

ANALYSE DU GENE CYTOCHROME b DE L'ADN MITOCHONDRIAL CHEZ LE POULPE *OCTOPUS VULGARIS* (CEPHALOPODA, OCTOPODA) DES CÔTES NORD ET SUD TUNISIENNES

Chaala NAFKHA, S. EZZEDDINE, B. CHEMMAM, O. JARBOUI et K. FADHLAOUI-ZID

Institut National des Sciences et Technologies de la Mer - 2025 Salammbô (Tunisie)

basmanafkha@yahoo.fr; soufia.ezzeddine@instm.rnrt.tn; bachra.chemmam@instm.rnrt.tn

othman.jarboui@instm.rnrt.tn; karima.fadhlaoui@fst.rnu.tn

الملخص

تحليل جينة السيتوكروم ب للحمض النووي عند الأخطبوط *Octopus vulgaris* (الأخطبوطيات، الرأسيات الأرجل) بالمياه الشمالية والجنوبية التونسية: يمثل الأخطبوط الشائع *Octopus vulgaris* الصنف الرئيسي استغلالا بالصيد الساحلي ضمن الرأسيات الأرجل خاصة بالمياه الجنوبية التونسية؛ ويعتبر التحليل الجيني الذي قمنا به والمعتمد على المنهج الجزيئي والسكاني ضرورياً قصد تحديد المجموعة المستغلة وبالتالي ضمان الصيد الرشيد والمستدام للمخزون. استند التحليل على تعدد أشكال الحمض النووي عن طريق ترتيب جزء من جين السيتوكروم ب في حجم 485pb عند 52 عينة تم جمعها من موقعين اثنين مختلفين بالسواحل التونسية وهما جزيرة جالطة بالشمال ومنطقة الكتف (جرجيس) بالجنوب. أظهرت النتائج وجود 14 نمط مختلف من الصبغيات، من بينها نمطان اثنان تشترك فيهما المنطقتين الشمالية والجنوبية؛ هذا وقد بين البحث أن النمط الأكثر تمثيلاً متواجد عند 29 عينة، كما أثبت عن وجود تمييز وراثي بين المجموعتين الجغرافيتين ($F_{ST}=0.055$, $P<0.05$) قد يعود إلى تباين إقليمي ناجم عن تأثير القناة الفاصلة بين السواحل التونسية والصلبية التي قد تحد من التدفق الجيني للأخطبوط بين ضفتي البحر المتوسط الشمالية والوسطى، وبالتالي قد تلعب دور الحاجز البيوجغرافي.

كلمات مفاتيح: الأخطبوط *Octopus vulgaris*، mtDNA، التركيبة الجينية، السواحل التونسية.

RESUME

Le poulpe commun *Octopus vulgaris* représente, parmi les céphalopodes, la principale espèce exploitée par la pêche côtière surtout dans la région Sud de la Tunisie. Une analyse génétique basée sur l'approche moléculaire et de population est jugée nécessaire pour assurer une gestion crédible et durable du stock. L'analyse a porté sur le polymorphisme de l'ADN mitochondrial par séquençage d'un fragment du gène cytochrome b de taille 485pb chez 52 échantillons collectés dans deux localités différentes : îles de Galite (Nord) et Elketf-Zarzis (Sud). Les résultats obtenus montrent que sur les 52 séquences réalisées, il y'a 14 haplotypes différents dont deux partagés entre les deux localités. L'haplotype le plus représenté est rencontré chez 29 individus. Une différenciation génétique entre les deux lots a été mise en évidence ($F_{ST} = 0.055$; $P<0.05$). Le détroit Siculo-Tunisien semble limiter le flux génique entre les deux rives de la Méditerranée et aurait donc agi comme une barrière biogéographique.

Mots clés : *Octopus vulgaris* ; ADNmt ; structure génétique ; Tunisie.

ABSTRACT

Analysis of the mitochondrial DNA Cytochrome b gene in *Octopus vulgaris* (Cephalopoda, Octopoda) from Tunisian northern and southern coasts: Among the common cephalopods, *Octopus vulgaris* is the main species exploited by the inshore fishing especially in the Tunisian Southern waters. Genetic analysis based on molecular and population approach is considered necessary to ensure a credible and sustainable management of the stock. The analysis focused on mitochondrial DNA polymorphism by sequencing 485pb fragment of the Cytochrome b gene in 52 samples collected from two different localities in Tunisia: Galite island (North) and Elketf-Zarzis (South). The results showed that there were 14 different haplotypes of which two shared by the two groups. The most represented haplotype is (H2) encountered in 29 individuals. A genetic differentiation between the two groups was detected ($F_{ST} = 0.055$; $P < 0.05$) suggesting that the Strait of Sicily limits genetic flow between the two Mediterranean areas and therefore, it would act as a biogeographic barrier.

Key words: *Octopus vulgaris*; mtDNA; Genetic structure; Tunisian coasts.

INTRODUCTION

Octopus vulgaris est un octopode benthique largement distribué occupant une grande variété d'habitats tels que les roches, les sables, les récifs et les herbiers. En fait, c'est une espèce cosmopolite

habitant les eaux tropicales et sub-tropicales. (Pope et Goto, 1993). Cette espèce a été longtemps considérée comme abondante en Méditerranée, en Atlantique et dans les eaux japonaises (Mangold, 1983; 1998; Guerra, 1992); récemment sa distribution a été élargie pour inclure les îles du centre de l'Océan indien (Guerra *et al.*, 2010).

L'activité de la pêche au poulpe commun constitue une ressource économique majeure pour la plupart des pays (Faure, 2002) parmi lesquelles on cite la Tunisie où cette activité est pratiquée du nord au sud du pays et dont la grande partie des débarquements provient essentiellement de la pêche côtière dans la région sud (Golfe de Gabès : plus que 82%). Cependant, malgré la réglementation de pêche instaurée en 1994, des fluctuations importantes marquaient depuis les années 80 la production et l'estimation de l'état du stock dans sa globalité, sans étude discriminatoire préalable, montrait déjà des signes de surpêche (Ezzeddine-Najai, 1992 ; Zguidi-Barraj, 2002). Ces résultats restent approximatifs car nous ignorions la variabilité et la structuration génétique de cette espèce ainsi que les limites géographiques du stock actuellement exploité. Les analyses de la génétique de population peuvent donc donner des informations claires et basiques sur les limites géographiques des stocks ainsi que l'existence ou non de flux de gènes entre les différentes populations si celles-ci existaient (Begg *et al.*, 1999). Ainsi, en vue d'assurer une gestion durable et crédible de cette ressource marine, nous avons dû recourir à l'approche génétique pour vérifier si le stock local tunisien du poulpe commun appartient à une ou plusieurs populations.

Les approches génétiques moléculaires ont été appliquées avec succès dans les études discriminatoires des stocks de poissons (Murphy *et al.*, 2002 ; Fitzcharles, 2012). Pour le poulpe, les analyses moléculaires ont porté sur différents marqueurs tels que les allozymes (Maltagliati *et al.*, 2002.), les gènes mitochondriaux (gène régions codantes: COIII (Sosa *et al.*, 1995; Söller *et al.*, 2000; Warnke, 1999) dont le pouvoir discriminant de ce dernier a permis de déduire les relations évolutives entre les différentes espèces du poulpe. Oosthuizen *et al* ont montré en 2004 une absence du polymorphisme chez 35 spécimens du poulpe commun au Sud de l'Afrique. Cependant, plus tard, Teske *et al.*(2007), ont rejeté cette hypothèse après avoir détecté une variation dans la même zone d'étude avec le COI et l'ARN ribosomal 16s. Au sud de l'océan indien, en analysant les séquences du gènes COI et COIII, Guerra *et al.* (2010) ont trouvé que *Octopus Tetricus* des eaux australiennes est étroitement lié à *Octopus vulgaris*. Les locus microsatellites ont été également utilisés par Casu *et al.*(2002), Murphy *et al.*(2002) et Cabranes *et al.* (2007). Ce dernier a identifié une structure génétique significative entre les échantillons prélevés autour de la péninsule ibérique et des îles Canaries. Par ailleurs, Casu *et al.*(2002), Murphy *et al.*(2002) ont pu révéler une structuration génétique significative d'une part entre les échantillons provenant des eaux mauritaniennes et ceux des eaux sahariennes et,

d'autre part, entre 9 individus provenant de la Méditerranée et un de l'Atlantique

En Méditerranée, les études déterminant la structure génétique et la diversité des stocks du poulpe sont rares. Elles sont limitées à deux analyses de la variation génétique à l'aide des marqueurs allozymiques (Maltagliati *et al.*, 2002) et des marqueurs microsatellites (Casu *et al.*, 2002). Ils étaient conformes à montrer que, dans la Méditerranée, l'espèce *Octopus vulgaris* n'est pas constituée par une unité panmictique, qu'elle présente une différenciation génétique entre les bassins de la Méditerranée occidentale et orientale et qu'elle est génétiquement structurée selon le modèle d'îlot dans un contexte de flux de gènes relativement élevé. Récemment, Fadhlou-Zid *et al.*, 2012, ont examiné le polymorphisme de l'ADN mitochondrial par examen d'une région du cytochrome oxydase III (COIII) sur 202 individus séquencés de poulpes originaires de 7 localités méditerranéennes différentes dont les côtes tunisiennes et ce, afin d'étudier la structure génétique et de compléter la phylogénie du genre *Octopus*. L'analyse phylogénétique a montré que les individus de Méditerranée centrale appartiennent à l'espèce *O. vulgaris* dont les limites devraient néanmoins être précisées et de même a confirmé les hypothèses émises par Casu *et al* (2002) et Maltagliati *et al* (2002). Par ailleurs, un total de 8 haploïdes ont été trouvés dont les séquences étaient déposées à GenBank (Numéro d'accès : JQ085594-JQ085601).

Dans la présente étude, un fragment du gène cytochrome b de l'ADN mitochondrial a été analysé chez 52 échantillons du poulpe commun répartis entre deux localités des côtes tunisiennes: l'une située au bassin occidental représentée par l'île de la Galite et l'autre sise au bassin central qui est le Golfe de Gabès. Notons que les limites contiguës de ces deux bassins se situent au niveau du bassin siculo-tunisien considéré comme étant une barrière à certains flux génétiques ayant engendré une différenciation génétique significative de populations de plusieurs espèces (Bahri-Sfar, 2000 ; Magoulas *et al.*, 2006). Ainsi, à partir des deux sites choisis, nous avons envisagé de déterminer la structure génétique des deux lots de poulpes et de vérifier s'il y'a présence ou non de deux populations différentes dans ces deux zones.

MATERIEL ET METHODES

1- Echantillonnage

Au total, deux lots d'échantillons du poulpe commun (N=52) ont été séparément collectés en 2008 de la zone côtière d'Elketf (Zarzis ; N=30) (sud de la Tunisie) et la zone hauturière au Nord de la Tunisie (île de la Galite, N=22) (Fig. 1).

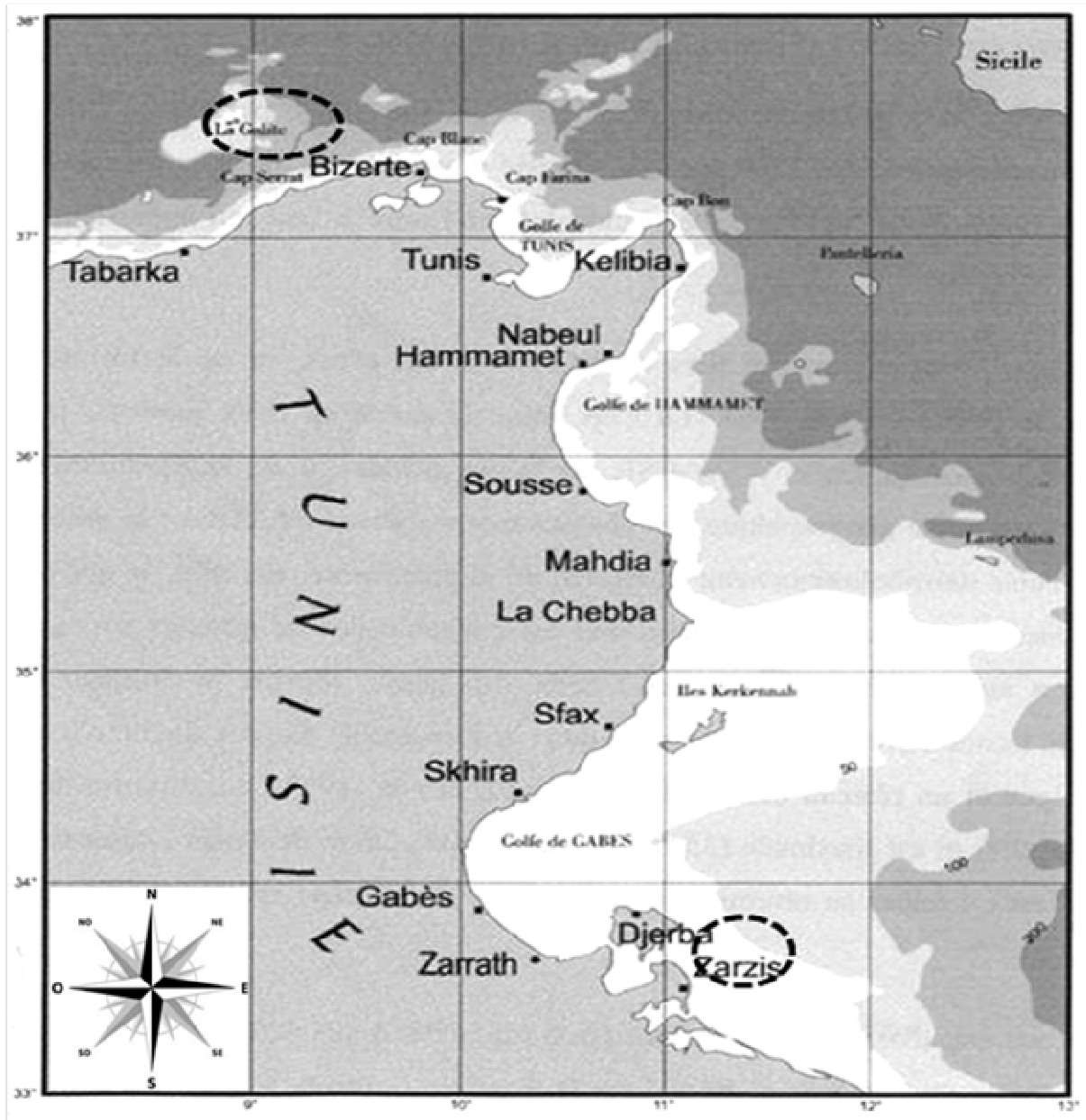


Figure 1 : Carte montrant la localisation des deux zones d'étude

Pour chaque spécimen, un morceau du tissu musculaire du bras a été coupé et conservé dans l'éthanol absolu.

2- Extraction et Concentration

L'extraction de l'ADN total est effectuée à partir de 25mg du tissu musculaire moyennant le Kit *DNeasy® Blood and Tissue kit* (QUIAGEN). La concentration obtenue en acides nucléiques a été déterminée par spectrophotométrie à 260nm en utilisant le « Nano-drop ».

3- Amplification par PCR, Purification et Séquençage

Un fragment du gène Cytochrome b de taille 485pb a été amplifié dans les deux sens en utilisant deux

amorces spécifiques décrites par Simon *et al.* (1994). La réaction du PCR est réalisée dans un volume final de 50µl contenant : Tampon du PCR (Tampon Buffer NH4 (1X) ; MgCl₂ (1mM) ; BSA (Albumine sérique bovine 20 mg/ml) ; dNTP (0.2mM) ; (0.5mM) pour chaque amorce ; 1.25 unités du Taq polymérase (GoTaq®, Promega) et d'ADN total (50ng/mL).

Le programme adopté pour l'amplification du segment du gène cytochrome b est le suivant : Pré-dénaturation (94°C, 5mn) ; dénaturation (35 cycles pour 94°C, 1mn) ; hybridation (50°C, 1,5mn) ; élongation (72°C, 1mn) et élongation finale (72°C, 5mn).

Les produits d'amplification obtenus ont été purifiés à l'aide du kit «*QIAquick PCR Purification Kit*» (QUIAGEN) puis séquencés dans les deux sens

moyennant un séquenceur automatique *ABI 3130xl Prism Genetic Analyzer* (Applied Biosystems).

4- Analyses bioinformatiques

Les séquences obtenues ont été alignées à l'aide du logiciel Clustal W (Thompson *et al.*, 1994), implanté dans le programme BioEdit version 7.0.5.3 (Hall, 1999). Les séquences haplotypiques ont été soumises dans la banque de gènes sous références (JX512844.1 à JX512837.1)

Les indices standard de diversité génétique, à savoir la diversité haplotypique (h), la diversité nucléotidique (π), le nombre moyen de différences entre les paires d'haplotypes (MPD) et la distance génétique (Fst), ont été calculés à l'aide du logiciel ARLEQUIN version 3.5 (Excoffier *et al.*, 2010). Le réseau reliant les différents haplotypes rencontrés a été construit avec le logiciel Network (Bandelt *et al.*, 1999).

L'histoire démographique des populations échantillonnées a été explorée par une analyse de "mismatch distribution" ou distribution des disparités (i.e. distribution des différences entre les séquences prises deux à deux) il s'agit d'établir la distribution du nombre de différences entre les individus d'une même population pris deux à deux.

RESULTATS

1- Diversité génétique et nucléotidique :

Sur les 22 individus provenant de l'échantillon du Nord (île de la Galite), 8 haplotypes ont été définis dont 5 mis en évidence à la fois chez un seul individu. L'haplotype le plus représenté est l'haplotype (H2), observé chez 12 individus (Tableau I). Dans l'échantillon de Zarzis (Elketf), sur les 30 individus, 8 haplotypes différents ont été définis et 4 individus uniquement possèdent leur propre haplotype.

En considérant l'ensemble des 52 individus confondus, les séquences correspondantes au gène cytochrome b ont permis d'identifier 19 sites polymorphes définissant 14 haplotypes différents (Tableau I). Parmi ces haplotypes, deux haplotypes (H2 et H3) sont partagés entre les deux lots d'échantillons. L'haplotype majoritaire correspond à l'haplotype (H2) ; il est rencontré chez 29 individus. Le deuxième haplotype partagé (H3) est identifié chez 6 individus. Les autres haplotypes sont à sites spécifiques.

Les valeurs des indices génétiques obtenues pour les deux lots sont représentées dans le tableau II.

Tableau I : Répartition des haplotypes définis sur la base du polymorphisme de séquence du segment cytochrome b de l'ADN mitochondrial chez les deux lots Nord (île de la Galite) et Sud (Zarzis-Elketf) du poulpe commun *Octopus vulgaris*.

Haplotype	Positions des nucléotides variables	Localités		Total
		Galite	Zarzis	
	[012222233333344]			
	[803889902288905]			
	[421590264802701]			
Hap 1	ATTAAAGTGGTTGAT	-	1	1
Hap 2C...	12	17	29
Hap 3	...T.....C...	1	5	6
Hap 4AG.	-	1	1
Hap 5	...TGTA.....AG.	-	2	2
Hap 6	G..T.....C...	-	2	2
Hap 7	GC.....C...C...	-	1	1
Hap 8T..C...	-	1	1
Hap 9AC...	1	-	1
Hap 10AC..C	2	-	2
Hap 11	..C.....A.....	1	-	1
Hap 12CA..	1	-	1
Hap 13	G.....C...C...	3	-	3
Hap 14C...C...	1	-	1
Totale		22	30	52

Tableau II : Indices de diversité génétique des séquences du gène cytochrome b chez le poulpe commun

Localité	Acronyme	N	K	h	π	MPD
Ile de la Galite	N	22	8	0,697 \pm 0,102	0,00277 \pm 0,00452	1,342
Elketf (Zarzis)	Z	30	8	0,660 \pm 0,088	0,00339 \pm 0,00572	1,646

N : nombre d'individus par lot K: nombre d'haplotypes h: diversité haplotypique π : diversité nucléotidique MPD: nombre moyen de différences entre les paires d'haplotypes « Mean number of Pairwise Differences »

Le lot de l'île de la Galite (Nord) présente la valeur de diversité haplotypique (h) la plus élevée (0,697), ce qui suggère qu'il a une diversité des séquences plus importante que celle du lot de Zarzis (Sud) (0,660). Cependant, la valeur la plus élevée de la diversité nucléotidique (π) est obtenue pour le lot de Zarzis ($\pi=339 \times 10^{-5}$). Il en est de même du niveau de divergence des séquences entre les paires d'haplotypes prises deux à deux (représenté par le nombre moyen de différences MPD), qui est respectivement de 1,646 pour le lot Zarzis (Elketf) et 1,342 pour celui de l'île de la Galite. Les résultats montrent aussi que les haplotypes du groupe de Zarzis (Elketf) sont séparés par un nombre important de mutations et donc seraient plus divergents par rapport au lot nord.

2- Différenciation génétique

La valeur de Fst calculée sur l'ensemble des deux populations est de 0,055 (Fst significativement différent de zéro, $P < 0.05$), ce qui indique que les deux lots échantillonnés du poulpe sont génétiquement différenciés.

3- Réseau phylogénétique ou Network et distribution mismatch

Le réseau reliant les différents haplotypes montre une structure en étoile de phylogénie « star like » dans laquelle apparaît un haplotype majoritaire (H2) (Fig. 2). Ce dernier est partagé entre les deux lots d'échantillons et à partir duquel dérivent les autres haplotypes par 1, 2 ou 3 événements mutationnels. Par ailleurs, nous notons la présence d'un deuxième haplotype (H3), de moindre fréquence, qui est partagé entre les deux lots. La structure en étoile de phylogénie met en évidence une évolution locale à partir d'un haplotype ancestral (H2).

La distribution du nombre observé de différences entre paires d'haplotype (courbes de Mismatch) (Fig. 3) sous le modèle d'expansion soudaine, s'est avérée bimodales pour les deux localités échantillonnées.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La présente étude réalisée sur 52 échantillons de poulpe commun *Octopus vulgaris*, prélevés dans le Nord (île de la Galite) et le Sud (Zarzis) de la Tunisie confirme les résultats récemment obtenus (Fadhlaoui-

Zid *et al.*, 2012). Les analyses de distribution mismatch mettent en évidence une situation de stabilité des deux populations, comme le témoignent les distributions bimodales.

La divergence génétique ($F_{st}=0.05$, $p < 0.05$) indique, en particulier, une structuration génétique significative dans la zone d'étude. Cette différenciation semble être associée à une transition génétique au niveau du détroit Siculo-Tunisien du fait que l'échantillon de la Galite correspondant au secteur Nord présente une distance génétique significative avec l'échantillon du secteur Sud-Est (Zarzis). En effet, Fadhlaoui-Zid *et al.* (2012), en analysant le polymorphisme du gène cytochrome oxydase III (COIII) de l'ADN mitochondrial chez 202 échantillons du poulpe *Octopus vulgaris* provenant de 7 localités différentes de la Méditerranée occidentale et centrale, ont montré une différenciation significative entre les deux bassins. Des résultats similaires ont été obtenus par Maltagliati *et al.* (2002) sur la base des marqueurs allozymiques étudiés sur *Octopus vulgaris* de la Méditerranée et également par Cabranes *et al.* (2007) sur les microsatellites des populations d'*Octopus vulgaris* de l'Atlantique (autour de la péninsule Ibérique et les îles Canaries).

Des divergences génétiques significatives pour de nombreuses autres espèces marines (Paternello *et al.*, 2007) ont été aussi mises en évidence entre les deux bassins, occidental et oriental de la Méditerranée, et ont été reliées, entre autres, aux caractéristiques océanographiques de la zone de transition du détroit Siculo-Tunisien. En effet, il est actuellement admis que certaines zones géographiques agissent sur un grand nombre d'espèces en tant que barrières, jouant ainsi un rôle important dans la limitation du flux génétique et conduisant à une différenciation génétique entre les populations (Borsa *et al.*, 2007 ; Paternello *et al.*, 2007). Parmi ces zones, le détroit Siculo-Tunisien est considéré comme une zone de transition entre les deux bassins de la Mer Méditerranée (occidental et central). Sur la rive Sud de la Méditerranée, les côtes tunisiennes septentrionales où dominent les fonds coralligènes appartiennent au bassin occidental et sont sous l'influence du courant atlantique. Les côtes Est et surtout Sud, à fonds sableux et vaseux, ont une affinité subtropicale caractéristique du bassin oriental. Dans ce secteur

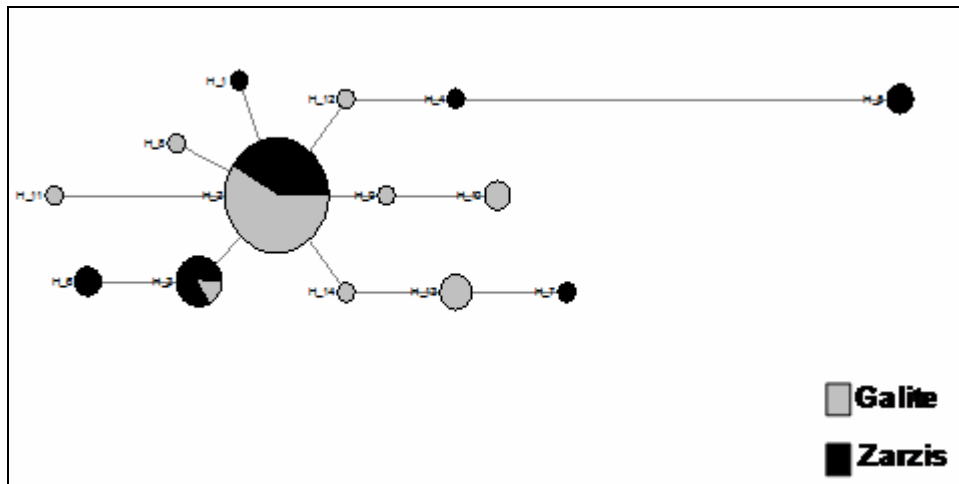


Figure 2: Arbre joignant les haplotypes définis dans les deux lots d'échantillons du poulpe *Octopus vulgaris*.

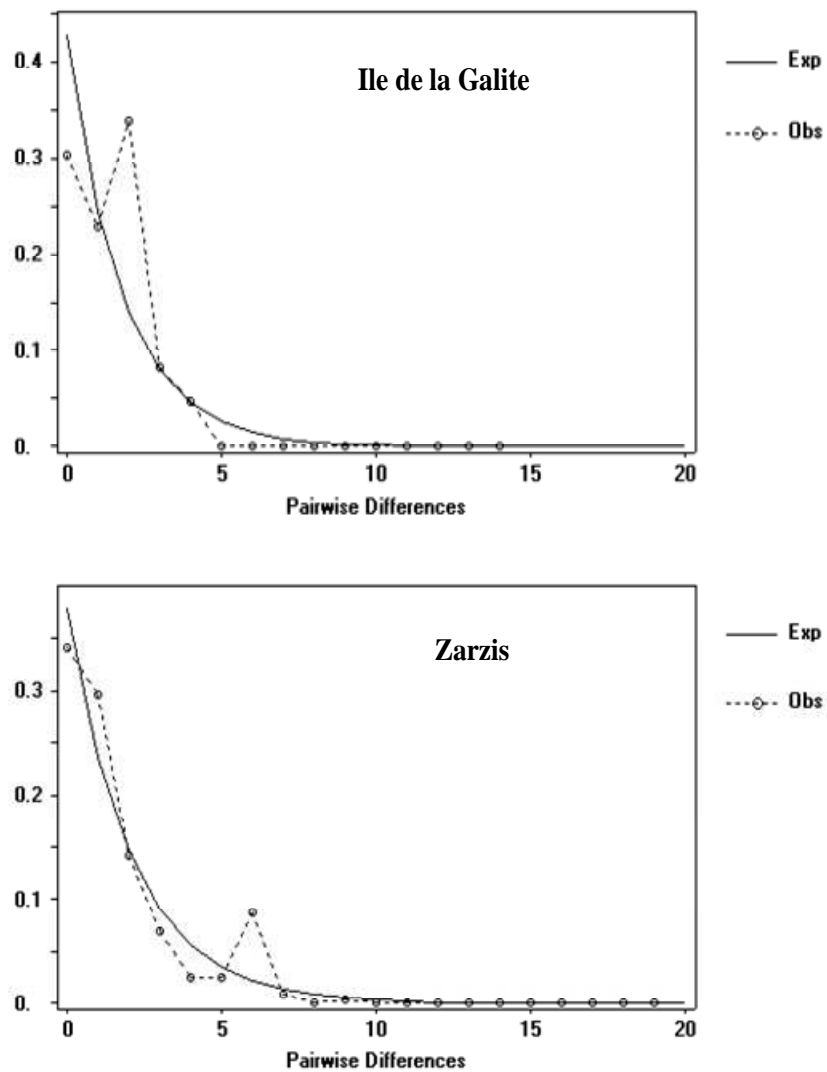


Figure 3: Distribution du nombre de différences par paires "mismatch distribution" ou distribution des disparités.

Sud où le courant atlantique perd de son influence (Ben Othman. 1973), le golfe de Gabès présente des caractéristiques hydro-dynamiques et physico-chimiques différentes des côtes Nord-Est (température et salinité plus élevées, jeu de marée,...) qui le distinguent dans la Méditerranée centrale. Ainsi, les caractéristiques différentes des côtes tunisiennes peuvent aussi contribuer à la différenciation génétique des espèces marines. Par ailleurs, les caractères bioécologiques intrinsèques à l'espèce *O. vulgaris* pourraient infirmer ou affirmer cette divergence entre les lots des deux bassins méditerranéens. En ce sens, les paralarves du poulpe, dès leur éclosion, mènent une vie planctonique qui leur permet de se disperser dans l'espace et donc d'acquérir une distribution spatiale assez large. En contre partie, le poulpe, de par son instinct de vie solitaire, a tendance à s'isoler dans les anfractuosités et à restreindre son aire d'extension spatiale ; ce qui contribuerait à limiter sa diversification phylogénétique. Notons que les conditions abiotiques (température...) et biotiques (trophique....) dans le golfe de Gabès sont favorables à l'expansion et à l'adaptation locale de l'espèce. En conclusion, bien que les résultats obtenus dénotent une structuration génétique du poulpe de part et d'autre du détroit Siculo-Tunisien, des vérifications demeurent nécessaires. En effet, afin de s'assurer de la robustesse des conclusions sur la structure géographique du poulpe, il faudrait pouvoir comparer les informations obtenues par l'analyse de différentes régions d'ADN, mitochondrial et génomique. Une étude parallèle basée sur les microsatellites permettrait de mieux appréhender la structuration géographique populationnelle car ils permettent d'étudier des relations phylogénétiques inter et intra-spécifiques à faible échelle temporelle et géographique.

BIBLIOGRAPHIE

- Bahri-Sfar L., Lemaire C., Ben Hassine O.K., Bonhomme F. (2000)- Fragmentation of sea bass populations in the western and eastern Mediterranean as revealed by microsatellite polymorphism. *Proc. R. Soc., Lond., B* 267 : 929–935.
- Bandelt H.J, Forster P. et Rohl A. 1999- Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies, *Mol. Biol. Evol.*, 16: 37–48.
- Begg G.A., Friedland K.D. et Pearce J.B. 1999- Stock identification and its role in assessment and fisheries management: an overview. *Fish. Res.*, 43: 1–8.
- Ben Othman S. 1973.- Le sud tunisien (golfe de Gabès), hydrologie, sédimentologie, flore et faune. Thèse 3ème cycle. Fac. Sci. Tunis, 166 p.
- Borsa P., Daguin C., Bierne N. 2007- Genomic reticulation indicates mixed ancestry in Southern-Hemisphere *Mytilus* spp. mussels. *Biol. Journ. Linnean Soc.*, 92 (4): 747-754.
- Cabranes C., Fernandez-Rueda P. et Martinez J.L. 2007- Genetic structure of *Octopus vulgaris* around the Iberian Peninsula and Canary Islands as indicated by microsatellite DNA variation. *ICES J. Mar. Sci.*, 65: 12–16.
- Casu M. M., Maltagliati F., Meloni M., Casu D., Cossu P., Binelli G., Curini-Galletti M. et Castelli A. 2002- Genetic structure of *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) from the Mediterranean Sea as revealed by a microsatellite locus. *Ital. J. Zool.*, 71: 473–486.
- Excoffier L. et Lischer H.E.L. 2010- Arlequin suite version 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Res.*, 10: 564–567.
- Ezzeddine-Najai S. 1992- Biologie et pêche du poulpe *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (Cephalopoda, Octopoda) du golfe de Gabès. *Bull. Inst. Natn. Sci. Tech. Mer, Salammbô*, 19: 5-19.
- Fadhlaoui-Zid K., Knittweis L., Aurelle D., Nafkha C., Ezzeddine S., Fiorentino F., Ghmati H., Ceriola L., Jarbouï O. et Maltagliati F. 2012- Genetic structure of *Octopus vulgaris* (Cephalopoda, Octopodidae) in the central Mediterranean Sea inferred from the mitochondrial COIII gene. *C. R. Biologies*, 335: 625-636.
- Faure V. 2002- Environnement et variabilité des populations de poulpes *Octopus vulgaris* en Afrique de l'ouest. In : Caverivière A., Thiam M. et Jouffre D. : Le poulpe *Octopus vulgaris* Sénégal et côte Nord-Ouest Africaines. Paris, IRD. Editions. Collection Colloques et Séminaires : 129-142.
- Fitzcharles, E.M. 2012- Rapid discrimination between four Antarctic fish species, genus *Macrourus*, using HRM analysis. *Fisheries Research*, 127. 166-170.
- Guerra A. 1992- Mollusca, Cephalopoda. In: Ramos M. A. et al. eds. Fauna Ibérica. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid, 327 p.
- Guerra A., Roura A., Gonzalez A. F., Pascual S., Cherel Y. et Perez-Losada M. 2010- Morphological and genetic evidence that *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) inhabits Amsterdam and Saint Paul Islands (southern Indian Ocean), *ICES J. Mar. Sci.*, 67: 1401–1407.
- Hall T.A. 1999- BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis

- program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp. Ser.*, 41: 95–98.
- Magoulas A., Castilho R., Caetano S., Marcato S., Patarnello T. 2006- Mitochondrial DNA reveals a mosaic pattern of phylogeographical structure in Atlantic and Mediterranean populations of anchovy (*Engraulis encrasicolus*), *Mol. Phylogenet. Evol.*, 39 : 734–746.
- Maltagliati F., Belcari P., Casu D., Casu M., Sartor P., Vargiu G. et Castelli A. 2002- Allozyme genetic variability and gene flow in *Octopus vulgaris* (Cephalopoda, Octopodidae) from the Mediterranean Sea. *Bull. Mar. Sci.*, 71: 473–486.
- Mangold K. 1983- *Octopus vulgaris*. In: Boyle P.R. (ed.). *Cephalopod life cycles*, vol. I. Species accounts. Academic Press, London: 335-364.
- Mangold K. 1998- The Octopodinae from the Eastern Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. In: Systematics and biogeography of cephalopods. II (Voss N.A., Vecchione M. et Toll R.B., eds). *Smithsonian Contributions to Zoology*, Washington, 586: 457-474.
- Murphy J.M., Balguerías L.N. et Boyle P.R. 2002- Microsatellite DNA markers discriminate between two *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: Octopoda) fisheries along the northwest African coast. *Bull. Mar. Sci.*, 72 (1): 545–553.
- Oosthuizen A., Jiwaji M. et Shaw P. 2004- Genetic analysis of the *Octopus vulgaris* population on the coast of South Africa. *S. Afr. J. Sci.*, 100: 603–607.
- Patarnello T., Volckaert, A.M.J. et Castilho R. 2007- Pillars of Hercules: Is the Atlantic-Mediterranean transition a phylogeographic break? *Molecular Ecology*, 16: 4426–4444.
- Poppe G.T. et Goto Y. 1993- European seashells. Vol. II. (Scaphopoda, Bivalvia, Cephalopoda). *Edit. Hemmen V. C.*, Germany: 141-161.
- Simon C., Francisco F., Andrew B., Berni C., Hong L. et Paul F. 1994- Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved PCR primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87 (6): 651-701.
- Söller R., Warnke K., Saint-Paul U. et Blohm D. 2000- Sequence divergence of mitochondrial DNA indicates cryptic biodiversity in *Octopus vulgaris* and supports the taxonomic distinctiveness of *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Mar. Biol.*, 136: 29–35.
- Sosa I.D.B., Beckenbach K., Hartwick B. et Smith M.J. 1995- The Molecular Phylogeny of Five Eastern North Pacific Octopus Species. Original Research Article. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4 (2): 163-174.
- Teske P. R., Oosthuizen A., Papadopoulos I. et Barker N. P. 2007- Phylogeographic structure of *Octopus vulgaris* in South Africa revisited: identification of a second lineage near Durban harbour. *Marine Biology*, 151: 2119–2122.
- Thompson J.D., Higgins D.G. et Gibson T.J. 1994- CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice, *Nucleic Acids. Res.*, 22: 4673–4680.
- Warnke K. 1999- Diversität des Artenkomplexes *Octopus cf. vulgaris* Cuvier, 1797 in beziehung zu seiner Verbreitung an der Ost- und Westküstes Lateinamerikas. Ph.D. thesis, Universität Bremen, Shaker Verlag, Aachen, 256p.
- Zghidi-Barraji, W. 2002.- Ecobiologie et exploitation du poulpe commun *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (Cephalopoda, Octopoda) dans le golfe de Gabès (Tunisie, Méditerranée Centrale). Thèse 3^{ème} Cycle, Univ. Tunis : 1-165.