc liée au temps écoulé depuis la divergence des taxons considérés.

Résultats et Discussion

Les fréquences alléliques observées à 22 locus sont données dans le tableau 1. Deux locus seulement sont rigoureusement monomorphes pour le même allèle fixé dans les quatre espèces. Pour neuf locus, polymorphes, l'allèle le plus fréquent est identique dans les quatre espèces. Seize allèles uniques, présents dans une seule population, sont reconnus sur les 65 allèles inventoriés; quatorze d'entre eux, soit 21,5%, sont présents à fréquence supérieure à 5%.

La situation des LDH est remarquable. Le locus LDH-2 montre une diffrénciation maximale dans les espèces étudiées puisque chacune d'elle possède un allèle unique fixé (ou proche de la fixation). Cette particularité de la LDH musculaire permet d'envisager une diagnose spécifique basée sur ce locus. En effet, seuls *A. inornatus* et *A.*

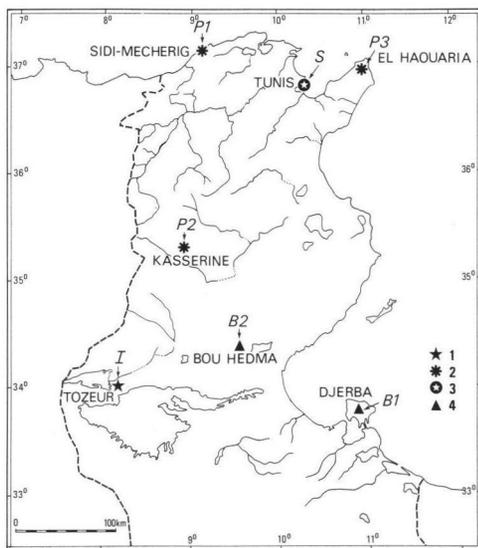


Figure 1. Localisation et composition des échantillons de populations.

1. *Acanthodactylus inornatus*: 27 spécimens.
2. *A. pardalis*: (P₁) 42 spécimens; (P₂) 11; (P₃) 8.
3. *A. savignyi*: 22.
4. *A. boskianus*: (B₁) 18 spécimens; (B₂) 4.

Tableau 1. Fréquences alléliques à 22 locus dans des populations de quatre espèces d'Acanthodactyles tunisiens

Espèces et populations								
Locus et allèle		<i>A. inornatus</i>	<i>A. pardalis</i>			<i>A. savignyi</i>	<i>A. boskianus</i>	
			P1	P2	P3			
6-PGD	100	0,94		—	—	1,00	—	
	108	0,06		1,00	0,57	—	0,25	
	110	—		—	0,43	—	0,75	
PGM	89	—		—	—	0,14	0,03	
	92	—		0,21	—	—	—	
	95	—		0,50	0,50	0,48	—	
	98	0,26		0,29	0,50	—	0,97	
	100	0,74		—	—	0,38	—	
SOD-3	100	1,00	0,84	0,94	0,93	0,67	0,65	
	101	—	0,14	—	—	—	—	
	103	—	0,02	—	—	0,30	0,04	
	105	—	—	0,06	0,07	0,03	0,31	
EST-1	100	0,89	0,59	0,57	0,50	0,25	—	
	101	0,04	—	—	—	—	—	
	103	0,07	0,41	0,43	0,50	—	0,65	
	104	—	—	—	—	0,55	0,35	
	107	—	—	—	—	0,20	—	
EST-2	98	—	—	—	—	0,32	—	
	100	0,96	0,94	0,88	0,83	0,68	0,95	
	102	0,04	0,06	0,12	0,17	—	0,05	
EST-8	100	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
LDH-1	95	—		—	—	—	0,10	
	98	—		—	—	—	0,90	
	100	1,00		—	—	—	—	
	102	—		1,00	1,00	1,00	—	
LDH-2	98	0,04		—	—	—	1,00	
	100	0,94		—	—	—	—	
	101	—		—	—	1,00	—	
	102	—		1,00	1,00	—	—	
	106	0,02		—	—	—	—	
AMY-2	96	—	0,61		0,56	0,48	—	
	100	1,00	0,39		0,38	0,40	0,84	
	102	—	—		0,06	0,12	0,16	
G-6-PD	95	—		—	—	0,23	—	
	99	0,25		1,00	1,00	—	0,06	
	100	0,75		—	—	0,77	0,94	
MDH-1	97	0,08		0,13	0,13	—	—	
	100	0,52		0,41	0,62	0,88	0,94	
	103	0,40		0,46	0,25	0,12	0,06	
MDH-2	100	1,00		—	0,25	1,00	1,00	
	103	—		1,00	0,75	—	—	
FU	98	0,13		—	—	0,24	—	
	100	0,87		1,00	1,00	0,76	1,00	

Tableau I. (suite)

Espèces et populations							
Locus et allèle	<i>A. inornatus</i>	<i>A. pardalis</i>			<i>A. savignyi</i>	<i>A. boskianus</i>	
		P1	P2	P3			
GPD	90	0,29		1,00	0,95	0,95	0,80
	93	—		—	0,05	0,05	0,20
	100	0,71		—	—	—	—
GOT-1	100	1,00		—	—	0,56	—
	102	—		0,75	0,25	0,33	0,71
	106	—		0,25	0,75	0,11	0,29
GOT-2	99	—		0,19	0,13	0,03	0,16
	100	1,00		0,67	0,87	0,92	0,66
	102	—		0,14	—	0,05	0,18
XDH	100	1,00		1,00	1,00	1,00	1,00
No DH	100	0,92		0,83	0,69	0,54	0,65
	101	0,04		—	—	0,07	0,08
	102	0,04		0,17	0,31	0,39	0,27
LAP-1	100	0,31	0,82	1,00	1,00	1,00	1,00
	102	—	0,18	—	—	—	—
	nul	0,69	—	—	—	—	—
LAP-2	96	—	—	0,04	—	0,06	—
	100	1,00	1,00	0,96	1,00	0,94	1,00
LAP-3	98	—	0,02	—	—	0,03	—
	100	1,00	0,98	1,00	1,00	0,97	1,00
LAP-4	100	1,00	1,00	1,00	1,00	0,19	1,00
	nul	—	—	—	—	0,81	—

boskianus possèdent un allèle commun à ce locus, mais, étant donné les fréquences alléliques respectives, la probabilité d'une diagnose spécifique correcte basée sur le phénotype de LDH-2 est supérieure à 99,9%. Ce locus est donc un «locus diagnostique» (AYALA et POWELL, 1972) pour les quatre espèces d'*Acanthodactyles* tunisiens. Néanmoins, la possibilité d'une variation géographique à ce locus a été testée seulement pour *A. pardalis* et pour *A. boskianus*, seules espèces pour lesquelles nous disposons de deux populations: P₂, P₃, et B₁, B₂.

Une telle différenciation du locus LDH-2 au niveau spécifique est connue chez les deux espèces d'Anoures du genre *Pseudophryne* (MC DONNELL et al., 1978). Par contre, chez certains Lacertidés, le même allèle est commun à plusieurs espèces comme *Lacerta hispanica* et *L. muralis* (GUILLAUME et al., 1976) ou *L. sicula*, *L. mellisellensis* et *L. oxycephala* (GORMAN et., 1975). Il en est de même dans le complexe de tortues d'eau douce *Clemmys* (MERKLE, 1975).

Au locus LDH-1, trois allèles sont mis en évidence, là aussi pratiquement fixés. L'un est commun à *Acanthodactylus savignyi* et *A. pardalis*, les deux autres caractérisent les espèces *A. inornatus* et *A. boskianus*.

L'identité normalisée des gènes (I) et la distance génétique (D) (Tableau 2) calculées entre les populations prises deux à deux permettent de les comparer :

Comparaisons intraspécifiques

Les populations P_2 et P_3 d'*A. pardalis* pour lesquelles les mêmes locus ont été étudiés, sont très semblables génétiquement puisque I est de 0,963. L'allèle le plus fréquent est le même pour 20 locus sur 22.

Si l'on calcule les distances génétiques à partir des fréquences des 9 locus analysés dans la population isolée P_1 de Sidi Mecherig, leurs valeurs augmentent, mais traduisent cependant une faible différenciation génétique au sein de l'espèce *A. pardalis*. Pour les Acanthodactyles, les distances génétiques intraspécifiques inférieures à 0,10, sont tout à fait comparables à celles obtenues pour d'autres populations de Lacertidés (GORMAN et al., 1975).

Comparaisons interspécifiques

Les distances génétiques sont nettement plus élevées. D varie de 0,298 à 0,485, pour une valeur moyenne de 0,380. Les distances maximales (0,485 et 0,446) sont observées entre *Acanthodactylus inornatus* et *A. pardalis* (P_2 et P_3). Les rapports entre *A. boskianus* et *A. pardalis* ou *A. savignyi* ne sont pas clairs. Si la distance *A. boskianus*-*A. pardalis* (P_3) est inférieure à la distance *A. boskianus*-*A. savignyi* la situation est inverse avec la population P_2 d'*A. pardalis*, considérée comme plus représentative de cette espèce parce que centrale par rapport à l'aire d'extension spécifique.

Il est certain que les valeurs absolues des distances génétiques interspécifiques établies dans ce travail, sont susceptibles d'être quelque peu modifiées pour deux raisons: d'une part, le faible effectif de certaines populations, bien qu'une estimation satisfaisante de la distance génétique puisse être obtenue avec un petit nombre d'individus quand un grand nombre de locus est examiné (NEI, 1978; GORMAN et RENZI, 1979); d'autre part, à l'exception d'*A. pardalis*, nous n'appréhendons pas la variabilité géographique intraspécifique. Néanmoins, ces distances sont du même ordre que celles qui séparent les espèces d'autres groupes de Lacertidés. Chez les *Lacerta* de l'Adriatique, les distances sont comprises entre 0,415 et 0,947. Cependant pour les *Anolis* des Caraïbes, la distance maximale est de 0,544 mais elle peut être aussi faible que 0,005 (entre *A. lividis* et *A. marmoratus*). Dans le cas d'espèces insulaires allopatriques, YANG et al.

Tableau 2. Identité normalisée des gènes au-dessus de la diagonale et distance génétique de NEI au-dessous de la diagonale

	<i>A. inornatus</i>	<i>A. savignyi</i>	<i>A. boskianus</i> B1	<i>A. pardalis</i> P2	P3
<i>A. inornatus</i>	—	0,713	0,684	0,616	0,639
<i>A. savignyi</i>	0,338	—	0,704	0,663	0,707
<i>A. boskianus</i> B1	0,380	0,351	—	0,695	0,742
<i>A. pardalis</i> P2	0,485	0,410	0,364	—	0,963
<i>A. pardalis</i> P3	0,446	0,347	0,298	0,038	—

(1974) trouvent également des distances inférieures à 0,10. Il est évident qu'aucune règle ne permet de dire que deux populations sont de bonnes espèces parce que leurs distances génétiques sont supérieures à une valeur déterminée. La spéciation peut s'accompagner de changements génétiques faibles (GARTSIDE et al., 1977) ou au contraire importants et chaque espèce constitue une entité évolutive indépendante. Les distances génétiques biochimiques sont basées sur l'hypothèse d'un taux de mutation constant dans le temps. En conséquence, les distances entre deux populations sont fonction du temps écoulé depuis l'interruption du flux génique.

Chez les Acanthodactyles, l'augmentation importante des distances génétiques interspécifiques ($> 0,30$) par rapport aux distances intraspécifiques (ici 0,038 entre les populations P_2 - P_3) traduit la différenciation génétique réelle des espèces considérées qui résulteraient d'une radiation relativement ancienne (Tableau 2). Les distances génétiques entre chaque couple d'espèces étant voisines, ces quatre espèces sont sensiblement équidistantes, leur divergence aurait donc été plus ou moins concomittante.

La matrice des distances génétiques permet d'établir un dendrogramme (Fig. 2) qui est une projection plane des parentés phylétiques vraisemblables (NEI, 1975) des quatre espèces d'Acanthodactyles tunisiens. Celles-ci se regroupent deux à deux, *A. savignyi* et *A. inornatus* s'opposent à *A. pardalis* et *A. boskianus*. Toutefois la position relative d'*A. boskianus* par rapport à *A. pardalis* et *A. savignyi* reste incertaine. Les ramifications dichotomiques du dendrogramme peuvent être modifiées par le simple jeu de la variabilité intraspécifique. Une étude complémentaire de la différenciation génétique de populations d'origine géographique variée permettra une meilleure appréciation des relations évolutives de ce groupe de Lacertidés.

En conclusion, l'analyse génétique confirme le statut spécifique des 4 taxons d'Acanthodactyles de Tunisie qui ont été reconnus par ailleurs hautement polymorphes sur les plans de la morphologie (BLANC, 1979a) et de la variabilité génétique (BLANC et CARIOU, 1980). Le locus diagnostique LDH-2 pourra permettre de vérifier l'existence éventuelle, dans le sud tunisien, «d'individus morphologiquement intermédiaires» entre *A. pardalis* et d'autres espèces, signalés par DOUMERGUE (1901) et interprétés par BONS (1967) comme des hybrides.

Remerciements. Les auteurs tiennent à remercier vivement les Professeurs Claudine PETIT et Georges PASTEUR pour leurs critiques constructives du manuscrit ainsi que Monsieur Jacques LEFEVRE qui a écrit le programme de calcul.

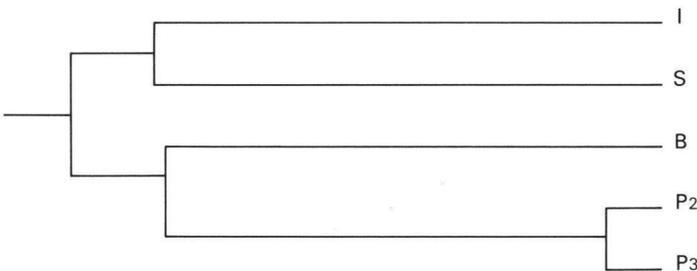


Figure 2. Dendrogramme basé sur les mesures de distance génétique.

Bibliographie

- AYALA, F. J., POWELL, J. R., (1972): Allozymes as diagnostic characters of sibling species of *Drosophila*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **69**: 1094–1096.
- BLANC, Ch. P., (1979a): Etudes sur les Acanthodactyles de Tunisie: II. – Relations biométriques. Arch. Inst. Pasteur Tunis **56** (1–2): 57–65.
- BLANC, Ch. P., (1979b): Etudes sur les Acanthodactyles de Tunisie: III. – Variabilité morphologique et ses implications systématiques. Bull. Soc. Zool. Fr. **104**: 445–465.
- BLANC, F., CARIOU, M. L., (1980): High genetic variability of lizards of the sand-dwelling Lacertid genus *Acanthodactylus*. Genetica **54**: 141–147.
- BONS, J., (1967): Recherches sur la biogéographie et la biologie des Amphibiens et des Reptiles du Maroc. Thèse. C.N.R.S. A02345.
- DOUMERGUE, F., (1901): Essai sur la faune erpétologique de l'Oranie. Bull. Soc. Geogr. Arch. Oran **19–21**: 404p.
- GARTSIDE, D. F., ROGERS, J. S., DESSAUER, H. C., (1977): Speciation with little genic and morphological differentiation in the ribbon snakes *Thamnophis proximus* and *T. sauritus* (Colubridae). Copeia 1977 (4): 697–705.
- GORMAN, G. C., SOULÉ, M., YANG, S. Y., NEVO, E., (1975): Evolutionary genetics of insular Adriatic lizards. Evolution **29**: 52–71.
- GORMAN, G. C., RENZI, Jr. J., (1979): Genetic distance and heterozygosity estimates in electrophoretic studies: effect of sample size. Copeia 1979 (2): 242–249.
- GUILLAUME, Cl. P., PASTEUR, N., BONNS, J., (1976): Distinction par électrophorèse sur gel d'amidon des espèces de lézards *Lacerta muralis* LAURENTI 1768 et *Lacerta hispanica* STEINDACHNER 1870 dans des populations sympatriques d'Espagne et du Languedoc-Roussillon. C. R. Acad. Sc. Paris **282 D**: 285–288.
- MAC DONNELL, L. J., GARTSIDE, D. F., LITTLEJOHN, M. J., (1978): Analysis of a narrow hybrid zone between species of *Pseudophryne* (Anura: Leptodactylidae) in South Eastern Australia. Evolution **32**: 602–621.
- MERKLE, D. A., (1975): A taxonomic analysis of the *Clemmys* complex (Reptilia Testudines) utilising starch gel electrophoresis. Herpetologica **31**: 162–166.
- NEI, M., (1972): Genetic distances between populations. Amer. Nat. **106**: 283–292.
- NEI, M., (1975): Molecular population genetics and evolution. North Holland. American Elsevier.
- NEI, M., (1978): Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics **89**: 583–590.
- YANG, S. Y., SOULÉ, M., GORMAN, G. C., (1974): Anolis lizards of the eastern Caribbean: a case study in evolution. I. Genetic relationships, phylogeny and colonization sequence of the Roquet group. Syst. Zool. **23**: 387–399.

Reçu: 10. Décembre 1980